



Tópicos em ciência dos alimentos

Volume IV



Wesclen Vilar Nogueira
Organizador



Pantanal Editora

2022

Wesclen Vilar Nogueira
Organizador

Tópicos em ciência dos alimentos
Volume IV



Pantanal Editora

2022

Copyright© Pantanal Editora

Editor Chefe: Prof. Dr. Alan Mario Zuffo

Editores Executivos: Prof. Dr. Jorge González Aguilera e Prof. Dr. Bruno Rodrigues de Oliveira

Diagramação: A editora. **Diagramação e Arte:** A editora. **Imagens de capa e contracapa:** Canva.com. **Revisão:** O(s) autor(es), organizador(es) e a editora.

Conselho Editorial

Grau acadêmico e Nome

Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos
Prof. MSc. Adriana Flávia Neu
Prof. Dra. Allys Ferrer Dubois
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior
Prof. MSc. Aris Verdecia Peña
Prof. Arisleidis Chapman Verdecia
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva
Prof. Dr. Bruno Gomes de Araújo
Prof. Dr. Caio Cesar Enside de Abreu
Prof. Dr. Carlos Nick
Prof. Dr. Claudio Silveira Maia
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos
Prof. Dr. Cristiano Pereira da Silva
Prof. Ma. Dayse Rodrigues dos Santos
Prof. MSc. David Chacon Alvarez
Prof. Dr. Denis Silva Nogueira
Prof. Dra. Denise Silva Nogueira
Prof. Dra. Dennyura Oliveira Galvão
Prof. Dr. Elias Rocha Gonçalves
Prof. Me. Ernane Rosa Martins
Prof. Dr. Fábio Steiner
Prof. Dr. Fabiano dos Santos Souza
Prof. Dr. Gabriel Andres Tafur Gomez
Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles
Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira
Prof. MSc. Javier Revilla Armesto
Prof. MSc. João Camilo Sevilla
Prof. Dr. José Luis Soto Gonzales
Prof. Dr. Julio Cezar Uzinski
Prof. MSc. Lucas R. Oliveira
Prof. Dra. Keyla Christina Almeida Portela
Prof. Dr. Leandro Argente-Martínez
Prof. MSc. Lidiene Jaqueline de Souza Costa Marchesan
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann
Prof. MSc. Marcos Pisarski Júnior
Prof. Dr. Marcos Pereira dos Santos
Prof. Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla
Prof. MSc. Mary Jose Almeida Pereira
Prof. MSc. Núbia Flávia Oliveira Mendes
Prof. MSc. Nila Luciana Vilhena Madureira
Prof. Dra. Patrícia Maurer
Prof. Dra. Queila Pahim da Silva
Prof. Dr. Rafael Chapman Auty
Prof. Dr. Rafael Felipe Ratke
Prof. Dr. Raphael Reis da Silva
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes
Prof. Dr. Ricardo Alves de Araújo (*In Memoriam*)
Prof. Dra. Sylvana Karla da Silva de Lemos Santos
MSc. Tayronne de Almeida Rodrigues
Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca
Prof. MSc. Wesclen Vilar Nogueira
Prof. Dra. Yilan Fung Boix
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme

Instituição

OAB/PB
Mun. Faxinal Soturno e Tupanciretã
UO (Cuba)
IF SUDESTE MG
Facultad de Medicina (Cuba)
ISCM (Cuba)
UFESSPA
UEA
UNEMAT
UFV
AJES
UFGD
UEMS
IFPA
UNICENTRO
IFMT
UFMG
URCA
ISEPAM-FAETEC
IFG
UEMS
UFF
(Colômbia)
UNAM (Peru)
IFRR
UCG (México)
Mun. Rio de Janeiro
UNMSM (Peru)
UFMT
Mun. de Chap. do Sul
IFPR
Tec-NM (México)
Consultório em Santa Maria
UFJF
UEG
FAQ
UNAM (Peru)
SEDUC/PA
IFB
IFPA
UNIPAMPA
IFB
UO (Cuba)
UFMS
UFPI
UFG
UEMA
IFB
UFPI
FURG
UO (Cuba)
UFT

Conselho Técnico Científico
- Esp. Joacir Mário Zuffo Júnior
- Esp. Maurício Amormino Júnior
- Lda. Rosalina Eufrausino Lustosa Zuffo

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
T673	Tópicos em ciência dos alimentos [livro eletrônico]: volume IV / Organizador Wesclen Vilar Nogueira. – Nova Xavantina, MT: Pantanal Editora, 2022. 75p. : il. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web ISBN 978-65-81460-46-4 DOI https://doi.org/10.46420/9786581460464 1. Alimentos – Análise. 2. Tecnologia de alimentos. I. Nogueira, Wesclen Vilar. CDD 664.07
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	



Nossos e-books são de acesso público e gratuito e seu download e compartilhamento são permitidos, mas solicitamos que sejam dados os devidos créditos à Pantanal Editora e também aos organizadores e autores. Entretanto, não é permitida a utilização dos e-books para fins comerciais, exceto com autorização expressa dos autores com a concordância da Pantanal Editora.

Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000.
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil.
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp).
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

Apresentação

A coleção de e-books “Tópicos em Ciência dos Alimentos” aborda e demonstra diferentes aspectos relacionados à cadeia produtiva de alimentos. O Volume IV da coleção aborda em seus capítulos o desenvolvimento de novos produtos, aspectos nutricionais, físico-químicos e microbiológicos de alimentos, bem como o controle de contaminantes (e.g., metais e micotoxinas).

O e-book não tem a pretensão de ser completo, mas fornecer informações importantes e supri a escassez de material na literatura para assuntos muitas vezes desconhecidos. Para isso, utilizou-se linguagem contextualizada e de fácil compreensão aos leitores. Assim, espero que os pontos abordados possam ser utilizados por profissionais da área de Ciência dos Alimentos e áreas afins nos diferentes níveis de formação, garantindo a difusão de conhecimento para a sociedade.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Wesclen Vilar Nogueira

Sumário

Apresentação	4
Capítulo 1	6
Potencialidades na elaboração de bala de goma com ora-pro-nobis e estévia	6
Capítulo 2	26
Peixe fresco: aspectos nutricionais, físico-químicos e microbiológicos	26
Capítulo 3	45
Controle de mercúrio em alimentos	45
Capítulo 4	60
Processos biotecnológicos relacionados à mitigação de micotoxinas em alimentos	60
Índice Remissivo	74
Sobre o organizador	75

Potencialidades na elaboração de bala de goma com *ora-pro-nobis* e estévia

Recebido em: 02/06/2022

Aceito em: 04/06/2022

 10.46420/9786581460464cap1

Valeria Borszcz^{1,2*} 

Nádia Carbonera² 

INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com maior biodiversidade conhecida no mundo. Diversas plantas nativas apresentam propriedades que podem ser utilizadas para diversos fins, tanto na indústria alimentícia e farmacêutica, como em setores ambientais. Alimentos alternativos e com elevados valores nutricionais têm motivado a utilização de plantas nativas e não convencionais, a fim de produzir produtos acessíveis, saudáveis e sustentáveis (Brack et al., 2020; Kinupp; Lorenzi, 2014).

Balas de gomas, também chamadas de jujubas, são produtos da linha industrial dos açucarados, confeitos ou *candy* muito apreciados pela sua atratividade de cor, consistência mastigável, sabor e aroma de frutas. Consistem em altas proporções de sacarose e glicose, combinado com agentes gelificantes, aromatizantes, acidulantes e corantes. Possuem atividade de água entre 0,58 a 0,80 e apresentam vida útil relativamente alta (Rivero et al., 2021; Marfil et al., 2012; Ergun et al., 2010). Atualmente o Brasil está entre os seis países que lideram o volume de vendas de confeitos de açúcar no mundo, com volume de venda de 214 mil toneladas, conforme indica a Associação Brasileira de Indústrias de Chocolate, Amendoim e Balas (ABICAB, 2020).

Balas são fontes calóricas, porém com limitada potencialidade nutricional. Há na atualidade uma tendência mundial pela procura por produtos integrais, fortificados, funcionais e sustentáveis e neste sentido, diversos estudos vêm sendo aplicados em balas de goma, tais como: a utilização de betalaina como agentes promissores de corante natural (Otálora et al., 2019; Amjadi et al., 2018); a aplicação de suco de abacaxi e extrato de cenoura como fonte de beta-caroteno (Achumi et al., 2018); a incorporação de suco de laranja e framboesa como fonte de cor, sabor e compostos bioativos (Rivero et al., 2021); a utilização de maracujá como fonte de antioxidantes (Machado, 2020); e, o uso do mel e extrato de própolis como fontes de agentes antioxidantes e antimicrobiano natural (Rivero et al., 2021; Rivero, et al., 2020). Portanto, o desenvolvimento de balas de gomas com as folhas e/ou frutos de *ora-pro-nobis* e folhas de

¹ Setor de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, 99713-028, Erechim, RS, Brasil

² Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 96010-610, Pelotas, RS, Brasil.

* Autor correspondente: valborszcz@gmail.com

estévia torna-se uma alternativa inovadora que poderá atender a demanda de produção de alimentos com compostos potencialmente bioativos, protéicos e sem açúcar.

Ora-pro-nobis é chamada popularmente de ‘carne de pobre’ devido seu elevado teor protéico encontrado nas folhas de *Pereskia aculeata* Mill. (20%) e *Pereskia grandifolia* Haw. (27%). São vegetais ricos em componentes com atividade antioxidante, fibras dietéticas, minerais (cálcio, ferro, zinco, magnésio e manganês), vitaminas (A, C e do complexo B), aminoácidos essenciais (ácido glutâmico, triptofano, leucina, lisina, fenilalanina e arginina) e monossacarídeos (arabinofuranose, arabinopiranoose, galactopiranoose, ácido galactopiranosilônico, ramnose e glicopiranoose) (Alipal et al., 2021; Silva, 2019). As folhas e frutos apresentam compostos mucilaginosos que podem ser utilizados pelas indústrias de alimentos e farmacêuticas como agentes espessantes, gelificantes, emulsionantes e estabilizantes (Porto et al., 2022; Cruz et al., 2021; Almeida et al., 2014).

Folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni são utilizadas há anos por tribos indígenas. Na busca de um adoçante natural que substituísse o açúcar tradicional, as indústrias de alimentos demonstraram interesse pela planta. O poder adoçante é devido aos compostos glicosídeos naturais isolados das folhas de estévia, hoje sendo comercializado como edulcorante, um produto 300 vezes mais doce que a sacarose (Borgo et al., 2021; Samuel et al., 2018; Yadav et al., 2011; Goyal et al., 2010).

A bala de goma é um alimento de baixo custo, alta disponibilidade e ampla aceitação por todas as faixas etárias e classes sociais. O desenvolvimento de uma bala de goma, com propriedades funcionais e nutracêuticas, pode ser para agricultura familiar uma oportunidade de ganhos extras, através do cultivo da matéria-prima; para a indústria de bala um investimento, sem grandes mudanças na rotina da fabricação e produção; para pacientes acometidos por diferentes doenças como a diabetes, obesidade, entre outras, uma alternativa saudável e eficaz para amenizar os sintomas; e, um alimento alternativo para pessoas que buscam alimentos com baixo teor calórico e saudáveis.

O presente estudo objetivou a busca de informações sobre o processo de fabricação de diferentes tipos de balas de gomas existentes no mercado brasileiro, bem como, avaliar as propriedades químicas, tecnológicas e medicinais das plantas *ora-pro-nobis* e estévia.

BALAS DE GOMAS

Balas e similares são produtos constituídos por açúcar e/ou outros ingredientes, podendo apresentar recheio, cobertura, formato e consistência variados (Brasil, 2005a). Há dois tipos de balas economicamente importante na perspectiva comercial: balas mastigáveis e balas duras. Entre as balas mastigáveis encontram-se as elaboradas com agentes gelificantes, sendo as balas de goma (base amido), balas de gelatina, balas de pectina e balas de alga as mais consumidas (Hartel et al., 2018). As balas de goma pertencem a uma classe de confeitos que apresentam alto teor de umidade e de açúcar, cuja textura é fornecida pelo agente gelificante utilizado.

O processo industrial da bala de goma iniciou na Alemanha por Hans Riegel, nascido na cidade de Bonn, fundador da Haribo (HAnsRIgelBOnn) e criador, em 1922, das famosas balas de goma em forma de ursinho (Achumi et al., 2018; Riggs, 2016). As balas de gomas apresentam corte com consistência firme e textura elástica, proveniente do agente gelificante utilizado. São classificadas pelo processo, que exige baixa cocção (tempo e temperatura) e secagem em moldes, e pelo produto final, que apresenta alta umidade (20%), comparadas com outros tipos de balas mastigáveis. Há variações em diferentes tipos, sabores e formatos de balas de goma, como podem ser visualizados na Figura 1.



Figura 1. Diferentes tipos de balas de goma, base: amido (a), gelatina (b), drageada (c) e alga (d). Fonte: os autores.

Para elaboração de balas de gomas são necessários ingredientes básicos que proporcionem a diluição dos sólidos (água), o sabor doce (açúcar e/ou edulcorantes), a gelificação do produto (amido, gelatina, pectina e/ou ágar) e as características de aroma (aromatizante), sabor (acidulante e aromatizante) e cor (corante).

O processo de fabricação é relativamente simples e envolve etapas como: a escolha e pesagem dos ingredientes líquidos e sólidos; a preparação e dispersão do agente gelificante e dissolução dos ingredientes solúveis em água, como açúcar e xarope de glicose; o aquecimento do xarope de glicose; o cozimento da massa; a adição de acidulante, corante e aromatizante; a moldagem, secagem e desmoldagem; a limpeza (remoção do amido); a secagem e o acondicionamento do produto final (Romo-Zamarrón et al., 2019; Delgado; Bañón, 2015; Marfil et al., 2012).

A mistura sofre o processo de cocção em tachos abertos ou pressão reduzida, podendo ser fogo direto ou vapor como agente de aquecimento, até a concentração de aproximadamente 72 a 80 °Brix, utilizando refratômetro como instrumento de medição (Avelar; Efraim, 2020). Quando o amido é cozido a altas temperaturas e sob pressão (140 – 168 °C), ele é gelatinizado com menor quantidade de água e em menor tempo, mesmo na presença de açúcar. Em tachos com atmosfera ambiente, o acidulante, o corante e o aromatizante devem ser adicionados através de um sistema de dosagem em linha e quando a calda final estiver entre 71 e 82 °C, evitando a inversão da sacarose, a alteração de cor e a perda de aroma. O produto obtido é então colocado em dosadoras, que são utilizadas para preencher os moldes estampados, de diferentes formatos e cheios de amido previamente seco (Garcia; Penteadó, 2005).

As bandejas permanecem em repouso até que se obtenha a gelificação completa do produto e a obtenção da consistência e textura desejada, ficando de 25 a 35 °C para balas de gelatina e de pectina ou levadas aos secadores, com circulação de ar controlado, a temperatura de 60 a 70 °C, para balas de amido. O tempo de permanência depende da fórmula, tamanho, formato, teor de sólidos e da consistência desejada, podendo atingir até 48 h de tempo de secagem. Teores de sólidos solúveis do xarope de açúcar não devem ser superiores a 65 °Brix, devido à possibilidade de saturação da sacarose e posterior cristalização na etapa de secagem (Avelar; Efraim, 2020).

Em seguida, as balas são desenformadas, removido o amido aderido ao produto e revestidas com açúcar cristal (bala de goma a base de amido), xarope elaborado (drageadas) ou com cera de abelha e/ou carnaúba (bala de goma a base de gelatina). O produto pronto é então acondicionado em embalagens flexíveis ou em potes de plástico ou vidro, de diferentes pesos e volumes. A Figura 2 representa o fluxograma simplificado de produção de bala de goma a base de amido.

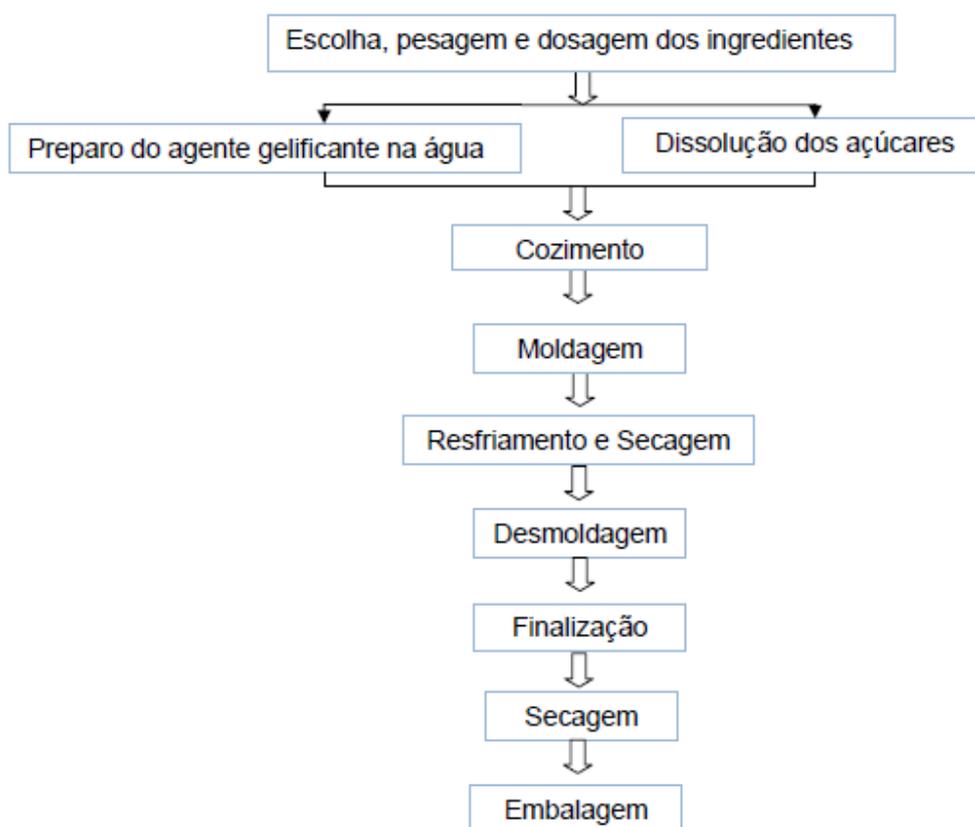


Figura 2. Fluxograma simplificado do processo de fabricação de balas de goma. Fonte: Achumi et al., 2018; Garcia e Penteadó (2005).

Os principais ingredientes utilizados no processo de produção de balas de gomas são: água, açúcar, xarope de glicose, gelificante, acidulante, corante e aromatizante. Cada empresa estabelece sua formulação e os padrões de identidade e qualidade do produto final.

A água é fundamental para o bom funcionamento de uma indústria de alimentos, pois é utilizada de diferentes formas: ingrediente na elaboração do produto, agente de higienização, no sistema de geração

de vapor e no processo de resfriamento. A água para a indústria deve possuir reduzidos teores de sais de cálcio e magnésio, a fim de evitar problemas de incrustações e depósitos de minerais nos equipamentos e não afetar a ação dos detergentes na etapa de limpeza. O controle da qualidade da água é fundamental sob o ponto de vista físico, químico e biológico, garantindo a redução de efeitos indesejáveis nas instalações, como corrosão e incrustações de partículas sedimentares, o risco à saúde do consumidor, o aumento da durabilidade do produto e a padronização das características organolépticas do produto final (Simensato; Bueno, 2019; Wujie et al., 2011). A água potável deve ser inodora, insípida, incolor e sem a presença de micro-organismos patogênicos e bactérias indicadoras de contaminação fecal. As análises envolvem uma série de testes que medem alterações da qualidade da água em relação à cor, temperatura, sabor, odor, turbidez, condutividade e sólidos minerais (Brasil, 2011). No processo de elaboração de bala de goma, a água potável é utilizada para dissolver os ingredientes sólidos solúveis, como os cristais de açúcar, auxiliar na gelificação do amido e definir a consistência e textura do produto final (Hartel et al., 2018).

O açúcar normalmente é o ingrediente majoritário em formulações de balas de gomas (20 a 40%), sendo utilizado não apenas no preparo da massa, mas também no produto final como cobertura (cristais de açúcar ou drageado), evitando que uma bala grude umas nas outras. Açúcar é a sacarose obtida a partir do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) ou de beterraba (*Beta alba* L.) através de processos adequados. São também considerados açúcares os monossacarídeos e demais dissacarídeos, podendo se apresentar em diversas granulometrias e formas de apresentação (Brasil, 2005b). Açúcar cristal, refinado, mascavo e demerara são comumente comercializados para alimentação humana, seja para venda direta ao consumidor ou para indústria de alimentos (Brasil, 2018). Glicose em pó, xarope de glicose, frutose e/ou açúcar invertido são adicionados na formulação com o propósito de melhorar as características de mastigabilidade e brilho e para evitar ou desacelerar o processo de cristalização de produtos açucarados.

O xarope de glicose ou glucose é um composto líquido viscoso obtido da conversão parcial do amido pela hidrólise ácida ou enzimática, tendo como principal constituinte a glicose (dextrose), que apresenta gosto menos doce que a sacarose. Normalmente é comercializada na forma a granel, baldes e potes. Em formulações de balas de goma utiliza-se normalmente o xarope de glicose 40DE, na proporção de 20 a 30% do peso total de açúcar. A dextrose equivalente (DE) indica o grau de hidrólise do amido expresso em porcentagem de açúcares redutores presentes (Hartel et al., 2018).

Em alimentos preparados para uma dieta com restrição de açúcar, o aditivo alimentar edulcorante pode ser utilizado para conferir gosto doce. Dentre os edulcorantes permitidos pela legislação brasileira destaca-se o poliól xilitol, por possuir poder adoçante similar a sacarose, e o edulcorante de alta intensidade glicosídeo de esteviol (esteviosídeo), por ser um adoçante de origem vegetal de 300 vezes mais doce que a sacarose (Beltrami et al., 2018; Brasil, 2008).

Gelificantes são substâncias que conferem textura rígida ao produto através da formação de um gel. Consiste em moléculas poliméricas (hidrocolóides) de polissacarídeo e proteína, caracterizada por

sua propriedade de formar dispersões viscosas e/ou géis quando dispersas na água. Os agentes gelificantes apresentam considerável influência nos parâmetros físico-químicos das balas (Avelar & Efraim, 2020; Saha & Bhattacharya, 2010). Os hidrocolóides utilizados em formulações de balas de gomas, por indústrias brasileiras, são o amido e a gelatina, que requerem aquecimento para dissolução do produto, feito na etapa de cozimento da mistura. Outros gelificantes também são utilizados, porém em menor escala como a pectina, o ágar-ágar, o alginato, entre outros (Avelar; Efraim, 2020; Achumi et al., 2018).

Em formulações de balas de goma normalmente se utiliza a proporção de 6 a 10 % de agente gelificante, conforme a consistência desejada (Hartel et al., 2018). O processo de gelatinização é determinado por diferentes fatores: propriedades físico-químicas do agente gelificante, presença de outros ingredientes, disponibilidade de água e parâmetros do processo aplicados, tais como temperatura, tempo e energia mecânica (Dala-Paula, 2021; DeMars; Ziegler, 2001).

O amido é um carboidrato de reserva presente em cereais, tubérculos, frutos, raízes e rizomas e uma ótima fonte de energia (4 kcal/g). Na indústria de produtos açucarados o amido (nativo ou modificado) em forma de pó é utilizado de diversas formas, como por exemplo: matéria-prima para produção de bala de goma, agente antiuementante para balas, *marshmallow* e goma de mascar e para produção de glicose e maltose. Milho, batata e mandioca são alimentos frequentemente utilizados para a produção do amido, que a partir dele se produz o xarope de glicose e a glicose em pó (Dala-Paula, 2021; Denardin; Silva, 2009). Na fabricação de balas de goma o amido é utilizado como ingrediente de formulações e nos moldes. Em formulações, o amido confere uma textura característica ao produto, já nos moldes, o amido é utilizado para formar cavidades com desenhos bem definidos, nos quais as balas serão depositadas. O amido utilizado nos moldes deve possuir baixo teor de umidade (6-8%), uma vez que auxilia no processo de secagem das balas, absorvendo a umidade do produto. (Hartel et al., 2018; Garcia; Penteado, 2005).

A gelatina é uma proteína solúvel derivada da hidrólise parcial do colágeno, presente em peles, ossos, tendões e tecido conectivo de animais (suíno, bovino, frango e peixe) e pode ser obtida por processos químicos, enzimáticos ou térmicos. A qualidade comercial da gelatina está caracterizada pela sua força de formação de gel e esta característica determina seu valor comercial (Alipal et al., 2021). A gelatina é um agente ligante de água que promove uma aparência transparente e brilhosa às balas de gomas, fornece textura e elasticidade e contribui para manter a estrutura e evitar a cristalização dos açúcares (Ge et al., 2021; Hani et al., 2015). É comercializada nas formas de pó, folhas laminadas, escamas e fragmentos, comumente utilizado como agente espessante, estabilizante, espumante e gelificante em muitos produtos alimentícios e farmacêuticos. No processo de gelificação de balas de goma de alta acidificação, observa-se que uma quantidade excessiva de ácido enfraquece a rede da gelatina devido ao seu efeito restritivo na formação de ligações de pontes de hidrogênio (Wang; Hartel, 2022; DeMars; Ziegler, 2001). Portanto, para esse tipo de produto, sugere-se o controle do processo e a incorporação de

outros hidrocolóides, como pectina e ágar-ágar, para obter o efeito sinérgico na boa formação da rede de gel e contribuir para as diferenças na textura e estabilidade das gomas durante o processamento e armazenamento (Renaldi et al., 2022; Ge et al., 2021; DeMars; Ziegler, 2001).

