

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

JEAN WALD GARCIA DA LUZ

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO QUÍMICA DA ÁGUA E
PEIXES (TILÁPIA DO NILO), EM PESQUE E PAGUES DA CIDADE DE
PONTA GROSSA – PR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2016

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

JEAN WALD GARCIA DA LUZ

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO QUÍMICA DA ÁGUA E
PEIXES (TILÁPIA DO NILO), EM PESQUE E PAGUES DA CIDADE DE
PONTA GROSSA – PR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, da coordenação do curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Giovana A. Pietrowski

Coorientador: Prof. Msc. Simone Bowles

PONTA GROSSA

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO QUÍMICA DA ÁGUA E PEIXES
(TILÁPIA DO NILO), EM PESQUE E PAGUES DA CIDADE DE PONTA GROSSA –
PR

Por

JEAN WALD GARCIA DA LUZ

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia 07 de dezembro de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O candidato foi argüido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a.Dr^a Giovana de Arruda Moura Pietrowski
Prof^a. Orientadora

Prof^a. Msc. Simone Bowles
Prof^a. Co-orientadora e Membro titular

Prof^a.Dr^a Denise Milléo Almeida
Membro titular.

Dedico este trabalho à minha família em especial a minha esposa Alecsandra Garcia, minhas filhas Aline e Jessica Garcia e ao meu neto Gustavo M. Garcia pelos momentos de ausência e pela paciência, incentivo e força que me deram neste período da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me conceder força e perseverança para que eu chegasse até aqui.

A minha professora orientadora Dr^a Giovana A. Pietrowski e a professora co-orientadora Msc Simone Bowles, pela paciência, dedicação e principalmente pelos conhecimentos a mim transmitidos.

Aos meus colegas estagiários do laboratório de microbiologia por me auxiliarem nas etapas da elaboração deste trabalho

Ao professor e ao estagiário do laboratório de química analítica pela dedicação e tempo dispensados para ajudar nesse trabalho.

Aos demais professores que contribuíram com ensinamentos e aos colegas de sala pelo companheirismo durante minha formação acadêmica.

A minha esposa e filhas pela paciência, compreensão e por acreditarem em mim me incentivando em todos os momentos de minha vida.

E aos demais familiares pelo apoio nessa jornada.

Aos donos dos pesque-pague pela colaboração nessa pesquisa.

Enfim a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.

José de Alencar.

RESUMO

LUZ Jean Wald Garcia da. **Avaliação Microbiológica e Físico Química da Água e Peixes (Tilápia do Nilo), em Pesque e Pagues da Cidade de Ponta Grossa – PR.** 2016. 28 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

Os peque e pagues se tornaram uma opção de lazer e contato com a natureza muito procurados nos dias de hoje, por pessoas de todos os níveis sociais como fuga do estresse do dia a dia. O presente estudo foi realizado com o intuito de avaliar a possível presença de microrganismos e metais na água e nos peixes em pesque e pagues da região da cidade de Ponta Grossa – PR. Foram coletadas amostras de água e peixe em duas etapas, uma no mês de junho (outono) e outra no mês de outubro (primavera). As análises microbiológicas realizadas nos peixes foram contagem de coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva e detecção de *Salmonella sp.* Foram determinados e quantificados também os metais: Fe, Cu, Cd, Mg, Pb e Zn. Na água, além dos metais foram verificados o pH, a temperatura e contagem de coliformes termotolerantes. Os resultados das contagens de microrganismos nos peixes revelaram que 100% das amostras estavam de acordo com os valores estabelecidos pela RDC 12, de 2 de janeiro de 2001, tanto no outono quanto na primavera. Entretanto, mesmo sem exigência legal foi constatado a presença de coliformes termotolerantes em 90% das amostras. Na avaliação da qualidade da água os resultados evidenciaram apenas 10% das amostras fora dos padrões preconizados pela Resolução do CONAMA nº 357/2005. Entre os metais, nas amostras de água, apenas o Fe e o Mn apresentaram um nível acima do permitido por esta legislação. Em relação aos metais nas amostras de peixes não foi constatado níveis relevantes. Dessa maneira conclui-se que a qualidade microbiológica e físico-química dos peixes e da água não sofreu influência nas diferentes estações do ano pesquisadas, além de não oferecer risco à saúde das pessoas que consomem este produto.

Palavras-chave: Qualidade microbiológica. Peixes. Metais pesados. Pesque e Pague.

