

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CATHARINA DO COUTO CAETANO COSTA

EFICIÊNCIA DE PRÉ-LAVAGEM DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) COM ÁGUA HIPERCLORADA PARA REDUÇÃO DE *Salmonella* spp.

#### **UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**

# PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

#### CATHARINA DO COUTO CAETANO COSTA

EFICIÊNCIA DE PRÉ-LAVAGEM DE TAMBAQUI (Colossoma macropomum) COM ÁGUA HIPERCLORADA PARA REDUÇÃO DE Salmonella spp.

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Linha de Pesquisa: Controle de qualidade e segurança alimentar

Orientador: Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta

Co-orientadora: Prof. Dra. Juliana Fonseca Moreira da

Silva

PALMAS – TO 2023

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

C837e Costa, Catharina do Couto Caetano.

EFICIÊNCIA DE PRÉ-LAVAGEM DE TAMBAQUI (Colossoma macropomum) COM ÁGUA HIPERCLORADA PARA REDUÇÃO DE Salmonella spp.. / Catharina do Couto Caetano Costa. – Palmas, TO, 2023.

54 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universidario de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2023.

Orientador: Raphael Sanzio Pimenta

Coorientadora: Juliana Fonseca Moreira da Silva

1. Contaminação por Salmonella. 2. Pescado. 3. Hipoclorito de sódio. 4. Cilindro de lavagem. I. Título

**CDD 664** 

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS - A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automatica de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

#### **UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**

PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

### CATHARINA DO COUTO CAETANO COSTA

EFICIÊNCIA DE PRÉ-LAVAGEM DE TAMBAQUI (Colossoma macropomum) COM ÁGUA HIPERCLORADA PARA REDUÇÃO DE Salmonella spp.

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 10 de janeiro de 2023, pela Banca

Examinadora constituída pelos membros:
Prof. Dr. Luiz Henrique Rosa
UFMG
Prof. (a) Dr. (a) Claudia Cristina Auler do Amaral Santos
PPGCTA/UFT
Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta
Orientador - PPGCTA/UFT

Palmas – TO 2023

#### **AGRADECIMENTO**

Quero agradecer, primeiramente a Deus, por sempre estar ao meu lado ao longo dessa jornada que tracei, pela força e coragem para concluir mais uma etapa da minha vida.

Aos meus pais Pelágio e Sinara, pelo incentivo em todos os momentos da minha vida, por apoiar todas as minhas decisões e sonhos, mesmo não concordando algumas vezes, pelo carinho e compreensão que recebo de vocês e por fazerem de mim o que sou hoje. Agradeço também a minha madrasta Maria do Carmo Reis e ao meu padrasto Geraldo Henrique Moromizato pelo apoio e compreensão que tiveram comigo muitas vezes até mesmo sem perceberem. E as minhas irmãs Natascha Caetano Thomazi e Victória do Couto Caetano Costa, por me apoiarem. Vocês são à base de toda minha vida.

Ao longo desse caminho árduo de mestranda conhecia pessoas maravilhosas que me ajudaram a trilhar esses caminho como, Cecilia, Hermanny, Greice, as pessoas incríveis do LGMA que vão estar sempre em minhas recordações tanto dos momentos alegres quanto dos momentos não tão alegres assim. Cada um de vocês se tornaram especiais para mim! Agradecer ao meu orientador Raphael Pimenta e a minha co-orientadora Juliana Fonseca por todo apoio e incentivo nesse período.

Agradecer a Embrapa pesca e aquicultura por abrir as portas para que pudesse utilizar suas dependências para realizar parte do meu experimento do mestrado, a Patrícia C. M. S. Chicrala e a Viviane Rodrigues V dos Santos por me orientarem dentro da empresa.

E obrigado a todos que contribuíram para o meu sucesso e crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e força de cada um de vocês



#### **RESUMO**

A segurança microbiológica do pescado como alimento é uma preocupação dos consumidores, indústrias e das agências reguladoras em todo o mundo. A patogenia por Salmonella spp. oriunda do pescado é responsável por graves infecções através do manuseio ou higiene inadequados na Unidade de Beneficiamento de Pescado ou pelo contato com água contaminada por um agente biológico que originalmente não está relacionado aos peixes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da lavagem de tambaguis (Colossoma macropomum) em cilindro rotatório para redução de Salmonella spp. e propor um novo protocolo de lavagem inicial considerando concentração de cloro livre e tempo de lavagem. Para isso, foi realiza a contaminação experimental dos peixes com uma solução de Salmonella de concentração inicial de 1,5 x 10<sup>6</sup> UFC/mL e testados 20 tratamentos, que consistiam na lavagem apenas com água e na lavagem contendo diferentes concentrações de cloro (2, 5 e 10 ppm) com 5 tempos de lavagem (20, 40, 60, 120 e 180 segundos) no cilindro rotatório, e foi realizada a colorimetria dos peixes após a lavagem dos mesmos em cilindro, utilizando o tratamento de lavagem que não houve crescimento de colônias de Salmonella. A estatística demonstrou que não houve diferença significativa entres os tratamentos com diferentes concentrações de cloro, mas houve diferença significativa entre os tempos de lavagem, demonstrando redução de Salmonella conforme o aumento no tempo de lavagem. O experimentou evidenciou que no tempo de 180 segundos a uma concentração de 10 ppm de cloro não houve crescimento de colônias de Salmonella na placa após a lavagem, o que atende ao disposto na legislação, ausência de Salmonella em 25g de pescado. Como houve alteração de cor no peixe com esse tratamento, pesquisas futuras devem ser feitas para verificar a aceitabilidade do consumidor.

**Palavra-Chave:** Contaminação por *Salmonella*, Pescado, Hipoclorito de sódio, Colorimetria, Cilindro de lavagem.

#### **ABSTRACT**

The microbiological safety of fish as food is a concern for consumers, industries and regulatory agencies worldwide. The pathogenesis by Salmonella spp. derived from fish is responsible for serious infections through inadequate handling or hygiene in the Fish Processing Unit or through contact with water contaminated by a biological agent that is not originally related to fish. The objective of this work was to evaluate the efficiency of washing tambaquis (Colossoma macropomum) in a rotating cylinder to reduce Salmonella spp. and propose a new initial washing protocol considering free chlorine concentration and washing time. For this, fish were experimentally contaminated with a Salmonella solution with an initial concentration of 1.5 x 106 CFU/mL and 20 treatments were tested, which consisted of washing only with water and washing with different concentrations of chlorine (2, 5 and 10 ppm) with 5 washing times (20, 40, 60, 120 and 180 seconds) in the rotating cylinder, and the colorimetry of the fish was performed after washing them in the cylinder, using the washing treatment that did not grow of Salmonella colonies. Statistics showed that there was no significant difference between treatments with different concentrations of chlorine, but there was a significant difference between washing times, demonstrating a reduction in Salmonella as the washing time increased. The experiment showed that in the time of 180 seconds at a concentration of 10 ppm of chlorine there was no growth of Salmonella colonies on the plate after washing, which meets the provisions of the legislation, absence of Salmonella in 25g of fish. As there was a color change in the fish with this treatment, future research should be carried out to verify consumer acceptability.

**Keywords:** Contamination, Sodium hypochlorite, Colorimetry, Wash cylinder.

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Aquicultura no Brasil	14
2.2 Tambaqui (Colossoma macropomum)	16
2.3 Qualidade e segurança do Pescado	17
2.3.1 Contaminação microbiológica em pescado	19
2.3.2 Salmonella	20
2.3.3 Colorimetria	21
2.4 Hipoclorito de Sódio	22
3 OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Coleta de dados junto aos órgãos regulamentadores do Serviço o Federal – SIF	
4.2 Obtenção dos espécimes	24
4.3 Preparação do inóculo	25
4.4 Tipos de tratamentos	26
4.4.1 Preparação da solução de água hiperclorada	27
4.5 Inoculação dos peixes	28
4.6 Processamento da amostra antes da lavagem no cilindro	29

4.7 Lavagem no cilindro giratório	30
4.8 Processamento da amostra depois da lavagem no cilindro	31
4.9 Análise Microbiológica	32
4.10 Análise Colorimétrica	32
4.11 Análise estatística	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 Dados obtidos pelo órgão regulamentador	33
5.2 Eficiência do processo de lavagem	34
5.3 Análise colorimétrica	39
6 CONCLUSÕES	45
	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXO I	52
ANEXO II	53

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Peixe da espécie tambaqui (Colossoma macropomum)
Figura 2: Espaço de cor CIE L*a*b*
Figura 3: Placa com crescimento de colônias de Salmonella para o preparo da suspensão celular
<b>Figura 4:</b> Tanques contendo a água sem adição de cloro e a água hiperclorada contendo as concentrações de cloro 2ppm, 5ppm e 10ppm
Figura 5: Contaminação experimental29
Figura 6: Coleta da amostra por meio de arraste do Swab e molde demarcando local de coleta
<b>Figura 7</b> : Identificação dos peixes com barbantes no cilindro de lavagem para início do experimento
<b>Figura 8:</b> Placas com crescimento de colônias de <i>Salmonella</i> referente aos tratamentos no tempo de 20 segundos
<b>Figura 9:</b> Placas com crescimento de colônias de Salmonella referente aos tratamentos no tempo de 180 segundos
Figura 10: Aspecto da carcaça do peixe antes e após a lavagem em cilindro rotatório

# **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Tabela dos tratamentos do experimento
Tabela 2: Esquema do delineamento experimental
Tabela 3: Análise de variância da contagem de Salmonella referente ao experimento         da lavagem em cilindro rotatório.
Tabela 4: Teste de Scott Knott para as médias da contagem de colônias da tabela 3.
Tabela 5: Média e Desvio Padrão das reduções da carga bacteriana de Salmonella.
Tabela 6: Análise de variância do resultado de colorimetria para o índice L*40
Tabela 7: Teste de Tukey das médias do índice L* comparando as partes do corpo        40
Tabela 8: Teste de Tukey das médias do índice L* comparando o antes e depois do tratamento.       41
Tabela 9: Análise de variância do resultado de colorimetria para o índice a*41
Tabela 10: Teste de Tukey das médias do índice a* comparando as partes do corpo
Tabela 11: Teste de Tukey das médias do índice a* comparando o antes e depois do tratamento.       42
Tabela 12: Análise de variância do resultado de colorimetria para o índice b*43
Tabela 13: Teste de Tukey das médias do índice b* comparando o antes e depois do         tratamento com a parte do corpo.       43
Tabela 14: Teste F das médias do índice b* comparando o antes e depois do         tratamento com a parte do corpo.       44
Tabela 15: Teste F das médias do índice b* comparando o antes e depois do tratamento com a parte do corpo.

# 1 INTRODUÇÃO

O consumo de pescado¹ vem crescendo nas últimas cinco décadas no mundo, devido às mudanças nos hábitos alimentares da população. A tilápia e o tambaqui são as duas espécies de peixes mais cultivadas no Brasil, respondendo juntos por 74,2% da produção de peixes do Brasil em 2016. A região Norte continua sendo a principal produtora de tambaqui, respondendo por 79,8% da produção brasileira (FAO, 2014; SIQUEIRA, 2018).

O consumo de peixe cru cresceu consideravelmente em todo mundo e não só em países asiáticos. Produtos crus prontos para comer são encontrados em restaurantes, tanto no estilo japonês ou chinês, quanto em restaurantes ocidentais. Atualmente, esse produto "in natura" também pode ser encontrado em pontos de venda, como peixarias. O amplo consumo de frutos do mar crus, como sushi e sashimi, fez crescer proporcionalmente a preocupação com a qualidade higiênicosanitária deste alimento, por ser fácil de ser contaminado por diversas bactérias, como é o caso da Salmonella spp., uma vez que os peixes crus, ou mal cozidos, apresentam riscos de intoxicação alimentar para o consumidor (HAMADA-SATO et al., 2005; KIM et al., 2016).