A pectina é formada por uma estrutura complexa de ácidos oligossacarídeos e polissacarídeos de cadeias lineares (homogalacturonana, constituída por ligações 1,4 α -D-ácido galacturônico) e ramificadas (ramnogalacturonana I e II), composta por resíduos de L-ramnose, arabinose, galactose, xylose, entre outros. Em preparações de balas a pectina é utilizada para obtenção da maciez, textura elástica, aumento do volume, controle da sinerese e para propiciar uma consistência lisa e brilhante (Canteri et al., 2012; Pedrolli et al., 2009; Mohnen, 2008; Willats et al., 2006; Leroux et al., 2003). Neste tipo de produto é importante conhecer os tipos de pectina comercializados, a fim de obter uma solubilidade excelente do produto e utilizar a temperatura e tempo de gelificação correta em cada formulação.

Os acidulantes são substâncias que aumentam a acidez ou conferem um sabor ácido aos alimentos (Brasil, 1997). Os ácidos utilizados em tecnologia alimentar podem ser encontrados *in natura*, obtidos a partir de certos processos de fermentações ou produzidos por sínteses. Desempenham diferentes funções, tais como reguladores de acidez, conservadores, aromatizantes e agentes antioxidantes. A utilização de acidulantes em alimentos é uma prática bastante difundida no país e em formulações de balas de gomas, os acidulantes (1 a 2%) têm por objetivo realçar o sabor ácido característico de frutas. O pH típico deste tipo de produto é entre 3 a 5 (Wang; Hartel, 2022). Os acidulantes são essenciais para obtenção de um balanceamento entre dulçor e acidez e os mais utilizados são ácido cítrico (balas sabor de frutas cítricas como laranja, limão e tangerina), ácido láctico (balas sabor de iogurte), ácido málico (bala de sabor abacaxi e maçã) e ácido tartárico (bala sabor uva).

A cor dos alimentos está fortemente associada à preferência do consumidor. Corantes é qualquer aditivo natural ou artificial (sintético) utilizados para dar cor ao produto. Um aditivo de cor é também qualquer produto químico que reage com outra substância e causa a formação de coloração. Os corantes alimentares podem ser classificados de acordo com vários critérios: origem (natural, idêntica a natural ou sintética; orgânica e inorgânica), solubilidade (solúvel e insolúvel) e capacidade de cobertura (transparente e opaco). Os corantes naturais podem ser obtidos de plantas (curcumina), produzido pela caramelização do açúcar (caramelo) ou a partir de insetos (carmim). Corantes artificiais como o amarelo crepúsculo (INS 110), a tartrazina (INS 102), o azul brilhante FCF (INS 133) e o vermelho 40 (INS 129) são amplamente utilizados pelas indústrias de balas de goma devido sua estabilidade frente a diferentes fatores, principalmente exposição à luz, oxigênio, temperatura, pH e condições de armazenamento (Amchova et al., 2015).

Aromatizantes são substâncias ou misturas de substâncias com propriedades aromáticas e/ou sápidas, capazes de conferir ou reforçar o aroma e/ou sabor dos alimentos. Os aromas são formados por substâncias químicas (ésteres, ácidos, cetonas, aldeídos, alcoóis e terpenos) e utilizados em quantidades desejáveis para obtenção do efeito desejado (Brasil, 1997). Aditivos aromatizantes naturais, idênticos aos

naturais ou artificiais são amplamente utilizados em balas para obtenção do sabor característico das frutas como maçã, laranja, limão, morango e abacaxi. A legislação brasileira, através da Resolução RDC nº 387/1999 e 45/2010 estabelecem os aditivos (acidulantes, aromatizantes, corantes, entre outros) e seus limites máximos, que são permitidos na elaboração de balas (Brasil, 2010; Brasil, 1999). A substituição de aditivos artificiais por produtos naturais oferece alternativas aos consumidores que buscam a saúde e bem-estar.

ORA-PRO-NOBIS

No Brasil, as espécies *Pereskia aculeata* Miller e *Pereskia grandifolia* Haworth são chamadas popularmente de *ora-pro-nobis* ou ‘carne de pobre’, devido ao seu elevado potencial nutricional. *Ora-pro-nobis* é considerada uma Planta Alimentícia não Convencional (PANC), exceto para a região de Minas Gerais, do tipo trepadeira, nativa da América tropical (Milião et al., 2022; Moraes et al., 2020; Almeida et al., 2014; Pinto; Scio, 2014). Desta planta há referências de outras designações, tais como lobrobó, cipó-santo, mata velha, trepadeira-limão, espinho-preto, espinho-de-santo-antônio e rosa-madeira (Kinupp; Lorenzi, 2014).

A diversidade de cores, formas e tamanhos das espécies da família *Cactaceae* há anos vem despertando o interesse para a obtenção de ingredientes funcionais, devido às suas características biológicas conhecidas (Tirado, 2019; Kinupp; Lorenzi, 2014). As folhas e frutos da espécie *Pereskia aculeata* possuem compostos mucilaginosos utilizados pelas indústrias farmacêuticas e de alimentos como agente gelificante, emulsionante e estabilizante. Na culinária tradicional as folhas podem ser utilizadas em diversas preparações, tais como omeletes, sopas, saladas e pães e os frutos como sucos, licores e geleias. As flores das espécies *P. aculeata* Mill. e *P. grandifolia* Haw. apresentam coloração branca e rósea/violeta, respectivamente, como pode ser visualizado na Figura 3.



(a)



(b)

Figura 3. Flores das plantas de *P. aculeata* (a) e *P. grandifolia* (b). Fonte: os autores.

A espécie mais estudada no Brasil deste gênero é a *P. aculeata*, pois suas folhas são suculentas e possuem alto teor de proteína (25%, em matéria seca), aminoácidos (triptofano e lisina), vitaminas (A, C e ácido fólico), minerais (potássio, cálcio, magnésio e fósforo), compostos bioativos (óleos essenciais, compostos fenólicos e carotenóides) e fibra dietética (Massocatto et al., 2022; Cruz et al., 2021; Moraes et al., 2020; Pinto; Scio, 2014). Com relação aos carboidratos é constituída, predominantemente, por uma arabinogalactana. Há referências na literatura de estudos indicando propriedades medicinais utilizando extrato de suas folhas e frutos com ação antioxidante (Cruz et al., 2021; Moraes et al., 2021; Pinto et al., 2012), anti-hemolítica (Cruz et al., 2021) e antimicrobiana (Garcia et al., 2019), como agente cicatrizante (Pinto et al., 2015), com atividade seletiva contra proliferação da leucemia mieloide crônica (Massocatto et al., 2022; Pinto et al., 2012) e potencial neuroprotetivo (Torres et al., 2022).

A espécie *P. grandifolia* possui porte arbustivo tornando-a uma planta ornamental. Apresenta uso na medicina popular, através de suas folhas, aplicadas como emoliente no tratamento de erupções cutâneas, devido seu alto conteúdo mucilaginoso, e os frutos como anti-sifilítico e expectorante (Pinto & Scio, 2014).

Outra espécie muito estudada é a *Pereskia bleo* Kunth, planta típica da região norte ao redor do Golfo do México e do Mar do Caribe e que apresenta flor laranja. Na Malásia a *P. bleo* é utilizada na medicina tradicional para o tratamento de doenças relacionadas ao câncer, dores de cabeça e estomacais, úlcera gástrica, hemorróidas, dermatites, diabetes, hipertensão, reumatismos e inflamações (Massocatto et al., 2022; Pinto; Scio, 2014; Abdul-Wahab et al., 2012).

A composição nutricional das folhas e frutos da *ora-pro-nobis* sofre influência conforme as condições climáticas (temperatura, luminosidade, vento e umidade relativa) e o solo (Milião et al., 2022; Silva et al., 2018). Em geral o conteúdo de nutrientes varia conforme a espécie, época de colheita e região. Silva (2019) realizou um resumo dos resultados obtidos nos estudos da composição nutricional da *ora-pro-nobis* e observou que a concentração de proteínas nas folhas representa grande parte da composição, variando entre 14 e 28%, incluindo 2 a 5% de lipídeos, 13 a 20% de minerais, 25 a 50% carboidratos e 12 a 30% de fibras. A aplicação da folha de *ora-pro-nobis* vai além de ser utilizada em formulações culinárias. Os compostos obtidos da folha podem auxiliar na coagulação/floculação no processo de tratamentos de água (Lucca, 2017), da raiz e dos frutos é possível extrair substâncias com atividade antioxidante (Tirado, 2019; Mandelli, 2016) e das folhas e frutos obterem substâncias mucilaginosas, tornando-se uma alternativa interessante para aplicação pela indústria de alimentos e farmacêutica (Silva et al., 2021; Silva et al., 2019).

A mucilagem é definida como um biopolímero hidrofílico (polissacarídeos e proteínas) de alto peso molecular, aplicada em formulações de alimentos e medicamentos como modificadora de textura, agente gelificante, espessante, estabilizante e emulsionante. Na planta de *ora-pro-nobis* a mucilagem é extraída de folhas e frutos, sendo rica em arabinogalactana, um polímero solúvel em água composto de

arabinose, galactose, rhamnose, ácido galacturônico e ramificações de proteína (Silva et al., 2021; Silva et al., 2019; Martín et al., 2017).

Na literatura encontra-se estudos da aplicação de extratos de mucilagem obtida de folhas de *ora-pro-nobis* em preparações de leite fermentado (Amaral et al., 2018), queijo *Petit Suisse* (Silva et al., 2021) e filme de embalagem biodegradável (Kobayasi et al., 2021; Oliveira et al., 2019), porém nenhuma informação foi encontrada sobre aplicações em balas de gomas. Além da inovação de utilização de folhas e/ou frutos de *ora-pro-nobis* como agente gelificante, propõe-se a substituição do açúcar por um composto edulcorante natural obtido da planta estévia, tornando-se potenciais ingredientes para produção de alimentos sem açúcar, de baixa caloria e saudável (Agulló et al., 2022).

ESTÉVIA

A estévia pertencente à família *Asteraceae* é um subarbusto com propriedade edulcorante em suas folhas, devido à presença de glicosídeos diterpênicos. Apresenta poder adoçante muito superior a sacarose e é nativa de regiões tropicais e subtropicais das Américas: Paraguai, Brasil e Argentina. Das espécies que ocorrem no país merecem destaque a *S. rebaudiana*, pois das 230 espécies do gênero *Stevia* já identificadas, essa é a única que apresenta princípio edulcorante utilizado comercialmente (Lima Filho et al., 2004). Borgo et al. (2021) relata a presença de propriedades adoçantes nas espécies *S. collina* Gardn (chamada de *Caá-ebé*, Brasil) e *S. puberula* Hook (chamada de Lima-lima, Peru) e de Almeida (2020) foi apresentado sobre as propriedades da planta embasado no conhecimento dos povos Kaiowa e Guarani e Paĩ Tavyterã.

A espécie *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (*Asteraceae*) (Figura 4), popularmente chamada de *stevia*, estévia ou erva doce do Paraguai, contém grande quantidade de esteviosídeo presente nas folhas, flores, caule e sementes, um composto com poder não nutritivo e adoçante natural (Borgo et al., 2021; Yadav et al., 2011).



Figura 4. Planta da *Stevia rebaudiana*. Fonte: os autores.

Os glicosídeos isolados das folhas de estévia, com o respectivo poder adoçante relativo à sacarose, são os seguintes: esteviosídeo (250-300), esteviolbiosídeo (100-125), rebaudiosídeo-A (350-450), rebaudiosídeo-B (300-350), rebaudiosídeo-C (dulcosídeo B) (50-120), rebaudiosídeo-D (200-300), rebaudiosídeo-E (250-300) e dulcosídeo-A (50-120). Geralmente, os glicosídeos de esteviol mais abundantes nas folhas de estévias são o esteviosídeo (4–13% m:m), rebaudiosídeo A (2–4% m:m) e rebaudiosídeo C (1–2% m:m) (Borgo et al., 2021; Yadav et al., 2011; Samuel et al., 2018; Goyal et al., 2010).

O teor de esteviosídeo aumenta até o início do florescimento, diminuindo continuamente até a produção de sementes, sendo aconselhável, portanto, a colheita das folhas no início da abertura das flores (Yadav et al., 2011; Lima Filho et al., 2004).

O extrato de estévia obtido das folhas pode auxiliar no tratamento de *diabetes mellitus*, obesidade, hipertensão e prevenção da cárie (Borgo et al., 2021; Ruiz-Ruiz et al., 2017; Goyal et al., 2010). As principais atividades farmacológicas de extratos de estévia estão relacionadas a atividades antioxidante, antiparasitárias, antivirais e anti-inflamatórias (Borgo et al., 2021). Há estudos da aplicabilidade da planta como um agente antioxidante e antibacteriano natural para uso em extrato de frutas processadas (Barba et al., 2014)

As folhas e extratos de estévia foram aplicadas em diversas formulações, como em produtos de alimentos com soja (Nalesso-Leao et al., 2020), barra de cereal (Silva et al., 2020), *marshmallow* (Periche et al., 2016) e bala de goma (Cedeño-Pinos et al., 2020; Aranda-González et al., 2015).

DISCUSSÃO

A bala é um doce muito popular e consumido por pessoas de todas as idades, fabricado basicamente com água, açúcar e agentes que imitam sabores (aromatizante e acidulante) e cores (corante) de frutas ou um produto similar, como o caramelo e iogurte.

A mudança por hábitos saudáveis, devido à crescente tomada de consciência da relação entre dieta e saúde, leva a um rápido aumento no consumo de alimentos funcionais e de baixa caloria e ao desenvolvimento de alimentos nutracêuticos e com alto teor de mucilagem, proteína e ferro. A diversidade de espécies vegetais encontradas no Brasil com propriedades biológicas pode ser utilizada para os mais diversos fins, sejam alimentícios, farmacológicos ou ambientais. A crescente procura por alimentos nutritivos e saborosos, que beneficiem a saúde vem estimulando o estudo da incorporação de ingredientes funcionais que agreguem valores sem afetar as propriedades físicas e sensoriais dos produtos. A intensa utilização de aditivos na indústria de confeitos e sua importância econômica e tecnológica fazem-se necessário o estudo científico de novas fontes de corantes, adoçantes e gelificantes (Porto et al., 2022; Kassam et al., 2021; Fanzo et al., 2020).

Baseado nestas premissas, como alternativa para produtos considerados guloseimas e o aproveitamento racional de plantas nativas, verifica-se a potencialidade de desenvolvimento de alimentos utilizando *ora-pro-nobis* e estévia. Essas plantas apresentam importância alimentícia, medicinal e industrial, comprovada por diversos trabalhos científicos (Porto et al., 2022; Borgo et al., 2021; Silva et al., 2021; Silva et al., 2019; Tirado, 2019; Ruiz-Ruiz et al., 2017; Mandelli, 2016; Barba et al., 2014; Goyal et al., 2010).

Os hidrocolóides, encontrados nas folhas e frutos da *ora-pro-nobis* podem ser testados e utilizados como ingredientes funcionais/tecnológicos e podem servir para o controle da textura e como agente gelificante, espessante e estabilizante em formulações de balas de gomas. O edulcorante presente na folha de estévia auxilia na redução da utilização de açúcares convencionais para obtenção de sabor doce. O teor de proteína encontrada na planta *Pereskia* é superior aos encontrados na carne e outros vegetais, sendo um substituto para pessoas que não consomem produtos de origem animal e um método alternativo para o aproveitamento de espécies sem valor comercial.

A busca de alimentos alternativos, sem açúcar, de baixo custo e com elevado potencial nutricional, tem potencializado a procura por novas plantas e a elaboração de produtos que atendam a demanda da sociedade. Esse tipo de produto poderia ter adesão às tendências *plant-based*, alimentos PANC e veganos, visando à promoção de um sistema alimentar inclusivo, saudável e sustentável. Portanto, a substituição do açúcar pelo edulcorante natural encontrado na planta da estévia e da gelatina pela mucilagem encontrada nas folhas da *ora-pro-nobis* constitui um potencial de mercado a ser explorado.

A indústria de alimentos vem se adequando ao novo perfil do consumidor, preocupados com a estreita relação alimentação-saúde-doença, exigindo para isso estratégias de mercado e oportunidades a serem exploradas neste setor. Para elaboração de novos produtos, profissionais da área devem buscar e analisar as estratégias viáveis à realidade da empresa/agroindústria, região e do mercado, realizar pesquisas exploratórias com base na revisão literária sobre inovação, desenvolvimento de novos produtos, características tecnológicas referentes ao processo, matéria-prima/ingrediente/insumo e da vida útil.

O equilíbrio entre a formulação (combinação entre os ingredientes, insumos e matérias-primas), processo de produção e métodos de conservação (embalagem) garantirá o sucesso de uma bala de goma de qualidade sensorial adequada ao perfil do consumidor e com desejada segurança alimentar.

A substituição de gelificante e adoçante tradicional por outro inovador terá como desafio a obtenção de um produto similar ao que vem sendo ofertado ao consumidor, com aceitação global de sabor, aroma e textura.

Após o estudo realizado, como desafios para elaboração deste tipo de produto podemos destacar:

- A realização de experimentos preliminares, variando teores de concentração de *ora-pro-nobis* e estévia, para obtenção de um produto com textura, dureza e consistência similar ao encontrado no mercado;

- realização de experimentos preliminares para verificação do melhor uso das plantas, se na forma *in natura*, folhas desidratadas ou em forma de pó;
- realização de experimentos visando o uso da mucilagem presente nas folhas e/ou frutos da *ora-pro-nobis*, como substituto ou complemento de agentes gelificantes tradicionais;
- após a realização de experimentos preliminares, efetuar planejamentos experimentais para avaliar as concentrações otimizadas de *ora-pro-nobis* e estévia, como variáveis e como resposta a textura, dureza e consistência do produto final;
- após otimização, efetivar a caracterização do produto final, avaliando as propriedades físico-químicas (pH e umidade), nutricionais (proteínas, cinzas, carboidratos, lipídeos e fibras) e funcionais (atividade antioxidante, teor de carotenóides, flavonóides e compostos fenólicos);
- avaliação microbiológica do produto final;
- avaliação da vida útil do produto em diferentes tipos de embalagens;
- avaliação mercadológica; e,
- avaliação da perspectiva de aumento de vendas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Acredita-se que a proposta de elaboração de bala de goma, com a inclusão de *ora-pro-nobis* e estévia como ingrediente tecnológico e funcional, indicada neste estudo, seja viável para uma produção em pequena escala, onde o produtor pode cultivar as plantas em sua propriedade e produzir o produto. Com a perspectiva de aceitação mercadológica, o produtor poderá ver o aumento da produção em escala gradual. O incentivo quanto à segurança alimentar e nutricional foi retratado com a aplicação de alimentos com fins funcionais e nutraceuticos, porém deve-se destacar o cuidado com a segurança dos alimentos quando se trata da produção de bala de goma, oferecendo ao consumidor um alimento isento de perigos químicos, físicos e microbiológicos. Portanto, sugere-se a realização de análises preliminares em pequena escala para definição dos limites mínimos e máximos dos diferentes ingredientes, visando a aceitação sensorial do produto final e o estabelecimento das condições adequadas de vida útil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul-Wahab, I. R., Guilhon, C. C., Fernandes, P. D., & Boylan, F. (2012). Anti-nociceptive activity of *Pereskia bleo* Kunth.(Cactaceae) leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 144(3), 741-746. DOI: 10.1016/j.jep.2012.10.029
- ABICAB. Associação Brasileira de Indústrias de Chocolate, Amendoim e Balas. (2020). *Balas e gomas: produção, exportação e importação em volume (mil ton.)*. Associados – Coleta dos dados KPMG/ComexStat – Elaboração: Abicab,.

- Achumi, L. V., Peter, E. R. S., & Das, A. (2018). Studies on preparation of gummy candy using pineapple juice and carrot juice. *International Journal of Chemical Studies*, 6(5), 1015-1018.
- Agulló, V., García-Viguera, C., & Domínguez-Perles, R. (2022). The use of alternative sweeteners (sucralose and stevia) in healthy soft-drink beverages, enhances the bioavailability of polyphenols relative to the classical caloric sucrose. *Food Chemistry*, 370, 131051. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.131051
- Alipal, J., Pu'ad, N. A. S. M., Lee, T. C., Nayan, N. H. M., Sahari, N., Basri, H., Idris, M. I. & Abdullah, H. Z. (2021). A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings*, 42, 240-250. DOI: 10.1016/j.matpr.2020.12.922
- Almeida, F. V. M. (2020). *Doka'a be'ë à estévia, da estévia ao ka'a be'ë: conhecimentos tradicionais, ciência, tecnologia e mercadoria*. Tese, UnB, Brasília, Brasil.
- Almeida, M. E. F., Junqueira, A. M. B., Simão, A. A., & Corrêa, A. D. (2014). Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como *ora-pro-nobis*. *Biological Sciences*, 30, 431-439.
- Amaral, T. N., Junqueira, L. A., Prado, M. E. T., Cirillo, M. A., Abreu, L. R., Costa, F. F., & Resende, J. V. (2018). Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage, guar gum, and gum *Arabic* added to fermented milk beverages. *Food Hydrocolloids*, 79, 331-342. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.01.009
- Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 914-922. DOI: 10.1016/j.yrtph.2015.09.026
- Amjadi, S., Ghorbani, M., Hamishehkar, H., & Roufegarinejad, L. (2018). Improvement in the stability of betanin by liposomal nanocarriers: Its application in gummy candy as a food model. *Food Chemistry*, 256, 156-162. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.02.114
- Aranda-González, I., Tamayo-Dzul, Ó., Barbosa-Martín, E., Segura-Campos, M., Moguel-Ordoñez, Y., & Betancur-Ancona, D. (2015). Desarrollo de una golosina tipo "gomita" reducida en calorías mediante la sustitución de azúcares con *Stevia rebaudiana* B. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), 334-340. DOI: 10.3305/nh.2015.31.1.8013
- Avelar, M. H. M., & Efraim, P. (2020). Alginate/pectin cold-set gelation as a potential sustainable method for jelly candy production. *LWT*, 123, 109119. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109119
- Barba, F. J., Criado, M. N., Belda-Galbis, C. M., Esteve, M. J., & Rodrigo, D. (2014). *Stevia rebaudiana* Bertoni as a natural antioxidant/antimicrobial for high pressure processed fruit extract: Processing parameter optimization. *Food Chemistry*, 148, 261-267. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.10.048
- Beltrami, M.C., Döring, T., & Lindner, J.D. (2018). Sweeteners and sweet taste enhancers in the food industry. *Food Science and Technology*, 38(2), 181-187. DOI: 10.1590/fst.31117
- Borgo, J., Laurella, L. C., Martini, F., Catalán, C. A. N., & Sülsen, V. P. (2021). *Stevia* genus: Phytochemistry and biological activities update. *Molecules*, 26(9), 2733. DOI: 10.3390/molecules26092733

- Brack, P., Köhler, M., Corrêa, C. A., Ardisson, R. E., Sobral, M. E. G., & Kinupp, V. F. (2020). Frutas nativas do Rio Grande do Sul, Brasil: riqueza e potencial alimentício. *Rodriguésia*, 71. DOI:10.1590/2175-7860202071091
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2010). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 45, de 03 de novembro de 2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Diário Oficial da União (DOU) nº 212, de 05 de novembro de 2010.
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2008). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 18, de 24 de março de 2008. Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. Diário Oficial da União (DOU) nº 57, de 25 de março de 2008.
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2005a). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 265, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para balas, bombons e gomas de marcar. Diário Oficial da União (DOU) nº 184, de 23 de setembro de 2005.
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2005b). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para açúcares e produtos para adoçar. Diário Oficial da União (DOU) nº 184, de 23 de setembro de 2005.
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (1999). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 387, de 05 de agosto de 1999. Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos: balas, confeitos, bombons, chocolates e similares. Diário Oficial da União (DOU) nº 151-E, de 09 de agosto de 1999.
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (1997). Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Regulamento técnico de aditivos alimentares: definições, classificação e emprego. Diário Oficial da União (DOU) nº 208, de 28 de outubro de 1997.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). (2018). Instrução Normativa nº47, de 30 de agosto de 2018. Regulamento técnico do açúcar.
- Brasil, Ministério da Saúde (MS). (2011). Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.
- Canteri, M. H. G., Moreno, L., Wosiacki, G., & Scheer, A. P. (2012). Pectina: Da matéria-prima ao produto final. *Polímeros*, 22(2), 149-157. DOI: 10.1590/S0104-14282012005000024
- Cedeño-Pinos, C., Martínez-Tomé, M., Murcia, M. A., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2020). Assessment of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract as antioxidant in jelly candies made with fructan fibres and stevia. *Antioxidants*, 9(12), 1289. DOI: 10.3390/antiox9121289

- Cruz, T. M., Santos, J. S., Carmo, M. A. V., Hellström, J., Pihlava, J. M., Azevedo, L., Granato, D. & Marques, M. B. (2021). Extraction optimization of bioactive compounds from *ora-pro-nobis* (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. *Food Chemistry*, 361, 130078. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130078
- Dala-Paula, B.M. (2021). *Química & Bioquímica de Alimentos*. Alfenas-MG: Universidade Federal de Alfenas.
- Delgado, P., & Bañón, S. (2015). Determining the minimum drying time of gummy confections based on their mechanical properties. *CyTA-Journal of Food*, 13(3), 329-335. DOI: 10.1080/19476337.2014.974676
- DeMars, L. L., & Ziegler, G. R. (2001). Texture and structure of gelatin/pectin-based gummy confections. *Food Hydrocolloids*, 15(4-6), 643-653. DOI: 10.1016/S0268-005X(01)00044-3
- Denardin, C. C., & Silva, L. P. (2009). Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, 39(3), 945-954. DOI: 10.1590/S0103-84782009005000003
- Ergun, R., Lietha, R., & Hartel, R. W. (2010). Moisture and shelf life in sugar confections. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(2), 162-192. DOI: 10.1080/10408390802248833.
- Fanzo, J., Drewnowski, A., Blumberg, J., Miller, G., Kraemer, K., & Kennedy, E. (2020). Nutrients, foods, diets, people: Promoting healthy eating. *Current Developments in Nutrition*, 4(6). DOI: 10.1093/cdn/nzaa069
- Garcia, J. A. A., Corrêa, R. C. G., Barros, L., Pereira, C., Abreu, R. M. V., Alves, M. J., Calhella, R. C., Bracht, A., Peralta, R. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. *Food chemistry*, 294, 302-308. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.05.074
- Garcia, T., & Penteadó, M. V. C. (2005). Qualidade de balas de gelatina fortificadas com vitaminas A, C e E. *Food Science and Technology*, 25(4), 743-749. DOI: 10.1590/S0101-20612005000400019
- Ge, H., Wu, Y., Woshnak, L. L., & Mitmesser, S. H. (2021). Effects of hydrocolloids, acids and nutrients on gelatin network in gummies. *Food Hydrocolloids*, 113, 106549. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106549
- Goyal, S. K., Samsheer, & Goyal, R. K. (2010). Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *International journal of food sciences and nutrition*, 61(1), 1-10. DOI: 10.3109/09637480903193049
- Hani, N. M., Romli, S. R., & Ahmad, M. (2015). Influences of red pitaya fruit puree and gelling agents on the physico-mechanical properties and quality changes of gummy confections. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 331-339. DOI: 10.1111/ijfs.12638
- Hartel, R. W., Elbe, J. H. V., & Hofberger, R. (2018). *Confectionery science and technology*. Volume 536. Cham, Switzerland: Springer.