ABSTRACT

LUZ Jean Wald Garcia da. **Microbiological and Physicochemical Evaluation of Fishes (*Tilápia do Nilo*) and Water in Commercial Fishing Ponds from Ponta Grossa – PR.** 2016. 28 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

Commercial fishing ponds became a recreation option sought nowadays as means of escape from daily stress. This study was done to evaluate a possible presence of microorganisms and metals in water and fishes from commercial fishing ponds in the region of Ponta Grossa – PR. It were collected some samples of water and fishes in two steps, one in June (Fall) and another in October (Spring). The microbiological analysis done in fishes were count of thermo-tolerant coliforms, positive staphylococcus coagulase and the detection of *Salmonella sp.* It were determined and qualified all these metals: Fe, Cu, Cd, Mg, Pb and Zn. In water, beyond metals, it were verified the pH index, temperature and number of thermo-tolerant coliforms. The results from microorganisms count on fishes revealed that 100% of samples were in according to the RDC 12 standard values (established in January 12, 2001) in both Fall and Spring. Therefore, even without legal requirement, it were found the presence of thermo-tolerant coliforms in 90% of samples. In water quality evaluation, the results shown that only 10% of samples are out of CONAMA nº 357/2005 Resolution standards. Between metals, only Fe and Mn shown one level above the permitted by this legislation. In relation to metals in fish samples, it were not detected relevant levels. Due to results, it was concluded that the microbiological and physicochemical quality of fishes and water do not suffer influence between the different seasons, besides not offering health risks for people who consume the products cited.

Keywords: Microbiological Quality. Fishes. Heavy Metal. Commercial Fishing Ponds.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Parâmetros para determinação de metais em espectrômetro.....	18
Tabela 2 - 1ª Coleta análises microbiológicas do peixe e água (outono)	19
Tabela 3 – 2ª Coleta análises microbiológicas do peixe e água (primavera)	20
Tabela 4 – Limites de Detecção e Quantificação dos metais analisados	22
Tabela 5 – 1ª Coleta Quantificação de metais nas Amostras de Tilápia mg/g	22
Tabela 6 – 2ª Coleta Quantificação de metais na amostra de Tilápia mg/g	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1.1 OBJETIVO GERAL	15
2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 AMOSTRAS E LOCAL DE COLETA.....	16
3.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	17
3.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	19
4.2 DETERMINAÇÃO DE METAIS.....	21
5 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

No surgimento dos primeiros pesqueiros, no final da década de oitenta e começo dos anos noventa, havia apenas tanques de pesca. Na época, a meta era atender apenas o pescador, entretanto, atualmente a meta é atender as famílias dos pescadores. Os “pesque-pague” são os grandes responsáveis pelo recente crescimento da piscicultura no país, esta atividade no princípio era praticada principalmente por pequenos agricultores como forma alternativa de renda, porém a grande procura por ambientes de lazer que ofereçam contato com a natureza, fez com que estes estabelecimentos além de oferecer tanques para a pesca recreativa, também ofertassem serviços de restaurantes, lanchonetes, piscinas e quadras de esportes, atraindo não só os adeptos à pescaria como toda sua família (EMBRAPA, 2008).

Segundo o Ministério do Turismo, em 2010 os pesque e pague são a segunda opção de realização de pesca amadora perdendo apenas para os rios e lagos. Os pesque-pagues podem ser definidos como instalações de lazer onde as pessoas exercitam modalidades de pesca, geralmente empregando molinetes, carretilhas ou apenas caniços com linha e anzol. Existem diversas modalidades de sistemas de cobrança, pesque e pague no qual o pescador pesca e paga por quilo do peixe apanhado, o sistema de pague e pesque o qual paga-se uma taxa e pesca a vontade (pouco utilizado) e o modelo de pesca esportiva, também conhecido como “pesque e solte” tem crescido muito entre os estabelecimentos e pode ser definido como aquele em que o cliente-pescador paga uma taxa de ingresso e pode optar entre devolver ao lago o peixe capturado ou comprá-lo (SIQUEIRA, 2015).

Podemos definir a pesca como, o ato de extração de organismos aquáticos, tanto em águas continentais, quanto em águas marinhas. Por apresentar modalidades diferentes, a pesca pode ser classificada por categorias segundo suas características. A pesca amadora, que é praticada apenas como lazer, sem fins comerciais é uma dessas categorias, onde o praticante não depende dela para sobreviver, é praticada por hobby ou esporte (BRASIL, 2010).

Segundo a Secretaria do Meio Ambiente do Estado do Paraná, os corpos de água oferecem várias alternativas de turismo e recreação, seja por meio de atividades como natação e esportes aquáticos ou outras atividades, como a pesca e a navegação esportiva. O contato com a água pode ser primário, como o que ocorre

quando há contato físico proposital com a água, como na natação. Neste caso a água não deve apresentar organismos patogênicos e substâncias tóxicas em concentrações que possam causar danos à saúde pelo contato com a pele ou por ingestão. O contato secundário pode ocorrer de forma acidental em atividades como a navegação ou pesca esportiva (PARANÁ, 2016).

Levando em conta o manejo não adequado de muitos pesque-pagues, se faz necessário uma manutenção da qualidade da água, pois uma água com parâmetros de poluição acima do aceitável, pode acarretar em prejuízo ao crescimento, a saúde e a qualidade do peixe. As análises físico-químicas da água, são de suma importância, para a verificação da qualidade e manutenção do sistema hídrico dos pesque e pagues, os parâmetros mais estudados são: temperatura, pH e oxigênio dissolvido (SIQUEIRA, 2015).