Por ser considerado um alimento de alto valor nutritivo, uma fonte de proteína de alto valor biológico, elevada digestibilidade e alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, o pescado é muito suscetível à decomposição, podendo sofrer contaminação por micro-organismos patogênicos do ambiente ou por manuseio inadequado (SANTOS; COELHO, 2016; SOARES; GONÇALVES, 2012).

A segurança e a qualidade dos alimentos são tópicos importantes da atualidade, já que são um diferenciador na preferência dos consumidores por produtos e/ou serviços. A manipulação do pescado, desde a despesca ao processamento/comercialização, é fundamental para garantir a qualidade, e atender aos padrões de qualidade dos alimentos nas várias etapas da cadeia de produção, estabelecidos nas normativas legais (SOARES et al., 2014).

A qualidade do pescado geralmente é determinada pelo grau de frescor. Produtos com elevador grau de frescor apresentam propriedades similares àquelas

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Art. 205. Entende-se por pescado os peixes, os crustáceos, os moluscos, os anfíbios, os répteis, os equinodermos e outros animais aquáticos usados na alimentação humana (BRASIL, 2017).

que o peixe possuía em vida, denotando um curto período após a despesca (SOARES et al., 2014).

A qualidade microbiológica é uma preocupação que engloba consumidores, indústrias e órgãos reguladores em todo o mundo, uma vez que o pescado ocupa um importante nicho no comércio internacional sendo exportado para diversos países. Tal preocupação se justifica pela possibilidade desses produtos veicularem e transmitirem diversos patógenos, como a *Salmonella* spp. (FERNANDES et al., 2018).

A Salmonella spp. não é um contaminante biológico originalmente relatado em peixes e a sua presença e detecção pode estar associada a diversos fatores como, contaminação fecal por meio de água poluída, condições higiênico-sanitárias precárias antes e durante o processamento, manipuladores de alimentos infectados e/ou contaminação cruzada durante a produção ou transporte (manuseio inadequado) (AMAGLIANI et al., 2012; ONMAZ et al., 2015).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) representam uma grande preocupação do ponto de vista da saúde pública, tendo os frutos do mar, entre eles os peixes, como um dos vetores de transmissão de uma quantidade significativa dessas. Dentre os patógenos bacterianos, os micro-organismos do gênero *Salmonella* são um dos principais responsáveis por DTA's no mundo. A pessoa doente desenvolve um quadro de vômito, diarreia, febre e dor abdominal. Na maioria dos casos a recuperação ocorre em um período de 4 a 7 dias (ONMAZ et al., 2015; LEAL; FIGUEIREDO, 2019).

A partir do ano de 2007, com a expansão do abate industrial de peixes nativos e, consequentemente, um maior monitoramento microbiológico dos produtos, os relatos de detecção de *Salmonella* em peixes passaram a ocorrer com maior frequência nos frigoríficos que possuíam SIF (Serviço de Inspeção Federal), e assim foi crescendo ao longo dos anos (LEAL; FIGUEIREDO, 2019).

Pisciculturas têm sofrido prejuízos significativos, pois ao comercializar o peixe para os frigoríficos e nesses se for detectada a presença de *Salmonella*, todo o lote deve ser descartado e, quando o descarte ocorre por questões sanitárias, os produtores não são reembolsados. Produtores e indústrias tem enfrentado dificuldades em conter a contaminação dos produtos por *Salmonella*, acarretando problemas de escoamento da produção, queda nos preços e prejuízos aos produtores (LEAL; FIGUEIREDO, 2019).

Alguns sanitizantes são utilizados para evitar essas contaminações e garantir a qualidade microbiológica dos produtos. O mais frequentemente utilizado é o hipoclorito de sódio, que apresenta efeito germicida associado à concentração, tempo de exposição e pH (WINN et. al., 2021). Este produto é de fácil aquisição e manuseio, possui baixo custo e elevada capacidade de penetração no interior da célula microbiana, inibindo, assim, seu crescimento, com comprovada eficiência, e por isso, tem sido usado rotineiramente na desinfecção superficial do pescado (RIBEIRO et al., 2008; CRIBB et al., 2018).

Estudos demonstraram a alta incidência de *Salmonella* nos intestinos, pele e nas brânquias dos peixes (NWIYI; ONYEABOR, 2012), bem como nos músculos (EL-OLEMY et al., 2014). Consequentemente, a presença de *Salmonella* na superfície e órgãos internos do animal facilita a contaminação cruzada durante o processamento do peixe (HEINITZ et al., 2000). Desta forma, as unidades de processamento de pescado devem ter grande atenção em sua linha de produção, armazenamento, preservação, transporte e comercialização desses produtos, uma vez que a qualidade do produto final depende desses fatores, já que o consumo de peixes crus ou mal cozidos podem apresentar um risco potencial para os consumidores finais.

No Brasil, poucos estudos sobre a presença de *Salmonella* em peixes estão disponíveis. Sendo assim, faz–se necessária a realização de pesquisas que compreendam não só a verificação da presença da bactéria no produto final, mas também avaliem toda a cadeia envolvida.

# 2 REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1 Aquicultura no Brasil

O Brasil tem grande potencial para a aquicultura devido ao clima favorável, ocorrência natural de espécies aquáticas e a sua disponibilidade hídrica cerca de 12% de toda a água doce superficial do planeta e mais de 4 milhões de hectares de barragens artificiais e reservatórios de água de diversos tamanhos, além de uma das maiores bacias hidrográficas do mundo. A aquicultura no Brasil teve início no século

17, na região Nordeste mas se solidificou profissionalmente em meados de 1970 (BRABO et al., 2016; VALENTI et al. 2021).

Uma das principais modalidades de aquicultura em desenvolvimento no Brasil é a produção de peixes de água doce, especialmente da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e, mais recentemente, a criação do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e pintado (*Pseudoplatystoma* sp.), sendo a tilápia responsável por 54% da produção de pescado e em segundo lugar, com 18% está o tambaqui e seus híbridos (BUENO et al., 2015; VALENTI et al. 2021). A produção pesqueira e aquícola é altamente diversificada em termos de espécies, processamento e formas de produtos (VIEIRA et al., 2021).

O setor de cultivo de peixes de água doce representa quase 90% da produção aquícola do país, sendo que aproximadamente 80% da atividade é realizada em tanques escavados (VALENTI et al. 2021). Devido à baixa densidade, o custo operacional do sistema extensivo é baixo, e o custo de entrada e compra de alevinos é basicamente pequeno. Os peixes criados alimentam-se de nutrientes que ocorrem naturalmente (por exemplo, insetos, micro crustáceos, sementes, frutas, raízes, algas, plâncton e pequenos peixes) em grandes tanques e/ou tanques (SCHRODER, 2021).

Segundo o Anuário PEIXE BR (2022) o Brasil produziu 841.005 toneladas de peixes de cultivo (tilápia, peixes nativos e outras espécies), em 2021. Esse resultado representa crescimento de 4,7% sobre a produção de 2020 no Brasil (802.930 toneladas). Este crescimento da porcentagem indica que a produção da piscicultura no Brasil tem apresentado grande intensificação dos cultivos, demandando cada vez mais grandes quantidades de técnicos, alevinos e alimentos, levando a um diagnóstico favorável para abrir novas fronteiras para o desenvolvimento e expansão da produção mundial (IGARASHI, 2019).

A importância do peixe como alimento para os seres humanos levou a uma extensa pesquisa sobre espécies comerciais e ao desenvolvimento intensivo de atividades de pesca e das atividades de aquicultura em muitos lagos e estações de piscicultura em países desenvolvidos e em desenvolvimento (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

O peixe possui um alto valor biológico de 20 a 25%, elevado teor de proteínas entre 15 a 25%, ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 e ômega-3, apresenta todos os aminoácidos essenciais, lipídios entre 1 a 10% e minerais entre 1 a 1,5%, além de possuir baixo teor de colesterol e a digestibilidade é alta, acima

de 95%, tornando-se uma opção alimentar mais saudável em relação a outras carnes (BRABO et al., 2016; REBELATTO et al., 2022).

Atualmente, estima-se que o peixe represente 16,7% de toda a proteína animal e 6,5% de toda a proteína de origem animal e vegetal consumida pelos humanos na Terra, esses valores são superiores aos das carnes suína, de frango, bovina, ovina e caprina (BRABO et al., 2016).

A aquicultura passou a ser considerada estratégica para o Governo Brasileiro, devida à crescente importância que passou a ter no cenário mundial e nacional. Atenta a esse movimento na economia brasileira a Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) mapeou as competências capazes de contribuir para o desenvolvimento da aquicultura brasileira, com isso seria necessária a criação de um centro de referência de pesquisa, desenvolvimento e transferência tecnológica em aquicultura (ROCHA et al., 2013).

Com a finalidade de coordenar as iniciativas de pesquisa, ser um centro de referência na geração de tecnologia na área de aquicultura e pesca, a Embrapa criou em agosto de 2009 a "Embrapa Pesca e Aquicultura" na cidade de Palmas, TO (ROCHA et al., 2013)

#### 2.2 Tambaqui (Colossoma macropomum)

O Brasil possui diversas espécies nativas com grande potencial para a produção em cativeiro que representaram 31,2% da produção nacional, em 2021, com 262.370 toneladas produzidas liderados pelo tambaqui, *Colossoma macropomum,* ocupando papel de destaque para a piscicultura não só no Brasil, como em outros países (PEDROSAS et al., 2014; BARÇANTE; SOUSA, 2015; PEIXE BR, 2022).

O tambaqui, peixe tropical nativo das bacias dos rios Amazonas e Orinoco pertence a ordem Characiformes e família Serrasalmidae e pode pesar até 40 kg e atingir 104 cm de comprimento na natureza, mostrando principalmente comportamento alimentar onívoro, é a segunda espécie mais produzida no Brasil e na América do Sul. Seu comportamento reprodutivo na natureza é migratório, com períodos de reprodução relatados de setembro e fevereiro. Em cativeiro, sua

reprodução pode ser induzida por hormônios (BARÇANTE; SOUSA, 2015; PIRES et al., 2017).

O tambaqui (Figura 1) é um peixe que possui corpo alto e arredondado, escamas grossas, lábios grossos, dentes molariformes, ausência de espinha prédorsal e nadadeira adiposa com raios. Apresentam manchas na região mediana do corpo, ao nível da nadadeira dorsal, geralmente é pardo na metade superior e preto na metade inferior do corpo, mas pode variar para mais claro ou mais escuro dependendo da cor da água que se encontra (SANTOS et al., 2006; SOUZA, 2019).

A reprodução em cativeiro e o ciclo de produção encurtado (menos de um ano) caracterizam o grande potencial do tambaqui para ser explorado em sistemas intensivos. Com a intensificação, os peixes são estocados em altas densidades para maior produtividade (SILVA et al., 2018).



Figura 1: Peixe da espécie tambaqui (Colossoma macropomum).

Fonte: O autor, 2022.

#### 2.3 Qualidade e segurança do Pescado

Para atender aos padrões de segurança e qualidade dos alimentos, estabelecidos no *Codex Alimentarius* e garantir a proteção do consumidor, as instalações de aquicultura devem adotar um sistema de gestão de segurança alimentar, com base no Código de Práticas de Codex (FAO; WHO, 2020). A qualidade e a segurança alimentar são questões de suma relevância para os consumidores e

no caso do pescado o aspeto do frescor é importante, pois constitui o principal critério determinante para sua aceitação (ALEXANDRE et al., 2021).