- Kassam, S., Jenkins, D., Bristor, D., & Kassam, Z. (2021). Healthy diets as a guide to responsible food systems. *Rethinking Food and Agriculture*, 323-352. DOI: 10.1016/B978-0-12-816410-5.00015-3
- Kinupp, V. F., & Lorenzi, H. J. (2014). *Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: Guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas*. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora.
- Kobayasi, T. M., Palmieri, D. A., Bertão, M. R. (2021). Caracterização da mucilagem de ora-pro-nóbis e produção de filmes biodegradáveis em combinação com aditivos glicerol e sorbitol. *XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp: agenda 2030 e as perspectivas da Iniciação Científica da Unesp*, 33.
- Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., & Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food hydrocolloids*, 17(4), 455-462. DOI: 10.1016/S0268-005X(03)00027-4
- Lima Filho, O. F., Valois, A. C. C., & Lucas, Z. M. (2004). Estévia. *Embrapa Agropecuária Oeste-Sistema de Produção (INFOTECA-E)*.
- Lucca, A. (2017). *Extração, caracterização e aplicação do biopolímero da planta Pereskia aculeata miller como auxiliar coagulante/floculante no processo de tratamento de água*. Dissertação, UTFPR, Pato Branco, Paraná, Brasil.
- Machado, C. T. (2020). *Bala de gelatina com colágeno hidrolisado e microcápsulas de maracujá (Passiflora edulis)*. Dissertação, UFS, São Cristóvão, Sergipe, Brasil.
- Mandelli, M. K. L. M. (2016). *Avaliação dos parâmetros nutricionais e potencial antioxidante do fruto de Ora-pro-nobis (Pereskia aculeata Miller)*. Monografia, UTFPR, Pato Branco, Paraná, Brasil.
- Marfil, P. H. M., Anhô, A. C. B. M., & Telis, V. R.N. (2012). Texture and microstructure of gelatin/corn starch-based gummy confections. *Food Biophysics*, 7(3), 236-243. DOI:10.1007/s11483-012-9262-3
- Martin, A. A., Freitas, R. A., Sasaki, G. L., Evangelista, P. H. L., & Sierakowski, M. R. (2017). Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*. *Food Hydrocolloids*, 70, 20-28. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.03.020
- Massocatto, A. M., Silva, N. F. S., Kazama, C. C., Pires, M. D. B., Takemura, O. S., Jacomassi, E., Ruiz, A. L. T. G., & Laverde Junior, A. (2022). Biological activity survey of *Pereskia aculeata* Mill. and *Pereskia grandifolia* Haw.(Cactaceae). *Pharmaceutical Sciences*, 28 (1), 156-165. DOI: 10.34172/PS.2021.27
- Milião, G. L., Oliveira, A. P. H., Soares, L. S., Arruda, T. R., Vieira, É. N. R., & Junior, B. R. C. L. (2022). Unconventional food plants: Nutritional aspects and perspectives for industrial applications. *Future Foods*, 5, 100124. DOI: 10.1016/j.fufo.2022.100124
- Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current opinion in Plant Biology*, 11(3), 266-277. DOI: 10.1016/j.pbi.2008.03.006
- Moraes, T. V., Montenegro, J., Marques, T. S., Evangelista, L. M., Rocha, C. B., Teodoro, A. J., Kato, L., & Moreira, R. F. A. (2021). Perfil fitoquímico e atividade antioxidante de flores e frutos de *Pereskia aculeata* Miller. *Scientia Plena*, 17(5). DOI: 10.14808/sci.plena.2021.051503

- Moraes, T.V., Ferreira, J.P.G., & Moreira, R.F.A. (2020). Essential oils of the genus *Pereskia*: A literature review. *Research, Society and Development*, 9(5). DOI: 10.33448/rsd-v9i5.3357
- Nalesso-Leao, C. C. F., Milani, P. G., Formigoni, M., Zorzenon, M. R. T., Dacome, A. S., Monteiro, A. R. G., & Costa, S. C. (2020). Substituting sucralose with rebaudioside A in soy foods: equivalent sweetness, physicochemical analysis, microbiological assessment and acceptance test. *Food Science and Technology*, 40, 410-414. DOI: 10.1590/fst.30119
- Oliveira, N. L., Rodrigues, A. A., Neves, I. C. O., Lago, A. M. T., Borges, S. V., & de Resende, J. V. (2019). Development and characterization of biodegradable films based on *Pereskia aculeata* Miller mucilage. *Industrial Crops and Products*, 130, 499-510. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.01.014
- Otálora, M. C., Barbosa, H. J., Perilla, J. E., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2019). Encapsulated betalains (*Opuntia ficus-indica*) as natural colorants. Case study: Gummy candies. *LWT*, 103, 222-227. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.12.074
- Pedrolli, D. B., Monteiro, A. C., Gomes, E., & Carmona, E. C. (2009). Pectin and pectinases: production, characterization and industrial application of microbial pectinolytic enzymes. *The Open Biotechnology Journal*, 3, 9-18. DOI: 10.2174/1874070700903010009
- Periche, Á., Castelló, M. L., Heredia, A., & Escriche, I. (2016). *Stevia rebaudiana*, oligofructose and isomaltulose as sugar replacers in marshmallows: Stability and antioxidant properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(4), 724-732. DOI: 10.1111/jfpp.12653
- Pinto, N. C. C., Machado, D. C., Silva, J. M., Conegundes, J. L. M., Gualberto, A. C. M., Gameiro, J., Chedier, L. M., Castañón, M. C. M. N., & Scio, E. (2015). *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 330-337. DOI: 10.1016/j.jep.2015.07.032
- Pinto, N. C. C., & Scio, E. (2014). The biological activities and chemical composition of *Pereskia* species (Cactaceae)-A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(3), 189-195. DOI: 10.1007/s11130-014-0423-z
- Pinto, N. C. C., Santos, R., Machado, D. C., Florêncio, J. R., Fagundes, E. M. Z., Antinarelli, L. M. R., Coimbra, E. S., Ribeiro, A., & Scio, E. (2012). Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. *Pharmacologyonline*, 3, 63-69.
- Porto, F. G. S., Campos, Á. D., Carreño, N. L. V., & Garcia, I. T. S. (2022). *Pereskia aculeata* leaves: properties and potentialities for the development of new products. *Natural Product Research*, 1-12. DOI: 10.1080/14786419.2021.2010070
- Renaldi, G., Junsara, K., Jannu, T., Sirinupong, N., & Samakradhamrongthai, R. S. (2022). Physicochemical, textural, and sensory qualities of pectin/gelatin gummy jelly incorporated with *Garcinia atroviridis* and its consumer acceptability. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28, 100505. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2022.100505
- Riggs, T. (2016). *How everyday products are made: Volume I*. Farmington Hills, MI:UXL.

- Rivero, R., Archaina, D., Sosa, N., & Schebor, C. (2021). Development and characterization of two gelatin candies with alternative sweeteners and fruit bioactive compounds. *LWT*, 141, 110894. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.110894
- Rivero, R., Archaina, D., Sosa, N., Leiva, G., Baldi Coronel, B., & Schebor, C. (2020). Development of healthy gummy jellies containing honey and propolis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(3), 1030-1037. DOI 10.1002/jsfa.10107
- Romo-Zamarrón, K. F., Pérez-Cabrera, L. E., & Tecante, A. (2019). Physicochemical and sensory properties of gummy candies enriched with pineapple and papaya peel powders. *Food and Nutrition Sciences*, 10(11), 1300-1312. DOI: 10.4236/fns.2019.1011094
- Ruiz-Ruiz, J. C., Moguel-Ordoñez, Y. B., & Segura-Campos, M. R. (2017). Biological activity of *Stevia rebaudiana* Bertoni and their relationship to health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12), 2680-2690. DOI: 10.1080/10408398.2015.1072083
- Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 587-597. DOI: 10.1007/s13197-010-0162-6
- Samuel, P., Ayooob, K. T., Magnuson, B. A., Wölwer-Rieck, U., Jeppesen, P. B., Rogers, P. J., Rowland, I., & Mathews, R. (2018). Stevia leaf to stevia sweetener: Exploring its science, benefits, and future potential. *The Journal of Nutrition*, 148(7), 1186S-1205S. DOI: 10.1093/jn/nxy102
- Silva, S. H., Neves, I. C. O., Meira, A. C. F. O., Alexandre, A. C. S., Oliveira, N. L., & Resende, J. V. (2021). Freeze-dried Petit Suisse cheese produced with ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) biopolymer and carrageenan mix. *LWT*, 149, 111764. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111764
- Silva, S. B., Formigoni, M. A., Zorzenon, M. R., Milani, P. G., Dacome, A. S., Seixas, F. A. V., & Costas, S. C. D. (2020). Development of diet cereal bar sweetened with stevia leaves pre-treated with ethanol. *Food Science and Technology*, 40(4), 894-901. DOI: 10.1590/fst.19319
- Silva, S. H., Neves, I. C. O., Oliveira, N. L., Oliveira, A. C. F., Lago, A. M. T., Giarola, T. M. O., & Resende, J. V. (2019). Extraction processes and characterization of the mucilage obtained from green fruits of *Pereskia aculeata* Miller. *Industrial Crops and Products*, 140, 111716. DOI 10.1016/j.indcrop.2019.111716
- Silva, L. W. (2019). *Potencial tecnológico da folha da Pereskia aculeata Miller (ora-pro-nóbis): Uma Revisão*. 2019. Monografia, UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
- Silva, D. O., Seifert, M., Schiedeck, G., Dode, J. S., & Nora, L. (2018). Phenological and physicochemical properties of *Pereskia aculeata* during cultivation in south Brazil. *Horticultura Brasileira*, 36(3), 325-329. DOI: 10.1590/S0102-053620180307
- Simensato, L. A., & Bueno, S. M. (2019). Importância da qualidade da água na indústria de alimentos. *Revista Científica*, 1(1).

- Tirado, M. D. S. (2019). *Produção in vitro e in vivo, análise química e avaliação do potencial antioxidante de raízes de Pereskia aculeata Miller (Cactaceae)*. Dissertação, IBRAG, UERJ, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.
- Torres, T. M. S., Álvarez-Rivera, G., Mazzutti, S., Sánchez-Martínez, J. D., Cifuentes, A., Ibáñez, E., & Ferreira, S. R. S. (2022). Neuroprotective potential of extracts from leaves of *ora-pro-nobis* (*Pereskia aculeata*) recovered by clean compressed fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*, 179, 105390. DOI: 10.1016/j.supflu.2021.105390
- Wang, R., & Hartel, R. W. (2022). Citric acid and heating on gelatin hydrolysis and gelation in confectionery gels. *Food Hydrocolloids*, 129, 107642. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2022.107642
- Willats, W. G. T., Knox, J. P., & Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 97-104. DOI: 10.1016/j.tifs.2005.10.008
- Wujie, Zhufei, & Xujing. (2011). The influence of water quality on food quality and the treatment of water for food processing. *Procedia Environmental Science*, 10, 2671-2676. DOI: 10.1016/j.proenv.2011.09.415
- Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D., & Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. *Canadian Journal of Plant Science*, 91(1), 1-27. DOI: 10.4141/cjps10086

Peixe fresco: aspectos nutricionais, físico-químicos e microbiológicos

Recebido em: 23/06/2022

Aceito em: 25/06/2022

 10.46420/9786581460464cap2

Joabe Bernardo Ribeiro¹ 

Wesclen Vilar Nogueira^{2*} 

Ricardo Henrique Bastos de Souza³ 

Juliana Ferraz Huback Rodrigues⁴ 

Rute Bianchini Pontuschka⁵ 

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) por meio do relatório “*The State of World Fisheries and Aquaculture*”, a produção de pescado em 2018, incluindo os setores aquícola e extrativista, ultrapassou 200 milhões de toneladas (t) (FAO, 2020). Para vias de definição, o termo pescado compreende os peixes, os crustáceos, os moluscos, os anfíbios, os quelônios e os mamíferos de água doce ou salgada, utilizados na alimentação humana (Brasil, 2017). Dentre as espécies de pescado produzidas em 2018, 179 milhões de t correspondem a peixes. Do total produzido, 156 milhões de toneladas foram utilizadas para consumo humano, principalmente na forma de peixe fresco. As restantes 22 milhões de t foram destinadas a usos não alimentares, principalmente para a produção de farinha e óleo de peixe (FAO, 2020). O consumo de peixe fresco tem aumentado nos últimos anos por ser considerado um alimento mais nutritivo e saboroso quando comparado aos industrializados ou congelados (Abdollahpour et al., 2018). Isto está relacionado ao fato de esse produto não ter passado por processos drásticos (e.g., calor, enlatamento ou congelamento), métodos esses que, embora contribuam para o aumento da vida de prateleira do alimento, podem causar perda de nutrientes e/ou alteração nas características sensoriais (Minozzo, 2011).

Quando se trata de peixe fresco, a manutenção do frescor é de particular importância pelo fato de ser um alimento altamente perecível devido às suas características intrínsecas, de forma que após a morte iniciam diversas alterações químicas, sensoriais e microbiológicas (Presenza et al., 2021). O peixe fresco tem prazo de validade extremamente curto, portanto, as Boas Práticas na cadeia desse produto

¹ Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Departamento de Engenharia de Pesca, Presidente Médici, RO, Brasil.

² Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Escola de Química e Alimentos, Rio Grande, RS, Brasil.

³ Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Departamento de Engenharia de Pesca, Presidente Médici, RO, Brasil.

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO, Departamento de Zootecnia, Cacoal, RO, Brasil.

⁵ Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Departamento de Engenharia de Pesca, Presidente Médici, RO, Brasil.

* Autor de correspondência: wesclenvilar@gmail.com e rutepont@unir.br

devem ser observadas desde o momento da captura até que chegue ao consumidor final (Nunes et al., 2007).

O frescor é um dos aspectos que determina a qualidade de alimentos não processados, assim como a segurança, as propriedades sensoriais e o valor nutricional (Oetterer et al., 2014). Na verdade, o frescor é um atributo que varia continuamente e tende a ser perdido ao longo do tempo (Presenza et al., 2022). Em relação ao pescado, pode-se dizer que este é fresco quando apresenta propriedades similares às que possuía em vida. O Artigo 333 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal estabelece que, “pescado fresco é aquele que não foi submetido a qualquer processo de conservação, a não ser pela ação do gelo, mantido em temperaturas próximas à do gelo fundente, com exceção daqueles comercializados vivos” (Riispoa, 2020). A qualidade do peixe fresco, especificamente, está disposta no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco, Portaria nº 185 de 13 de maio de 1997 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que define peixe fresco como “produto obtido de espécimes saudáveis e de qualidade adequada para o consumo humano, convenientemente lavado e que seja conservado somente pelo resfriamento a uma temperatura próxima a do ponto de fusão do gelo” (Brasil, 1997).

Desta forma, em virtude da alta exploração do pescado, neste capítulo foram compiladas informações referentes à cadeia de produção de pescado fresco, mais especificamente a cadeia de produção de peixe.

PEIXE COMO ALIMENTO E PRODUÇÃO PISCÍCOLA NO BRASIL

A média mundial relativa ao consumo de pescado bateu recorde em 2020, atingindo 20,5 kg/habitante/ano. No Brasil, segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, o consumo de pescado no Brasil em 2020 foi de apenas 10 kg/habitante/ano, abaixo do recomendado (12 kg/habitante/ano) (FAO, 2020). Quando se refere especificamente ao consumo de peixe, esse valor é de aproximadamente 9 kg/habitante/ano. No entanto, na região amazônica, o consumo de peixe pelas comunidades ribeirinhas está próximo de 150 kg/habitante/ano (Oliveira et al., 2010). Para as demais regiões brasileiras, o baixo consumo está relacionado à falta de padrão de distribuição e pouca aceitação do seu cheiro e sabor, principalmente para pescados comercializados em feiras livres. Além disso, devem ser considerado os fatores socioeconômicos (Matos et al., 2019). No entanto, o consumo de pescado no Brasil vem aumentando ao longo dos anos, o que estimula a produção. Mesmo com incertezas e desafios, a produção de peixe no Brasil cresceu 5,93% em 2020 (Figura 1), atingindo valores superiores a 800 mil t quando comparado a 2019 (758.006 t) de acordo com informações da Associação Brasileira da Piscicultura (Peixe BR, 2021).

Dentre as espécies produzidas, a tilápia (*Oreochromis* sp.) apresentou despesca de 486,1 mil t, representando 60,6% da produção de peixes do país em 2020. Os peixes nativos, principalmente o tambaqui (*Colossoma macropomum*), continuam representando um segmento importante, porém apresentou

produção reduzida (3,2%), caindo de 287.930 t em 2019 para 278.671 t em 2020. Além disso, o país apresenta cultivo considerável de outras espécies (e.g., carpas, trutas). Além disso, a produção nacional deve crescer ainda mais devido à liberação para produção de espécies pertencentes ao gênero *Pangasius* (*P. bocourti* e *P. hypophthalmus*), pois as condições climáticas são favoráveis (Peixe BR, 2021).

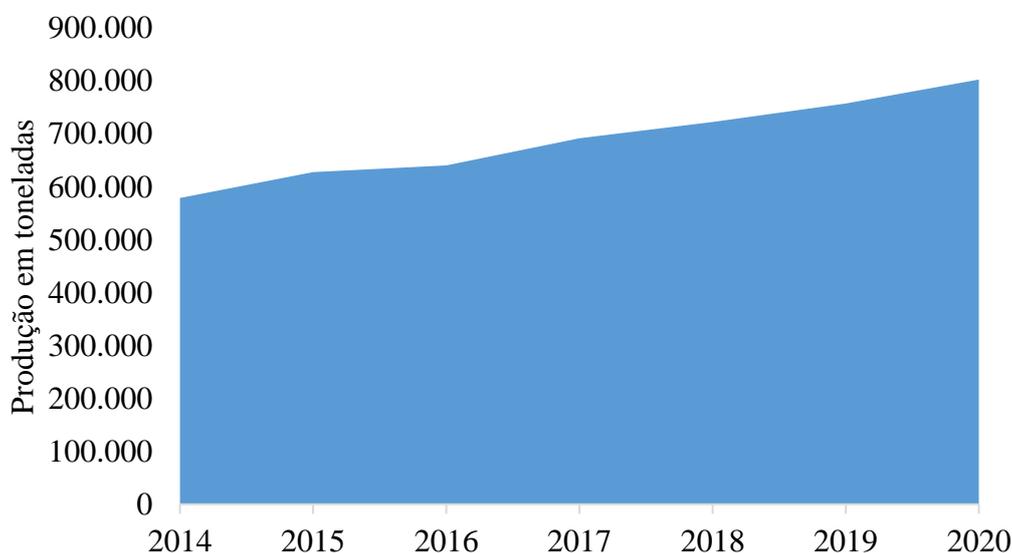


Figura 1. Crescimento da produção de peixe no Brasil. Fonte: Peixe BR (2021).

Independente da espécie, os peixes são excelente fonte de proteínas com digestibilidade e valor biológico significativos, contendo todos os aminoácidos essenciais, destacando-se a lisina, pelos seus altos teores (Oetterer et al., 2006). A gordura do peixe também é diferenciada devido à presença de ácidos graxos poli-insaturados, devendo ainda ser mencionados os minerais, os lipídios e as vitaminas (Tilami; Sampels, 2018). Em termos percentuais, a composição química do peixe é basicamente água (60 % a 80 %), proteína (cerca de 20 %), lipídios (0,5 % a 10 %) e sais minerais (0,8 % a 2 %) (Bressan; Peres, 2001).

Um dos principais destaques dos peixes, do ponto de vista nutricional, está relacionado à quantidade de ácidos graxos ômega-3, principalmente o eicosapentaenoico (EPA) e o docosaexaenoico (DHA), que participam de diversos processos metabólicos e fisiológicos no organismo humano. Esses nutrientes são essenciais, pois não podem ser sintetizados pelo organismo. Dentre os efeitos benéficos do ômega-3 estão os relacionados à prevenção de doenças cardíacas, pois ajudam o coração a bater em ritmo constante e melhoram a circulação sanguínea (Leaf, 2007). O limite de segurança para ingestão de EPA e DHA é de 2 g dia/per capita, já que o consumo excessivo pode ser maléfico (FAO, 2010). A Tabela 1 apresenta a quantidade de ácidos graxos ômega-3 EPA e DHA em alguns peixes.

As diferenças entre espécies, fisiologia, idade, além da região e época de captura são fatores que determinam a composição química da carne do peixe, sendo que quanto maior a idade do animal, maior a concentração de gordura e menor a de água (Pereda et al., 2005). Além disso, alguns fatores podem influenciar no tempo de vida útil. Dentre estes, os métodos de captura se destacam, pois caso o animal

sofra estresse nesta etapa, as reservas energéticas serão reduzidas, influenciando em eventos bioquímicos posteriores, como o rigor mortis, que ocorrerá mais rapidamente, o que não é desejável (Ribas et al., 2007).

Tabela 1. Teor de ácidos graxos em 100 g de parte comestível crua. Fonte: NEPEA (2011).

Espécie	Saturados	Monoinsaturados	Poli-insaturados	EPA	DHA
Abadejo (<i>Genypterus blacodes</i>)	0,1	0,1	0,1	0,01	0,08
Bacalhau (<i>Gadus morrhbus</i>)	0,6	0,3	0,2	0,02	0,06
Cação (<i>Carcharhinus</i> spp.)	0,1	0,1	0,2	0,02	0,10
Corimba (<i>Prochilodus lineatus</i>)	2,5	2,3	0,3	0,04	0,03
Lambari (<i>Astyanax taeniatus</i>)	3,4	3,3	1,1	0,10	0,12
Merluza (<i>Merluccius hubbsi</i>)	0,9	0,5	0,4	0,03	0,11
Pescada (<i>Macrondon onchylodon</i>)	0,9	2,3	0,3	0,06	0,13
Pescadinha (<i>Cynoscion striatus</i>)	0,3	0,2	0,4	0,09	0,23
Pintado (<i>Pseudoplatistoma coruscans</i>)	0,6	0,4	0,1	0,01	0,01
Salmão (<i>Salmo salar</i>)	2,5	2,9	3,1	0,43	0,46
Sardinha (<i>Sardinella brasiliensis</i>)	1,7	0,5	0,2	0,01	0,06
Tucunaré (<i>Cichla monoculus</i>)	0,6	0,4	0,4	0,03	0,12

ABATE DO PESCADADO

As condições humanitárias devem prevalecer em todos os momentos precedentes ao abate, garantindo que os animais sejam abatidos sem sofrimentos desnecessários. A Portaria nº 365 de 16 de julho de 2021 do MAPA aprovou o Regulamento Técnico de Manejo Pré-abate e Abate Humanitário e os métodos de insensibilização. Esta legislação tem como alvo o abate dos animais de açougue e de pescado. Porém, no Art. 4º, inciso VIII, em sua definição de pescado, a Portaria se reporta apenas aos “anfíbios e os répteis abatidos em estabelecimentos sob inspeção veterinária oficial”, não incluindo, assim, os peixes (Brasil, 2021).

De qualquer forma, o abate humanitário para peixes precisa ser considerado já que são animais sencientes. Pedrazzani et al. (2007), abordaram esse tema com o intuito de saber qual a opinião das pessoas sobre a senciência (capacidade de se ter consciência de sensações e sentimentos) dos peixes. Os resultados indicaram que 87 % dos entrevistados acreditavam que os peixes podem sentir dor e apenas 10 % disseram que não. Segundo esses mesmos autores, a questão da dor tem grande significado para o bem-estar animal. O sistema relacionado à consciência da dor inclui uma análise cerebral complexa e se sabe que as estruturas do cérebro que transmitem a dor em outros vertebrados também são encontradas em peixes (Learmonth, 2020). Por isso, por parte de alguns existe preocupação relacionada aos métodos

de insensibilização de peixes antes do abate (Viegas et al., 2012). A insensibilização influenciará diretamente na qualidade do produto, visto que proporciona o abate ideal, causando menos prejuízo à carne do pescado. Além disso, o abate deve ser fácil, rápido e higiênico. Logo, o abate deve ser realizado em duas etapas. Na primeira, o animal precisa ser insensibilizado e, na segunda, é provocada a morte pelos métodos cabíveis. Para peixe, há vários métodos para o abate, dentre eles: choque elétrico, percussão craniana, secção da medula, imersão em dióxido de carbono (CO_2) e choque térmico (termonarcese) (Silva, 2016).