De acordo com o CONAMA (resolução nº 357/2005), as águas doces, salobras e salinas do Território Nacional são classificadas, segundo a qualidade requerida para os seus usos preponderantes, em treze classes de qualidade. As águas de tanques de pesca são consideradas classe 2, águas que podem ser destinadas à pesca amadora e à recreação de contato secundário. A água para o uso de recreação de contato secundário não deverá ser excedida de um limite de 2500 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para dessedentação de animais criados confinados não deverá ser excedido o limite de 1000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 4000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral (BRASIL, 2005b).

A concentração de metais pesados em águas superficiais depende de uma série de fatores, quais sejam: a. composição química das rochas e dos solos onde se localiza o tanque, poluição antrópica, gerada pelo homem, uso de fertilizantes, agrotóxicos e geração de efluentes municipais (MELO, MELO e MELO, 2004).

Um dos peixes mais cultivados nos pesque-pagues é a Tilápia do Nilo (*Oreochromis nilótica*), originária do continente africano, foi introduzida no Brasil na década de setenta. De fácil adaptação, é encontrada em rios, lagos e açudes,

podendo sobreviver até em água com pouca salinidade. Hoje, é a segunda espécie mais cultivada no mundo, perdendo apenas para a carpa. No Brasil, a tilápia é chamada de “frango aquático”, por ser um peixe de alta produtividade e crescimento rápido. Apresenta hábito alimentar fitoplanctófago (alimenta-se de fitoplâncton), mas aceita muito bem rações comerciais e artesanais elaboradas à base de subprodutos da agropecuária. Sua carne tem uma grande aceitação pelo mercado consumidor. É também um dos peixes mais comuns nos pesque e pagues, por possuir uma forma achatada o que lhe confere uma maior resistência ao ser fogado, proporcionando mais emoção ao ser pescado (EMPRAPA, 2007).

O peixe, como qualquer outro alimento, tem sua microbiota própria e sofrerá alterações, dependendo de alguns fatores externos, tais como a contaminação de seu habitat, seja ele estuarino, lacustre ou marinho, através de esgotos e cursos de água poluída (VIEIRA, 2004).

O consumidor de pescado pode ser acometido por uma DTA (doença transmitida por alimentos), caso a contaminação dos peixes seja muito abundante. Existem duas maneiras de contaminação por microrganismos, por intoxicação, quando ingerimos a toxina formada pelo microrganismo nos alimentos, ou por infecção, quando ingerimos o microrganismo presente no alimento (VIEIRA, 2004).

Segundo a ANVISA, algumas bactérias patogênicas que causam infecção alimentar ao homem são a *Salmonella sp*, Estafilococos coagulase positiva e os coliformes a 45° C, dos quais o maior número é *Escherichia coli*. A resolução nº 12/2001 estipula limites para essas bactérias em torno de 10³ UFC/g do produto e ausência de *Salmonella sp*.

Além da contaminação microbiológica, os açudes dos pesque e pagues estão sujeitos a serem contaminados por metais pesados, oriundos da lixiviação e escoamento de água com resíduos de agrotóxicos utilizados nas lavouras próximas. Os peixes seriam os mais afetados neste caso.

O metal pesado pode causar distúrbios no seu crescimento e reprodução, além afetar a pele, brânquias, fígado e rins (ANDRADE et al, 2013). O peixe contaminado oferece um grande risco à saúde dos consumidores.

Alguns insumos agrícolas e subprodutos usados como fertilizantes e corretivos (fertilizantes, calcários, escórias, esterco, lodo de esgoto) podem contribuir para o aumento da concentração de metais pesados no solo e na água,

mas sua participação é bem menor, e o efeito poderá demorar décadas para se manifestar (MELO, MELO e MELO, 2004).

Baixas concentrações de zinco, ferro, cobre e manganês são essenciais para o metabolismo de animais e plantas, o Pb e o Cd, quando em altas concentrações interferem na ação enzimática principalmente de organismos aquáticos. Estudos revelam que os níveis de metais tóxicos, ou nutrientes, variam de acordo com a espécie, tamanho, sexo e habitat dos peixes que por absorverem os metais do ambiente se tornam indicadores de sua presença no local (CHAMPOLIN, 2016).

Apesar dos peixes serem um alimento muito nutritivo, ricos em Ômega 3, e fazerem parte da dieta humana, são uma das principais fontes de ingestão de metais para o homem. Por isso há necessidade de determinar a concentração desses metais em peixes e no seu habitat, para se ter um controle do risco que oferecem a saúde pública (LIMA et al, 2015).

2 OBJETIVOS

2.1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da água e o do peixe (Tilápia do Nilo) de Pesque e Pagues da cidade de Ponta Grossa- PR.

2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar análises microbiológicas e físico-químicas em amostras de água e peixes de pesque e pagues;
- Determinar a concentração de metais pesados (Cd, Cu, Pb e Zn, Mg), em amostras de peixes (Tilápia do Nilo) e água.
- Comparar os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas nas duas estações do ano.

- Comparar os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas com a legislação vigente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS E LOCAL DE COLETA

Neste estudo, foi avaliada a possível contaminação da água e do pescado, em duas amostragens de cada um dos cinco estabelecimentos pesquisados, coletadas no outono e na primavera, visando uma comparação do nível de contaminação, entre essas estações do ano. Foram realizadas análises microbiológicas para detecção de *Salmonella* sp, contagem de *Estafilococos* coagulase positiva e para os Coliformes termotolerantes, e físico-químicas como determinação de pH, e determinação de metais pesados (Pb, Cd, Cu, Zn, Fe e Mg) ambas de acordo com a legislação vigente.