A qualidade e a segurança do pescado podem ser comprometidas por alterações em suas propriedades organolépticas, microbiológicas ou físico-químicas. Essas mudanças têm correlação com as condições em que foram realizadas a captura do pescado, armazenamento e tempo até o resfriamento, afetando diretamente o grau de frescor do pescado e a sua conservação (SILVA et al., 2021a).

Os peixes ao chegar na unidade de beneficiamento de pescado (UBP) devem ser examinados por um colaborador treinado e capacitado para verificar as condições de higiene, quantidade de gelo, temperatura, presença de parasitas e sujidades e o estado de frescor do peixe na hora do seu recebimento, quando os peixes já chegam abatidos na UBP, após essa conferencia o peixe é direcionado para o setor de lavagem da qual pode ocorrer por meio de cilindro, esteira de lavagem ou equipamento equivalente, utilizando água hiperclorada para a lavagem superficial dos animais para que possa retirar todas as sujidades, muco do pescado, reduzir a possibilidade do pescado transportar contaminantes da área externa para a área de produção industrial (CHICRALA et al., 2021).

A lista de padrões microbiológicos para os alimentos e sua aplicação está descrita na Instrução Normativa 60, de 23 de dezembro 2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Na categoria específica de pescado e miúdos, crus, temperados ou não, frescos, refrigerados ou congelados, os indicadores microbiológicos referentes à *Salmonella*, é ausência em 25g de pescado (BRASIL, 2019).

A presença desses micro-organismos demonstra a inadequação em algumas etapas do processamento (captura, transporte, manipulação e armazenamento) ou na conservação do produto final, que compromete a qualidade e o grau de frescor, podendo causar sérios danos à saúde do consumidor, que vão desde uma simples intoxicação ou até a morte (DELBEM et al., 2010).

O controle de qualidade dos alimentos é fundamental para a segurança do consumidor. O peixe é um dos alimentos frescos mais susceptível à deterioração, devido a atividade de água (Aw) elevada, composição química, teor de gordura insaturada de fácil oxidação e potencial hidrogeniônico (pH) próximo à neutralidade. Portanto, o monitoramento para a manutenção do frescor do pescado durante a distribuição é importante para a segurança dos consumidores de peixe

processado, cozido ou cru. A degradação *pós mortem* é geralmente atribuída à decomposição bacteriana (DELBEM et al., 2010; CHUNG et al., 2017).

O processo de deterioração do peixe segue quatro estágios: (i) o *rigor mortis*, (ii) a dissolução do rigor, (iii) a autólise (perda de frescor) e (iv) a deterioração microbiana. Essa deterioração da carne de peixe pode ocorrer por meio de processos enzimáticos, microbiológicos e oxidativos, podendo oferecer riscos à saúde dos consumidores (ALEXANDRE et al., 2021). Desta forma, o controle microbiológico de pescado tem sido uma fonte de preocupação para consumidores, indústrias e agências governamentais em todo o mundo (RAUFU et al., 2014).

Como o pescado é um alimento extremamente perecível, é necessário um cuidado especial em toda a cadeia de abastecimento, desde a despesca até o consumo. O Brasil ainda é carente de infraestrutura, serviços e práticas adequadas para o manejo a bordo e em terra para monitorar e proteger a qualidade do pescado (VIEIRA et al., 2021).

As empresas de aquicultura devem operar com responsabilidade conforme as Recomendações do Código de Conduta para a Pesca Responsável, para minimizar os efeitos adversos na saúde humana e meio ambiente, incluindo quaisquer possíveis mudanças ecológicas (FAO, 2020).

#### 2.3.1 Contaminação microbiológica em pescado

A microbiota do peixe está intimamente relacionada com a contaminação oriunda do seu ambiente de origem. A microbiota de peixes de águas quentes (tropicais e subtropicais), muitas vezes, carregam uma grande população de bactérias mesófilas, e micro-organismos gram-positivos deteriorantes. Além das bactérias, vários gêneros de leveduras podem estar presentes em pequenos números na microbiota superficial dos peixes (ALEXANDRE et al., 2021; VIEIRA et al., 2021).

A contaminação em pescado pode ocorrer por diversas bactérias patogênicas, aquelas normalmente encontradas em ambientes aquáticos como *Clostridium*, *Aeromonas* e *Vibrio*, e aquelas oriundas da contaminação intermediada pelo homem ou outros animais (água poluída, matéria fecal, manuseio inadequado, etc.) como *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Shigella* (ALEXANDRE et al., 2021).

Uma das fontes de contaminação é a manipulação do pescado, ocorre durante as etapas de processamento desde o momento da captura, transporte,

lavagem, evisceração, contato com gelo usado para conservação, utensílios (tábuas, facas, bandejas, caixas plásticas), até o seu destino final (DELBEM et al., 2010; MOTA; MAJOLO, 2021).

No Brasil, vários casos de *Salmonella* foram detectados em frigoríficos de pescado auditados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), da mesma forma que em outros países também há registros de casos positivos de *Salmonella* em peixes e subprodutos do pescado (frescos, congelados, defumados, processados, etc.) em mercados (SANTOS et al., 2019).

#### 2.3.2 Salmonella

Segundo Chaves et al. (2019) a *Salmonella* é um dos micro-organismos mais frequentemente identificados em surtos de doenças intestinais infecciosas, sendo a grande maioria dos casos de salmonelose de origem alimentar.

A Salmonella foi caracterizada em 1900, tendo sua denominação em homenagem a Daniel Salmon, que isolou o micro-organismo pela primeira vez em suínos. Ela é muito frequente em produtos agrícolas não processados, e alimentos de origem animal, como carnes cruas ou mal cozidas, leite e ovos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

A Salmonella é uma bactéria da família Enterobacteriaceae, em formato de bacilo, gram-negativa não esporogênica, não encapsulada, anaeróbia facultativa e oxidase negativa, é reconhecida como um dos principais agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) em humanos e representa um grave problema de saúde pública com milhões de casos documentados por ano em todo o mundo (MELO et al., 2018; SILVA et al., 2021a).

Essa bactéria é dividida em duas espécies: Salmonella enterica, com 2.610 sorotipos, e Salmonella bongori, com 23 sorotipos. A espécie enterica é subdividida em seis subespécies: enterica, salamar, arizonae, diarizonae, hutnae e indica. Dentre essas subespécies, as bactérias entéricas são as mais importantes para a saúde animal e humana, e abrange os sorotipos de Salmonella Gallinarum (biovares Gallinarum e Pullorum) e as Enteritidis e Typhimurium (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

A Salmonella enterica é a espécie mais importante em morbidade e mortalidade no mundo, e seus sorotipos são diversos, são patógenos adaptados a

vários ambientes e hospedeiros. A *Salmonella* é mais estudada em aves e mamíferos, já que não é um contaminante biológico originalmente relatado em peixes sendo introduzida através de água contaminada ou manuseio inadequado (FERNANDES et al., 2018).

#### 2.3.3 Colorimetria

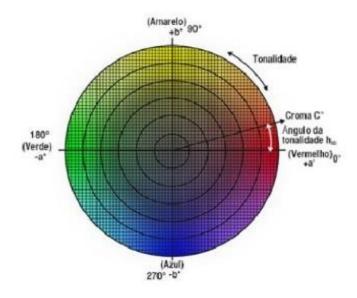
Para os consumidores a cor é um atributo sensorial significativo, pois é um dos parâmetros de qualidade mais importante durante a compra de um produto alimentício, por ser o primeiro contato com o produto. Na indústria de alimentos, a colorimetria é usada para verificar a cor, e as determinações geralmente são feitas com instrumentos simples chamados colorímetros, que realizam medições de cor com base em valores de três cores; que requerem uma fonte de luz (luz branca), três filtros que reproduzem a reação do olho humano e um sistema detector (DURÁN et al., 2012; REZENDE-DE-SOUZA et al., 2020).

A diversidade de cores apresentadas nos peixes está relacionada aos vários pigmentos naturais, pigmentos que absorvem e refletem a luz, sendo o mais importante deles a mioglobina. Assim, a cor é resultado da quantidade de mioglobina presente no músculo, podendo variar dependendo do estado físico das fibras musculares, da idade do animal, do estado químico da mioglobina e da quantidade de líquido livre que a carne apresenta, e o tipo de abate pode interferir na coloração do pescado final (SCHRODER, 2021).

O CIE lançou e recomendou dois novos espaços (conhecidos como CIELAB e CIELUV), em 1976, cujas coordenadas são funções não lineares de X, Y e Z. O objetivo da recomendação era unir as práticas tão diferentes da época em espaços de cores uniformes e fórmulas de diferença de cor relacionadas. Ambos os espaços de cores quase idênticos são bem aceitos e amplamente utilizados (CIE, 2019).

O sistema CIELAB (L\*a\*b\*), fornece uma diferenciação de cores mais precisas em relação a percepção humana, é definido em três eixos perpendiculares, L\*(luminosidade) é o eixo principal seus valores variando de 0 (preto) a 100 (branco) e os parâmetros a\* e b\* que variam de verde (-) a vermelho (+) e azul (-) a amarelo (+), respectivamente (Figura 2) (FERREIRA, 2017; SIEBEL et al., 2022).

Figura 2: Espaço de cor CIE L\*a\*b\*



Fonte: Konica Minolta, 2022.

#### 2.4 Hipoclorito de Sódio

Os compostos mais comumente utilizados para a desinfecção em indústrias de alimentos e serviço de alimentação são, cloro líquido, hipocloritos, compostos clorados orgânicos e inorgânicos pois tem apresentado um amplo espectro germicida, garantindo a qualidade microbiológica da água e dos alimentos (MACHADO et al., 2010). Devido a isso, o cloro tornou-se obrigatório em todo tratamento de água para consumo humano. De todos os compostos clorados, o hipoclorito de cálcio ou hipoclorito de sódio é o mais utilizado, sendo este último um produto de fácil aquisição e tratamento com baixo custo (RIBEIRO et al., 2008).

O cloro (forte oxidante) apresenta ação antimicrobiana inibindo enzimas bacterianas devido ao estresse oxidativo induzido pela ação do sanitizante levando a uma oxidação irreversível de grupos SH (grupo sulfidrila) de enzimas bacterianas essenciais, podendo ser um indicador da eficácia do desinfetante (ESTRELA et al., 2002; COSSU et al., 2017)

O hipoclorito ao entrar em contato com à água forma o ácido hipocloroso, sendo a forma mais ativa como bactericida, que controla a ação desinfetante da

substância, com elevada capacidade de penetrar no interior da célula bacteriana e impedir sua multiplicação (CHAVES et al., 2019; CRIBB et al., 2018).

O cloro reage com os microrganismos e também com muitos outros elementos orgânicos ou inorgânicos que podem estar presentes, os quais criam, juntos, uma demanda de cloro, a matéria orgânica neutraliza a ação do cloro na sanitização, diminuindo a eficiência dos produtos e a eficácia da desinfecção (RIBEIRO et al., 2008; SILVA et al., 2010).

O pH influencia a quantidade de cloro livre presente na solução, à medida que o pH aumenta a eficácia bactericida do cloro diminui, pH igual a 8,0, tem apenas 22% do cloro na forma ativa, já pH 6,0 o cloro estará na forma ativa cerca de 96% (MACHADO et al., 2010; CHAVES et al., 2019).