Dentre os métodos, a aplicação de choque elétrico parece ser um dos melhores para o animal, pois causa menos estresse (Galhardo & Oliveira, 2006). No entanto, é necessário ter conhecimento da voltagem e tempo de exposição para que não ocorra o comprometimento do músculo dos peixes com a ocorrência de hemorragias (Nordgreen et al., 2008; Vargas et al., 2013). Abate por meio de percussão craniana também está entre os mais adequados, pois assegura a perda permanente de sensibilidade (Lines et al., 2003). Quanto à secção de medula, é também um método eficaz na insensibilização do animal, podendo ser realizada com uso de faca afiada introduzida em um dos opérculos do peixe na posição de 30° até atingir a medula, realizando-se imediatamente a secção da mesma. O método de secção de medula é superior aos demais no tocante à insensibilização, minimizando consideravelmente o tempo de sofrimento comparativamente à termonarcese, por exemplo (Pedrazzani et al., 2008).

O choque térmico (termonarcese) é um dos métodos mais utilizados no abate do pescado, principalmente no Brasil. Neste método, o peixe é imerso na água com gelo, em temperatura próxima a 1°C (Libanori et al., 2020). Essa condição proporciona diminuição do metabolismo do animal e o consumo de oxigênio, até que ocorra a morte (Ribas et al., 2007). No entanto, esse método passa por alguns questionamentos, pois causa um longo sofrimento ao animal, com aumento do cortisol plasmático, irregularidade na frequência cardíaca, podendo ainda causar movimentos de fuga (Conte, 2004; Ashley, 2007). Viegas et al. (2012) expõem vários casos em que a insensibilização de peixes por esse método foi demorada, tendo chegado a 198 minutos em truta arco-íris. Ao ser mergulhado na água gelada o peixe fica imóvel, ou seja, aparentemente insensível, porém, mesmo paralisado o animal pode estar consciente (Kestin et al., 2002). Já o abate por imersão em água saturada com CO_2 causa muito estresse ao animal pois ocorre acidificação do meio. O CO_2 se dissolve originando H_2CO_3 (ácido carbônico) em equilíbrio com HCO_3^- e H^+ (Poli et al., 2005).

Desta forma, foram elaborados protocolos para o estudo da eficiência dos métodos de insensibilização (Kestin et al., 2002). As variáveis observadas logo após a aplicação das técnicas de insensibilização para detecção de inconsciência e insensibilização foram divididas em três grupos: (1) comportamentos espontâneos, envolvendo o comportamento natatório, o equilíbrio e o comportamento após pressão e alfinetada na cauda; (2) reflexos clínicos, incluindo o batimento opercular e o reflexo ocular; e (3) resposta ao estímulo doloroso. O emprego dos protocolos e conhecimento das técnicas de abate humanitário pelos produtores são necessárias, pois a falta de conhecimento promove, por parte de

alguns, a utilização de substâncias químicas anestésicas para reduzir o estresse dos peixes (e.g., óleo de cravo) (Inoue et al., 2005). No entanto, a aplicação de produtos químicos por ocasião do abate é uma prática inadequada por causa do consumo posterior da carne, pois pode haver risco de contaminação pela ingestão desses agentes químicos que se acumulam no músculo (Ribas et al., 2007).

Portanto, há uma necessidade de conscientização quanto ao abate humanitário dos peixes. São necessários investimentos nessa área, bem como o desenvolvimento de novos equipamentos para garantir bem-estar aos animais uma vez que as técnicas de captura, insensibilização e abate podem interferir na qualidade da carne (Pedrazzani et al., 2007). Assim, as condições humanitárias devem prevalecer em todos os momentos precedentes ao abate, a começar pelos métodos de captura, que provocam estresse, fazendo com que os peixes se esforcem tentando escapar, causando redução das reservas energéticas (glicogênio). Estas circunstâncias tornam a instalação do rigor mortis precoce, afetam o pH final da carne e, conseqüentemente, diminuem a qualidade do produto (Pereda et al., 2005; Bagni et al., 2007).

ALTERAÇÕES *POST-MORTEM* NO PESCADO

Rigor mortis

O *rigor mortis* ou rigidez cadavérica é uma contração muscular irreversível, ou seja, há perda da elasticidade dos músculos devido à actomiosina formada pelo complexo actina/miosina durante a contração muscular após a morte do animal e a concomitante falta de energia para que esse complexo seja desfeito (Fontenele et al., 2013). Após a morte, o metabolismo muscular torna-se anaeróbico. Assim, havendo reserva de glicogênio muscular, esse será metabolizado anaerobicamente até ácido lático, formando também duas moléculas de ATP que, por sua vez, serão usadas pelo músculo para manter o processo de contração e relaxamento. Desta forma, enquanto houver fonte de ATP, o músculo continuará flexível (Fennema et al., 2010).

Quanto mais durar o *rigor mortis*, menores serão as mudanças nas características da carne do pescado e maior será o tempo de prateleira, pois a formação do ácido lático reduz o pH da musculatura, retardando o desenvolvimento de micro-organismos. O pH da musculatura cai de 7 para cerca de 6,3 - 6,2 (Pereda et al., 2005). O *rigor mortis* têm três etapas (Tavares; Gonçalves, 2011). O pré-*rigor mortis* que ocorre entre a morte e o início da contração muscular. É caracterizada por músculos flexíveis e que respondem ao estímulo elétrico. É nessa fase que se acumula o ácido lático por causa da glicólise anaeróbica. Em seguida ocorre o *rigor mortis*, nesta fase ocorre o enrijecimento muscular irreversível por conta do esgotamento das reservas de energia. O pH chega ao seu valor mínimo e não há resposta ao estímulo elétrico. Nos peixes o rigor começa na cabeça e avança para cauda. Nessa fase pode-se utilizar a medição da curvatura para obter o índice do *rigor mortis* que pode ser estabelecido pela Equação 1, onde, D_0 corresponde a distância inicial entre a superfície da mesa e a base da nadadeira caudal e D_t a distância final entre a superfície da mesa e a base da nadadeira caudal.

$$\text{Rigor mortis (\%)} = [(Dt - D0) / D0] \times 100 \quad (1)$$

E por fim, o pós-*rigor mortis*, fase na qual o músculo recupera parte da maciez que havia no pré-*rigor*. O amolecimento do músculo está associado a atuação das calpains sobre as cadeias miofibrilares. Essas enzimas apresentam necessidade de utilização de cálcio para sua ativação. Durante essa etapa a concentração do íon cálcio no sarcoplasma aumenta durante o amaciamento devido à menor habilidade do retículo sarcoplasmático e da mitocôndria em acumulá-lo. De qualquer forma, o tema ainda é alvo de discussão e não é completamente entendido (Tavares; Gonçalves, 2011). Com a resolução do *rigor mortis* consolida-se o próximo passo dos eventos *post mortem*, a autólise (Lustosa Neto et al., 2016).

Autólise

Nessa fase, as enzimas do próprio pescado vão agir sobre a matéria orgânica. Enzimas do aparelho digestório e da carne tornam a superfície do peixe permeável, causando degradação dos tecidos (Pereda et al., 2005). Essas enzimas produzem substâncias que causam odor desagradável e provocam o amolecimento da carne (Argenta, 2012). Durante o processo de autólise há produção de aminoácidos a partir de proteínas digeridas enzimaticamente (proteólise). Concomitantemente, ocorre a lipólise, que gera aumento dos ácidos graxos livres. Outro processo degradativo que pode ocorrer é a oxidação lipídica dos ácidos graxos poli-insaturados liberados na lipólise, contribuindo com o odor indesejável (Fogaça; Sant’Ana, 2009). Desta forma, a lipólise e a proteólise propiciam no pescado um ambiente favorável aos micro-organismos ali presentes, pois esses se alimentam de nutrientes simplificados (Franco; Landgraf, 2008). Assim, o próximo passo é a degradação microbiana.

Degradação microbiana

O peixe possui bactérias tanto na superfície quanto no intestino. A biota bacteriana do pescado consiste de micro-organismos pertencentes principalmente aos gêneros *Flavobacterium*, *Acetivibacter*, *Moraxella* e *Pseudomonas*. Todos são naturais do ambiente e estão presentes no peixe vivo, pois o animal reflete a microbiota que está em seu habitat. Após a morte, essa flora terá uma ação deteriorativa sobre a matéria orgânica do pescado. Outro grupo de bactérias que pode contaminar e deteriorar o pescado são os coliformes termotolerantes, presentes em águas contaminadas por dejetos humanos ou de animais homeotérmicos (Pis-Ramírez et al., 2015; Silva-Rodrigues et al., 2020). Como fruto da decomposição bacteriana, há formação de várias substâncias como compostos sulfurados, amônia e aminas, alterando as características organolépticas do pescado como sabor, textura e odor, sem mencionar a perda nutricional (Rathod et al., 2021).

A ação dos micro-organismos, principalmente bactérias, ocorre predominantemente sobre as proteínas do pescado, que são hidrolisadas pelas enzimas bacterianas formando um “pool” de aminoácidos. Esses, então, são atacados por enzimas desaminases e carboxilases, também de origem

microbiana. Um exemplo importante é a descarboxilação da histidina, um aminoácido essencial, formando a histamina, que pode causar reações alérgicas em indivíduos mais sensíveis à substância (Filipec et al., 2021). Há ocorrência também da redução do óxido de trimetilamina (OTMA), composto inodoro naturalmente presente no pescado, formando a trimetilamina (TMA), de odor repugnante (Mohri; Kanauchi, 2018). Não se pode deixar de mencionar a decomposição da ureia (abundante nos elasmobrânquios), gerando amônia. Com exceção da histamina, que não tem odor, os demais compostos denunciam a perda de frescor (Ordóñez, 2005).

Fatores intrínsecos e extrínsecos que controlam o desenvolvimento microbiano

A velocidade dos processos de autólise e degradação microbiana em um alimento está intimamente ligada aos chamados fatores intrínsecos e extrínsecos. Os primeiros referem-se às características do próprio alimento, de modo que podem ou não favorecer os processos degradativos. Já os fatores extrínsecos referem-se às condições às quais o alimento é exposto. Os fatores intrínsecos do pescado são bastante favoráveis aos processos degradativos (Zhao et al., 2019).

A atividade de água é um dos fatores intrínsecos mais preponderantes no desenvolvimento microbiano. No alimento, a água está presente de três formas: i) água ligada ou água da monocamada. Esta porção da água está fortemente ligada aos grupos polares de carboidratos e proteínas. Não está disponível como solvente ou reativo. Fica ao redor do nutriente. É também denominada como água não congelável. ii) água parcialmente ligada. Esta forma pontes de hidrogênio com os nutrientes, é responsável pela hidratação de compostos solúveis, formando camadas de água. iii) água livre. Esta serve como meio reacional para enzimas, contribuindo com a autólise e como meio para o crescimento de micro-organismos (Fennema et al., 2010). A atividade de água, portanto, refere-se ao teor de água livre, disponível no alimento, sendo que valores próximos a 1 estão associados à alta perecibilidade e valores próximos a 0 estão associados à baixa perecibilidade (Silva et al., 2018). Entre os micro-organismos que exigem maior teor de água livre estão as bactérias, seguidas por bolores e leveduras. Alimentos que apresentam atividade de água abaixo de 0,60 não têm possibilidade de sofrer alteração por micro-organismos (Hoffmann, 2001).

O pH também é um relevante fator intrínseco na determinação do crescimento de micro-organismos, já que esses possuem valores de pH mínimo, ótimo e máximo para sua multiplicação (Tabela 2). Como o pescado, em grande parte, apresenta pH próximo à neutralidade (6,5 a 6,8) torna-se um produto favorável ao crescimento da maioria das bactérias (Cenci-Goga et al., 2020). Em relação à composição nutricional, as proteínas são consideradas os principais constituintes orgânicos dos tecidos dos peixes (Tabela 3), com proporções variando entre 15% e 25%. Isso está relacionado ao fato de as proteínas desempenharem várias funções. Algumas proteínas formam a fração sarcoplasmática, desempenham função contrátil e outras são responsáveis, principalmente, pela integridade dos músculos

(Soares; Gonçalves, 2012). Desta forma, a microbiota deteriorante em pescado será predominantemente proteolítica.

Tabela 2. Classificação dos alimentos em função do pH e micro-organismos predominantes. Fonte: Hoffman (2001).

Alimentos pouco ácidos	Alimentos ácidos	Alimentos muitos ácidos
<i>pH superior a 4,5</i>	<i>pH entre 4,0 e 4,5</i>	<i>pH inferior a 4,0</i>
Maioria das bactérias (patogênicas e deteriorantes)	Leveduras, bolores e algumas bactérias	Bolores e leveduras

Tabela 3. Composição para algumas espécies por 100 gramas de parte comestível crua. Fonte: NEPEA (2011).

Peixe	Proteína	Lipídeos	Kcal
Abadejo (<i>Genypterus blacodes</i>)	13,1	0,4	59
Bacalhau (<i>Gadus morrhbus</i>)	29,0	1,3	136
Cação (<i>Carcharhinus</i> spp.)	17,9	0,8	83
Corimba (<i>Prochilodus lineatus</i>)	17,4	6,0	128,0
Lambari (<i>Astyanax taeniatus</i>)	15,7	9,4	152,0
Merluza (<i>Merluccius hubbsi</i>)	16,6	2,0	89,0
Pescada (<i>Macrodon oncyodon</i>)	16,7	4,0	107
Pescadinha (<i>Cynoscion striatus</i>)	15,5	1,1	76
Pintado (<i>Pseudoplatistoma coruscans</i>)	18,6	1,3	91
Porquinho (<i>Prochilodus</i> spp.)	20,5	0,6	93
Salmão (<i>Salmo salar</i>)	19,3	9,7	170
Sardinha (<i>Sardinella brasiliensis</i>)	21,1	2,7	114
Tucunaré (<i>Cichla monoculus</i>)	18,0	1,2	88

Dentre os principais fatores extrínsecos estão a atmosfera e a temperatura (Germano & Germano, 2008). A atmosfera é crucial, pois possui composição gasosa que envolve o alimento, determinando os tipos de micro-organismos (e.g., aeróbios e anaeróbios) que se multiplicarão no produto. Em contrapartida, a temperatura de estocagem afeta a multiplicação microbiana no pescado, já que para cada micro-organismo há temperaturas mínima, máxima e ótima para sua multiplicação (Garcia-Gonzalez et al., 2007; Taniwaki et al., 2009). Assim, os micro-organismos podem ser classificados em grupos, sendo os psicrófilos os que se desenvolvem em temperaturas entre 0 e 20 °C; os psicrotróficos que são capazes de crescer a 7 °C ou menos, independentemente da temperatura ótima de crescimento; os mesófilos

que crescem preferencialmente em temperaturas moderadas e os termofílicos que crescem preferencialmente em temperaturas acima de 75 °C.

CONSERVAÇÃO DO PESCADO OU PEIXE FRESCO

De acordo com Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, Art. 333, a conservação do pescado fresco se dá apenas pela ação do gelo, mantido em temperaturas próximas à do gelo fundente, com exceção daqueles comercializados vivos (Brasil, 2020). O gelo é uma peça-chave na conservação do pescado uma vez que aumenta o tempo de *rigor mortis*, retardando as reações químicas (autólise) e as atividades microbianas, mantendo o frescor do pescado desde a recepção até a comercialização (Li et al., 2022).

Em relação à quantidade de gelo a ser empregada na conservação, isso irá depender do ambiente em que o pescado será acondicionado e do período de tempo que durará o armazenamento, podendo ser de 50 a 100 % do peso do peixe. A proporção gelo/pescado deve ser entre 1:4 e 1:1 podendo ser até 1:2, o que será definido pelas condições da comercialização. Para maior eficiência do gelo sobre o pescado é importante o formato, que não pode ser pontiagudo, para não ferir o produto, e o tamanho, pois o gelo em pequenas partículas (e.g., moído ou escamas) proporciona melhor conservação (Pereira et al., 2009). O uso do gelo é vantajoso para conservação do pescado. Primeiro por possuir grande capacidade de resfriamento. Segundo que o derretimento do gelo é um sistema de controle com temperatura independente, sendo que com a alteração física do gelo, de sólido para líquido, ocorre o envolvimento de todos os pontos do peixe, deixando-o com resfriamento uniforme (Sharanagat et al., 2019).

Além disso, o gelo deve ser produzido com água potável ou água do mar limpa (Brasil, 2017), caso contrário, pode ser uma porta para que micro-organismos contaminem o pescado (Bressan; Perez, 2001). Portanto, após a despesca, durante o transporte, armazenamento e processamento e até chegar ao consumidor, a cadeia do gelo é essencial. Isso está relacionado ao fato de que, caso ocorram interrupções nessa cadeia, pode haver desencadeamento das alterações nos parâmetros físico-químicos e consequente perda de qualidade sensorial do pescado (Vázquez-Sánchez et al., 2020).

ASPECTOS DE QUALIDADE DO PEIXE FRESCO

A busca por peixe fresco é uma tarefa complexa, pois nem sempre é possível manter temperaturas baixas e uniformes em todas as etapas da distribuição *in natura*. Na cadeia produtiva deste pescado pode haver muitas intermediações até o produto chegar à mesa do consumidor, o que contribui para que o peixe seja exposto a condições adversas (Moura et al., 2009). Portanto, o pescado é analisado sob três aspectos para se determinar sua qualidade: físico-químico, sensorial e microbiológico (Vázquez-Sánchez et al., 2020).

Aspectos físico-químicos

pH

O pH é uma das variáveis físicas mais utilizadas para a determinação do frescor de peixes em decorrência da rapidez e facilidade de medição. Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, por meio do Decreto nº 9.013, de 29 de março 2017, Art. 211, o peixe fresco deve possuir pH da carne inferior a 7,0. (Brasil, 2017). Vale ressaltar que, o pH tende a diminuir após o abate do peixe. Isso ocorre pois após o abate não há mais circulação sanguínea, assim o glicogênio muscular segue a via anaeróbica para gerar energia. Como consequência, o produto final será o trifosfato de adenosina e o ácido lático. Porém, sem a circulação sanguínea o ácido lático não chega ao fígado para ser metabolizado, mas se acumula no músculo provocando a queda do pH (Harrysson et al., 2019).

Alguns questionam o uso do pH como parâmetro de qualidade para pescado (Özogul; Özogul, 2004), já que pode variar conforme com a espécie ou métodos de captura, não devendo ser utilizado, portanto, como o único parâmetro de avaliação de frescor.

Bases voláteis totais

As bases voláteis totais compreendem compostos como amônia, dimetilamina (DMA) e trimetilamina (TMA). Esses compostos se formam com a degradação proteica devido ao acúmulo de ácido lático e queda do pH, acarretando acúmulo no pescado (Santos et al., 2008). De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), as bases voláteis totais em pescado fresco devem ser inferiores a 30 mg (trinta miligramas) de nitrogênio/100g (cem gramas) de tecido muscular (Brasil, 2017). Mas esta legislação adverte que poderão ser estabelecidos valores para bases voláteis totais distintos dos dispostos na legislação para determinadas espécies, a serem definidas em normas complementares, quando houver evidências científicas de que os valores naturais dessas espécies diferem dos fixados. É importante destacar que a utilização de bases voláteis totais para avaliar o frescor do pescado vem sendo questionada. Isso está relacionado ao fato de algumas espécies, mesmo apresentando os níveis deste parâmetro de acordo com a legislação, não estão aptos para o consumo humano. Por isso, a princípio essa análise não deve ser usada como critério único para verificação do frescor (Andrade, 2006).

Histamina

Após o abate do peixe, caso as condições de manuseio e estocagem sejam inadequadas ocorre a multiplicação microbiana e, com isso, dá-se início ao processo de deterioração e possível formação de compostos prejudiciais aos consumidores. Um exemplo desses compostos é a histamina. Esse composto se origina pela descarboxilação da L-histidina. A histamina possui potencial alergênico, podendo ocasionar intoxicação aos consumidores, no entanto, em casos graves pode levar à morte (Asghari et al., 2022; Sadeghi et al., 2019). Vale ressaltar que a histamina pode estar presente no pescado antes de este

ser considerado inadequado para consumo. Além disso, a histamina é termorresistente e não volátil, ou seja, após formada dificilmente será destruída e pode estar presente, inclusive, em produtos enlatados. Portanto, a melhor medida a se tomar é a prevenção, sendo a higiene e baixas temperaturas fatores preponderantes nesse tocante (Souza et al., 2015). O RIISPOA (Brasil, 2017) estabelece que esse composto deve ser controlado em espécies formadoras, enquanto que a Portaria 185 (Brasil 1997) estabelece que o valor máximo não deve ser superior a 100 mg/kg em espécies histaminogênicas.

A Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, concordando com a Portaria 185, relata que o controle de histamina deve ser maior em espécies de pescado pertencentes às famílias formadoras de elevados teores de hitamina, como *Carangidae*, *Gempylidae*, *Istiophoridae*, *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae*, *Scombrosidae* (Brasil, 2019), estabelecendo o mesmo limite máximo de histaminas: 100 mg/kg (cem miligramas por quilograma) de tecido muscular. Neste caso, deve-se tomar como base uma amostra composta por 9 (nove) unidades amostrais e nenhuma unidade amostral pode apresentar resultado superior a 200 mg/kg (duzentos miligramas por quilograma) (Brasil, 2019). Vale ressaltar que a quantidade mínima necessária para causar intoxicação é de 100 ppm (Jay, 2005).

Controle de biotoxinas ou de outras toxinas perigosas

Por ocasião da decomposição bacteriana no músculo do pescado, pode haver liberação de enxofre proveniente de aminoácidos sulfurados, havendo formação de ácido sulfídrico em virtude de o meio estar ácido. Além disso, pode ocorrer formação do indol a partir da degradação microbiana sobre o triptofano, um aminoácido essencial. A presença de ácido sulfídrico e indol indica que o pescado já se encontra em estágios de decomposição avançados (Ndeti et al., 2021). Ambas as substâncias são tóxicas e devem ser controladas, no entanto não possuem valores na legislação vigente estabelecidos.

Aspectos sensoriais

Os aspectos sensoriais do pescado são aqueles que podem ser percebidos pelos sentidos, ou seja, sabor, odor, textura e aparência. A avaliação desses parâmetros é um método comumente utilizado para a avaliação da qualidade do peixe fresco e é denominada avaliação sensorial (Bogdanović et al., 2012). A avaliação sensorial é um método fácil e de grande importância, pois pode ser desenvolvido tanto pelos consumidores quanto pelo setor pesqueiro e serviços de inspeção na avaliação do pescado (Hyldig; Green-Petersen, 2005; Freitas et al., 2021). De acordo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Brasil, 2017), Art. 2010, na avaliação dos atributos de frescor do peixe, respeitadas as particularidades de cada espécie, devem ser verificadas os seguintes aspectos sensoriais: superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico e reflexos multicores próprios da espécie, sem qualquer pigmentação estranha; olhos claros, vivos, brilhantes, luzentes, convexos, transparentes, ocupando toda a cavidade orbitária; brânquias ou guelras róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes com

odor natural, próprio e suave; abdômen com forma normal, firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos; escamas brilhantes, bem aderentes à pele, e nadadeiras apresentando certa resistência aos movimentos provocados; carne firme, consistência elástica, da cor própria da espécie; vísceras íntegras, perfeitamente diferenciadas, peritônio aderente à parede da cavidade celomática; ânus fechado; e odor próprio, característico da espécie.

Um método que tem se mostrado rápido e eficiente para determinar o frescor e a qualidade do pescado empregando-se os aspectos sensoriais estabelecidos no Art. 210 do RIISPOA de 2017, é o Método do Índice de Qualidade (MIQ) (Vázquez-Sánchez et al., 2020). O MIQ se baseia na avaliação dos aspectos sensoriais por meio de um sistema de classificação no qual para cada um dos atributos são selecionados de 2 a 4 descritores, para cada descritor são atribuídos pontos de demérito, de 0 a 3. Os descritores usados na identificação dessas alterações sensoriais devem ser claros, breves e sem qualquer equívoco, normalmente envolvendo uma ou duas palavras, objetivando minimizar quaisquer confusões por parte do painel avaliador. Quando um descritor indica maior índice de frescor, recebe pontuação 0 (zero). Por outro lado, quando recebe pontuações maiores como 2 (dois) ou 3 (três), indica perda de frescor ou estado de degradação avançado (Bogdanović et al., 2012).

Para este último caso, vale ressaltar que o RIISPOA (Brasil, 2017), Art. 499, o pescado ou os produtos de pescado são considerados impróprios para consumo humano, na forma como se apresentam, quando: estejam em mau estado de conservação e com aspecto repugnante; apresentem sinais de deterioração; sejam portadores de lesões ou doenças; apresentem infecção muscular maciça por parasitas; tenham sido tratados por antissépticos ou conservadores não autorizados pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal; tenham sido recolhidos já mortos, salvo quando capturados em operações de pesca; ou apresentem perfurações dos envoltórios dos embutidos por parasitas.

Aspectos microbiológicos

Os métodos microbiológicos são realizados para verificar se o estado do produto é satisfatório, tendo como objetivo detectar bactérias patogênicas como: *salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, ou seja, organismos que indicam contaminação fecal, práticas de manuseio inadequadas ou outros tipos de contaminação em geral. No Brasil, o órgão responsável por definir os padrões microbiológicos para alimentos é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária por meio da Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 (Brasil, 2019). Especificamente para peixe fresco, são estabelecidos critérios específicos para *Salmonella*, Estafilococos coagulase positiva e *Escherichia coli*.