Para a captura dos peixes foi utilizada uma tarrafa (tipo de rede para captura de peixes). Após a captura, os peixes foram mortos por destruição cerebral, em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos, esterilizados e colocadas em uma caixa isotérmica com gelo. Para a coleta da amostra de água, foi utilizado um frasco de cor âmbar esterilizado em autoclave a 121°C por 20 minutos, que foi imerso a 20 cm de profundidade na água.

Os estabelecimentos foram identificados com números de 1 a 5 de acordo com a sequência das coletas. Foram escolhidos devido a sua localização geográfica, sendo os pesque pagues 1, e 5 localizados em áreas rurais e o pesque pague 2, 3 e 4 em áreas urbanas, conforme coordenadas: 1(-24.984755, -50.378476), 2(-25.047848, -50.241753), 3(- 25.064539, - 50. 202468), 4(- 25.105881, - 50.228835) e 5(-25.151806, -50177781).

3.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram realizadas a contagem de coliformes termotolerantes (Coliformes 45°C), estafilococos coagulase positiva e detecção de *Salmonella sp*, conforme recomendado na legislação vigente (RDC 12/2001 – ANVISA).

Para as análises microbiológicas do peixe foram utilizados apenas o músculo sem a pele. No preparo das diluições, tendo realizado a filetagem do peixe em ambiente asséptico, foram retirados 25g do músculo que foi acondicionado em um saco plástico contendo 225mL de água salina peptonada a 0,1% (diluyente), e homogeneizado em Stomacher, para a diluição 10^{-1} . Desta diluição, foi retirado 1 mL e transferido para um tubo de ensaio com 9mL do mesmo diluyente, que depois de homogeneizado configurou a diluição 10^{-2} e assim sucessivamente até a diluição 10^{-4} (SILVA e JUNQUEIRA, 1995).

A contagem de coliformes ocorreu pelo método do plaqueamento direto, no meio de cultura Ágar Vermelho Violeta Bile (VRBA) pelo método de semeadura por Pour Plate com sobrecamada. A incubação ocorreu em estufa a 45°C por 48h (SILVA e JUNQUEIRA, 1995).

Para a contagem de Estafilococos coagulase positiva, foi utilizado o método de contagem direta em placas com semeadura em superfície no meio de cultura Ágar Baird Parcker (ABP) e espalhamento com auxílio da alça de Drigalski. A incubação foi realizada a 35°C por 48h (SILVA e JUNQUEIRA, 1995).

Para a detecção de *Salmonella sp*, o método utilizado foi o cultural clássico, com a Água Destilada Peptonada a 1% (ADPT) para o enriquecimento em caldo não seletivo, caldo Rappaport, para o enriquecimento seletivo, Ágar Salmonella Shigela (SS) e Ágar Verde Brilhante (BGA), para o plaqueamento seletivo-diferencial. O Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e o Ágar Lisina Ferro (LIA) foram utilizados para a confirmação bioquímica (SILVA e JUNQUEIRA, 1995).

Para a análise microbiológica de coliformes na água foi utilizado o método da fluorescência com flaconete do meio Colilert (Idexx), prontos para o uso em 100mL de amostra. A análise da água foi quantitativa, pois foram utilizadas cartelas que passaram em máquina seladora distribuindo a amostra em compartimentos de quantidades conhecidas. As cartelas foram incubadas a 37°C por 24h, e a leitura ocorreu por aparecimento fluorescência em câmara UV, revelando presença de coliformes termotolerantes (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

3.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para a determinação de metais pesados, as amostras sofreram os mesmos procedimentos de coleta, acondicionamento, transporte e filetagem da análise microbiológica. Foi realizada a determinação de Pb, Cd, Cu, Zn, Fe e Mg no peixe (músculo) e na água. Para a preparação da amostra foi pesado 0,5 mg de cada amostra diretamente em frascos de 14 mL, e adicionado 0,5mL de TMAH (hidróxido de tetrametilamônio), avolumadas para 14mL com água ultrapura e centrifugado por 5 minutos a 6000 rpm em centrífuga (EXCELSA BABY II 206-R, Fanem, Brasil).

Para os metais Pb, Cd, Cu, Zn, as análises foram realizadas em espectrômetro de absorção atômica em chama FAAS, AAnalyst 700 (PERKIN ELMER- SCIEX, Canadá) equipado com mostrador automática S10. As leituras foram realizadas em lâmpada de cátodo oco para os metais referidos. Os metais Fe e Mg foram determinados em espectrômetro AA-6200 (SHIMADZU) com corretor de fundo de lâmpada de Deutério.

A chama, a fenda espectral e o comprimento de onda utilizados para determinar os elementos citados estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros para determinação de metais em espectrômetro.