Inicialmente após o abate lava-se o peixe em cilindros de lavagem com água hiperclorada contendo de 2,5 mg/L a 5 mg/L de cloro livre, após essa lavagem o pescado segue para a evisceração que consiste na remoção dos órgãos internos e posterior lavagem da cavidade interna com água hiperclorada com 2,5 mg/L a 5,0 mg/L de cloro livre (CRIBB et al., 2018).

#### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência da lavagem de tambaquis (*Colossoma macropomum*) em cilindro rotatório quanto à redução e/ou eliminação de *Salmonella* spp. superficial no pescado e propor um novo protocolo de lavagem inicial considerando concentração de cloro livre e tempo de lavagem.

#### 3.2 Objetivos específicos

Verificar a eficiência de diferentes combinações de concentrações de cloro em água x tempo de exposição do pescado para eliminação de Salmonella spp. na etapa de lavagem do pescado em cilindro rotativo; Analisar se lavagem com o cloro influencia na cor do pescado;

### **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

# 4.1 Coleta de dados junto aos órgãos regulamentadores do Serviço de Inspeção Federal - SIF

Foram solicitados dados sobre casos positivos de *Salmonella* spp. em pescado nos Estados do Norte e Centro-Oeste do Brasil à secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e Abastecimento através de um Ofício assinado pela Chefe Geral da Embrapa, conforme ANEXO I. E foi informado que o histórico de resultados das amostras oficiais de conformidade de produtos de origem animal (PACPOA) que é anualmente compilado na publicação "Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA (Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal)", cujos últimos 8 volumes já se encontram disponíveis no site do MAPA em: Publicações DIPOA, bem como na página: Análises laboratoriais e Anuários dos Programas Oficias (BRASIL, 2017).

#### 4.2 Obtenção dos espécimes

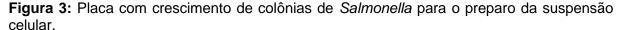
Exemplares de tambaqui foram adquiridos na Associação de Produtores de Peixe do Parque Aquícola Sucupira – Bom Peixe, por meio de compra. Os peixes foram contaminados experimentalmente com culturas de *Salmonella* spp. O experimento foi realizado no laboratório de processamento de pescado da Embrapa Pesca e Aquicultura e no Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada (LMGA) da Universidade Federal do Tocantins.

#### 4.3 Preparação do inóculo

A cepa de *Salmonella entérica* INCQS P2756 foi adquirida da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ (Rio de Janeiro/RJ) da coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária - CBRVS. As células liofilizadas foram hidratadas em tubo contendo caldo nutriente (KASVI®), incubadas a 37°C por 24 horas. Na sequência, foram inoculadas em placas contendo meio de cultivo ágar nutriente (HIMEDIA®) e mantidas a 37°C por 24 horas. Após a incubação, colônias provenientes da placa de ágar nutriente foram transferidas com o auxílio de uma alça microbiológica estéril descartável para uma solução salina estéril a 0,9% formando uma suspensão celular conforme mostra a figura 3, até que fosse atingida turbidez semelhante ao tubo padrão da escala de McFarland a 0,5 (concentração de bactérias 1,5 x 108 UFC/mL). Essa cultura de *Salmonella* foi preparada no dia de sua utilização.

A densidade óptica (DO) da suspensão celular e do tubo padrão de McFarland foram mensuradas em espectrofotômetro DR 5000 HACH em comprimento de onda  $\lambda = 600$  nanômetros (nm) até que a suspensão atingisse valores semelhantes ao da solução padrão de McFarland. A DO para a solução padrão de McFarland foi de 0,149 e para a suspensão celular preparada foi de 0,150.

Devido a escala de McFarland de 0,5 ser a mínima (concentração de bactérias 1,5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL) foi necessário realizar diluições decimais seriadas da suspensão celular até a obtenção de um concentrado celular de aproximadamente 1,5 x 10<sup>6</sup> UFC/mL.





Fonte: O autor, 2022

#### 4.4 Tipos de tratamentos

Conforme mostra a tabela 1, ao total foram testados 20 tratamentos, que consistiam em quatro lavagens, uma apenas água sem adição de cloro e as outras com combinação de 3 concentrações de cloro (2, 5 e 10 ppm) com 5 tempos de lavagem (20, 40, 60, 120 e 180 segundos) – tratamentos T<sub>1</sub> a T<sub>20</sub>.

**Tabela 1**: Tabela dos tratamentos do experimento

Tratamentos	Cloro (ppm)	Tempo de lavagem (s)
T1	-	20
T2	-	40
Т3	-	60
T4	-	120
T5	-	180
Т6	2	20
T7	2	40
Т8	2	60
Т9	2	120
T10	2	180
T11	5	20
T12	5	40
T13	5	60
T14	5	120
T15	5	180
T16	10	20
T17	10	40
T18	10	60
T19	10	120
T20	10	180

A tabela 2 mostra o esquema do delineamento experimental, composto por 20 tratamentos com 3 repetições cada, totalizando 60 parcelas distribuídas em 3 blocos, dos quais cada bloco se diferenciam por dia de processamento, suspensão celular e a água hiperclorada que é preparada no dia do experimento.

**Tabela 2:** Esquema do delineamento experimental

Tratamentos	Bloco I	Bloco II	Bloco III
	T1	T1	T1
	T2	T2	T2
SEM ADIÇÃO DE CLORO	Т3	Т3	Т3
	T4	T4	T4
	T5	T5	T5
	Т6	T6	T6
	Т7	T7	T7
CLORO 2 ppm	Т8	Т8	Т8
	Т9	Т9	Т9
	T10	T10	T10
	T11	T11	T11
	T12	T12	T12
CLORO 5 ppm	T13	T13	T13
	T14	T14	T14
	T15	T15	T15
	T16	T16	T16
	T17	T17	T17
CLORO 10 ppm	T18	T18	T18
	T19	T19	T19
	Т20	T20	T20

#### 4.4.1 Preparação da solução de água hiperclorada

A partir de uma solução comercial de hipoclorito de sódio com teor de cloro ativo mínimo 10% p/p de cloro, foram preparadas 3 soluções de lavagem (2ppm, 5ppm e 10ppm), em tanques com capacidade de 500L, conforme mostra a figura 4.

A quantidade necessária de hipoclorito para a obtenção das concentrações desejadas foi calculada a partir da equação  $C_1V_1 = C_2V_2$ . Em porcentagem temos  $C_2$  igual a: 0,0002%, 0,0005%, 0,001% (referente as concentrações usadas).

Foi calculado o volume de hipoclorito de sódio necessário para preparar 250L de solução hiperclorada, referente a cada concentração requerida, através da relação entre a concentração e o volume de  $10\% \times V(L) = C \times 250L$ .

Após 30 minutos da adição do cloro no tanque contendo 250L de água foi realizada a medição em espectrofotômetro utilizando o kit de cloro da HACH (cloro

livre reagente DPD PP 25 mL), para confirmar se os valores das concentrações em cada tanque estavam conforme esperado (2ppm, 5ppm e 10ppm).

Figura 4: Tanques contendo a água sem adição de cloro e a água hiperclorada contendo as

concentrações de cloro 2ppm, 5ppm e 10ppm.



Fonte: O autor, 2022

#### 4.5 Inoculação dos peixes

Para a contaminação experimental, os peixes foram aspergidos com o auxílio de um borrifador contendo a solução com a cultura de *Salmonella enterica* (figura 5). O borrifador foi previamente higienizado com álcool 70% e depois lavado com solução salina estéril. De cada lado do peixe foram aplicadas três borrifadas (sendo equivalente a aproximadamente ± 1 mL/borrifada). Os peixes foram contaminados no dia do experimento sendo 5 peixes por tratamento totalizando 20 peixes por bloco. A contaminação foi realizada dentro da câmara de fluxo laminar do Laboratório de Tecnologia de Pescado da Embrapa Pesca e Aquicultura.



Figura 5: Contaminação experimental

Fonte: O autor, 2022

#### 4.6 Processamento da amostra antes da lavagem no cilindro

Após a contaminação utilizou-se um swab estéril para a coleta da amostra da superfície da pele do pescado com delimitação de área a ser analisada utilizando assim um molde de 5cm x 2cm (10cm²) conforme figura 6, previamente higienizado com álcool a 70% e exposto à luz ultravioleta. Para cada peixe foi utilizado um molde individual com as mesmas medidas, para evitar contaminação cruzada entre exemplares.

As amostras coletadas com swab foram obtidas individualmente de forma padronizada, pressionando-o contra a pele do peixe sempre da esquerda para direita em movimento giratório contínuo (SILVA et al, 2021b) por três vezes em toda a área demarcada pelo molde, posicionado na base do opérculo sobre a linha lateral do peixe (Figura 6).

O processo de coleta foi repetido no outro lado do peixe e, assim, a área analisada foi equivalente à 20cm². Em seguida, o swab foi transferido para um tubo cônico, devidamente identificado para cada amostra contendo 10 mL de água peptonada tamponada – BPW (ACUMEDIA®). Após esses procedimentos, os peixes

foram acondicionados em um saco plástico autoclavável estéril até o momento da lavagem no cilindro giratório. As amostras coletadas antes da lavagem dos peixes foram, então, armazenadas em geladeira até a finalização da lavagem, e conduzidos ao Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada da UFT.

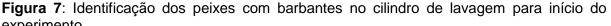
Figura 6: Coleta da amostra por meio de arraste do Swab e molde demarcando local de coleta.



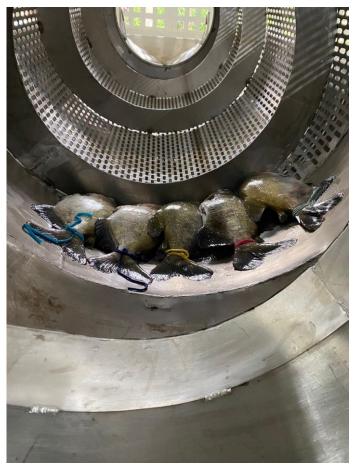
Fonte: O autor. 2022

#### 4.7 Lavagem no cilindro giratório

Após o preparo das amostras, os peixes foram inseridos no equipamento – cilindro giratório de lavagem para dar início ao processo de lavagem. Os diferentes tempos de lavagem aplicados em cada tratamento foram identificados amarrando-se barbantes de cinco cores diferentes na cauda dos peixes (Figura 7), permitindo identificar o peixe que deveria ser retirado do cilindro a cada tempo determinado para o tratamento ao qual representava. De cada vez, foram inseridos dentro do cilindro um total de cinco peixes no tempo zero para proceder a lavagem com uma solução sanitizante, e à medida que se alcançava o tempo pré-estabelecido para cada tratamento, o peixe representante daquele tempo era retirado do cilindro e colocado em um saco estéril identificado para posterior coleta de amostra para análise.



experimento.



Fonte: O autor, 2022

#### 4.8 Processamento da amostra depois da lavagem no cilindro

Após a lavagem foi realizado o mesmo procedimento de coleta de amostra na superfície da pele do pescado utilizando-se um swab estéril e um molde de 10 cm<sup>2</sup> (5cm x 2cm) para cada peixe, realizando a coleta de ambos os lados do peixe, conforme descrito no item 4.6. As amostras foram conduzidas ao Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada da UFT, em caixa de isopor contendo bolsas de gelo, imediatamente após a última coleta de amostra para a realização das análises microbiológicas.