Ao final dessa exposição sobre os parâmetros de qualidade do pescado, não se pode deixar de mencionar a necessidade de se observar o trinômio tempo-temperatura-higiene, que pode ser considerado como um “guarda-chuva” sob o qual todos os elos da cadeia do pescado, como manipulação, armazenamento, embalagem, transporte, comercialização etc, se encaixam. O tempo é importante por causa da velocidade com que se desenvolvem as alterações autolíticas e de origem microbiana, não

podendo, por isso, o pescado ficar excessivamente exposto a temperaturas elevadas. As baixas temperaturas, se corretamente aplicadas, evitarão ou ao menos retardarão aquelas alterações. Um nível adequado de higiene, por sua vez, evitará que micro-organismos sejam acrescentados ao pescado em virtude de manipulação inadequada ou contaminações cruzadas. Não é suficiente que seja cumprido apenas um ou dois fatores desse trinômio. Os três têm de ser observados concomitantemente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O peixe fresco, por ser conservado apenas em gelo, deve apresentar características de frescor próximas às que possuía em vida. É um alimento de excelente qualidade nutricional, sendo fonte de proteínas de alto valor biológico. Entretanto, por ser altamente perecível, são requeridos cuidados em toda sua cadeia, como a aplicação de abate humanitário e observação do trinômio tempo-temperatura-higiene. Dentre os métodos para se inspecionar a qualidade do peixe fresco, está a avaliação de parâmetros físico-químicos, sensoriais e microbiológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdollahpour, I., Nedjat, S., Mansournia, M. A., Sahraian, M. A., & Kaufmane, J. S. (2018). Estimating the marginal causal effect of fish consumption during adolescence on multiple sclerosis: a population-based incident case-control study. *Neuroepidemiology*, 50, 111-118. DOI: 10.1159/000487640
- Andrade, P. F. (2006). *Avaliação do prazo de vida comercial do atum (Thunnus atlanticus) armazenado sob refrigeração*. Dissertação, UFF, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.
- Argenta, F. F. (2012). *Tecnologia de pescado: características e processamento da matéria-prima*. Monografia, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Asghari, A., Hosseini, A. H., & Ghajarbeygi, P. (2022). Fast and non-destructive determination of histamine in tuna fish by ATR-FTIR spectroscopy combined with PLS calibration method. *Infrared Physics & Technology*, 123, 104093. DOI: 10.1016/j.infrared.2022.104093
- Ashley, P. J. (2007). Fish welfare: current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104, 199-235. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.09.001
- Bogdanović, T., Šimat, V., Frka-Roić, A., Marković, K. (2012). Development and application of quality index method scheme in a shelf-life study of wild and fish farm affected bogue (*Boops boops*, L.). *Journal of Food Science*, 77(2), S99-106. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02545.x
- Brasil. (1997). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Brasília.
- Brasil. (2017). Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Brasília.

- Brasil. (2019). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Brasília.
- Brasil. (2020). Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. (2020). Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020. Brasília.
- Brasil. (2021). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 365 de 16 de julho de 2021. Brasília.
- Bressan, M. C., & Peres, J. R. O. (2001). *Tecnologia de carnes e pescados*. Lavras: UFLA.
- Cenci-Goga, B. T., Karama, M., Hadjichralambous, C., Sechi, P., & Grispoli, L. (2020). Is EU regulation on the use of antioxidants in meat preparation and in meat products still cutting edge?. *European Food Research and Technology*, 246, 661-668. DOI: 10.1007/s00217-020-03433-y
- Conte, F. S. (2004). Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86(3), 205-223. DOI: 10.1016/j.applanim.2004.02.003
- FAO (2010). The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma: FAO.
- FAO (2020). The State of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma: FAO. DOI: 10.4060/ca9229en
- Fennema, O. R., Damodaran, S., & Parkin, K. L. (2010). *Química de Alimentos de Fennema*. São Paulo: Artmed.
- Filipec, S. V., Valinger, D., Mikac, L., Ivanda, M., Kljusurić, J. G., & Janči, T. (2021). Influence of sample matrix on determination of histamine in fish by surface enhanced raman spectroscopy coupled with chemometric modelling. *Foods*, 10(8), 1767. DOI: 10.3390/foods10081767
- Fogaça, F. H. S., & Sant'Ana, L. S. (2009). Lipid oxidation in fishes: action mechanism and prevention. *Archives of Veterinary Science*, 14(2), 117-127.
- Fontenele, R. M. M., Santos, E. S., & Mota, S. (2013). Índice de rigor mortis de tilápias do Nilo abatidas de diferentes formas após cultivo em esgoto doméstico tratado. *Conexões - Ciência e Tecnologia*, 7(2), 61-72.
- Franco, B. D. G. M., & Landgraf, M. (2008). *Microbiologia dos Alimentos*. Rio de Janeiro: Atheneu.
- Freitas, J., Vaz-Pires, P., & Câmara, J. S. (2021). Quality Index Method for fish quality control: Understanding the applications, the appointed limits and the upcoming trends. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 333-345. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.03.011
- Galhardo, L., & Oliveira, R. (2006). Bem-estar em peixes bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes? *Revista de Etologia*, 8, 51-61.
- Garcia-Gonzalez, L., Geeraerd, A. H., Spilimbergo, S., Elst, K., Ginneken, L. V., Debevere, J., Impe, J. F. V., & Devlieghere, F. (2007). High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and the future. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1), 1-28. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.02.018

- Germano, P. M. L., & Germano, M. I. S. (2008). Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Manole.
- Harrysson, H., Swolin, B., Axelsson, M., & Undeland, I. (2019). A trout (*Oncorhynchus mykiss*) perfusion model approach to elucidate the role of blood removal for lipid oxidation and colour changes in ice-stored fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2462-2471. DOI: 10.1111/ijfs.14497
- Hoffmann, F. L. (2001). Fatores limitantes à proliferação de micro-organismos em alimentos. *Brasil alimentos*, 9(1), 23-30.
- Hyldig G., & Green-Petersen, D. M. B. Quality index method - an objective tool for determination of sensory quality. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13(4), 71-80. DOI: 10.1300/J030v13n04_06
- Inoue, L. A. K. A., Neto, C. S., & Moraes, G. (2005). Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. *Acta Amazônica*, 35(2), 289-295. DOI: 10.1590/S0044-59672005000200018
- Jay, J. M. (2005). *Microbiologia de Alimentos*. Porto Alegre: Artmed.
- Kestin, S. C., Robb, D. H., & Vis, J. W. V. (2002). Protocol for assessing brain function in fish and the effectiveness of methods used to stun and kill them. *Veterinary Record*, 150(10), 302-307. DOI: 10.1136/vr.150.10.302
- Learmonth, M. J. (2020). The matter of non-avian reptile sentience, and why it “matters” to them: a conceptual, ethical and scientific review. *Animals*, 10(5), 901. DOI: 10.3390/ani10050901
- Li, X., Tu, Z., Sha, X., Li, Z., Li, J., & Huang, M. (2022). Effect of coating on flavor metabolism of fish under different storage temperatures. *Food Chemistry: X*, 13, 100256. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100256
- Libanori, M. C. M., Casado, R. P., Sola, M. C., & Marcusso, P. F. (2020). Contradictions and challenges of fish slaughter in Brazil. *Veterinária Notícias*, 26(2), 154-166.
- Lines, J. A., Robb, D. H., Kestin, S. C., Crook, S. C., & Benson, T. (2003). Electric stunning: a humane slaughter method for trout. *Aquacultural Engineering*, 28, 141-154.
- Lustosa Neto, A. D., Ferreira, R. N. C., Bezerra, J. H. C., Pinto, C. R. S., Leite, M. B., Marques, C. H. P., Facundo, G. M., & Costa, J. M. *Operador de beneficiamento de pescado*. Fortaleza: Pronatec.
- Matos, A. P., Matos, A. C., & Moecke, E. H. S. (2019). Polyunsaturated fatty acids and nutritional quality of five freshwater fish species cultivated in the western region of Santa Catarina, Brazil. *Brazilian Journal of Food Technology*, 22, e2018193. DOI: 10.1590/1981-6723.19318
- Minozzo, M. G. (2011). *Processamento e conservação do pescado*. Curitiba: IFPR.
- Mohri S., & Kanauchi M. (2018). Isolation of lactic acid bacteria eliminating trimethylamine (TMA) for application to fishery processing. In Kanauchi, M. (Orgs.). *Lactic acid bacteria: methods in molecular biology*. New York: Humana Press. DOI: 10.1007/978-1-4939-8907-2_10

- Moura, M. A. M., Galvão, J. A., Henrique, C. M., Silva, L. K. S., & Oetterer, M. (2009). Características físico-química e de frescor de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundas da pesca extrativista no médio Rio Tietê/SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 35, 487-495.
- Ndeta, G. A., Lamsis, J., Portales A., & Mvoula L. (2021). Full Length Research Paper Health risk associated with eating fish from brackish water. *Journal of Medical Laboratory and Diagnosis*, 11(1), 1-12. DOI: 10.5897/JMLD2020.0162
- Nepea (2011). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Campinas: FODEPAL.
- Nordgreen, A. H., Slinde, E., Møller, D., & Roth, B. (2008). Effect of various electric field strengths and current durations on stunning and spinal injuries of Atlantic herring. *Journal of Aquatic Animal Health*, 20, 110-115. Doi: 10.1577/H07-010.1
- Nunes, M. L., Batista, I., & Cardoso, C. (2007). Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. Lisboa: IPIMAR.
- Oetterer, M., Galvão, J. A., & Savay-da-Silva, L. K. (2014). Qualidade do pescado: sistemas para Padronização. In Galvão, J. A., & Oetterer, M. (Orgs.). *Qualidade e Processamento de Pescado*. Rio de Janeiro: Elsevier.
- Oetterer, M., Regitano-D'Arce, M. A. B. Spoto, M. H. F. (2006). *Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos*. Barueri: Manole.
- Oliveira, R. C., Bernardi, J. V. E., Wanderley, R., Almeida, R. Y., & Manzatto, A. G. (2010). Fish consumption by traditional subsistence villagers of the Rio Madeira (Amazon): impact on hair mercury. *Annals of Human Biology*, 37, 629-642. DOI: 10.3109/03014460903525177
- Ordóñez, J. A. (2005). *Tecnologia de alimentos de origem animal*. São Paulo: Artmed.
- Özogul Y., & Özogul F. (2004). Effects of slaughtering methods on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) stored in ice and MAP. *European Food Research Technology*, 219, 211-216. DOI: 10.1007/s00217-004-0951-0
- Pedrazzani, A. S., Molento, C. F. M., Carneiro, P. C. F. & Castilho, M, F. (2007). Senciência e bem-estar de peixes: uma visão de futuro do mercado consumidor. *Panorama da Aquicultura*, 1, 24-28.
- Pedrazzani, A. S., Molento, C. F. M., Carneiro, P. C. F., & Castilho, M, F. (2008). Opinião pública e educação sobre o abate humanitário de peixes no município de Araucária, Paraná. *Ciência Animal Brasileira*, 9(4), 976-983.
- Peixe BR (2021). *Anuário brasileiro da piscicultura*. Associação Brasileira da Piscicultura. São Paulo: Peixe BR.
- Pereda, J. A. O. (2005). *Tecnologia de Alimentos: alimentos de origem animal*. São Paulo: Artmed.
- Pereira, D. S.; Julião, L.; Sucasas, L. F. A., Silva, L. K. S., Galvão, J. A., & Oetterer, M. (2009). *Boas práticas para manipuladores de pescado: o pescado e o uso do frio*. Piracicaba: ESALQ.

- Pis-Ramírez, M. A. P., Miranda, G. D., Escobar, M. P., Hernández, M. N., Gago, M. M., Izquierdo, O. R., Rico-Izquierdo, O., Basante, J. D. V., Martínez- Mariño, Y., & Manuel-Alvarez, Z. (2015). Water and sediment of a harvest season of *Claria gariepinus* in Cuba. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(9), 1-9.
- Poli, B. M., Parisi, G., Scappini, F., & Zampacavallo, G. (2005). Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International*, 13, 29-49. DOI: 10.1007/s10499-004-9035-1
- Prezenza, L., Fabrício, L. L. F., Galvão, J. A., & Vieira, T. M. F. S. (2022). Simplex-centroid mixture design as a tool to evaluate the effect of added flours for optimizing the formulation of native Brazilian freshwater fish burger. *LWT*, 156, 113008. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.113008.
- Prezenza, L., Santos, A. S., Silva, A. C. F, Bernabé, C. V., Ferreira, J. V. F., Dayrell, L. C., Garcia, R. C. P., Lavander, H. D., & Minozzo, M. G. (2021). Rigor index of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*): study with anesthesia (eugenol) and hypothermia. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 8(4), 123-127. DOI: 10.22161/ijaers.84.14
- Rathod, N. B., Ranveer, R. C., Benjakul, S., Kim, S. K., Pagarkar, A. U., Patange, S., & Ozogul, F. (2021). Recent developments of natural antimicrobials and antioxidants on fish and fishery food products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 4182-4210. DOI: 10.1111/1541-4337.12787
- Ribas, L., Flos, R., Reig, L., Mackenzie, S., Barton, B. A., & Tort, L. (2007). Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. *Aquaculture*, 269, 250-259. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.036
- Sadeghi, N., Behzad, M., Jannat, B., Oveisi, M. R., Hajimahmoodi, M., & Mozafazri, M. (2019). Determination of histamine in canned tuna fish available in Tehran market by ELISA method. *Journal of Food Safety and Hygiene*, 5(1), 46-50.
- Santos, T. M., Martins, R. T., Santos, W. L. M., & Martins, N. E. (2008). Inspeção visual e avaliações bacteriológica e físico-química da carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*) congelada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(6), 1538-1545. DOI: 10.1590/S0102-09352008000600034
- Sharanagat, B. S., Kansal, V., & Singh, L. (2019). Fish freezing: principles, methods, and scope. In Goyal, M. R., Suleria, H. A. R., & Kirubanandan, S. *Technological processes for marine foods, from water to fork*. New York: ImprintApple Academic Press.
- Silva, D. M. L (2016). *Eletronarçose em tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus) e qualidade do filé*. Dissertação, UNIOESTE, Toledo, Paraná, Brasil.
- Silva, N., Hernández, E. P., Araújo, C. S., Joele, M. R. S. P., & Lourenço, L. (2018). Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. *CyTA Journal of Food*, 16, 340-349. DOI: 10.1080/19476337.2017.1406005

- Silva-Rodrigues, M. C., Vilar-Nogueira, W., Magalhaes-Lopes, V., & Bianchini-Pontuschka, R. (2020). Avaliação microbiológica de uma estação de piscicultura no Território Central do Estado de Rondônia, Brasil. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 12(1), e743. DOI: 10.24188/recia.v12.n1.2020.743
- Soares, K. M. P., & Gonçalves A. A. (2012). Qualidade e segurança do pescado. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 71(1), 1-10.
- Souza, A. L. M., Calixto, F. A.A., Mesquita, E. F. M., Packness, M. P., & Azeredo, D. P. (2015). Histamine and traceability of fish: literature review. *Arquivos do Instituto Biológico*, 82, 1-11. DOI: 10.1590/1808-1657000382013
- Taniwaki, M. H., Hocking, A. D., Pitt, J. I., & Fleet, G. H. (2009). Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 132(3), 100-108. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.005
- Tavares, M., & Gonçalves, A. A. (2011). Aspectos físico-químicos do pescado. In Gonçalves, A. A. (Orgs.). *Tecnologia do Pescado*. Rio de Janeiro: Atheneu.
- Tilami, S. k., & Sampels S. (2018). Nutritional value of fish: lipids, proteins, vitamins, and minerals. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(2), 243-253. DOI: 10.1080/23308249.2017.1399104
- Vargas, S. C., Filho, P. R. C. O., Natori, M. M., Lima, C. G., & Viegas, E. M. M. (2013). Evaluation of different stunning methods on aspects of animal welfare and meat quality of matrinxã (*Brycon cephalus*). *Italian Journal of Food Science*, 25(3), 255-263, 2013. DOI:
- Vázquez-Sánchez, D., García, E. E. S., Galvão, J. A., & Oetterer, M. (2020). Quality index method (QIM) scheme developed for whole Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) ice stored under refrigeration and correlation with physicochemical and microbiological quality parameters. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 29(3), 307-319. DOI: 10.1080/10498850.2020.1724222
- Viegas, E. M. M., Pimenta, F. A., Previero, T. C., Gonçalves, L. U., Durães, J. P., Ribeiro, M. A. R., & Oliveira Filho, R. P. C. (2012). Slaughter methods and fish meat quality. *Archivos de Zootecnia*, 61, 41-50.
- Zhao, Y. M., Alba, M., Sun, D. W., & Tiwari, B. (2019). Principles and recent applications of novel non-thermal processing technologies for the fish industry - a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(5), 728-742. DOI: 10.1080/10408398.2018.1495613

Controle de mercúrio em alimentos

Recebido em: 28/06/2022

Aceito em: 01/07/2022

 10.46420/9786581460464cap3

Eliézer Quadro Oreste¹ 

Rosane Lopes Crizel¹ 

Anelise Christ-Ribeiro¹ 

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o mercúrio está entre os dez produtos químicos mais perigosos para a saúde pública (OMS, 2017). Estima-se que 19 milhões de pessoas em todo o mundo podem estar expostos ao mercúrio (Crespo-Lopez et al., 2021). Com isso, o tratado internacional, Convenção de Minamata sobre Mercúrio, que agrega esforços para reduzir a contaminação ambiental com mercúrio e prevenir e tratar casos de intoxicação humana foi assinado por 92 países, em outubro de 2013. A OMS (OMS, 2014), por sua vez, recomenda a promoção de cuidados relativos à saúde, incluindo estratégias para comunicação eficaz de riscos e facilitação do intercâmbio de informações epidemiológicas sobre os impactos na saúde associados à exposição ao mercúrio.

As principais estratégias estão relacionadas as formas (orgânicas e inorgânicas) mercúrio que apresentam toxicidade ao sistema nervoso central e periférico. As formas orgânicas se destacam, sendo os compostos mais tóxicos. O biomonitoramento da exposição ao mercúrio depende da forma química sendo analisado em amostras sanguíneas, urinárias e capilares. As emissões de mercúrio no meio ambiente são originadas de fontes naturais como processos geoquímicos e/ou fontes antropogênicas como produção de metais não ferrosos (minerações e fundições), cimento, soda cáustica e descarte de resíduos (Ferreira et al., 2015).

Para humanos, a contaminação por mercúrio ocorre via alimentos utilizados na dieta, principalmente peixes e frutos do mar, seguido de vegetais. Neste último caso, a ocorrência de mercúrio está associada ao uso de fertilizantes fosfatados no processamento agrícola que contém além do mercúrio, cádmio, chumbo e outros. Vale ressaltar que a ingestão máxima de metilmercúrio, uma das formas mais tóxicas do mercúrio, é de $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ por semana (OMS, 2014).

Portanto, determinar a contaminação de metais potencialmente tóxicos em alimentos é de extrema importância para mitigar os níveis dos efeitos tóxicos causados em humanos causados e criar soluções para diminuir a exposição da população. Assim, o objetivo deste capítulo é compilar dados relativos aos aspectos gerais, toxicidade, ocorrência em alimentos e formas de determinação do mercúrio.

ASPECTOS GERAIS SOBRE MERCÚRIO

O mercúrio (Hg), na sua forma elementar, é líquido nas condições normais de pressão e temperatura. Além dessa propriedade, o Hg possui outras como a alta densidade ($13,55 \text{ g cm}^{-3}$ a $20 \text{ }^\circ\text{C}$), condutividade elétrica e facilidade de resfriamento, o que levou a várias aplicações desse metal em diversos campos da indústria (Ebadian et al., 2001; Wang et al., 2012). Além disso, possui temperatura de ebulição de $357,73 \text{ }^\circ\text{C}$, pressão de vapor de $1,6 \text{ bar}$ a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, resistividade de $95,75 \text{ }\mu\Omega \text{ cm}$ a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, tensão superficial de $436 \text{ dines cm}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e viscosidade de $1,55 \text{ Pa s}$ a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (Ebadian et al., 2001; Wang et al., 2012).

Com relação aos compostos formados a partir desse metal, são mais abundantes aqueles ligados ao Hg(II) do que quando comparado com os compostos formados com Hg(I). Dentre os mais encontrados, destaca-se o cloreto de mercúrio (HgCl_2), cloreto mercurioso (Hg_2Cl_2), fulminato de mercúrio ($\text{Hg}(\text{CNO})_2$) e sulfeto de mercúrio (HgS). Além desses compostos, também é destacável a formação de organomercuriais, nos quais o Hg é ligado a pelo menos um átomo de carbono, formando assim compostos com a ligação Hg-C quimicamente estável, que não se rompe em meio aquoso de ácidos e bases fracas (Nascimento; Chasin, 2001; Ebadian et al., 2001).

O mercúrio é considerado um poluente atmosférico perigoso e merece extrema atenção devido a sua toxicidade. Contudo, várias fontes de emissões de Hg contribuem para a poluição ambiental, as quais podem ser classificadas em emissões naturais ou antropogênicas. Como fonte natural, pode-se destacar a emissão desse elemento através da desgaseificação da crosta terrestre, de vulcões ou por meio de evaporação dos oceanos. Já como fonte antropogênica, as principais formas são a partir do processo de mineração de ouro ou pela queima de combustíveis fósseis para geração de energia (Azevedo; Chasin, 2003; Pacyna et al., 2010). Uma vez lançado para a atmosfera, o Hg pode se dispersar por quilômetros e resistir por um grande tempo, o que está ligado diretamente à forma físico-química em que este elemento se encontra (EPA, 1997).

Quando depositado no ambiente aquático, o Hg tem a capacidade de ser convertido a sua forma orgânica, geralmente o metilmercúrio. A reação de conversão pode ocorrer sob condições aeróbias e anaeróbias, através de um mecanismo biológico ou químico. Um exemplo de mecanismo biológico é a metilação do Hg através de uma reação que ocorre principalmente com metilcobalamina (coenzima da vitamina B12), coenzima produzida por bactérias e encontrada em quantidades significativas no meio aquático (Bisinoti; Jardim, 2004; Craig; Morton, 1978).

Uma vez no ambiente, o Hg pode chegar facilmente aos seres humanos, seja pelo consumo de alimentos contaminados, principalmente de origem marinha, ou através da exposição dérmica ao ar, água ou solos. Com relação a exposição a forma orgânica de Hg, a situação pode tornar-se crítica, visto que nessa forma o metal apresenta propriedade bioacumulativa, sendo eliminado de forma lenta quando comparado com sua forma inorgânica (Bisinoti; Jardim, 2004).

TOXICIDADE DO MERCÚRIO

As sucessivas aplicações do Hg em diversos setores e as conseqüentes emissões para o meio ambiente elevam cada vez mais o nível de exposição humana a esse elemento tóxico. Além disso, o Hg possui propriedade de biomagnificação, ou seja, as suas concentrações vão aumentando progressivamente ao longo da cadeia alimentar, podendo assim refletir no consumo de alimentos contaminados, o qual se credencia como uma das principais fontes de intoxicação humana (Crespo-Lopez et al., 2009).

O mercúrio pode causar diversos danos à saúde humana, uma vez que este metal possui alta afinidade por grupos tiol (-SH) presente em enzimas, o que se caracteriza como uma reação muito rápida. Isso pode levar a afetar diferentes sistemas, tais como o reprodutivo, imunológico, cardiovascular, renal, respiratório, entre outros (Nascimento & Chasin, 2001; Zahir et al., 2005; Clarkson; Magos, 2006). Contudo, o sistema mais afetado por esse metal é o sistema nervoso central (SNC), pois uma vez intoxicado, a vítima pode apresentar sintomas como irritabilidade, fadiga, insônia, mudanças comportamentais, perda auditiva, letargia, tremores, convulsões, coordenação motora, depressão e coma, inclusive à morte. Esses sintomas estão devidamente associados ao tempo e a dose de exposição da vítima ao metal (Oliveira et al., 1998; Nascimento; Chasin, 2001; Nevado et al., 2009). A dose letal para o Hg, na sua forma inorgânica para uma pessoa adulta de aproximadamente 70 kg é de 14 a 57 mg kg⁻¹. Já para sua forma orgânica, o valor pode variar de 20 a 60 mg kg⁻¹ para um adulto com o mesmo peso do caso anterior (EPA, 1997).

Para um possível tratamento a intoxicação por Hg, uma alternativa é o uso de medicamento que contenha grupos -SH adjacentes, uma vez que haverá uma competição entre os grupos pela ligação com o íon metálico. Alguns exemplos de agentes quelantes, que podem ser empregados para tal finalidade é o ácido 2,3-dimercaptopropano-1-sulfônico (DMPS), ácido meso-2,3-dimercaptosuccínico (DMSA), D-penicilamina e 2,3-dimercaptopropanol (BAL) (Berg et al., 2008; Guzzi; La Porta, 2008).

MERCÚRIO EM ALIMENTOS

O processo de controle de qualidade de alimentos é uma garantia deque o consumidor está ingerindo um produto adequado, ou seja, livre de um estado impróprio à saúde humana. Tal controle deve ser realizado de forma efetiva, envolvendo os processos de produção, armazenamento, distribuição e consumo de um determinado alimento. Com isso, é possível alcançar um estado de segurança alimentar, uma vez que os alimentos serão fiscalizados a fim de garantir que esteja livre de qualquer tipo de contaminante que possam colocar em risco a saúde coletiva (Cavalli, 2001).