	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe	Mg
Comprimento da onda/nm	283,3	288,8	324,8	213,9	248,3	285,2
Chama ar-acetileno/L/min⁻¹	10:2	14:2	14:2	14:2	8:2,2	8:1,8
Fenda spectral nm	0,7	0,7	0,7	0,7	0,2	0,7

Fonte: Aatoria Própria

Foi determinado o pH de cada amostra de água. Para a medição do pH foi utilizado, medidor de pH digital, de bancada, faixa de medição de 0 a 14, com eletrodo, 110/220 volts (DIGITAL TEC – 2 MP – TECNAL).

E para a verificação da temperatura da água foi utilizado termômetro químico com escala de 0 a 300° C, com divisão de 1° C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas realizadas no músculo do peixe e na água, referentes a coleta de outono (primeira coleta), estão apresentados na Tabela 2. Foi possível observar que todas as amostras de peixe se encontram de acordo com os padrões legais vigentes, salientando que não existe padrão para contagem de coliformes 45°C. Para a água, uma das amostras não atende a legislação específica.

Tabela 2 - 1ª Coleta análises microbiológicas do peixe e água (outono)

Amostras/ Padrões	Coliformes 45°C (UFC/g)	Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	Salmonella sp (em 25g)	Coliformes 45°C na água (NMP/100mL)
01	2,5x10 ⁴	<10	Ausência	2,4x10
02	7x10	<10	Ausência	2,4x10 ³
03	4,7x10 ²	<10	Ausência	7,9x10
04	7x10	<10	Ausência	2,5x10 ²
05	<10	<10	Ausência	3,1x10
RDC 12/2001	-	10 ³	Ausência	-
Resolução nº 357/2005	-	-	-	10 ³

Fonte: Autoria Própria

Apesar da RDC 12/2001 (BRASIL, 2001), não fixar limite de coliformes termotolerantes no padrão de microbiologia para o pescado in natura, a presença desse micro-organismo indica as condições higiênico-sanitárias que foram tratadas as amostras. A mesma legislação estabelece para pescados secos, salgados refrigerados ou congelados e para derivados de pescado (surimi e similares) um valor limite de 10² UFC/g, que se for considerado para os peixes in natura evidenciam que 40% das amostras da primeira coleta e 60% da segunda coleta (Tabela 3) estavam fora destes padrões para coliformes termotolerantes. De acordo com Franco e Landgraf (1996), E. coli a principal representante deste grupo, configura-se na principal causa de doenças diarreicas via ingestão de água e alimentos contaminados, evidenciando perigo ao consumidor.

Os resultados das análises microbiológicas realizadas no músculo dos peixes e na água da coleta de primavera (segunda coleta), estão representados na

Tabela 3. Não houve diferenças entre os resultados de Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella sp* em relação a primeira coleta de amostras, pois para ambas as coletas, 100% das amostras estão de acordo com os padrões legais vigentes. Entretanto, nas amostras de água na primeira coleta 20% das amostras estavam acima do limite estabelecido e na segunda coleta, 100% das amostras apresentaram resultados de acordo com o estabelecido na legislação.

Tabela 3 – 2ª Coleta análises microbiológicas do peixe e água (primavera)

Amostras/ Padrões	Coliformes 45°C (UFC/g)	Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	Salmonella sp (em 25g)	Coliformes 45°C na água (NMP/100mL)
01	1,7x10 ²	<10	Ausência	<1
02	3,7x10 ²	<10	Ausência	4,6x10 ²
03	7x10	<10	Ausência	3,3x10
04	4x10	<10	Ausência	6,7x10
05	1,5x10 ²	<10	Ausência	5,9x10
RDC 12/2001	-----	10 ³	Ausência	-----
Resolução nº 357/2005	-----	-----	-----	10 ³

Fonte: Autoria Própria

Resultado semelhante ao encontrado no presente trabalho foi obtido por SIMÕES et al (2007) em filés de Tilápia tailandesa, e por CORTEZ et al (2010) que constataram ausência de *Salmonella sp* e estafilococos coagulase positiva em seu trabalho realizado em filés de pacu, jundiá e tilápia empanados.

Quanto as amostras de água analisadas neste trabalho, apenas a amostra 2 (primeira coleta – Tabela 2) ultrapassou o limite estabelecido pela Resolução nº 357/2005, para coliformes termotolerantes. Este fato pode ser explicado pela localização deste estabelecimento, pois o mesmo se situa em uma área residencial a qual não possui um sistema de saneamento básico, o que poderia justificar tal contaminação.

SIQUEIRA (2015), que constatou em seu trabalho contaminação por coliformes em água de pesque-pague na região de Jaboticabal SP, no período de chuva, explica que o motivo do aumento do NMP (número mais provável) de coliformes seja ocasionado pela enxurrada. Em um estudo semelhante realizado por LORENZON et al (2010), em pesque-pague da região nordeste de São Paulo, os

autores constataram que três dentre cinco pesque-pagues estudados apresentaram contaminação acima de 10^3 NMP/mL para coliformes termotolerantes, alegando tal fato à presença de animais domésticos nas redondezas do tanque e a água de abastecimento.