#### 4.9 Análise Microbiológica

A análise microbiológica foi realizada de acordo com o método da *Food and Drug Administration* (FDA), revisão de dezembro de 2020 do Capítulo 5 do *Bacteriological Analytical Manual Online* (SILVA et al., 2021b).

As amostras coletadas com swab e depositadas nos tubos contendo 10 mL de água peptonada tamponada ao chegarem no LMGA foram acondicionadas em câmara de fluxo laminar para seguir imediatamente para a etapa de enriquecimento seletivo. Para isso, foi pipetado 0,1 mL da amostra para o tubo contendo 10 mL do meio Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) (MERCK®), e 1 mL da amostra para 10 mL do Caldo Tetrationato (TT) (ACUMEDIA®), os quais foram incubados em banho-maria à 42 ± 0,2°C por 24 ± 2h e em estufa à 37°C por 24 ± 2h, respectivamente.

Após o enriquecimento foi realizada a etapa de plaqueamento em superfície (*spread plate*), com o auxílio de um pipetador e ponteiras esterilizadas, para isso retirou-se 0,1 mL do caldo RV e transferiu-se para uma placa contendo o meio de cultura Ágar Xilose Desoxicolato (XLD) (ACUMEDIA®) e espalhou-se em toda a placa a alíquota com o auxílio da alça de Drigalski, repetiu-se esse processo para o tubo contendo caldo TT. Todos os testes foram realizados em triplicata, incubadas à 37°C por 24 ± 2h. As placas com crescimento de colônias com características de *Salmonella* foram contadas com o contador de colônias Flash & Go - SphereFlash® IUL.

#### 4.10 Análise Colorimétrica

Foram realizadas análises colorimétricas em 14 peixes antes e após a lavagem em cilindro rotatório com o tratamento na concentração de 10 ppm de cloro por 3 (três) minutos, pois foi o tratamento experimental que não houve crescimento de *Salmonella*, que a colorimetria foi realizada utilizando um colorímetro portátil (CR-400, Konica Minolta, Japão), que realiza as aferições de cor por meio dos índices L\*, a\* e b\*, representando valores de L\* (luminosidade), variam de 0 a 100, sendo o valor mínimo preto e o valor máximo branco; valores de a\* variam de – 60 a + 60, representando o valor mínimo a cor verde e o valor máximo a cor vermelha; valores

de b\* variam de – 60 a + 60, representando o valor mínimo a cor azul e o valor máximo a cor amarela (KONICA MINOLTA, 2022).

A determinação de cor foi medida em 3 (três) partes diferentes da carcaça do peixe sendo o opérculo, dorso e ventre, utilizando o sistema CIELAB. Após a medição foi utilizada a média de cada parte da carcaça, esses valores médios foram apresentados em tabela.

#### 4.11 Análise estatística

A análise estatística para o experimento de lavagem foi realizada em delineamento em blocos em esquema fatorial e para o experimento de colorimetria foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, procedendo-se a análise de variância após a verificação das pressuposições da anova, as pressuposições foram avaliadas pelo teste de Shapiro-wilk para normalidade e o teste de Levene para homogeneidade das variâncias, como os dados para a análise do processo de lavagem apresentou heterogeneidade das variâncias, foi necessário realizar a transformação de dados de Box-Cox (BOX; COX, 1964).

Quando encontrada diferença entre tratamentos, as médias para o experimento de lavagem foram comparadas pelo teste de Scott Knott e para o experimento de colorimetria foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com o uso do software R (R, 2021).

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 Dados obtidos pelo órgão regulamentador

Em resposta à carta 15/2021 enviada pela Embrapa à Assessoria de Pescado do 3° Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SIPOA) o referido órgão informou (ANEXO II) que as análises microbiológicas realizadas entre os anos de

2015 a 2020, apresentaram os seguintes resultados; das 198 amostras de pescado nos estados da Região Norte e Centro-Oeste, estas relativas ao Programa de Avaliação de Conformidade de Produtos de Origem Animal, um total de 10 amostras apresentaram resultado positivo para *Salmonella* spp., o que indica uma ocorrência de 5%.

Porém, conforme mostram os Anuários dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA, disponíveis no site do MAPA (BRASIL, 2017), são poucos os estabelecimentos de pescado registrados pelo SIF. Segundo o Anuário de 2022, no Estado do Tocantins, 4 empresas possuem esse registro, e no Estado de Goiás, 7 empresas possuem esse registro, ou seja, apenas essas são inspecionadas pelo SIF em todo o estado do Tocantins e de Goiás, em comparação com o Anuário de 2020, o estado do Tocantins possui 4 empresas com esse registro, porém no Estado de Goiás em 2020 eram 8 empresas com registro SIF, isto é, em 2022 uma empresa perdeu esse registro totalizando apenas 7 empresas nesse ano.

#### 5.2 Eficiência do processo de lavagem

Após as leituras automáticas das colônias foi feita a média dos resultados para cada tratamento já que tal foi feito em triplicata e tabulados em Excel para que fosse rodado no software R sendo assim gerando os resultados da ANOVA. Foram testadas as pressuposições da análise de variância nos dados originais, sendo que o teste de Shapiro-wilk foi encontrado um P-valor de 0,3686 e no teste de levene um p-valor de 0,0056. Com esse resultado foi necessário realizar a transformação de box-cox para corrigir heterocedasticidade. Após a transformação os novos p-valores são 0,50 e 0,07 para normalidade e homogeneidade respectivamente.

As contagens de *Salmonella* nas carcaças de tambaqui após o experimento diferiram significantemente (p > 0,05) antes e depois da lavagem, entre os blocos (I, II e III) e entre os tempos (20s, 40s, 60s, 120s, 180s) de lavagem. Entretanto, mesmo havendo diminuição na carga bacteriana de *Salmonella* pelas diferentes concentrações (2ppm, 5ppm, 10ppm) de cloro na lavagem não houve diferença significativa entre as concentrações utilizadas, e não houve interação entre o tempo e concentração, entretanto, houve diferença entre os tempos de lavagem (Tabela 3).

**Tabela 3:** Análise de variância da contagem de *Salmonella* referente ao experimento da lavagem em cilindro rotatório

	GL	SQ	QM	Fc	p-valor*
Concentração	3	0,19471	0,06490	2,5550	0,06964
Tempo	4	0,31440	0,07860	3,0942	0,02673**
Bloco	2	0,75417	0,37709	14,8444	1,722e <sup>-5</sup> ***
Concentração*Tempo	12	0,12840	0,01070	0,4212	0,94540
Resíduo	38	0,96530	0,02540		

GL: Grau de liberdade; SQ: Soma de Quadrado; QM: Quadrado Médio; Fc: F calculado.

Como houve diferença significativa entre os tempos de lavagem, foi realizado o teste de Scott Knott para confirmar a diferença das médias que como pode ser observado na tabela 4 abaixo, e após esse teste constatamos que entre os tempos de 20, 40 e 60 segundos não houve diferença significativas entre si, mas se diferem dos tempos de 120 e 180 segundos.

Tabela 4: Teste de Scott Knott para as médias da contagem de colônias da tabela 3.

Tempo	Média <sub>(1)</sub> (UFC/mL)
20	0,5254973a
40	0,5999884a
60	0,6511774 <sup>a</sup>
120	0,7418751 <sup>b</sup>
180	0,7808488 <sup>b</sup>

<sup>(1)</sup> Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott.

Após a análise estatística observou-se que que a redução na carga bacteriana após a lavagem dos pescados no cilindro rotatório em diferentes tempos de lavagem foi significativa e que houve uma eficiência nos tratamento de lavagem no processo inicial de lavagem após o abate, mas conforme o parâmetro da Instrução Normativa nº 60 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para este tipo de alimento o recomendado é a ausência de *Salmonella* em 25 gramas de produto (BRASIL, 2019).

<sup>\*</sup> p-valor menor que 0,05 existe diferença entre os tratamentos '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.05

As médias dos resultados de contagem da Salmonella como observado na tabela 5, mostram que, conforme o tempo de lavagem aumenta em cada concentração de cloro a média percentual de redução da carga bacteriana, ou seja, a carga de Salmonella daquele tratamento diminuiu após a lavagem no cilindro em comparação com a carga bacteriana inicial antes da lavagem.

As médias de redução foram calculadas a partir das contagens das colônias de *Salmonella* antes e após a lavagem pelo software R, médias maiores significam que as reduções da carga de *Salmonella* foi maior, estatisticamente não houve diferença significativa entre as concentrações de cloro testadas, mas pode-se observar uma tendência de aumento da média da redução da carga bacteriana, à medida em que se aumenta a concentração do cloro na água de lavagem.

**Tabela 5:** Média e Desvio Padrão das reduções da carga bacteriana de Salmonella.

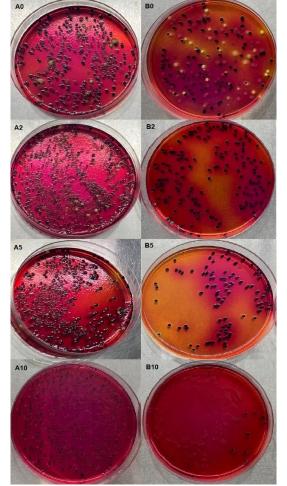
	,	•	
Concentração (ppm)	Tempo (seg)	Média (UFC/mL)	Desvio
0	20	0.3964654	0.2657024
0	40	0.5081479	0.4136943
0	60	0.5154169	0.3851819
0	120	0.6022174	0.4356680
0	180	0.6464428	0.3783875
2	20	0.4949887	0.2531833
2	40	0.6183540	0.2712995
2	60	0.6509014	0.4617715
2	120	0.7313276	0.3041096
2	180	0.7626120	0.2950184
5	20	0.4876864	0.3284246
5	40	0.6591634	0.2457067
5	60	0.7346655	0.1607698
5	120	0.7143403	0.2650139
5	180	0.8341965	0.0838277
10	20	0.6111662	0.3526332
10	40	0.7259710	0.0660633
10	60	0.7037259	0.1573795
10	120	0.7997590	0.0831804
10	180	1.0000000	0.0000000
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	·		·

Segundo Silva et al. (2021b) as características típicas de colônias de Salmonella no meio de plaqueamento XLD são: cor de rosa escura, com centro preto e uma zona avermelhada levemente transparente ao redor, colônias inteiramente pretas significando Cepas de Salmonella H<sub>2</sub>S fortemente positivas e colônias amarelas podendo ou não ter centro preto são Cepas de Salmonella lactose positivas.

A figuras 8, mostra o crescimento de *Salmonella* nas carcaças dos peixes, as figuras identificadas com a letra A mostram o crescimento de *Salmonella* antes da lavagem em cilindro rotatório, e as figuras identificadas com a letra B mostram o crescimento das amostras após o tratamento de lavagem no cilindro.

Como pode observar na figura 8 houve uma diminuição do crescimento de colônias de *Salmonella* após os tratamentos, lavagem no cilindro rotatório apenas com água (Figura 8D0) e lavagem no cilindro com as concentrações de cloro a 2ppm (Figura 8D2), 5ppm (Figura 8D5) e 10ppm (Figura 8D10).