O consumo de produtos alimentícios contaminados por Hg torna-se uma das principais formas de intoxicação humana (Nascimento; Chasin, 2001). Sendo assim, fica evidente a necessidade do controle de qualidade, a fim de evitar que alimentos contendo mercúrio chegue à mesa do consumidor. Os alimentos mais preocupantes são de origem marinha, pois apesar dos peixes apresentarem alto valor

nutricional, possui a capacidade de absorver e acumular metais tóxicos presentes no meio (Moreda-Piñeiro et al., 2012).

Os níveis máximos para Hg presente em produtos de origem marinha foram publicados pela comissão de regulação da União Europeia (UE), os quais foram divididos em dois grupos. No primeiro grupo o limite máximo permitido é de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ em massa úmida, o que abrange os produtos de pesca com exceção de peixes predadores. Já no segundo grupo, o limite é o dobro do valor estabelecido para o grupo anterior, ou seja, o valor estabelecido é de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e inclui produtos de carnes de peixes predadores (Commission regulation, 2006, EPA 2022).

Mercúrio também pode causar danos à saúde humana por meio de ingestão de alimentos de origem vegetal, pois o descaso com o meio ambiente pode levar a deposição desse elemento em solos e águas de irrigação e, conseqüentemente, levar a contaminação desses alimentos. Além disso, produtos cárneos provenientes de animais terrestres também contém níveis de mercúrio, uma vez que a vegetação também está diretamente relacionada com o meio de alimentação de animais (e.g., bovinos e suínos) (Nascimento; Chasin, 2001). Com isso, diante dos vários danos que esse elemento pode trazer a sociedade, há uma necessidade do controle de Hg em alimentos, a fim de garantir maior segurança ao consumidor.

DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO

Para a determinação de Hg, é necessária extrema atenção, principalmente na etapa de amostragem e preparo das amostras. Caso essa etapa seja realizada de forma inapropriada, pode haver probabilidade de erro nas análises por perdas do analito por volatilização e/ou adsorção. Além disso, quando se realiza análise de qualquer natureza, é indispensável à prevenção de qualquer tipo de contaminação, seja na amostra ou no material a ser utilizado (Suzuki et al., 2004; López-Antón et al., 2012).

Para as análises de forma geral, o nível de contaminação alcançado pode ser acompanhado a partir do branco analítico, o qual trata-se de uma solução que passa por todas as etapas do procedimento analítico, mas sem conter a amostra e/ou elemento a ser estudado. Contudo, quando realizada a sequência analítica com cautela, é possível obter resultados confiáveis para o teor de Hg presente nas amostras estudadas (Suzuki et al., 2004; Krug, 2010).

Análises para a determinação de Hg é extremamente importante, pois assim é possível obter informação do nível total do elemento presente na amostra em estudo. Contudo, determinações quantitativas distintas de cada espécie de Hg são atrativas, devido aos diferentes efeitos que essas espécies podem apresentar tanto a saúde humana como para o meio ambiente. Esse processo de determinação de diferentes espécies é chamado de análise de especiação e se dá principalmente para a distinção de Hg^{2+} e espécies orgânicas de mercúrio (e.g., CH_3Hg^+ e $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Hg}^+$) (Kot; Namiesnik, 2000; Suzuki et al., 2004).

Outra etapa fundamental é a escolha da técnica para a determinação de Hg, pois dependendo da concentração do elemento presente na amostra, essa técnica deve apresentar alta sensibilidade,

possibilitando a determinação do elemento a nível traço ou ultra traço. Além disso, é importante também levar em consideração a natureza e a quantidade de amostra para proceder as análises (Morita et al., 1998; Micaroni et al., 2000).

Dentre as técnicas instrumentais utilizadas para a determinação de Hg, destaca-se a espectrometria de absorção atômica com geração química de vapor (CVG AAS, do inglês *chemical vapor generation atomic absorption spectrometry*) ou com forno de grafite (GF AAS, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*), a espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (CV AFS, do inglês *cold vapor atomic fluorescence spectrometry*), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*) (Micaroni et al., 2000; Leermakers et al., 2005).

De forma geral, as técnicas citadas são as mais utilizadas para tal finalidade, podendo ainda ser acopladas a outras técnicas com o objetivo de alcançar maior sensibilidade e menores limites de detecção (LD), das quais é possível citar o uso da cromatografia gasosa ou líquida e a eletroforese capilar (Serafimovski et al., 2008). Além disso, na literatura é possível encontrar estudos utilizando o acoplamento de lâmpada UV as técnicas de análise, ou seja, fazendo o uso da *photo-CVG* (do inglês *photochemical vapor generation*). A radiação proveniente da lâmpada é capaz de reduzir o vapor de Hg por meio de um mecanismo que envolve a formação de radicais orgânicos provenientes do meio em que se encontra o analito (Guo et al., 2003). Tal técnica vem sendo explorada com sucesso para a determinação desse elemento em diversos tipos de matrizes, pois além de ser simples não utiliza reagentes para o processo de redução química, que são caros e instáveis (Vieira et al., 2007; Bendicho et al., 2010; Silva et al., 2012).

Considerando a técnica de CVG AAS, é bastante difundida para a determinação de diversos analitos metálicos, pois trata-se de um processo em que espécies químicas são convertidas a compostos voláteis, resultando então na transferência dos analitos da fase condensada para a fase gasosa (Sturgeon; Mester, 2002). O Hg é o único elemento químico que possui uma elevada pressão de vapor (0,0016 mbar em 20 °C), o que atribui a esse elemento a vantagem de ser determinável a temperatura ambiente, ou seja, não a necessidade de uma atomização térmica para a redução deste elemento para o estado fundamental. Essa técnica é então conhecida como CV AAS (do inglês, *cold vapor atomic absorption spectrometry*) (Welz; Sperling, 1999).

A técnica de CV AAS começou a ser estudada na década de sessenta para a determinação de Hg. Hath e Ott (1968) fizeram uma das primeiras publicações sobre esse assunto, na qual esses autores usaram sulfato de estanho (SnSO_4) como meio redutor e o vapor de Hg gerado podia então ser carregado, com o auxílio de um gás (ar, N_2 ou Ar), até uma cela, sendo posteriormente determinado. Contudo, os créditos à CV AAS para a determinação de Hg devem ser atribuídos a Poluektov e Vitkun, pioneiros na utilização de sais de Sn para a redução do Hg^{2+} a Hg^0 e combinar essa reação com a AAS (Welz; Sperling, 1999).

O uso de CVG AAS envolve basicamente três etapas, tais como a geração da espécie volátil por meio de reação química, o transporte desse vapor até uma unidade de detecção e a atomização ou ionização do elemento de interesse. Contudo, quando se refere a formação de espécies voláteis, é necessário o uso de reagentes redutores, como SnCl_2 (frequentemente utilizado em CV AAS) ou NaBH_4 (frequentemente utilizado em espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, HG AAS, do inglês *hydride generation atomic absorption spectrometry*) (Takase et al., 2002; Pohl, 2004).

Dentre as principais vantagens da técnica de CVG AAS, pode-se citar a prévia separação do analito da matriz, ou seja, a geração da espécie volátil contendo o analito é o único componente da amostra que é encaminhada até a cela de atomização, evitando assim possíveis interferências advindas da matriz da amostra no momento da leitura instrumental. Essa eficiência na introdução da amostra e, conseqüentemente, o transporte do vapor atômico gerado, proporciona a essa técnica uma maior sensibilidade e um menor LD. Outro ponto positivo que também merece destaque é a possibilidade de acoplamento a diferentes sistemas de detecção, podendo assim explorar estudos de especiação e pré-concentração de analitos (Sturgeon; Mester, 2002; Takase et al., 2002).

Por outro lado, essa técnica também pode apresentar algumas desvantagens, como por exemplo, a existência de concomitantes na solução de leitura, o que poderá interferir na reação de geração do vapor atômico. Outro fator que também pode vir a prejudicar a reação é o estado físico da solução (como a densidade, viscosidade, entre outros), o que está diretamente ligado a cinética de geração de vapor. Além desses, outros pontos que podem tornar-se críticos e afetar significativamente a geração de vapor é a concentração dos reagentes e o estado de oxidação do analito (Takase et al., 2002)

A determinação de metais pela técnica de VG se dá geralmente por meio de sistemas de fluxo contínuo (CF, do inglês *continuous flow*) ou por injeção em fluxo (FI, inglês *flow injection*). Como característica comum, destaca-se que para ambos os sistemas, o reagente redutor e a amostra encontram-se em um ponto de confluência e passam por uma bobina de reação. Posteriormente, a fase gasosa formada, que contém o analito de interesse, é então separada da fase líquida através de um componente denominado separador gás/líquido (GLS). Outra característica interessante é que ambos os sistemas podem ser facilmente automatizados (Welz; Sperling, 1999). A diferença entre os sistemas é basicamente a quantidade de amostra que participa da reação de geração de vapor, pois no CF a amostra é aspirada continuamente juntamente com os demais reagentes, obtendo um sinal analítico também de forma contínua. Já no FI, um pequeno volume de amostra é injetado em um canal onde uma solução carreadora é aspirada, gerando assim um sinal analítico de forma transiente, podendo ser avaliado por integração em área ou altura. Além disso, o sistema FI apresenta algumas vantagens em relação ao CF como maior frequência analítica, reprodutibilidade e simplicidade de operação (Růžicka ; Hansen, 1975; Åström, 1982; Welz; Sperling, 1999).

Outro tipo de sistema que também pode ser utilizado para o processo de geração de vapor é em batelada, no qual é operado pelo princípio de que os vapores contendo o analito são gerados em um

frasco de reação, sendo diretamente conduzido à cela de quartzo. Esse frasco de reação tem a função do separador gás/líquido, diferenciando-se assim dos demais sistemas em fluxo citados anteriormente (Welz; Sperling, 1999). O sistema em batelada apresenta algumas desvantagens frente aos demais sistemas em fluxo. Entre esses, pode-se destacar o grande volume de solução presente no frasco de reação, podendo afetar assim a sensibilidade do procedimento. Além disso, esses sistemas geralmente são manuais, o que reflete em maior tempo para cada análise e, conseqüentemente, uma menor frequência analítica (Welz; Sperling, 1999).

Antes das primeiras evidências do uso de NaBH_4 como reagente redutor para a CVG, a opção mais utilizada era o SnCl_2 , principalmente para a determinação de Hg, pois, apesar de ser um redutor mais fraco, é frequentemente empregado até hoje na técnica de CV AAS (Wu et al., 2010). Como vantagem desse reagente, pode-se citar a susceptibilidade a interferências causadas por metais de transição, a qual é menor do que quando se faz o uso de NaBH_4 . Entretanto, a reação de redução é mais lenta, requerendo assim o auxílio de um gás adicional para purga, a fim de garantir uma eficiente separação gás/líquido (Sturgeon; Mester, 2002; Wu et al., 2010). Essa necessidade de gás adicional não é tão acentuada quando se usa o NaBH_4 pois além da produção de hidretos, tem-se também a geração de gás hidrogênio, o qual ajuda na condução do vapor (Welz; Sperling, 1999). Contudo, concentrações elevadas desse reagente podem levar a produção acentuada de hidrogênio, diminuindo assim a intensidade do sinal analítico, devido à diluição do vapor atômico (Segade; Tyson, 2003).

Com o uso de SnCl_2 , a redução de Hg se dá apenas para a forma inorgânica desse elemento, ou seja, este reagente redutor tem dificuldade de reduzir espécies orgânicas, como CH_3Hg^+ , à forma elementar (Heller; Weber, 1998; Sturgeon; Mester, 2002). Quando se quer gerar vapor de espécies orgânicas, deve-se usar NaBH_4 como reagente redutor, pois assim é possível a formação de um hidreto volátil (Sturgeon; Mester, 2002). Contudo, a determinação de CH_3Hg^+ a partir da formação de seu hidreto não trata-se de CV AAS, pois para a quebra da ligação e liberação do Hg para a sua forma fundamental é necessário o fornecimento de aquecimento a cela, o que é típico de HG AAS (Kaercher et al., 2005; Torres et al., 2005).

Para a determinação de Hg total, considerando a técnica de CV AAS, é necessária a conversão das formas orgânicas a inorgânica antes de serem encaminhados a reação de redução com SnCl_2 (Ramalhosa et al., 2001; Wu et al., 2010). Esse processo de oxidação da matéria orgânica se dá principalmente quando se trata de determinação de Hg em amostras biológicas, o qual pode se dar pelo uso de soluções oxidantes injetadas em linha, como persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), brometo/bromato de potássio (KBr/KBrO_3), permanganato de potássio (KMnO_4) ou dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Além disso, outra alternativa para eliminação da matéria orgânica presente na amostra é o uso de calcinação ou digestão com ácidos oxidantes fortes (como HNO_3), bem como a exposição à radiação UV ou micro-ondas (Tao et al., 1998; Ramalhosa et al., 2001). Entretanto esse elemento apresenta alta

volatilidade, o que exige uma extrema atenção na etapa de preparo das amostras, devido a probabilidade de erros inerentes a perdas por volatilização, bem como por contaminação ou adsorção (Tao et al., 1998)

A etapa de preparo de amostras é extremamente importante, pois é a partir dela que a amostra é convertida a uma forma adequada para análise, ou seja, garantir que a espécie química de interessa seja determinada (Oliveira, 2003; Krug, 2010). Além disso, essa etapa também é importante para casos em que é preciso concentrar ou diluir as amostras, bem como para separar analitos de um grupo de outros componentes, a fim de evitar interferências no momento da análise instrumental (Mitra, 2003). Quando se fala em preparo de amostras, deve-se também destacar os procedimentos preliminares, os quais são essenciais para garantir uma maior segurança nas análises químicas. Dentre esses procedimentos, encontram-se a lavagem, secagem, moagem e peneiramento, os quais serão necessários dependendo da natureza da amostra em questão (Krug, 2010).

Como objetivos dessa etapa, busca-se obter sempre os melhores resultados, no mais curto espaço de tempo, com a mínima contaminação, baixo consumo de reagente e geração de pouco resíduo (Krug, 2010). Para isso, a literatura reporta diferentes caminhos que podem ser seguidos para o preparo de diferentes tipos de amostras (Oliveira, 2003; Korn et al., 2008). Para sanar a dúvida de qual método de preparo de amostra é o mais indicado, alguns fatores devem ser levados em consideração, tais como conhecer as características do elemento que se quer determinar, as faixas de concentração desse elemento, a quantidade de amostra disponível, a qualidade do local em que será feito as análises, o custo relacionado, o tempo gasto e a qualificação e/ou experiência do analista que irá manusear as amostras (Krug, 2010).

Com exceção da técnica que utiliza análise direta de sólidos, a maioria dos procedimentos analíticos necessita que a amostra esteja em estado líquido para a introdução em um instrumento de análise. Para isso, um dos métodos mais empregados para esse tratamento é a decomposição ácida, onde os analitos de interesse permanecem solúveis, porém separados da fração orgânica da amostra (Krug, 2010).

Considerando o processo de decomposição, diferentes métodos podem ser adotados, dependendo do tipo de amostra e a finalidade da análise. Geralmente esses processos envolvem a adição de reagentes e energia, que seja suficiente para romper algumas ligações químicas (Oliveira, 2003; Krug, 2010). Dentre esses procedimentos, a decomposição por via úmida é muito empregada para amostras de alimentos, a qual pode se dar tanto em sistema aberto como em sistema fechado (Oliveira, 2003). Para ambos os casos, o reagente adicionado às amostras trata-se de um ácido mineral oxidante, uma mistura entre diferentes ácidos ou uma mistura entre ácido e outro reagente (e.g., peróxido de hidrogênio). Com isso a matéria orgânica presente é então oxidada a CO_2 e H_2O , permanecendo os analitos de interesse em solução ácida na forma de cátions inorgânicos simples (Krug, 2010).

Na decomposição por via úmida em sistema aberto, o aquecimento pode ser realizado por meio de um bloco digestor, chapa de aquecimento, bico de Bunsen ou em forno mufla. Contudo, o grande inconveniente de se utilizar sistemas abertos, principalmente quando se quer determinar Hg, é o risco

deperdas do analito e/ou ácido por volatilização, bem como a contaminação da solução da amostra (Oliveira, 2003; Ribeiro et al., 2004; Matusiewicz; Stanisz, 2010). Outras desvantagens também podem estar associadas, como o longo tempo necessário para a decomposição e o uso de grandes volumes de ácidos. Isso se dá, principalmente, quando se necessita a reposição desses reagentes devido a sua volatilização em temperaturas elevadas, implicando assim em altos valores de brancos analíticos e, desta forma, comprometendo o LD da análise (Krug, 2010).

Em um sistema aberto com a utilização de apenas HNO_3 como reagente, não é possível obter uma total eficiência de decomposição dependendo do tipo de amostra. Por exemplo, Gonzalez et al., (2009) informam que para a decomposição rápida e completa de amostras com alto teor de carboidratos, precisa-se de uma temperatura de 140 °C, enquanto que para altos teores de proteínas e lipídios são necessários 150 e 160 °C, respectivamente. Em tais temperaturas com certeza ter-se-ia a perda de analito por volatilização se o objetivo fosse a determinação de Hg, pois para se ter uma ideia da dificuldade de se preparar uma amostra com aquecimento para tal finalidade, Krug (2010) relata que 81 % do Hg é perdido a 110 °C durante 24h de aquecimento em amostra de peixe. Esse dado trata-se de um processo de decomposição por via seca, ou seja, a amostra é submetida a aquecimento em forno mufla até a queima da fração orgânica e obtenção de um resíduo na forma de cinza, o qual é solúvel em ácido diluído. Apesar desse procedimento, nota-se que a etapa de preparo de amostras para a determinação de elementos voláteis pode ser crítica devido à dificuldade de garantir que a amostra seja decomposta e ao mesmo tempo sem perder os analitos a serem analisados.

Para contornar tais inconvenientes na etapa de preparo das amostras, o uso de decomposição em sistema fechado é muito utilizado, a fim de melhorar a eficiência de digestão e evitar perdas de analitos e/ou reagentes por volatilização (Oliveira, 2003; Flores et al., 2007). Os primeiros estudos do uso de sistema fechado para o preparo de amostra foram relatados por Carius em 1860, onde esse pesquisador utilizou tubo de vidro selado, no qual fora adicionado a amostra e HNO_3 , sendo posteriormente aquecido a temperaturas elevadas (250 a 300 °C) por algumas horas (Oliveira, 2003; Krug, 2010). Nessas condições, a decomposição ácida com HNO_3 se torna muito eficiente devido ao aumento proporcional da temperatura e pressão do sistema (Krug, 2010).

Dentre os métodos que utilizam sistema fechado, recentemente os fornos de micro-ondas vem ganhando destaque no preparo de amostras, devido a sua simplicidade, rapidez e aplicabilidade para diversos tipos de matrizes (Oliveira, 2003; Korn et al., 2008; Nematy et al., 2010). O uso da radiação micro-ondas para a decomposição de amostras já é bastante conhecido, tendo os primeiros relatos em 1975, sendo esses estudos realizados em frascos aberto e em fornos domésticos. Com os avanços instrumentais, novos sistemas de micro-ondas foram criados a fim de aperfeiçoar tal prática bem como garantir maior segurança ao operador, uma vez que é possível obter informações de pressão e temperatura interna aos tubos durante o processo de decomposição (Krug, 2010).

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas portadoras de energia, onde uma vez absorvidas provocam aumento considerável na temperatura de tal material absorvente. Isso se deve a interação dessa radiação eletromagnética com íons contidos na solução, provocando a migração iônica e rotação de dipolos. Esse aquecimento tem como característica a absorção direta de energia pelo material, ou seja, não ocorre conforme observado no aquecimento convencional (chapas de aquecimento, chamas, etc.) (Arruda; Santelli, 1997; Krug, 2010).

CONCLUSÃO

Com base no exposto, é evidente a necessidade de controle de Hg em alimentos devido aos efeitos deletérios a saúde humana. Entretanto, a escolha da técnica para uma análise química elementar é uma etapa extremamente importante, pois é a partir desta será possível a obtenção dos resultados de interesse para o controle dos constituintes de amostras. Para a determinação deste analito, a técnica de CVG AAS tem se mostrado eficiente e aplicável para uma grande variedade de amostras de alimentos, apresentado resultados com elevada sensibilidade e baixos limites de detecção.

Outro ponto importante é o preparo de amostras, o qual deve ser compatível com a técnica instrumental de análise. Avaliar qual o melhor procedimento a ser adotado em cada análise química não é uma tarefa fácil. Essa escolha deve ser feita com atenção, a fim de garantir a obtenção de resultados seguros e mínima geração de erros durante o procedimento. Para isso, é recomendado a avaliação de parâmetros de validação a fim de garantir maior confiabilidade nos dados originados, tais como linearidade, curva de calibração, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão, recuperação, especificidade, estabilidade e robustez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arruda, M. A. Z., & Santelli, R. E. (1997). Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. *Química Nova*, 20, 638-643. DOI: 10.1590/S0100-40421997000600012
- Åström, O. (1982). Flow injection analysis for the determination of bismuth by atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Analytical Chemistry*, 54, 190-193. DOI: 10.1021/ac00239a011
- Azevedo, F. A., & Chasin, A. A. M. (2003). *Metais: Gerenciamento da toxicidade*. São Paulo: Editora Atheneu, 554 p.
- Bendicho, C., Pena, F., Costas, M., Gil, S., & Lavilla, I. (2010). Photochemistry-based sample treatments as greener approaches for trace-element analysis and speciation. *Trends in Analytical Chemistry*, 29, 681-691. DOI: 10.1016/j.trac.2010.05.003
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2008). *Bioquímica*, 6^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1114p.

- Bisinoti, M. C., & Jardim, W. F. (2004). O comportamento do metilmercúrio (MetilHg) no ambiente. *Química Nova*, 27, 593-600. DOI: 10.1590/S0100-40422004000400014
- Cavalli, S. B. (2001). Segurança alimentar: a abordagem dos alimentos transgênicos. *Revista Nutrição*, 14, 41-46. DOI: 10.1590/S1415-52732001000400007
- Clarkson, T. W., & Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 36, 609–662. DOI: 10.1080/10408440600845619
- Commission regulation (EC) N0 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Official Journal of the European Union, n. L255, 01 of September of 2007, 1-24.
- Craig, P. J., & Morton, S. F. (1978). Kinetics and mechanism of the reaction between methylcobalamin and mercury chloride. *Journal of Organometallic Chemistry*, 145, 79-89. DOI: 10.1016/S0022-328X(00)84076-0
- Crespo-Lopez, M. E., Augusto-Oliveira, M., Lopes-Araújo, A., Santos-Sacramento, L., Yuki Takeda, P., Macchi, B. de M., do Nascimento, J.L.M., Maia, C.S.F., Lima, R. R., & Arrifano, G. P. (2021). Mercury: What can we learn from the Amazon? *Environment International*, 146, 106223. DOI: 10.1016/j.envint.2020.106223
- Crespo-Lopez, M. E., Macêdo, G. L., Pereira, S.I. D., Arrifano, G. P. F., Picanço-Diniz, D. L. W., Nascimento, J. L. M., & Herculano, A. M. (2009). Mercury and human genotoxicity: Critical considerations and possible molecular mechanisms. *Pharmacological Research*, 60, 212–220. DOI: 10.1016/j.phrs.2009.02.011
- Ebadian, M. A., Allen, M., & Cai, Y. (2001). Mercury contaminated material decontamination methods: investigation and assessment. Hemispheric Center for Environmental Technology (HCET) – Final Report, Department of Energy, Miami, 61p.
- EPA, Environmental Protection Agency. Mercury study report to congress. EPA-452/R-97-003, United States, v. 1, 1997, 95p.
- EPA, Environmental Protection Agency. Technology Transfer Network Air Toxics Web Site: Mercury Compounds. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/mercury.html>>. Acessado em junho de 2022.
- Ferreira, S. L. C., Lemos, V. A., Silva, L. O. B., Queiroz, A. F. S., Souza, A. S., Silva, E. G. P., Santos, W.L.N., & Virgens, C. F. (2015). Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices — A review. *Microchemical Journal*, 121, 227–236. DOI: 10.1016/j.microc.2015.02.012.
- Flores, E. M. M., Barin, J. S., Mesko, M. F., & Knapp, G. (2007). Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels – a brief overview and recent applications. *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 1051–1064. DOI:10.1016/j.sab.2007.04.018

- Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nóbrega, J. A., & Nogueira, A. R. A. (2009). Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. *Talanta*, 79, 396–401. DOI: 10.1016/j.talanta.2009.04.001
- Guo, X., Sturgeon, R. E., Mester, Z., & Gardner, G. J. (2003). UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, 75, 2092–2099. DOI: 10.1021/ac020695h
- Guzzi, G. P., & La Porta, C. A. M. (2008). Molecular mechanisms triggered by Mercury. *Toxicology*, 244, 1–12. DOI: 10.1016/j.tox.2007.11.002
- Hath, W. R., & Ott, W. L. (1968). Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry*, 40, 2085–2087. DOI: 10.1021/ac50158a025
- Heller, A. A., & Weber, J. H. (1998). Seasonal study of speciation of mercury (II) and monomethylmercury in spartina alterniflora from the Great Bay Estuary, NH. *The Science of the Total Environment*, 221, 181–188. DOI: 10.1016/S0048-9697(98)00285-X.
- Kaercher, L. E., Goldschmidt, F., Paniz, J. N. G., Flores, E. M. M., & Dressler, V. L. (2005). Determination of inorganic and total mercury by vapor generation atomic absorption spectrometry using different temperatures of the measurement cell. *Spectrochimica Acta Part B*, 60, 705–710. DOI: 10.1016/j.sab.2005.03.006
- Korn, M. G. A., Boa Morte, E. S., Santos, D. C. M. B., Castro, J. T., Barbosa, J. T. P., Teixeira, A. P., Fernandes, A. P., Welz, B., Santos, W. P. C., Santos, E. B. G. N., & Korn, M. (2008). Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods – a review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43, 67–92. DOI: 10.1080/05704920701723980
- Kot, A., & Namiesńnik, J. (2000). The role of speciation in analytical chemistry. *Trends in analytical chemistry*, 19, 69–80. DOI: 10.1016/S0165-9936(99)00195-8
- Krug, F. J. (2010). *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparode amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*. 2 ed., Piracicaba: Editora EditSBQ, 340 p.
- Leermakers, M., Baeyens W., Quevauviller P., & Horvat, M. (2005). Mercury in environmental samples: speciation, artifacts and validation. *Trends in Analytical Chemistry*, 24, 383–393. DOI: 10.1016/j.trac.2004.01.001
- López-Antón, M. A., Díaz-Somoano, M., Ochoa-González, R., & Martínez-Tarazona, M. R. (2012). Analytical methods for Mercury analysis in coal and coal combustion by-products. *International Journal of Coal Geology*, 94, 44–53. DOI: 10.1016/j.coal.2012.01.010
- Matusiewicz, H., & Stanis, E. (2010). Evaluation of high pressure oxygen microwave-assisted wet decomposition for the determination of mercury by CVAAS utilizing UV-induced reduction. *Microchemical Journal*, 95, 268–273. DOI: 10.1016/j.microc.2009.12.012.