Percebe-se uma falta de correspondência entre os resultados da contagem de coliformes termotolerantes da água em que esses peixes foram coletados e do músculo dos mesmos. Nas amostras 1 e 3 (Tabela 2) bem como na 1, 3 e 4 (Tabela 3) a contaminação da água dos tanques dos pesque-pague estudados estava mais baixa que a do peixe, evidenciando que a qualidade microbiológica do peixe depende de outros fatores além da água em que ele é cultivado. Neste trabalho o processo de filetagem ocorreu sem a retirada do limbo presente na superfície do peixe, o que pode ter ocasionado a contaminação por coliformes termotolerantes no músculo.

Resultado semelhante foi encontrado por BARTOLOMEU et al (2011), que verificaram em seu estudo a presença de coliformes no filé de tilápia, e atribuíram tal contaminação a água de recepção e de lavagem dos peixes no pré-abate.

Nas amostras do músculo não houve diferença para os resultados microbiológicos no padrão da legislação, em relação à época da coleta outono e primavera, porém percebe-se que em relação aos coliformes presentes na água houve uma diferença, atribui-se que possa estar ligada ao nível pluviométrico do período, pois no mês de junho ocorreu uma precipitação de 50mm, enquanto que no mês de outubro a precipitação foi de 127 mm, segundo o serviço de meteorologia, com aumento do índice pluviométrico, há uma tendência que o volume de água dos tanques aumente de nível ocorrendo uma maior diluição dos micro-organismos presentes na água (CLIMATEMPO, 2016).

4.2 DETERMINAÇÃO DE METAIS

Para a determinação dos metais tanto nas amostras de água como de peixe, foram determinados os limites de detecção e quantificação da amostragem, apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Limites de detecção e quantificação dos metais analisados

	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe	Mg
Faixa de calibração mg/L	0,5 – 20	0,2 – 2	0,5 – 5	0,2 – 2	0,5 – 5	0,05 -5
Coeficiente (R)	0,9999	0,9995	0,9998	0,9999	0,9959	0,9975
Log (mg/g)	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	0,015	0,0010
Loq (mg/g)	0,003	0,0005	0,0005	0,0005	0,005	0,0050

Fonte: Autoria Própria. LOD limite de detecção, LOQ limite de quantificação.

De acordo com o LOD (limite de detecção), LOQ (limite de quantificação) determinados foi obtido os resultados para os níveis de metais encontrados nas amostras de peixes analisadas tanto na coleta de outono (Tabela 5) quanto na coleta de primavera (Tabela 6).

Tabela 5 – 1ª Coleta Quantificação de metais nas Amostras de Tilápia mg/g

Amostras	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe	Mg
01	<LOQ	<LOQ	0,0005 ±0,0001	0,004 ±0,0006	0,0350 ±0,007	0,1446 ±0,027
02	0,003 ±0,0006	<LOQ	<LOQ	0,003 ±0,0003	0,0127 ±0,002	0,5009 ±0,30
03	0,004 ±0,0004	<LOQ	<LOQ	0,004 ±0,0003	0,0274 ±0,005	1,0186 ±0,28
04	0,005 ±0,0007	<LOQ	<LOQ	0,003 ±0,0001	0,0106 ±0,004	0,8194 ±0,20
05	0,007 ±0,0008	<LOD	<LOQ	0,005 ±0,0007	0,0360 ±0,006	0,7576 ±0,21

Fonte: Autoria Própria. LOD limite de detecção, LOQ limite de quantificação.

Tabela 6 – 2ª Coleta Quantificação de metais na amostra de Tilápia mg/g

Amostras	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe	Mg
01	<LOD	<LOQ	0,0006 ±0,00009	0,0018 ±0,0001	<LOD	1,1241 ±0,012
02	<LOD	<LOQ	0,0005 ±0,0001	0,0018 ±0,0004	<LOD	0,5493 ±0,30
03	<LOD	0,0005 ±0,00001	0,0006 ±0,00005	0,0018 ±0,0003	<LOD	0,3897 ±0,28
04	<LOD	0,0006 ±0,00003	0,0006 ±0,00004	0,0026 ±0,001	<LOD	0,5703 ±0,20
05	<LOD	0,0007 ±0,00006	0,0006 ±0,00006	0,0018 ±0,0008	<LOQ	0,1236 ±0,21

Fonte: Autoria Própria. LOD limite de detecção, LOQ limite de quantificação.

Dentre os metais determinados neste trabalho, o chumbo e o cádmio são considerados como prejudiciais à saúde, segundo a ANVISA na RDC nº 42 de 29 de agosto de 2013 (BRASIL, 2013), onde o limite para esses elementos são de 0,0003 e 0,0001mg/g respectivamente. Os resultados obtidos estão abaixo desses valores, assim não apresentam risco ao consumidor (tabelas 5 e 6).

O cobre apresentou uma concentração abaixo do especificado pela ANVISA, de 0,003 mg/g, em todos os estabelecimentos, resultado esse que difere do encontrado por SOUZA et al (2009) em trabalho realizado em um peixeiro da cidade de Umuarama – PR, que foi de 0,004 mg/g, estando acima do limite da legislação de acordo com o mesmo trabalho, quando o cobre se encontra em meio alcalino, o mesmo precipita na forma de carbonato (forma não disponível). Como a água do lago estava levemente ácida (pH = 6,5) favoreceu a sua solvatação, tornando-o biodisponível para os peixes.