**Figura 8:** Placas com crescimento de colônias de *Salmonella* referente aos tratamentos no tempo de 20 segundos.



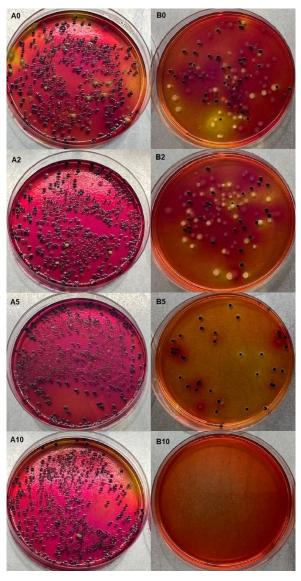
A0: Antes da lavagem; D0: Lavagem apenas com água – Depois da lavagem; A2: 2 ppm de cloro - Antes da lavagem; D2: Tratamento 2ppm de cloro – Depois da lavagem; A5: 5ppm de

cloro – Antes da lavagem; **D5:** Tratamento 5ppm de cloro – Depois da lavagem; **A10:** 10ppm de cloro – Antes da lavagem; **D10:** Tratamento 10ppm de cloro – Depois da lavagem. Fonte: Autor, 2022.

A figuras 9, mostra o crescimento de *Salmonella* nas carcaças dos peixes, as figuras identificadas com a letra A mostram o crescimento das colônias de *Salmonella* antes da lavagem em cilindro rotatório, e as figuras identificadas com a letra B mostram o crescimento das amostras após o tratamento de lavagem no cilindro.

Como pode observar na figura 9 houve uma diminuição do crescimento de colônias de *Salmonella* após os tratamentos, lavagem no cilindro rotatório apenas com água (Figura 9D0) e lavagem no cilindro com as concentrações de cloro a 2ppm (Figura 9D2) e 5ppm (Figura 9D5), no tratamento com a concentração de 10ppm não houve crescimento de colônias de *Salmonella* como mostra a Figura 9D10.

**Figura 9:** Placas com crescimento de colônias de Salmonella referente aos tratamentos no tempo de 180 segundos.



**A0:** Antes da lavagem; **D0:** Lavagem apenas com água – Depois da lavagem; **A2:** 2 ppm de cloro - Antes da lavagem; **D2:** Tratamento 2ppm de cloro – Depois da lavagem; **A5:** 5ppm de cloro – Antes da lavagem; **D5:** Tratamento 5ppm de cloro – Depois da lavagem; **A10:** 10ppm de cloro – Antes da lavagem; **D10:** Tratamento 10ppm de cloro – Depois da lavagem. Fonte: Autor, 2022.

Segundo Chaves et al. (2019) estudos anteriores mostraram que a *Salmonella* apresenta, em geral, uma resistência aos tratamentos utilizando cloro. Já Tong Thi et al. (2015) apresentam que existe poucos estudos que avaliam as diferentes concentrações de cloro livre sobre a sobrevivência de bactéria em peixes, conforme o estudo que ele demonstra que para uma redução significativa da contagem de psicotrópicos totais utilizou-se 10ppm e 50ppm de cloro em 240 segundos.

Tong Thi et al. (2015) demonstraram que não houve alteração sensorial na lavagem por imersão de files de peixe panga com 10 ppm de cloro livre, e para a concentração de 50 ppm de cloro livre não existem estudos, até o presente momento, que avaliam aspectos sensoriais e químicos da lavagem dos peixes inteiros para descartar os possíveis ricos associados a tal concentração de cloro livre no processo de lavagem (CAVALCANTE, 2020).

No estudo que Cavalcante (2020) realizou verificou-se que a lavagem do peixe a 5ppm de cloro nos tempos 5, 30, 60 e 90 minutos a inativação celular da *S. typhimurium* foi mínima, no tempo de 120 minutos verificou-se a redução de 1 log UFC/mL.

A viabilidade e a segurança da utilização de compostos clorados para eliminação de micro-organismos patogênicos já foram demonstradas cientificamente, Ribeiro et al. (2008) concluiu que para a inativação eficiente de bactérias em 20 minutos necessita de 0,03 a 0,06ppm de hipoclorito de sódio adicionado à água.

### 5.3 Análise colorimétrica

As tabelas 6, 7 e 8 são referentes à estatística da colorimetria quanto à Luminosidade (L\*). Verificou-se que houve diferença significativa entre as partes da carcaça do peixe e entre os tratamentos, que consistiram em dois momentos de análise (antes e depois da lavagem), quanto à medição da cor do índice de L\* e, para

confirmar a diferença das médias luminosidade, utilizou-se o teste de Tukey. Não houve interação entre parte do peixe que foi feita a leitura e o tratamento (Tabela 6).

Tabela 6: Análise de variância do resultado de colorimetria para o índice L\*

	GL	SQ	QM	Fc	p-valor*
Parte (dorso, ventre,	2	4007,3	4	120,027	0,00000
opérculo)	2	4007,3	4	120,021	0,00000
Tratamento (antes e	1	190.6	3	11,356	0.00117
depois)	ı	189,6	S	11,330	0,00117
Parte x Tratamento	2	1302,1	5	0,429	0,65278
Resíduo	78	5513,3	2		

GL: Grau de liberdade; SQ: Soma de Quadrado; QM: Quadrado Médio; Fc: F calculado.

Como há diferença significativa entre as medições da cor das partes do peixe foi realizado o teste de Tukey (Tabela 7) que mostra que as médias de luminosidade do dorso e do opérculo não diferiram entre si, mas apresentaram luminosidade maior que a média do ventre. Valores mais próximo de 0 representa mais a cor preto (escuro) e valores mais próximos de 100 representa a cor branco (claro).

**Tabela 7:** Teste de Tukey das médias do índice L\* comparando as partes do corpo

Parte	Média <sub>(1)</sub>
Dorso	42,03929 <sup>a</sup>
Opérculo	40,57857a
Ventre	26,71179 <sup>b</sup>

(1) Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Como há diferença significativa entre as medições da cor do peixe antes da lavagem e da medição da cor do peixe após a lavagem com água clorada, foi realizado o teste de Tukey (Tabela 8) que mostra que as médias diferem entre si quanto ao nível de 5%, valores mais próximos de 0 é mais escuro (preto) e valores mais próximo de 100 é mais claro (branco).

<sup>\*</sup> p-valor menor que 0,05 existe diferença entre os tratamentos

**Tabela 8:** Teste de Tukey das médias do índice L\* comparando o antes e depois do tratamento.

Tratamento	Média <sub>(1)</sub>
Antes	37,94548 <sup>a</sup>
Depois	34,94095 <sup>b</sup>

(1) Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As tabelas 9, 10 e 11 são referentes a estatística de colorimetria que representa o nível de saturação para a\*.

Após a análise estatística de variância (Tabela 9) verificou-se que houve diferença significativa entre as partes da carcaça do peixe e do tratamento da medição da escala de a\*, e como houve diferença significativa utilizou-se o teste de Tukey para confirmar a diferença das médias, já na interação entre as partes do peixe que foi feita a medição da cor e o tratamento (antes e depois) utilizando a agua clorada não houve diferença significativa.

Tabela 9: Análise de variância do resultado de colorimetria para o índice a\*

	GL	SQ	QM	Fc	p-valor*
Parte (dorso, ventre,	2	268,72	5	121,618	0,00000
opérculo)	2	200,72	3	121,010	0,00000
Tratamento (antes e	1	42.04	4	10 500	0.00069
depois)	ı	13,84	4	12,530	0,00068
Parte x Tratamento	2	1,41	2	0,638	0,53102
Resíduo	78	86,17	3		

GL: Grau de liberdade; SQ: Soma de Quadrado; QM: Quadrado Médio; Fc: F calculado.

Como há diferença significativa entre as medições da cor das partes do peixe foi feito o teste de Tukey (Tabela 10) que mostra que a média do dorso, opérculo e ventre se diferem entre si ao nível de 5%, valores do níveis de saturação para a escala de a\* representam valores positivos indicando a cor vermelho e valores negativos representa a cor verde nesse caso em ordem crescente da cor mais verde para o mais vermelha a partir dos resultados da média foram dorso, opérculo e ventre.

<sup>\*</sup> p-valor menor que 0,05 existe diferença entre os tratamentos

Tabela 10: Teste de Tuke	/ das médias do índice a*	comparando as partes do corpo
	/	

Média <sub>(1)</sub>
0,4535714ª
2,661786 <sup>b</sup>
4,834643°

(1) Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Como há diferença significativa entre as medições da cor do peixe antes da lavagem e da medição da cor do peixe após a lavagem com água clorada foi realizado o teste de Tukey (Tabela 11) que mostra que as médias diferem entre si ao nível de 5% de significância, antes da lavagem o valor de medição foi maior do que o valor após a lavagem com água clorada a 10ppm de cloro significando que o valor está mais próximo do 0 e com isso indicando uma medição de cor mais próximo da cor verde.

**Tabela 11:** Teste de Tukey das médias do índice a\* comparando o antes e depois do tratamento.

Tratamento	Média <sub>(1)</sub>
Antes	3,055952a
Depois	2,244048b

(1) Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A tabela 12, 13, 14 e 15 são referentes a estatística de colorimetria que representa o nível de saturação para b\*.

Após a análise estatística de variância (Tabela 12) verificou-se que houve diferença significativa entre as partes da carcaça do peixe, entre o tratamento e houve diferença na interação entre parte da carcaça e tratamento na medição da escala de b\* e como houve diferença significativa utilizou-se o teste de Tukey para confirmar a diferença das médias.

Tabela 12: Análise de variância do resultado de colorimetria para o índice b\*

	GL	SQ	QM	Fc	p-valor*
Parte (dorso, ventre,	2	394,82	4	126,450	0,00000e <sup>+00</sup>
opérculo)	_	001,02	•	120, 100	0,00000
Tratamento (antes e	1	33,39	5	21,388	1,4648e <sup>-5</sup>
depois)	•	33,39	3	21,300	1,40406
Parte x Tratamento	2	28,61	3	9,163	2,6640e <sup>-4</sup>
Resíduo	78	121,77	2		

GL: Grau de liberdade; SQ: Soma de Quadrado; QM: Quadrado Médio; Fc: F calculado.

Como há diferença significativa entre as medições da cor dos peixes antes da lavagem e após a lavagem com água com cloro a 10ppm foi feito o teste de Tukey, analisando a interação tratamento x parte a tabela 13 mostra os resultados das médias antes e após a lavagem para o dorso que mostra que as médias diferem entre si ao nível de 5% de significância, antes da lavagem o valor da medição foi maior do que o valor após a lavagem com água clorada significando que o valor está mais próximo do 0 e com isso indicando uma medição de cor mais próximo da cor azul.

**Tabela 13:** Teste de Tukey das médias do índice b\* comparando o antes e depois do tratamento com a parte do corpo.

Tratamento/dorso	Média <sub>(1)</sub>
Antes	5,606429 <sup>a</sup>
Depois	2,697143 <sup>b</sup>

<sup>(1)</sup> Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Como houve diferença significativa na interação tratamento x parte da carcaça do peixe antes e após a lavagem com água com cloro a 10ppm foi realizado o teste F que demonstrou que as médias do tratamentos antes e após a lavagem para o opérculo e pra o ventre são estatisticamente iguais não diferindo entre si ao nível de 5% de significância (Tabela 14 e 15).

<sup>\*</sup> p-valor menor que 0,05 existe diferença entre os tratamentos

**Tabela 14:** Teste F das médias do índice b\* comparando o antes e depois do tratamento com a parte do corpo.

Tratamento/opérculo	Média <sub>(1)</sub>
Antes	0,376286 <sup>a</sup>
Depois	-0,1371429 <sup>a</sup>

(1) Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 15:** Teste F das médias do índice b\* comparando o antes e depois do tratamento com a parte do corpo.

Tratamento/ventre	Média <sub>(1)</sub>
Antes	-0,6771429 <sup>a</sup>
Depois	-1,0371429 <sup>a</sup>

(1) Médias com letra diferente diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste F.