- Micaroni, R. C. C. M., Bueno, M. I. M. S., & Jardim, W. F. (2000). Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. *Química Nova*, 23, 487-495. DOI: 10.1590/S0100-40422000000400011
- Mitra, S. (2003). *Sample preparation techniques in analytical chemistry*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Moreda-Piñeiro, J., Moreda-Piñeiro, A., Romarís-Hortas, V., Domínguez-González, R., Alonso-Rodríguez, E., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D., & Barreiro-Barrera, P. (2012) Trace metals in marine foodstuff: bioavailability estimation and effect of major food constituents. *Food Chemistry*, 134, 339–345. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.02.165
- Morita, M., Yoshinaga, J., & Edmonds, J. S. (1998). The determination of mercury species in environmental and biological samples. *Pure and Applied Chemistry*, 70, 1585-1615. DOI: 10.1351/pac199870081585
- Nascimento, E. S., & Chasin, A. A. M. (2001). *Ecotoxicologia do mercúrio e seus compostos*. Série Cadernos de Referência Ambiental, 1, Salvador: CRA, 176p.
- Nemati, K., Bakar, N. K. A., Abas, M. R. B., Sobhanzadeh, E., & Low, K. H. (2010). Comparative study on open system digestion and microwave assisted digestion methods for metal determination in shrimp sludge compost. *Journal of Hazardous Materials*, 182, 453–459. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.06.053
- Nevado, J. J. B., Martín-Doimeadios, R. C. R., Moreno, M. J., Nascimento, J. L. M., Herculano, A. M., & Crespo-López, M. E. (2009). Mercury speciation analysis on cell lines of the human central nervous system to explain genotoxic effects. *Microchemical Journal*, 93, 12–16. DOI:10.1016/j.microc.2009.03.008
- Oliveira, E. (2003). Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14, 174-182. DOI: 10.1590/S0103-50532003000200004.
- Oliveira, R. B., Gomes-Leal, W., Nascimento, J. L. M., & Picanço-Diniz, C. W. (1998). Methylmercury intoxication and histochemical demonstration of NADPH diaphorase activity in the striate cortex of adult cats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 31, 1157-1161. DOI:10.1590/S0100-879X1998000900009
- OMS, Organização Mundial da Saúde. (2014). Public health impacts of exposure to mercury and mercury compounds: the role of WHO and ministries of public health in the implementation of the Minamata Convention. Accessed 10th June 2022. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/162849>.
- OMS, Organização Mundial da Saúde. (2017). Mercury and health. Accessed 10th June 2022. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>.
- Pacyna, E. G., Pacyna, J. M., Sundseth, K., Munthe, J., Kindbom, K.; Wilson, S., Steenhuisen, F., & Maxson, P. (2010). Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections 2020. *Atmospheric Environment*, 44, 2487-2499. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2009.06.009

- Pohl, P. (2004). Recent advances in chemical vapour generation via reaction with sodium tetrahydroborate. *Trends in Analytical Chemistry*, 23, 21-27. DOI: 10.1016/S0165-9936(04)00103-7
- Ramalhosa, E., Segade, S. R., Pereira, E., Vale, C., & Duarte, A. (2001). Simple methodology for methylmercury and inorganic mercury determinations by high performance liquid chromatography cold vapour atomic fluorescence spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 448, 135–143. DOI: 10.1016/S0003-2670(01)01317-4
- Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., & Curtius, A. J. (2004). Slurry Sampling for Hg Determination in Sediments, Sewage Sludge and Coal Samples by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15, 825-831. DOI: 10.1590/S0103-50532004000600007
- Řužička, J., & Hansen, E. H. (1975). Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. *Analytica Chimica Acta*, 78, 145-157. DOI: 10.1016/S0003-2670(01)84761-9
- Segade, S. R., & Tyson, J. F. (2003). Determination of inorganic mercury and total mercury in biological and environmental samples by flow injection-cold vapor atomic absorption spectrometry using sodium borohydride as the sole reducing agent. *Spectrochimica Acta Part B*, 58, 797–807. DOI: 10.1016/S0584-8547(03)00015-6
- Serafimovski, I., Karadjova, I., Stafilov, T., & Cvetković, J. (2008). Determination of inorganic and methylmercury in fish by cold vapor atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Microchemical Journal*, 89, 42–47. DOI: 10.1016/j.microc.2007.11.003
- Silva, C. S., Oreste, E. Q., Nunes, A. M., Vieira, M. A., & Ribeiro, A. S. (2012). Determination of mercury in ethanol biofuel by photochemical vapor generation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 27, 689-694. DOI: 10.1039/C2JA10281A
- Sturgeon, R. E., & Mester, Z. (2002). Analytical applications of volatile metal derivatives. *Applied Spectroscopy*, 56, 202A-213A.
- Suzuki, T., Akagi, H., Arimura, K., Ando, T., Sakamoto, M., Satoh, H., Naganuma, A., Futatsuka, M., & Matsuyama, A. (2004). *Mercury analysis manual*. Ministry of the Environment, Japan, 105p.
- Takase, I., Pereira, H. B., Luna, A. S., Grinberg, P., & Campos, R. C. (2002). A geração química de vapor em espectrometria atômica. *Química Nova*, 25, 1132-1144. DOI: 10.1590/S0100-40422002000700014
- Tao, G. Willie, S. N., & Sturgeon, R. E. (1998). Determination of total mercury in biological tissues by flow injection cold vapour generation atomic absorption spectrometry following tetramethylammonium hydroxide digestion. *Analyst*, 123, 1215–1218. DOI: 10.1039/a802000k
- Torres, D. P., Vieira, M. A., Ribeiro, A. S., & Curtius, A. J. (2005). Determination of inorganic and total Mercury in biological Samples treated with tetramethylammonium hydroxide by cold vapor atomic

- absorption spectrometry using different temperatures in the quartz cell. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20, 289-294. DOI:10.1039/b416167j
- Vieira, M. A., Ribeiro, A. S., Curtius, A. J., & Sturgeon, R. E. (2007). Determination of total mercury and methylmercury in biological samples by photochemical vapor generation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 837-847. DOI: 10.1007/s00216-007-1194-2
- Wang, J., Feng, X., Anderson, C. W. N., Xing, Y., & Shang, L. (2012). Remediation of Mercury Contaminated Sites - A Review. *Journal of Hazardous Materials*, 221, 1-18. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.04.035
- Welz, B., & Sperling, M. (1999). *Atomic Absorption Spectrometry*. 3 ed., Wiley-Vch: Germany, 955p.
- Wu, P., He, L., Zheng, C., Hou, X., & Sturgeon, R. E. (2010). Applications of chemical vapor generation in non-tetrahydroborate media to analytical atomic spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 25, 1217-1246. DOI: 10.1039/c003483e
- Zahir, F., Rizwi, S. J., Haq, S. K., & Khan, R. H. (2005). Low dose mercury toxicity and human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20, 351-360. DOI: 10.1016/j.etap.2005.03.007

Processos biotecnológicos relacionados à mitigação de micotoxinas em alimentos

Recebido em: 30/06/2022

Aceito em: 02/07/2022

 10.46420/9786581460464cap4

Wesclen Vilar Nogueira^{1*} 

Ana Flávia Vendramin Comunello² 

Bryan Correa da Silva³ 

Diean Fabiano Alvares Pinheiro⁴ 

Giuliana Barrios Penha Fernandez⁵ 

Matheus Ferrazza Fantoni⁶ 

Jaqueline Garda Buffon^{7*} 

INTRODUÇÃO

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por fungos filamentosos, principalmente aqueles pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (Afsah-Hejri et al., 2020). Em condições ambientais favoráveis, os fungos podem infectar uma ampla variedade de alimentos de origem vegetal, especialmente cereais, frutas e sementes que podem ser contaminados desde o cultivo até o armazenamento (Karlovsy et al., 2016). O contato com as micotoxinas também pode ocorrer através do consumo de carnes, leite e ovos oriundos de animais expostos a rações contaminadas (Afsah-Hejri et al., 2020; Ogunade et al., 2018).

O comércio internacional contribui significativamente para a disseminação dos impactos da contaminação fúngica. A ocorrência de micotoxinas em commodities é responsável por inúmeras perdas econômicas relacionada principalmente à queda do valor de mercado pelo maior emprego de fungicidas, à redução da produtividade e do desempenho de animais (Karlovsy, 2011). Além disso, os efeitos causados por algumas micotoxinas geram grandes preocupações de saúde pública devido a sua alta recorrência e efeitos cancerígenos, mutagênicos, teratogênicos e imunossupressores segundo a *International Agency for Research on Cancer* (Iarc, 2002). Dentre os grupos com maior toxicidade, destacam-se as aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxina A, zearalenona e os tricotecenos. Os níveis de micotoxinas são regulados mundialmente por vários países, nos quais os regulamentos mais detalhados, discriminados por produto alimentício e faixa etária, foram implementados pela União Europeia (European Commission, 2006, 2012, 2013).

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos, Rio Grande, RS, Brasil.

* Autor correspondente: wesclenvilar@gmail.com e jaquelinebuffon@furg.br

Diversas abordagens foram desenvolvidas para mitigar os níveis de micotoxinas em alimentos (Marshall et al., 2020; Makhuvele et al., 2020). Entretanto, cada método possui sua limitação quanto à segurança, influência no valor nutricional, aspectos sensoriais, eficácia e custos de aplicação (Ji, Fan & Zhao, 2016; Ogunade et al., 2018). As estratégias tradicionais de mitigação envolvem processos físicos básicos, como triagem, lavagem, fresagem e tratamentos térmicos (Loi et al., 2017). Métodos não convencionais, como irradiação, luz ultravioleta, luz pulsada e plasma frio estão sendo propostos em processos alimentícios como métodos viáveis de descontaminação (Deng et al., 2020). Além disso, o uso de agentes de adsorção ou aglutinantes, como carvão ativado, bentonita e zeólitos também têm sido efetivo no combate às micotoxinas (Ogunade et al., 2018; Makhuvele et al., 2020).

As micotoxinas também podem ser mitigadas por meio de tratamento químicos como ácidos, hidrólise alcalina e agentes oxidantes, como peróxidos e ozônio (Afsah-Hejri et al., 2020). No entanto, a aplicação desses métodos em alimentos destinados ao consumo humano e animal é limitado, devido à potencial toxicidade dos reagentes, baixa eficácia, elevados custos de implementação e às alterações nutricionais decorrentes desses tratamentos (Loi et al., 2017). Na busca de técnicas mais eficazes, economicamente viáveis e com condições brandas de operação foram desenvolvidos métodos de descontaminação capazes de transformar biologicamente as micotoxinas em compostos menores ou até sem toxicidade (Ji et al., 2016). Os métodos biológicos consistem em utilizar micro-organismos ou enzimas para metabolizar as micotoxinas através de tratamentos específicos, com menor impacto na qualidade nutricional e sensorial quando relacionado a alimentos (Loi et al., 2017). Além disso, estes agentes biológicos podem ser modificados geneticamente e aplicados em processos fermentativos, a fim de otimizar os métodos de descontaminação (Karlovsky, 2011; Marshall et al., 2020).

Dado o exposto, este capítulo tem por objetivo compilar dados relativos aos métodos biotecnológicos utilizados para mitigar micotoxinas de maior ocorrência em alimentos que podem ocasionar impacto direto na economia mundial e na saúde dos consumidores.

PROCESSOS FERMENTATIVOS

O agronegócio é considerado o setor de maior importância para o desenvolvimento do produto interno bruto de um país, desempenhando papel importante na produção, processamento e transformação dos alimentos (Kurmanalina et al., 2020). Dentre os setores do agronegócio, a agricultura se destaca pela elevada produção de cereais. O cultivo de cereais ocorre a nível mundial e o volume de produção é maior do que qualquer outro tipo de produto. O elevado volume está diretamente relacionado ao consumo uma vez que são considerados as principais fontes calóricas para humano (FAO, 2020). Os principais cereais produzidos a nível mundial, seguindo uma ordem decrescente de produção é o milho, trigo, arroz e soja (Faostat, 2022). Apesar da importância em relação a alimentação e do elevado volume produzido, a cadeia produtiva de cereais gera grandes quantidades de resíduos, principalmente no pós-colheita (Obi et al., 2016). Caso não possuam destino adequado os resíduos podem poluir solos e corpos

hídricos. Além disso, a lixiviação de compostos oriunda da decomposição dos resíduos acarreta problemas de saúde pública (Souza, 2018).

Assim, estratégias de gestão de resíduos agrícolas são necessários para sustentabilidade da cadeia produtiva (Koul et al., 2022). Nesse contexto, a gestão de resíduos empregando processos fermentativos é uma alternativa. Esses processos utilizam micro-organismos GRAS (do inglês, *Generally Recognized as Safe*) (e.g., bactérias, leveduras e fungos filamentosos) que proporcionam melhorias nas características funcionais dos resíduos aumentando a concentração de nutrientes através de reações catalisadas por enzimas (Furlong et al., 2007). Assim, os compostos resultantes dos processos de biotransformação podem ser empregados na indústria farmacêutica, alimentícia e química promovendo a sustentabilidade da indústria agrícola e também do meio ambiente (Canedo et al., 2016; Christ-Ribeiro et al., 2017; Das; Kumar, 2018; Saraiva et al., 2018; Christ-Ribeiro et al., 2020; Namnuch et al., 2021). Os processos fermentativos para reutilização de resíduos possuem vantagens quando comparado aos demais. Dentre as vantagens dos processos fermentativos estão o baixo custo de processo, a não utilização de produtos químicos, a facilidade da aplicação e controle, e melhoria da digestibilidade e do valor nutricional (Borzani et al., 2001; Liu et al., 2020).

Os processos fermentativos podem ser divididos em fermentação submersa e fermentação em estado sólido. No primeiro caso, trata-se da condução de processo em que todos os nutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento dos micro-organismos são disponibilizados em fase aquosa abundante (Gautério et al., 2018, 2020, 2021; Machado et al., 2021). Esta técnica é comumente usada com micro-organismos que possuem maior necessidade de água livre (Reque et al., 2019), o que não inviabiliza a utilização de fungos que, inclusive, mostram resultados satisfatórios na produção de enzimas (e.g., xilanases e celulases) (Liu et al., 2020; Corrêa Jr et al., 2022). Este processo é mais eficaz para aplicações industriais, uma vez que apresenta uma maior exatidão no controle das condições da fermentação e maior facilidade para aumento de escala (Borzani et al., 2001).

A fermentação em estado sólido é conduzida utilizando substrato ou material inerte como matriz sólida para o cultivo de micro-organismos. Ao contrário do método apresentado anteriormente, neste tem-se apenas o nível de atividade de água necessário para garantir o crescimento dos micro-organismo sem exceder a capacidade máxima de ligação da matriz com a água (Ribeiro et al., 2017). Os micro-organismos que melhor se adaptam são aqueles que não possuem a necessidade de quantidades abundantes de água (e.g., fungos filamentosos) (Christ-Ribeiro et al., 2021). É uma técnica que apresenta possibilidade de utilização direta para alguns resíduos, apresenta menor complexidade de procedimentos, menor consumo energético, baixo custo, maior taxa de conversão uma vez que ocorre contato direto entre o substrato e o micro-organismo, baixo volume de água, maior acessibilidade aos micro-organismos que podem ser empregados, menor produção de resíduos líquidos e redução dos riscos de contaminação (Borzani et al., 2001).

Ambos os processos apresentam viabilidade de emprego na reciclagem de resíduos agrícolas e na melhoria das características funcionais e aumento a concentração de nutrientes (Ribeiro et al., 2017). Outro fator importante é que estes processos fermentativos contribuem para descontaminação de compostos tóxicos como as micotoxinas (Garda-Buffon; Badiale-Furlong, 2010; Christ-Ribeiro et al., 2019). Isso está relacionado ao fato de alguns micro-organismos, através de seu sistema multi-enzimático, poderem metabolizar as micotoxinas, alterando sua estrutura química tendo como resultado a mitigação e/ou descontaminação. Além de disso, essas enzimas, proteínas, podem proporcionar a conjugação com determinadas micotoxinas tornando-as menos ativas como agentes patogênicos. Isso pode ser evidenciado no estudo desenvolvido por Furlong et al. (2007). Os autores avaliaram a capacidade de fungos GRAS (*Aspergillus oryzae* e *Rhizopus* spp.) em aumentar os teores proteicos e a capacidade de mitigar aflatoxina B₁ e ocratoxina A em farelo de arroz e trigo durante fermentação em estado sólido utilizando reatores de bandeja a 30 °C. Para isso, os farelos foram contaminados simultaneamente com aflatoxina B₁ (12 e 25 ng/g) e ocratoxina A (48 e 95 ng/g). Os autores concluíram que ambas as espécies fúngicas proporcionaram aumento nos níveis de proteína e proporcionaram a mitigação das micotoxinas em 17 e 80%, respectivamente.

Garda-Buffon e Badiale-Furlong (2010) avaliaram a capacidade das espécies fúngicas *Aspergillus oryzae* e *Rhizopus oryzae* em mitigar desoxinivalenol durante fermentação submersa. Para isso, foi empregado meio submerso contaminado com 1 µg/mL de desoxinivalenol e inoculação com 4×10⁶ esporos/mL de ambas as espécies fúngicas. A concentração de desoxinivalenol foi determinada a cada 48 h durante 240 h de processo. A mitigação mais significativa de desoxinivalenol ocorreu em 96 (74%) e 240 h (90%) para *Aspergillus oryzae* e *Rhizopus oryzae*, respectivamente. Christ-Ribeiro et al. (2021) avaliaram a inclusão de farelo de arroz fermentado em estado sólido por *Saccharomyces cerevisiae* na formulação de biscoitos sem glúten, bem como caracterizá-los quanto às suas propriedades físico-químicas e antioxidantes. Os biscoitos foram elaborados com diferentes níveis de farelo de arroz fermentado (25, 50 e 100 g, respectivamente) e comparado com controle, sem farelo de arroz fermentado. Os autores concluíram que todas as formulações apresentaram o teor de proteína, compostos fenólicos e atividade antioxidante aumentadas quando comparados ao controle. Assim, ambos os processos fermentativos utilizando micro-organismos GRAS são promissores para aumentar o teor de proteínas e proporcionar ingredientes alimentícios com menores concentrações de micotoxinas.

ENZIMAS

Enzimas apresentam natureza proteica e são consideradas catalisadores biológicos responsáveis por regular reações metabólicas, fornecendo condições favoráveis ou diminuindo a energia de ativação da reação, sendo responsáveis por iniciar as reações de catálise. A velocidade da reação catalisada por uma enzima pode ser alterada de acordo com os parâmetros reacionais a que é exposta (e.g. tempo, temperatura, pH, concentração de substrato) (Gomes; Polizelli, 2010; Marciano et al., 2015). A otimização

destes parâmetros visando a obtenção de condições ótimas de reação enzimática resulta no aumento da velocidade de reação (Oliveira; Silva, 2017). Em contrapartida, caso as enzimas sejam expostas a temperatura elevadas ou outras condições drásticas, podem ser desnaturadas e/ou inativadas (Feltrin et al., 2017; Garcia et al., 2020; Marimon-Sibaja et al., 2018).

De acordo com a *Enzyme Commission*, as enzimas são classificadas de acordo com as reações que catalisam, estando subdivididas em seis classes, sendo elas as hidrolases, as isomerases, as liases, as ligases, as oxidorredutases e as transferases (Webb, 1992). Dentre as classes, destacam-se as hidrolases e oxidorredutases na aplicação em processos biológicos. Isso está relacionado ao fato dessas enzimas operarem em ampla faixa de pH, serem estáveis a altas temperaturas e a vários agentes inibidores (Guan et.al 2015). As oxirredutases clivam ligações químicas e auxiliam na transferência de elétrons de um substrato orgânico reduzido a outro composto químico, enquanto as hidrolases clivam ligações covalentes associadas a moléculas de água (Araújo, 2018; Gonçalves; Fonseca, 2018).

Essas enzimas podem ser encontradas em plantas, animais e micro-organismos (Carneiro et.al, 2020) e apresentam capacidade de alterar substratos orgânicos de diversos substratos (Ramalho et al., 2016; Zheng et al., 2017; Teixeira; Milagre, 2020), inclusive, metabólitos secundários como as micotoxinas (Feltrin et al., 2017; Garcia et al., 2018). Garcia et.al (2020) avaliaram a ação da enzima peroxidase comercial obtida de *Armoracia rusticana* na mitigação simultânea da ocratoxina A e da zearalenona em solução modelo e cerveja. Para isso, os parâmetros de reação da enzima foram otimizados. Nas condições ótimas de reação (pH 7, força iônica de 25 mM, incubação a 30 °C, adição de 26 mM de H₂O₂ e 1 mM de íon de potássio), a enzima (0,6 U/mL) apresentou mitigação máxima de 27,0 e 64,9%, para ocratoxina A e zearalenona respectivamente, em solução modelo após 360 min. A aplicação da PO em cerveja resultou na mitigação simultânea de ocratoxina A e zearalenona em 4,8 e 10,9%, respectivamente.

Marimon-Sibaja et al. (2018) avaliaram a mitigação de aflatoxina B₁ por peroxidase e sua aplicação em alimentos contaminados. Primeiramente os parâmetros de reação da enzima foram otimizados (0,015 U/mL, adição de 0,08% H₂O₂, 30 °C por 8 h a 150 rpm) em solução modelo (tampão fosfato 100 mmol/L). Nas condições ótimas, ao serem adicionados 0,015 U/mL de peroxidase, a mitigação de aflatoxina B₁ foi de 97% em relação a concentração inicial (0,5 µg/L). Quando a peroxidase (0,015 U/mL) foi aplicada em amostras de leite e cervejas a mitigação foi de 97 e 24%, respectivamente. Feltrin et al. (2017) avaliaram a mitigação de tricoteceno (toxina T-2, desoxinivalenol, nivalenol, 3-acetildesoxinivalenol e 15-acetildesoxinivalenol) utilizando lacase e da lipase em solução modelo. Os autores concluíram que a lacase apresentou mitigação máxima de 1,5% para toxina T-2, 7% para 15-acetildesoxinivalenol, 14,6% para desoxinivalenol e 20,3% para 3-acetildesoxinivalenol. A aplicação da lipase resultou na mitigação máxima de 12,3% para toxina T-2, 45,4% para 15-acetildesoxinivalenol, 50,2% para 3-acetildesoxinivalenol e 68,4% para desoxinivalenol. De acordo com os autores, a mitigação dos tricotecenos pelas enzimas está baseada na hidroxilação do anel epóxido, além disto foi salientado que a possibilidade de adsorção pela presença de grupos hidroxila na enzima permitindo ligações de

hidrogênio com a micotoxina. As lacases também têm ação estereoespecífica que podem oxidar grupos hidroxila dos anéis fenólicos presentes nos tricotecenos.

As vantagens do uso de enzimas para mitigar micotoxinas e a facilidade de aplicação dos processos de fermentação gera uma nova alternativa quanto ao uso de micro-organismos geneticamente modificados visando a melhoria da produção industrial de enzimas aliada a mitigação de micotoxinas. Essas modificações podem ser obtidas tanto pela modificação genética quanto pelo uso de enzimas recombinantes. O uso de micro-organismos geneticamente modificados para a produção de enzimas permite aumentar o rendimento da produção, melhorando as características da enzima produzida e colaborando para redução de micotoxinas.

NOVAS TECNOLOGIAS APLICADAS A DEGRADAÇÃO DE MICOTOXINAS

Para reduzir a concentração de micotoxinas em alimentos, métodos químicos (Garda; Badiale-Furlong, 2003), físicos (Karlovsky et al., 2016) e biológicos (Bovo et al., 2010; Petruzzi et al., 2014; Stander et al., 2000) foram avaliados. Dentre esses, os biológicos têm se destacando (Kupski et al., 2013). Com o intuito de elevar a eficiência de métodos biológicos novas técnicas estão sendo estudadas, tais como o uso de ultrassom (Golunski et al., 2017; Fontes, 2017), alta pressão hidrostática (Avsaroglu et al., 2015), micro-ondas (Golunski et al., 2017), luz ultravioleta (Chandra et al., 2017), campos magnéticos (Gemishev et al., 2009; Liu et al., 2010) e campos elétricos moderados (Garcia, 2018).