Os demais minerais determinados neste trabalho são considerados essenciais para o desempenho do metabolismo animal, porém existe uma recomendação diária de sua ingestão, que consta na RDC 269, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005a). Segundo a ANVISA, a recomendação de consumo diário para uma pessoa adulta, para o zinco está em 7 mg/dia, para o ferro é de 14mg/dia e para magnésio é de 260 mg/dia. A média dos valores encontradas nas amostras das duas coletas (Tabelas 5 e 6), foi de 0,0003 para o Zn, quantidade considerada baixa.

O ferro apresentou valores acima do limite de detecção somente para a primeira coleta (Tabela 5), este mineral auxilia no transporte do oxigênio para as células, a referência de consumo diário para esse mineral, é de 14 mg/dia (ANVISA), a média desse mineral para as 5 amostras da primeira coleta (Tabela 5), foi de 0,025 mg/g, indicando que a tilápia pode fornecer uma parte da recomendação diária deste mineral (BRASIL, 2005a).

O magnésio foi o mineral que se apresentou com maior nível de concentração tanto para a primeira coleta como para a segunda. O limite recomendado para a ingestão diária é de 260 mg/dia (ANVISA), em se tratando de uma pessoa adulta. A média de concentração das duas coletas (Tabela 5 e 6), o valor encontrado foi de 0,6 mg/g, significando que o consumo de 100g de tilápia por dia seria 23% do recomendável (BRASIL, 2005a).

Não houve variação significativa entre as concentrações dos metais analisados de acordo com a estação no ano (outono/primavera), exceto para o ferro que não apresentou concentração na segunda coleta (outono), o que sugere que a causa de tal ocorrência seja a alimentação de origem das tilápias, que poderiam ter um menor teor de ferro da fornecida aos espécimes da primeira coleta.

Além das análises de concentração de metais na tilápia, também foram determinados a temperatura e o pH, da água dos tanques dos pesque-pagues, a temperatura variou entre os 14 e 20,5°C e o pH entre 6 e 7. Segundo Gelson Hein, médico veterinário da EMATER, a temperatura e o pH são fatores que influenciam muito no desenvolvimento da tilápia, temperaturas na faixa de 8 a 14°C podem causar a mortandade das tilápias no tanque, motivo pelo qual os proprietários escolhem o período de inverno para realizar a manutenção dos pesque-pagues. O pH ideal deve ser entre 6,5 a 9,5, e a maioria dos estabelecimentos estudados se encontravam próximos a esses padrões (EMATER, 2006).

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, os pesque-pagues estudados estão oferecendo peixes dentro das normas exigidas pela legislação em relação às análises microbiológicas. As diferentes estações do ano pesquisadas por meio das duas coletas, não evidenciaram influencia na qualidade dos peixes. A contaminação encontrada para coliformes termotolerantes, demonstra que pode ter ocorrido falta de higienização adequada dos peixes analisados, durante a filetagem.

Não foi constatada a presença de metais pesados com relevância nem para as amostras dos peixes, nem para as amostras de água, estando todas dentro dos padrões estabelecidos pela legislação.

Quanto à água destes estabelecimentos foi constatado que 80% apresentou resultado preconizado pela legislação, o que comprova que a maioria dos pesque-pagues ao exercerem suas atividades, não oferece risco à saúde dos frequentadores de seus estabelecimentos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, A. C. F.; MATOS, L.S.; GARRIDO, G.; ANDRADE, R.L.T.; CARVALHO, L.N. **Concentração de metais pesados no peixe matrinxã (*Brycon falcatus*) no rio Teles Pires, Mato Grosso**, UEOP (Universidade Estadual Oeste do Paraná). Foz do Iguaçu, 2013 – Pr. Disponível em: <[https://www.academia.edu/4913599/Concentra%C3%A7%C3%A3o de metais pesados no peixe matrinch%C3%A3 Brycon falcatus norio Teles Pires Mato Grosso](https://www.academia.edu/4913599/Concentra%C3%A7%C3%A3o_de_metais_pesados_no_peixe_matrinch%C3%A3_Brycon_falcatus_norio_Teles_Pires_Mato_Grosso)>. Acesso 10 mar. 2016.

BARTOLOMEU, D. A.F.S.; DALLABONA, R. B.; MACEDO, F.E.R.; KIRSCHNIK, G.P. CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DURANTE AS ETAPAS DE PROCESSAMENTO DE FILÉ DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*). **Archives of Veterinary Science**, [S.l.], v. 16, n. 1, ago. 2011. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/22788/14965>>. Acesso em: 27 nov. 2016.

BRASIL 2001. **RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>. Acesso em: 04 dez. 2016

BRASIL 2005a. **RDC nº. 269, de 22 de setembro de 2005**. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3>. Acesso em: 30 nov. 2016.

BRASIL 2005b. **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2016.