Foi realizado um registro fotográfico (figura 10A) da carcaça do peixe antes de passar pela lavagem com a concentração de cloro a 10ppm por 3 minutos e após a lavagem tirou-se uma foto do mesmo peixe para registro visual do efeito da lavagem na coloração do mesmo, como pode observar na figura 10B após a lavagem o peixe apresentava-se mais claro nas partes do opérculo, dorso e ventre.

Figura 10: Aspecto da carcaça do peixe antes e após a lavagem em cilindro rotatório



Fonte: O autor, 2022

Segundo Tong Thi et al. (2015) após a lavagem do peixe com 150ppm de água com cloro percebeu-se uma descoloração e um odor de cloro, e que as propriedades organolépticas deve ser avaliado em concentrações entre 50ppm e 150ppm.

Segundo Rezende-de-Souza et al. (2020), poucos trabalhos nos informam sobre os parâmetros colorimétricos em pescado, provavelmente isso ocorre, pois esses parâmetros de cor são limites instituídos pelas indústrias processadoras e/ou pesquisadores, como padrões de qualidade interno específicos para cada empresa processadora de pescado.

O estudo sobre parâmetros colorimétricos é de suma importância para a qualidade dos alimentos, pois os consumidores antes de usar qualquer outro sentido para influenciar a compra do produto como, paladar, olfato, tato, a cor do alimento é o primeiro contato que o consumidor terá com o produto, e principalmente com o pescado ou seus derivados a cor é um atributo que indica qualidade do frescor.

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos é possível concluir que a lavagem no cilindro rotatório pode reduzir a população microbiana das carcaças dos pescados, porém não elimina a *Salmonella* spp. nos tempo 20, 40, 60, 120 e 180 segundos nas concentrações 0ppm, 2ppm e 5ppm, na concentração de 10ppm e no tempo de 180 segundos observamos que não houve crescimento de colônias de *Salmonella*.

Estatisticamente não houve diferença significativa entre as concentrações, mas pode-se observar que com o aumento da concentração há um aumento da média de redução, significando que a redução da carga bacteriana de Salmonella reduz conforme aumenta a concentração de cloro, o tratamento de 180 segundos na concentração de 10 ppm de cloro foi eficaz na eliminação da *Salmonella* conforme a legislação pede.

Como o uso do sanitizante Hipoclorito de sódio na concentração de 10ppm provocou alterações na cor do peixe inteiro, deixando peixe mais claro e com um leve odor de cloro, necessitando de pesquisas futuras para verificar a aceitabilidade desse produto perante os consumidores, e pesquisas para verificar se terá alterações sensórias e resíduos químicos do cloro.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, A. C. S.; ALBERGARIA, F. C.; VENÂNCIO, A. H.; RIBEIRO, A. P. L.; HADDAD, F. F.; TANAKA, M. S.; SOUZA, R. H.; GOMES, M. E. S. Qualidade de peixes: Uma breve revisão. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 4, p. 145-173, 2021.

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, v. 45, p. 780-788, 2012.

ANUÁRIO DOS PROGRAMAS DE CONTROLE DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL DO DIPOA. Brasilia, v.8, 2022. Disponível em: < https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa/anuario-dipoa-volume-8-2022.pdf/view > Acesso em: 25 nov 2022

ANUÁRIO DOS PROGRAMAS DE CONTROLE DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL DO DIPOA. Brasilia, v.6, 2020. Disponível em: < https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa/anuario\_volume\_6\_-versao-final\_fev\_2021.pdf/view > Acesso em: 25 nov 2022

BARÇANTE, B.; SOUSA, A. B. Características zootécnicas e potenciais do tambaqui (Colossoma macropomun) para a piscicultura brasileira. **PubVet.** v. 9, n. 7, p. 287-290, 2015.

BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statisistical Society: Series B.** v. 26, n. 2, p. 211-46, 1964.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources.** v. 4, n. 2, p. 50-58, setembro, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Publicações DIPOA/SDA: "Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA". 2017. Disponível em: <a href="https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa">https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa</a> Acesso em: 25 nov 2022.

BRASIL. Instrução Normativa N° 60, de 23 de dezembro de 2019. "**Estabelece a listas de padrões microbiológicos para alimentos**". Orgão emissor: ANVISA — Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: < https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356> Acesso em: 10 janeiro 2022.

BUENO, G. W.; OSTRENSKY, A.; CANZI, C.; MATOS, F. T.; ROUBACH, R. Implementation of aquaculture parks in Federal Government waters in Brazil. **Reviews in Aquaculture**. v. 7, p. 1-12, 2015.

- CAVALCANTE, C. B. Hipoclorito de Sódio (NaClO) para inativação de Salmonella spp. No context do processamento de peixes: concentração x tempo de exposição. 2020. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2020.
- CIE COMMISSION INTERNATIONAL DE L'ECLAIRAGE. Colorimetria parte 4: **CIE 1976 L\*a\*b\* espaço de cores 2019**. Disponível em: <a href="https://cie.co.at/publications/colorimetry-part-4-cie-1976-lab-colour-space-0">https://cie.co.at/publications/colorimetry-part-4-cie-1976-lab-colour-space-0</a>. Acesso em: 10 Dez 2022.
- CHAVES, R. D.; ASPRIDOU, Z.; SANT'ANA, A. S.; KOUTSOUMANIS, K. P. Effect of chlorine stress on the subsequent growth behavior of individual Salmonella cells. **Food Research International.** v. 123, p. 311-316. 2019.
- CHICRALA, P. C. M. S.; LIMA, L. K. F.; SOUSA, D. N.; MATOS, F. T.; SOUZA, A. L. M.; CALIXTO, F. A. A.; BORGHESI, R.; CAVALCANTE, H. A. **Unidade de beneficiamento de pescado para as organizações da agricultura familiar**. Brasilia, DF: Embrapa, 2021. 34 p.
- CHUNG, W. Y.; LE, G. T.; TRAN, T. V.; NGUYEN, N. H. Novel proximal fish freshness monitoring using batteryless smart sensor tag. **Sensors and Actuators B: Chemical**. v. 248, p. 910–916, 2017.
- COSSU, A.; LE, P.; YOUNG, G. M.; NITIN, N. Assessment of sanitation efficacy against *Escherichia* coli O157:H7 by rapid measurement of intracellular oxidative stress, membrane damage or glucose active uptake. **Food Control.** v. 71, p. 293–300, 2017.
- CRIBB, A. Y.; FILHO, J. T. S.; MELLO, S. C. R. P. **Manual técnico de manipulação e conservação de pescado**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 119 p.
- DELBEM, A. C. B.; GARBELINI, J. S.; LARA, J. A. F. Avaliação microbiológica do Pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) obtido no Rio Paraguai (Pantanal) e conservado em gelo. IN: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SOCIOECONÔMICOS DO PANTANAL, 5., 2010, Corumbá. Anais... Corumbá: Embrapa Pantanal: UFMS, 2010. 1 CD-ROM SIMPAN 2010.
- DURÁN, E.; PÉREZ, R.; CARDOSO, W.; PÉREZ, O. A. Análise colorimetrica de açúcar mascavo e sua aceitação no Mercado de Viçosa-MG, Brasil. **Temas Agrários**. v. 17, n. 2, p. 30-42, 2012.
- EL-OLEMY, G. M.; LOBNA, M. A.; NASHWA, O. K.; MONA, S. A. Detection of some bacterial zoonosis in market fish in Qalyoubia province and their control. **Benha Veterinary Medical Journal**. v. 26, n. 5, p. 126-136, 2014.
- ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R. A.; BARBIN, E. L.; SPANÓ, J. C. E.; MARCHESAN, M. A.; PÉCORA, J. D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Brazilian Dental Journal**. v. 13, n. 2, p. 113–117, 2002.

- FAO. Fisheries and Aquaculture Department. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. 2014. Disponível em: <a href="http://www.fao.org/fishery/sofia/en">http://www.fao.org/fishery/sofia/en</a>. Acesso em: 10 agosto de 2020.
- FAO and WHO. 2020. Code of Practice for Fish and Fishery Products. Rome. https://doi.org/10.4060/cb0658en
- FAO. 2018. El estado mundial de la pesca y La acuicultura 2018. **Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible**. Roma. Disponível em: < https://www.fao.org/3/i9540es/i9540es.pdf>. Acesso em: 1 nov 2022
- FERREIRA, M. D.; SPRICIGO, P. C. Colorimetria princípios e aplicações na agricultura. In: FERREIRA, M. D. (Ed.). **Instrumentação pós-colheita em frutas e hortaliças.** São Carlos: Embrapa Instrumentação, p. 209-220, 2017.
- FERNANDES, D. V. G. S.; CASTRO, V. S.; CUNHA NETO, A.; FIGUEIREDO, E. E. S. *Salmonella* spp. in the fish production chain: a review. **Ciencia Rural**. v. 48, n. 8, p. 1-11, 2018.
- HAMADA-SATO, N.; USUI, K.; KOBAYASHI, T.; IMADA, C.; WATANABE, E. Quality assurance of raw fish based on HACCP concept. **FoodControl.** v. 16, n. 4, p. 301-307, 2005.
- HEINITZ, M. L.; RUBLE, R. D.; WAGNER, D. E.; TATINI, S. R. Incidence of Salmonella in fish and seafood. **Journal of Food Protection**. v. 63, n. 5, p. 579-592, 2000.
- IGARASHI, M. A. Aspectos do potencial econômico da piscicultura, contribuição e perspectivas da atividade para o desenvolvimento sustentável no Brasil. **Revista Unimar Ciências**. v. 28, n. 1-2, p. 1-18, 2019.
- KIM, H. W.; HONG, Y. J.; JO, J. I.; HA, S. D.; KIM, S. H.; LEE, H. J.; RHEE, M. S. Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various seafood species available in fishery, hyper and online markets. **Letters in Applied Microbiology**. v. 64, p. 27-34, 2016.
- KONICA MINOLTA. **Entendendo o Espaço de Cor L\*a\*b\***. Disponível em: <a href="https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/compreendendo-o-espaco-de-cor-cie-lch/">https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/compreendendo-o-espaco-de-cor-cie-lch/</a>>. Acesso em: 20 Dez 2022.
- LEAL, C. A. G.; FIGUEIREDO, H. C. P. Salmonella spp. o fantasma da indústria de peixes nativos no Brasil. **Panorama da Aquicultura.** v. 29, n. 171, p. 14-19, 2019.
- MACHADO, T. R. M.; MALHEIROS, P. S.; BRANDELLI, A.; TONDO, E. C. Avaliação da resistência de *Salmonella* à ação de desinfetantes ácido peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v. 69, n.4, p. 475-481, 2010.
- MELO, E. S.; AMORIM, W. R.; PINHEIRO, R. E. E.; CORRÊA, P. G. N.; CARVALHO, S. M. R.; SANTOS, A. R. S. S.; BARROS, D. S.; OLIVEIRA, E. T. A. C.; SOUSA, F. V. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil. **PUBVET**, v. 12, n. 10, p. 1-9, 2018.

- MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.:** diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella. Instituto Adolfo Lutz. Brasília, 2011. 60 p.
- MOTA, J. P.; MAJOLO, C. Prevalência e perfil de resistência de *Salmonella* spp. isoladas de tambaqui cultivados em tanques escavados. **Scientia Amazonia**. v. 10, n. 3, p. 53-58, 2021.
- NWIYI, P.; ONYEABOR, A. Occurrence of Salmonella spp. From fresh fish (Tilapia nilotica Linn) using improved isolation methods. **Online Journal of Animal and Feed Research**, 2:475-478. 2012.
- ONMAZ, N. E.; ABAY, S.; KARADAL, F.; HIZLISOY, H.; TELLI, N.; AL, S. Occurrence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in retail fish samples in Turkey. **Marine Pollution Bulletin**, v. 90, p. 242-246, 2015.
- PEDROSA FILHO, M. X.; BARROSO, R. M.; FLORES, R. M., **Diagnóstico da cadeia produtiva da piscicultura no estado de Tocantins**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2014. 65 p.
- PEIXE BR. **Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2022**. Associação Brasileira da Piscicultura, 2022.
- PIRES, L. B.; SANCHES, E. A.; ROMAGOSA, E.; CORRÊA FILHO, R. A. C.; JUNIOR, D. P. S.; NASS, R. A. R.; POVH, J. A. Semen characteristics of *Colossoma macropomum* from three successive sample collections in the same reproductive cycle. **Aquacultura Reseach**. v. 48, p. 5104-5110. 2017.
- RAUFU, I. A.; LAWAN, F. A.; BELLO, H. S.; MUSA, A. S.; AMEH, J. A.; AMBALI, A. G. Occurrence and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Salmonella* Serovars from Fish in Maiduguri, Sub-Saharah, Nigeria. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**. v. 40, n. 1, p. 59-63, 2014.
- REBELATTO, I. S.; LINTZMAIA, D. J. H.; RITTER, D. O.; LANZARIN, M.; DE FARIA, R. A. P. G.; CHITARRA, G. S. Composição química e valor nutricional do pescado. **Engenharia de Pesca: aspectos teóricos e práticos**. v. 4, p. 52-66, 2022.
- REZENDE-DE-SOUZA, J. H.; SOUZA, C. O. S. S.; HOSHIBA, M. A.; ABREU, J. S.; SAVAY-DA-SILVA, L. K. Influência colorimétrica em surimis de tambaqui submetidos a diferentes crioprotetores. Brazilian Journal of Development. v. 6, n. 5, p. 23264-23277, 2020.
- RIBEIRO, J. M.; CANUTO, K. M.; VESCHI, J. L. A. **Compostos clorados:** Aspectos gerais e sua utilização como agente sanitizantes na agricultura, micropropagação e pecuária. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 2008. 26p.
- ROCHA, C. M. C.; RESENDE, E. K.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTEDT, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** v. 48, n. 8, p. iv-vi, 2013.

- SANTOS, D. D. M.; COELHO, A. F. S. Qualidade microbiolóica de pescado comercializado em feiras livres de Palmas TO. **Higiene Alimentar**. v. 30, n. 262/263, p.125-130, 2016.
- SANTOS, R. R.; XAVIER, R. G. C.; OLIVEIRA, T. F.; LEITE, R. C.; FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Occurrence, genetic diversity, and control of *Salmonella enterica* in native Brazilian farmed fish. **Aquacultura**. v. 501, p. 304-312, 2019.
- SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus**. Manaus: Ibama/AM, ProVárzea, 2006. 144p.
- SCHRODER, C. S. Influência do uso de óleo essencial de eugenol e de manjericão (*Ocimum basilicum*) na água de transporte pré-abate de tilápias criadas pela agricultura familiar. 2021. 67 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) Campus de Marechal Cândido Rondo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2021.
- SILVA, C. O.; CRUZ, T. S.; ELOI, M. S. S.; REIS, L. T. S.; SOUZA, S. H. M.; REZENDE, L. P. F.; OLIVEIRA, W. H.; SANTOS, A. C. Desempenho tambaqui submetidos a duas densidades de estocagem em sistema de recirculação de água. **Zootecnia Brasil**, 2018.
- SILVA, G.; DUTRA, P. R. S.; CADIMA, I. M. Higiene na Indústria de Alimentos. Recife: EDUFRPE, 2010. 134 p.
- SILVA, M. S.; SILVA, L. R.; MACHADO, R. A.; SANTOS, E. M. P. Qualidade, manipulação e segurança do pescado e seus impactos para a saúde pública. **Archives of Health.** v. 2, n. 4, p. 699-702, 2021a.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M.; IAMANAKA, B. T. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 6d. São Paulo: Blucher, 2021b. 602 p.
- SILVANI, V. Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos. In: SEIBEL, N. F.; KATO, T.; LIMA, A. R. **Importância da difração de raios x e colorimetria em alimentos**. Editora Científica Digital, 2022. Vol. 6, p. 219-235.
- SIQUEIRA, T. V. Aquicultura: a nova fronteira para produção de alimentos de forma sustentável. **R. BNDES**. v. 25, n. 49, p. 119-170, 2018.
- SOARES, K. M. P; GONCALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v.71, n.1, p. 1-10, 2012.
- SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A.; SOUZA, L.B. Qualidade microbiológica de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o armazenamento em gelo. **Ciência Rural**. v.44, n.12, p.2273-2278, 2014.
- SOUZA, S. R. dos S. Multimídia: Bando de Imagens Tambaqui. Embrapa Amazônia Ocidental, 2019. Disponivel em: <a href="https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/midia/4644001/tambaqui">https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/midia/4644001/tambaqui</a>. Acesso em: 23 dez. 2022.

TONG THI, A. N.; SAMPERS, I.; HAUTE, S. V.; SAMAPUNDO, S.; NGUYEN, B. L.; HEYNDRICKX, M.; DEVLIEGHERE, F. Decontamination of Pangasius fish (*Pangasius hypophthalmus*) with chlorine or peracetic acid in the laboratory and in a Vietnamese processing company. **International Journal of Food microbiology**. v. 208, p. 93-101, 2015.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnlogia.** São Paulo: Oficina de Textos, 2008. 631 p.

VALENTI, W. C.; BARROS, H. P.; MORAES-VALENTI, P.; BUENO, G. W.; CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**. v. 19, p. 1-18, 2021.

VIEIRA, D. C.; BALBINOT-ALFARO, E.; MARTINS, V. G. **Sistema inteligentes para o monitoramento da qualidade do pescado.** Rio Grande: Ed. da FURG, 2021. 68 p.

WINN, A. A.; PRESTIA, K. A.; PENEYRA, S. M. Testing Alternative Surface Disinfection Agents for Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. **Journal of the American Association for Laboratoy Animal Science**, v. 60, n. 5, p. 1-9, Setembro, 2021.

#### **ANEXO I**

04/11/2021 17:00

SEI/EMBRAPA - 6129431 - Carta



minereus presente un resiguita Agroppouaria talerio da Agricultura, Pousiaria e Abacteolmento Embrapa Pesca e Aquicultura Cruzamento com a Avenida LO18, Dentido Norte - Bairro Loteamento Agua Fria CEP 77008-900 - Palmaz-TO Telefone: (83)3228-7800 www.embrapa.br

Carta nº 15/2021-CNPASA/NAP

Palmas, 04 de novembro de 2021.

Ao Senhor(a) ROBÉRIO ALVES MACHADO Chefe do 3º SIPOA/ DIPOA - Secretária de Defesa Agropecuária Goiánia - GO

Assunto: Solicitação de dados para pesquisa

Senhor Chefe,

A Embrapa Pesca e Aquicultura está com um projeto de desenvolvimento de soluções para a eliminação da Salmonella no pescado. Esse projeto será realizado pela mestranda Catharina Couto Costa, vinculada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal do Tocantins.

Um dos objetivos dessa pesquisa é analisar os dados de Tambaquis no Estado do Tocantins e na Região Norte quanto à presença de Salmonella spp. nas indústrias de beneficiamento de pescado e, para que ele seja alcançado, necessitamos dos seguintes dados de casos de Salmonella:

- Dados de casos positivos de Salmonella em pescado (qualquer espécie) nos últimos 10 anos (Regiões Centro oeste e Norte);
- Quais foram as perdas e sanções econômicas aplicadas para a indústria por causa da presença da Salmonella no pescado, e;
- Quais as medidas que as indústrias devem tomar em casos positivos de Salmonella (recomendações/orientações indicadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento);

Colocamo-nos à disposição caso sejam necessários eventuais esclarecimentos.

Atenciosamente,

#### DANIELLE DE BEM LUIZ

Chefe Geral

Embrapa Pesca e Aquicultura



Documento assinado eletronicamente por Danielle de Bem Luiz, Chefe-Geral, em 04/11/2021, às 16:56, conforme art. 6°, parágrafo 1° do Decreto 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site https://sei.sede.embrapa.br/sei/controlador\_externo.php? acao=documento\_conferir&id\_orgao\_acesso\_externo=0 informando o código verificador 6129431 e o código CRC D671F3BD.

Referência: Processo nº 21194 001180/2021-20

SEL nº 6129431



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA E DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL COORDENACAO-GERAL DE PROGRAMAS ESPECIAIS COORDENACAO DE CARACTERIZAÇAO DE RISCO

OFÍCIO Nº 26/2021/CRISC/CGPE/DIPOA/SDA/MAPA

Brasília, 23 de novembro de 2021.

Ao Chefe do 3º SIPOA

Assunto: Solicitação de dados

Sr. Chefe do 3º SIPOA

**ANEXO II** 

- "Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA," cujos últimos 7 volumes se encontram disponíveis no site do MAPA em: Publicações DIPOA, bem como na página: Análáses laboratoriais. Em atenção ao Despacho 20390 (18554032) e à Carta nº 15/2021 da Embrapa Pesca e Aquicultura (1839526) informamos que o histórico de resultados das amostras oficiais de conformidade de produtos de origem animal (PACPOA) é anualmente compilado na publicação
- amostral analisado. Em atenção à Lei de Acesso à Informação LAI, informamos que entre 2015 e 2020 foram analisadas 198 amostras de pescad nos estados da Região Norte e Centro-oeste dentro do Programa de Avaliação de Conformidade de Produtos de Origem Animal e 10 amostars apresentaram resultado positivo para Solmonella spp. o que indica uma ocorrência de 5,%. Não foi realizada a compilação e análise de dados de 2021, que só pode ser iniciada depois de finalizadas as análises de amostras coletadas no corrente ano. As publicações indicam o índice de conformidade microbiológica geral para todas as áreas de produtos de origem animal, incluindo pescado, contudo não descrevem os resultados por analito, visto se iniviável detalhar neset tipo de publicação, considerando o universo
- no caso de não conformidade de produtos e processos são o Decreto 9.013/2017 (RIISPOA) e suas alterações; os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos específicos e/ou a Instrução Normativa Anvisa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. No caso de não conformidade microbiológica (todas as espécies), as principais legislações que suportam os padrões microbiológicos, controle e monitoramento de patógenos, procedimentos de inspeção e fiscalização de produtos e origem animal, incluíndo as ações fiscalis
- A lista de empresas com sanções impostas aos infratores da legislação agropecuária está disponível em: https://www.gow.br/agricultura/pt-br/acesso-a-informacao/fiscalizacao-empresas-autuadas

Atenciosamente,



Documento assinado eletronicamente por MAYARA SOUZA PINTO, Coordenador(a) Substituto(a), em 24/11/2021, às 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 8 de outubro de 2015 de 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 8 de outubro de 2015 de 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 8 de outubro de 2015 de 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 8 de outubro de 2015 de 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 8 de outubro de 2015 de 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 8 de outubro de 2015 de 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 8 de outubro de 2015 de 10:21, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no art. 6; § 19, do Decero no 8,539, de 10:21, conforme horário no 8,539, de 10:21, conforme ho



autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sistemas.agricultura.gov.br/sei/controlador\_externo php?a:ao-documento\_conferiRid\_orgao\_acesso\_externo=0, informando o código verificador 18655083 o código CRC 10921878