Ultrassom

O ultrassom é uma onda mecânica acústica produzida pelo movimento oscilatório das partículas de um meio (Mason et al., 2005). Esse método pode ser empregado em reações enzimáticas como pré-tratamento de amostras, onde reduz o tamanho de partículas e aumenta a superfície catalítica ou, durante toda a reação enzimática, pois acredita-se que isso favoreça o acesso do substrato ao sítio ativo (Delgado-Povedano; Castro, 2015). A ação do ultrassom em peroxidase foi avaliada por Golunski et al. (2017). Os autores observaram incremento de 129,5%, 147,9% e 102,4% na atividade relativa da peroxidase extraída de farelo de arroz, farelo de soja e comercial, respectivamente, quando submetidas a ultrassom com potência de 39,6 W e 55 °C, por 10 min. Outro estudo, realizado por Fontes (2017), avaliou a aplicação de ondas ultrassônicas para mitigação de desoxinivalenol, 15-acetil-deoxinivalenol, 3-acetil-deoxinivalenol e nivalenol em grãos de trigo e, após o tratamento, obteve-se redução média na concentração dessas micotoxinas de 26%, 23,3% e 17,8%, respectivamente, sendo que as melhores condições foram 3,5 h de exposição, 25 kHz e diâmetro do béquer de 3 cm.

Alta pressão hidrostática

O método de alta pressão hidrostática consiste na utilização de pressões acima de 100 MPa (Martín et al., 2002), que são geradas pela compressão da água por bombas e intensificadores de pressão

(Buckow; Heinz, 2008). Essa tecnologia é capaz de desnaturar ou modificar proteínas, ativar ou não enzimas e alterar as interações substrato-enzima (Butz; Tauscher, 2002). Avsaroglu et al. (2015) avaliaram a utilização de alta pressão hidrostática pulsada na degradação de patulina em suco de maçã e observaram que a combinação de calor moderado com pulsos suaves de pressão hidrostática reduziu os níveis dessa micotoxina em até 62%, no entanto não foi possível determinar a combinação de pressão e calor mais apropriada para redução de patulina, uma vez que os resultados foram variáveis.

Micro-ondas

As micro-ondas são radiações que variam entre 300 MHz e 300 GHz e correspondem ao intervalo de comprimento de onda de 1 m a 1 mm (Banik, Bandyopadhyay & Ganguly, 2003). Os efeitos de micro-ondas em reações químicas estão relacionados com o atrito molecular de curto alcance, devido a polarização causada pela irradiação, que eleva a temperatura no local e as taxas de reação (Lopes et al., 2015). Golunski et al. (2017) avaliaram a ação de micro-ondas na atividade relativa de peroxidase extraída de diferentes fontes e observaram o aumento de 107,4% na atividade relativa de peroxidase extraída de farelo de arroz com 10 s de reação e temperatura de cerca de 50 °C.

Luz ultravioleta

A luz ultravioleta situa-se na região entre os raios-x (200 nm) e a luz visível (400 nm) e pode ser classificada em UV-C (200 a 280 nm), UV-B (280 a 320 nm) e UV-A (320 a 400 nm) (Bintsis et al., 2000). É considerada um eficiente antimicrobiano e atua danificando o DNA das células, comprometendo suas funções celulares e, eventualmente, levando à morte celular (Sastry et al., 2000). Chandra et al. (2017) avaliaram o uso de UV-C (254 nm) para degradação de patulina em suco de maçã e observaram a redução de 69% na concentração da micotoxina. No entanto, de acordo com este estudo, o percentual de degradação da patulina pode ser dependente da presença de agentes cromóforos, como riboflavina.

Campos magnéticos

Os campos magnéticos podem ser definidos como o local de atuação de forças magnéticas (Burns; MacDolnald, 1975) e podem ser classificados, quanto sua intensidade, em fraco (menor que 1 mT), moderado (1 mT a 1 T), forte (1 a 5 T) e ultra forte (maior que 5 T) (Dini & Abbro, 2005). No estudo desenvolvido por Gemishev et al. (2009) foi observado o aumento de 27% na atividade da endoglucanase quando utilizado campo magnético de 10 mT com 24 h de exposição. Liu et al. (2010) relataram, também, o aumento de 20% na atividade da α -amilase imobilizada em quitosana após tratamento com campo magnético estático de 0,15 T por 1 h. Não há dados sobre a degradação de micotoxinas pela aplicação de campos magnéticos, mas se a atividade enzimática pode ser incrementada e estas, conforme descrito por Garcia (2020), He et al. (2016) e Stander et al. (2000), podem atuar na

degradação destes contaminantes, resultados promissores podem ser alcançados pela aplicação dessa tecnologia.

Campo elétrico moderado

O campo elétrico moderado é um método que consiste na passagem de corrente elétrica alternada pelo alimento, com forma de onda arbitrável e intensidade de campo elétrico menor ou igual a 1000 V(cm)-1. A aplicação dessa tecnologia pode resultar na geração de calor, processo denominado aquecimento ôhmico ou pode não gerar calor, nessa situação pode ocorrer um aumento na transferência de massa de alguns componentes intracelulares (Sensoy; Sastry, 2004). Garcia (2018) avaliou a aplicação de campo elétrico moderado, em diferentes condições de pH e potencial, na degradação da patulina e do fungicida piraclostrobina em maçãs e observou uma redução na concentração desses compostos de até 74% e 64%, respectivamente, quando aplicado o maior potencial (2,6V). O pH na faixa estudada apresentou pouco efeito na degradação da patulina e a degradação do fungicida foi melhor em pH 4.

CONCLUSÃO

A ocorrência de micotoxinas em insumos ou alimentos processados é uma realidade que gera a necessidade da mitigação destes contaminantes com garantia de disponibilização de um alimento seguro. Portanto, o emprego de processos fermentativos, micro-organismos específicos ou enzimas aliadas a tecnologias inovadoras pode ser a alternativa viável para a garantia da qualidade de alimentos de consumo diário da população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afsah-Hejri, L., Hajeb, P., & Ehsani, R. J. (2020). Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1777-1808. DOI: 10.1111/1541-4337.12594
- Araújo, E. A. (2018). *Explorando as relações entre estrutura e função de glicosídeos das famílias 9,48, 74*. 2018. Tese, USP, São Carlos, Brasil.
- Avsaroglu, M. D., Bozoglu, F., Alpas, H., Largeteau, A., & Demazeau, G. (2015). Use of pulsed-high hydrostatic pressure treatment to decrease patulin in apple juice. *High Pressure Research*, 35(2), 214-222. DOI: 10.1080/08957959.2015.1027700
- Banik, S., Bandyopadhyay, S., & Ganguly, S. (2003). Bioeffects of microwave - a brief review. *Bioresource Technology*, 87(2), 155-159. DOI: 10.1016/s0960-8524(02)00169-4
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Robinson, R. K. (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry—a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(6), 637-645. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(20000501)80:6<637::AID-JSFA603>3.0.CO;2-1

- Borzani, W., Schmidell, W., Lima, U. A., & Aquarone, E. (2001). *Biotechnologia Industrial*. São Paulo: Blucher.
- Bovo, F., Corassin, C. H., & Oliveira, C. A. F. (2010). Descontaminação de aflatoxinas em alimentos por bactérias ácido-láticas. *Ciências Biológicas e da Saúde*, 12(2), 15-21.
- Buckow R., & Heinz V. (2008). High pressure processing – a database of kinetic information. *Chemie Ingenieur Technik*, 80(8), 1081-1095. DOI: 10.1002/cite.200800076
- Burns, D., & MacDonald, S. (1975). *Physics for biology and pre-medical students*. Filipinas: Addison-wesley publishers limited.
- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging Technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35(2), 279-284. DOI: 10.1016/S0963-9969(01)00197-1
- Canedo, M. S., Paula, F. G., Silva, F. A., & Vendruscolo, F. (2016). Protein enrichment of brewery spent grain from *Rhizopus oligosporus* by solid-state fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39, 1105-1113. DOI: 10.1007/s00449-016-1587-8
- Carneiro, N. S. P. (2020). Avaliação da enzima peroxidase e dos compostos fenólicos durante etapas de fermentação de *Theobroma cacao*. In Carneiro, N. S. P. et al. (Orgs.). *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*. São Paulo: Editora Científica Digital.
- Chandra, S., Patras, A., Pokharel, B., Bansode, R. R., Begum, A., & Sasges, M. (2017). Patulin degradation and cytotoxicity evaluation of UV irradiated apple juice using human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Food Process Engineering*, 40(6), e12586. DOI: 10.1111/jfpe.12586
- Christ-Ribeiro, A., Bretanha, C. C., Luz, G. G., Souza, M. M., & Badiale-Furlong, E. (2017). Antifungal compounds extracted from rice bran fermentation applied to bakery product conservation. *Acta Scientiarum*, 39(3), 263-268. DOI: 10.4025/actascitechnol.v39i3.29099
- Christ-Ribeiro, A., Graça, C. S., Kupski, L., Badiale-Furlong, E., & Souza-Soares, L. A. (2019). Cytotoxicity, antifungal and anti mycotoxins effects of phenolic compounds from fermented rice bran and *Spirulina* sp. *Process Biochemistry*, 80, 190-196. DOI: 10.1016/j.procbio.2019.02.007
- Christ-Ribeiro, A., Alves, J. B., Souza-Soares, L. A., & Badiale-Furlong, E. (2020). Fermented rice bran: an alternative ingredient in baking. *Research, Society and Development*, 9(11), e45491110225. DOI: 10.33448/rsd-v9i11.10225
- Christ-Ribeiro, A., Chiattoni, L. M., Mafaldo, C. R. F., Badiale-Furlong, E., & Souza-Soares, L. A. (2021). Fermented rice-bran by *Saccharomyces cerevisiae*: Nutritious ingredient in the formulation of gluten-free cookies. *Food Bioscience*, 40, 100859. DOI: 10.1016/j.fbio.2020.100859
- Corrêa Jr, L. C. S., Gautério, G. V., Burkert, J. F. M., & Kalil, S. J. (2022). Purification of xylanases from *Aureobasidium pullulans* CCT 1261 and its application in the production of xylooligosaccharides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38, 52. DOI: 10.1007/s11274-022-03240-5
- Das, A. J., & Kumar, R. (2018). Utilization of agro-industrial waste for biosurfactant production under submerged fermentation and its application in oil recovery from sand matrix. *Bioresource Technology*, 260, 233-240. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.03.093

- Delgado-Povedano, M. M., & Castro, M. D. L. (2015). A review on enzyme and ultrasound: A controversial but fruitful relationship. *Analytica Chimica Acta*, 889, 1-21. DOI: 10.1016/j.aca.2015.05.004
- Deng, L. Z., Tao, Y., Mujumdar, A. S., Pan, Z., Chen, C., Yang, X. H., Liu, Z. L., Wang, H., & Xiao, H. W. (2020). Recent advances in non-thermal decontamination technologies for microorganisms and mycotoxins in low-moisture foods. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 104-112. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.10.012
- Dini, L., & Abbro, L. (2005). Bioeffects of moderate-intensity static magnetic fields on cell cultures. *Micron*, 36, 195-217. DOI: 10.1016/j.micron.2004.12.009
- European Commission (2006). Commission Regulation n° 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 1:1-35.
- European Commission (2012). Commission recommendation n° 2012/154/EU of 15 March 2012 on the monitoring of the presence of ergot alkaloids in feed and food. *Official Journal of the European Union*, 77:20-21.
- European Commission (2013). Commission recommendation n° of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products. *Official Journal of the European Union*, 3(4):1-4.
- Faostat. (2022). Value of agricultural production. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>>. Acesso em: 25 jun. 2022.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). The state of food and agriculture 2020. Rome: FAO. DOI: 10.4060/cb1447en
- Feltrin, A. C. P., Sibaja, K. V. M., Tusnski, C., Caldas, S. S., Primel, E. E., & Garda-Bufferon, J. (2017). Evaluation of the suitability of analytical methods in trichothecene A and B degradation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(10), 2117-2126. DOI: 10.21577/0103-5053.20180086
- Fontes, M. R. V. (2017). *Mitigação de tricotecenos em grãos de trigo através do emprego de ondas ultrassônicas e luz ultravioleta*. Dissertação, FURG, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Furlong, E. B., Cacciamani, J. L. M., & Bufferon, J. G. (2007). Fermentação fúngica: enriquecimento protéico e degradação de micotoxinas em farelo de cereal contaminado com aflatoxina B1 e ocratoxina A. *Brazilian Journal of Food Technology*, 10(4), 233-239.
- Garcia, M. D. V. (2018). *Análise de patulina e fungicidas em maçãs e sua degradação por campo elétrico contínuo*. Dissertação, UFPel, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Garcia, S. O., Feltrin, A. C. P., & Garda-Bufferon, J. (2018). Zearalenone reduction by commercial peroxidase enzyme and peroxidases from soybean bran and rice bran. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(9), 1819-1831. DOI: 10.1080/19440049.2018.1486044
- Garcia, S. O., Sibaja, K. V. M., Nogueira, W. V., Feltrin, A. C. P., Pinheiro, D. F. A., Cerqueira, M. B. R., Furlong, E. B. & Garda-Bufferon, J. (2020). Peroxidase as a simultaneous degradation agent of

- ochratoxin A and zearalenone applied to model solution and beer. *Food Research International*, 131, 109039, 2020.
- Garda, J., & Badiale-Furlong, E. (2003). Descontaminação de micotoxinas: uma estratégia promissora. *Revista vetor*, 13(2), 7-15.
- Garda-Bufferon, J., & Badiale-Furlong, E. (2010). Kinetics of deoxynivalenol degradation by *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae* in submerged fermentation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(4), 710-714. DOI: 10.1590/S0103-50532010000400018
- Gautério, G. V., Vieira, M. C., Silva, L. G. G., Hübner, T., Sanzo, A. V. L., & Kalil, S. J. (2018). Production of xylanolytic enzymes and xylooligosaccharides by *Aureobasidium pullulans* CCT 1261 in submerged cultivation. *Industrial Crops and Products*, 125, 335-345. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.09.011
- Gautério, G. V., Silva, L. G. G., Hübner, T., Ribeiro, T. R., & Kalil, S. J. (2020). Maximization of xylanase production by *Aureobasidium pullulans* using a by-product of rice grain milling as xylan source. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101511. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101511
- Gautério, G. V., Silva, L. G. G., Hübner, T., Ribeiro, T. R., & Kalil, S. J. (2021). Xylooligosaccharides production by crude and partially purified xylanase from *Aureobasidium pullulans*: Biochemical and thermodynamic properties of the enzymes and their application in xylan hydrolysis. *Process Biochemistry*, 104, 161-170. DOI: 10.1016/j.procbio.2021.03.009
- Gemishev, O., Dimova, P., Panova, N., & Evstatieva, Y. (2009). Effect of static magnetic field on synthesis of endoglucanase by *Trichoderma reesei*—m7. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 23, 848-851. DOI: 10.1080/13102818.2009.10818555
- Golunski, S. M., Scapini, T., Modkovski, T. A., Marques, C. T., Camargo, A. F., Preczeski, K. P., Rosa, C. D., Baldissarelli, D. P., Mulinari, J., Venturin, B., Vargas, G. D. L. P., Garda-Bufferon, J., Mossi, A. J., & Treichel, H. (2017). Commercial and noncommercial peroxidases activity under ultrasound and microwave treatment: a pretreatment to improve wastewater treatment. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(10), 1890-1895. DOI: 10.21577/0103-5053.20170023
- Gomes, K. D., & Polizelli, M. A. (2020). Determination of kinetic parameters of beta-galactosidase enzymes. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 28194-20808. DOI:10.34117/bjdv6n5-316
- Gonçalves, C. C. S., & Fonseca, F. S. A. (2018). Reações redox catalisadas por enzimas. *Revista Virtual de Química*, 10(4), 778-797. DOI: 10.21577/1984-6835.20180057
- Guan, Z. B., Shui, Y., Song, C. M., Zhang, N., Cai, Y. J., & Liao X. R. (2015). Efficient secretory production of CotA-laccase and its application in the decolorization and detoxification of industrial textile wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 9515-9523. DOI: 10.1007/s11356-015-4426-6
- He, M., Li, Y., Pi, F., Ji, J., He, X., Zhang, Y., & Sun, X. (2016). A novel detoxifying agent: Using rice husk carriers to immobilize zearalenone-degrading enzyme from *Aspergillus niger* FS10. *Food Control*, 68, 271-279. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.03.042

- [Iarc] International Agency for Research on Cancer. (2002). *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Lyon: IARCpress.
- Ji, C., Fan, Y., & Zhao, L. (2016). Review on biological degradation of mycotoxins. *Animal Nutrition*, 2(3), 127-133. DOI: 10.1016/j.aninu.2016.07.003
- Karlovsy, P. (2011). Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(3), 491-504. DOI: 10.1007/s00253-011-3401-5
- Karlovsy, P., Suman, M., Berthiller, F., Meester, J., Eisenbrand, G., Perrin, I., Oswald, I. P., Speijers, G., Chiodini, A., Recker, T., & Dussort, P. (2016). Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin Research*, 32(4), 179-205. DOI: 10.1007/s12550-016-0257-7
- Kupski, L., Alves, C. L., Garda-Buffon, J., Badiale-Furlong, E. (2013). Application of carboxypeptidase from *Rhizopus* on ochratoxin A degradation. *Biochemistry and Biotechnology Reports*, 2(4), 30-36. DOI: 10.5433/2316-5200.2013v2n4p30
- Koul, B., Yakoob, M., & Shah, M. P. (2022). Agricultural waste management strategies for environmental sustainability. *Environmental Research*, 206, 112285. DOI: 10.1016/j.envres.2021.112285
- Kurmanalina, A., Bimbetova, B., Omarova, A., Kaiyrgaliyeva, M., Bekbusinova, G., Saimova, S., & Saparaliyev, D. (2016). A swot analysis of factors influencing the development of agriculture sector and agribusiness entrepreneurship. *Academy of Entrepreneurship Journal*, 26(1), 1087-9595.
- Liu, Y., Jia, S., Ran, J., & Wu, S. (2010). Effects of static magnetic field on activity and stability of immobilized α -amylase in chitosan bead. *Catalysis Communications*, 11(5), 364-367. DOI: 10.1016/j.catcom.2009.11.002
- Liu, J., Yang, J., Wang, R., Liu, L., Zhang, Y., Bao, H., Jang, J. M., Wang, E., & Yuan, H. (2020). Comparative characterization of extracellular enzymes secreted by *Phanerochaete chrysosporium* during solid-state and submerged fermentation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 288-294. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.256
- Loi, M., Fanelli, F., Liuzzi, V. C., Logrieco, A. F., & Mulè, G. (2017). Mycotoxin biotransformation by native and commercial enzymes: present and future perspectives. *Toxins*, 9(4), 111. DOI: 10.3390/toxins9040111
- Lopes, L. C., Barreto, M. T. M., Gonçalves, K. M., Alvarez, H. M., Heredia, M. F., Souza, R. O. M. A., Cordeiro, Y., Dariva, C., & Fricks, A. T. (2015). Stability and structural changes of horseradish peroxidase: Microwave versus conventional heating treatment. *Enzyme and Microbial Technology*, 69, 10-18. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2014.11.002
- Machado, T. B., Corrêa Jr, L. C. S., Mattos, M. V. C. V., Gautério, G. V., & Kalil, S. J. (2021). Sequential alkaline and ultrasound pretreatments of oat hulls improve xylanase production by *Aureobasidium*

- pullulans* in submerged cultivation. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 5991-6004. DOI: 10.1007/s12649-021-01425-x
- Makhuvele, R., Naidu, K., Gbashi, S., Thiye, V. C., Adebo, O. A., & Njobeh, P. B. (2020). The use of plant extracts and their phytochemicals for control of toxigenic fungi and mycotoxins. *Heliyon*, 6(10), e05291. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e05291
- Marshall, H., Meneely, J. P., Quinn, B., Zhao, Y., Bourke, P., Gilmore, B. F., Zhang, G., & Elliott, G. T. (2020). Novel decontamination approaches and their potential application for post-harvest aflatoxin control. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 489-496. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.11.001
- Marciano, A. F., Coutinho-Rodrigues, C. J. B., Perinotto, W. M. S., Camargo, M. G., Gôlo, P. S., Sá, F. A., Quinelato, S., Freitas, M. C., Angelo, I. C., Nogueira, M. R. S., & Bittencourt, V. E. P. (2015). *Metarhizium anisopliae*: influência do pH na atividade enzimática e no controle de *Rhipicephalus microplus*. *Brazilian Journal of Veterinary*, 37, 85-90.
- Marimon-Sibaja, K. V., Garcia, S. O., Feltrin, A. C. P., Remedi, R. D., Cerqueira, M. B. R., Badiale-Furlong, E., Garda-Buffon, J. (2018). Aflatoxin biotransformation by commercial peroxidase and its application in contaminated food. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 94(4), 1187-1194. DOI: /10.1002/jctb.5865
- Martín, M. F. S., Barbosa-Canovas, G. V., & Swanson, B. G. (2002). Food processing by high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(6), 627-645. DOI: 10.1080/20024091054274
- Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A., & Lopez-Buesa, P. (2005). Application of ultrasound. *Emerging technologies for food processing*, 32, 3-351. DOI: 10.1016/B978-012676757-5/50015-3
- Namnuch, N., Thammasittirong, A., & Thammasittirong, S. N. (2021). Lignocellulose hydrolytic enzymes production by *Aspergillus flavus* KUB2 using submerged fermentation of sugarcane bagasse waste. *Mycology*, 12(2), 119-127. DOI: 10.1080/21501203.2020.1806938
- Obi, F. O., Ugwuishiwu, B. O., & Nwakaire, J. N. (2016). Agricultural waste concept, generation, utilization and management. *Nigerian Journal of Technology*, 35(4), 957- 964. DOI: 10.4314/njt.v35i4.34
- Ogunade, I. M., Martinez-Tupia, C., Queiroz, O. C. M., Jiang, Y., Drouin, P., Wu, F., Vyas, D., & Adesogan, A. T. (2018). Silage review: Mycotoxins in silage: Occurrence, effects, prevention, and mitigation. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4034-4059. DOI: 10.3168/jds.2017-13788
- Oliveira, G. A. V., & Silva, J. M. S. (2017). Equilíbrio químico e cinética enzimática da interação de α -amilase com compostos fenólicos encontrados em cerveja. *Química Nova*, 40(7), 726-732. DOI: 10.21577/0100-4042.20170058

- Petruzzi, L., Bevilacqua, A., Baiano, A., Beneduce, L., Corbo, M. R., & Sinigaglia, M. (2014). Study of *Saccharomyces cerevisiae* W13 as a functional starter for the removal of ochratoxin A. *Food Control*, 35(1), 373-377. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.07.033
- Queiroz, C., & Sousa, A. C. B. (2020). Production of hydrolytic enzymes by filament fungi in different solid substrates. *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 51849-51860. DOI:10.34117/bjdv6n7-725
- Ramalho, R. P. R., Scalize, P. S., & Caramori, S. S. (2016). Peroxidase de gramínea de Cerrado como alternativa no tratamento de efluentes agroindustriais. *Revista Ambiente e Água*, 10, 4. DOI:10.4136/ambi-agua.1735
- Reque, P. M., Pinilla, C. M. B., Gautério, G. V., Kalil, S. J., & Brandelli, A. (2019). Xylooligosaccharides production from wheat middlings bioprocessed with *Bacillus subtilis*. *Food Research International*, 126, 108673. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108673
- Ribeiro, A. C., Graça, C. S., Chiattoni, L. M., Massarolo, K. C., Duarte, F. A., Mellado, M. L. S., & Soares, L. A. S. (2017). Fermentation process in the availability of nutrients in rice bran. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6(2), 45-52.
- Saraiva, B. R., Vital, A. C. P., Anjo, F. A., Cesaro, E. & Matumoto-Pintro, P. T. (2018). Valorização de resíduos agroindustriais: fontes de nutrientes e compostos bioativos para a alimentação humana. *Pubsaúde*, 1, a007. DOI: 10.31533/pubsaude1.a007
- Sastry, S. K., Datta, A. K., & Worobo, R. W. (2000). Ultraviolet Light. *Journal of food science*, 65(s8), 90-92. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2000.tb00623.x
- Souza, F. A. (2018). Processos fermentativos em resíduos agroindustriais utilizando a levedura *Yarrowia lipolytica* QU69. Dissertação, UFFS, Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil.
- Stander, M. A., Bornscheuer, U. T., Henke, E., Steyn, P. S. (2000). Screening of commercial hydrolases for the degradation of ochratoxin A. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5736-5739. DOI: 10.1021/jf000413j
- Teixeira, I. S., & Milagre, C. D. F. (2020). Directed evolution of enzymes: small changes, better biocatalysts. *Química Nova*, 43(6), 773-786. DOI: 10.21577/0100-4042.20170538
- Webb, E. C. (1992). *Enzyme nomenclature*. Michigan: Academic Press.
- Zheng, S., Qin, X., & Xia, L. (2017). Degradation of the herbicide isoproturon by laccase-mediator systems. *Biochemical Engineering Journal*, 119, 92-100. DOI: 10.1016/j.bej.2016.12.016

Índice Remissivo

A

alimentos, 57, 58, 61, 62, 64

E

enzimas, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64

F

fermentativos, 58, 59, 60, 64

M

micotoxinas, 57, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 67

U

ultrassom, 62

Sobre o organizador



Wesclen Vilar Nogueira

Graduado em Engenharia de Pesca pela UNIR. Mestre e doutorando em Engenharia e Ciência de Alimentos pela FURG.



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000

Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil

Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp)

<https://www.editorapantanal.com.br>

contato@editorapantanal.com.br