BRASIL 2010. Ministério do Turismo. **Turismo de pesca: Orientações Básicas**. 2010. Disponível em: <[http://www.turismo.gov.br/sites/default/turismo/o_ministerio/publicacoes/downloads_publicacoes/Turismo de Pesca Versxo Final IMPRESSxO .pdf](http://www.turismo.gov.br/sites/default/turismo/o_ministerio/publicacoes/downloads_publicacoes/Turismo_de_Pesca_Versxo_Final_IMPRESSxO_.pdf)>. Acesso em: 22 nov. 2016.

BRASIL 2013. **RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013.** "Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos". Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/393845/RDC%2Bn%25C2%25BA%2B42_2013_final.pdf/eec629cf-8d17-422b-a362-366b275c1a00>. Acesso em: 27 nov. 2016.

CHAMPOLIM B. M. **Determinação das Concentrações de Elementos Traços Metálicos: Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb E Zn em Mexilhões (Perna Perna) coletados na Ilha De Urubuqueçaba – Baía de Santos – São Paulo – Brasil.** 2016. 31 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA. São Paulo, 2016.

CLIMATEMPO. Serviço de meteorologia. **Climatologia.** 2016. Disponível em: <<http://www.climatempo.com.br/climatologia/279/pontagrossa-pr>>. Acesso em: 02 dez. 2016.

CORTEZ, J.P.N.; BOSCOLO, R.W.; FEIDEN, A.; MALUF, M.L.F.; FREITAS, J.M.A.; SIMÕES, M.R. Formulação, análises microbiológicas, composição centesimal e aceitabilidade de empanados de jundiá (*Rhamdia quelen*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [S.l.], v. 69, n. 2, p. 181-187, fev. 2010. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/view/6359>>. Acesso em: 27 nov. 2016.

EMATER, 2006. Empresa de assistência técnica e extensão rural do governo do Paraná. **Verificação da sobrevivência de tilápias (*O. niloticus*) de tamanhos diferentes no município de Toledo – PR** e sua importância prática na organização da produção. 2016. Disponível em: <http://www.emater.pr.gov.br/arquivos/File/Biblioteca_Virtual/Premio_Extensao_Rural/2_Premio_ER/28_Verif_Sobrev_Tilapias_.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2016.

EMBRAPA 2008, (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) **Meio Ambiente Pesque e Pague.** 2008. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/index.php3?sec=apoia:::64>>. Acesso em 21 nov. 2016.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996.

LIMA, D. P.; SANTOS C.; SILVA R. S.; YOSHIIOKA, E.T.O.; BEZERRA, R. M. **Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil.** ACTA Amazônica, VOL. 45(4) 2015: 405 –

414. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/aa/v45n4/1809-4392-aa-45-04-00405.pdf> >. Acesso em março de 2016.

LORENZON, C.S.; GATTI JUNIOR, A.P.; NUNES, F.R.; PINTO, C.; SCHOLTEN, S.N.; HONDA, L.A. do AMARAL. Perfil Microbiológico de Peixes e Água de Cultivo em Pesque-Pague Situados na Região Nordeste do Estado de São Paulo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.4. 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_4/lorenzonzon.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2016.

MELO G.M.P; MELO V. P.; MELO W. J. Metais Pesados no Ambiente Decorrente da Aplicação de Lodo de Esgoto em Solo Agrícola: 2004. **03ª Gt Uso Agrícola de Lodo de Esgoto**. 2004. Brasília – DF Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/reunalt.cfm?cod_reuniao=490>. Acesso em: 28 nov. 2016.

PARANA. Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Turismo e Recreação**. Disponível em: <<http://www.meioambiente.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=84>> Acesso em: 24 nov. 2016

SANTOS, S. de O.; SILVA, C. A. determinação dos metais ferro e zinco em peixes marinhos comercializados em Aracaju - SE, Salvador - BA e Maceió - AL. **seminário de iniciação científica e pós-graduação da EMBRAPA tabuleiros costeiros, 5**. 2015. Disponível em: <www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1027180/determinacao-dos-metais-ferro-e-zinco-em-peixes-marinhos-comercializados-em-aracaju-se-salvador-ba-e-maceio-al>. Acesso em 30 nov. 2016.

SILVA, N. da, JUNQUEIRA, V. C. A., **Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, manual técnico nº 14, Campinas, ITAL, 1995.

SIMOES, M.R.; RIBEIRO, C.F.A.; RIBEIRO, S.C.A.; PARK, K.J.; MURR, F.E.X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de Tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). **Ciênc. Tecnol. Alimento**. Campinas, v. 27, n. 3, p. 608-613, set. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000300028&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 27 nov. 2016.

SIQUEIRA, André Buzutti de. **Qualidade da água e do pescado (tilápia-do-Nilo - *Oreochromis niloticus*) oriundos de pesque-pagues situados no estado de São Paulo**. 2015. 86 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 2015.

SOUZA, G.R.; GARCEZ, M.A.P.; SANTOS, V.C.G.; SILVA, B.D.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, C.D. Quantificação de metais pesados em peixes de um pesqueiro localizado na cidade de Umuarama – PR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, [S.l.], v. 12, n. 1, p.61-66, jan. 2009. Disponível em: <<http://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/2935> >. Acesso em: 29 nov. 2016.

VIEIRA, R.H.S.F **Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado**. Teoria e pratica, São Paulo, Varela, 2004.