

# A Produção do Conhecimento nas **Ciências** da **Saúde**

**Benedito Rodrigues da Silva Neto**  
(Organizador)



**Atena**  
Editora

Ano 2019

**Benedito Rodrigues da Silva Neto**

(Organizador)

# **A Produção do Conhecimento nas Ciências da Saúde**

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Lorena Prestes e Geraldo Alves

**Revisão:** Os autores

### **Conselho Editorial**

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

P964 A produção do conhecimento nas ciências da saúde [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (A Produção do Conhecimento nas Ciências da Saúde; v. 1)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-298-2

DOI 10.22533/at.ed.982193004

1. Abordagem interdisciplinar do conhecimento. 2. Saúde – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. II. Série.

CDD 610.7

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

Com grande entusiasmo apresentamos o primeiro volume da coleção “A Produção do Conhecimento nas Ciências da Saúde”. Um trabalho relevante e sólido na área da saúde composto por atividades de pesquisa desenvolvidas em diversas regiões do Brasil.

Tendo em vista a importância dos estudos à nível microbiológico, para o avanço do conhecimento nas ciências da saúde, reunimos neste volume informações inéditas apresentadas sob forma de trabalhos científicos que transitam na interface da importância da microbiologia à nível clínico, patológico, social, ergonômico e epidemiológico.

Com enfoque direcionado às análises, avaliações, caracterização e determinantes ambientais, parasitológicos e econômicos, a obra apresenta dados substanciais de informações que ampliarão o conhecimento do leitor e que contribuirão com a formação e possíveis avanços nos estudos correlacionados às temáticas abordadas.

O interesse cada vez maior em conhecer e investigar no ambiente novos focos parasitários tem como base transformações provocadas por mudanças econômicas ou sociais, urbanização crescente, tratamentos e descartes inadequados de antibióticos, que propiciam aparecimento de novos focos. Assim, dados obtidos em diferentes locais sobre diferentes condições ambientais ou de desenvolvimento microbiano/ parasitário são relevantes para atualização do conhecimento sobre mecanismos de ação do agente patológico assim como diagnóstico e tratamento eficaz.

Uma vez que a interdisciplinaridade tem sido palavra chave nas ciências da saúde observaremos aqui um fio condutor entre cada capítulo que ampliará nossos horizontes e fomentará propostas de novos trabalhos científicos.

Assim, o conteúdo de todos os volumes é significativo não apenas pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, mas também pela capacidade de professores, acadêmicos, pesquisadores, cientistas e da Atena Editora em produzir conhecimento em saúde nas condições ainda inconstantes do contexto brasileiro. Desejamos que este contexto possa ser transformado a cada dia, e o trabalho aqui presente pode ser um agente transformador por gerar conhecimento em uma área fundamental do desenvolvimento como a saúde.

Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
AVALIAÇÃO QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DE JAMBU ( <i>Spilanthes oleracea</i> L.) MINIMAMENTE PROCESSADO	
Laiane Cristina Freire Miranda Fernanda Rafaela Santos Sousa Alessandra Eluan da Silva Bielly Yohanne Pereira Costa Ana Carla Alves Pelais	
<b>DOI 10.22533/at.ed.9821930041</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
PRESENÇA DE MICROFILÁRIAS DO GÊNERO LITOMOSOIDES ( <i>Nematoda: onchocercidae</i> ) EM MORCEGOS ( <i>Chiroptera: phyllostomidae</i> )	
Juliane da Silva Nantes Maria Clara Bomfim Brigatto Edvaldo dos Santos Sales Érica Verneque Martinez Marcelo Bastos de Rezende Jania Rezende Felipe Bisaggio Pereira Daniele Bier Carina Elisei De Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.9821930042</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>18</b>
A CONTRIBUIÇÃO DA EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA AGRICULTURA URBANA E PERIURBANA NO BRASIL	
Ernane Raimundo Maurity	
<b>DOI 10.22533/at.ed.9821930043</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>29</b>
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE POLPAS DE AÇAÍ VENDIDAS POR AMBULANTES NA CIDADE DE CUIABÁ – MT	
Ana Paula de Oliveira Pinheiro Eliane Ramos de Jesus James Moraes de Moura	
<b>DOI 10.22533/at.ed.9821930044</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>38</b>
ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE DRAGEADOS DE SOJA [ <i>Glycine max</i> (L.)] COM COBERTURA CROCANTE, SALGADA E SEM GLÚTEN	
Lúcia Felicidade Dias Isabel Craveiro Moreira Andrei Thais Garcia Bortotti Sumaya Hellu El Kadri Nakayama Deivid Padilha Schena	
<b>DOI 10.22533/at.ed.98219300445</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 47**

**AS LEISHMANIOSES NOS MUNICÍPIOS QUE COMPÕEM A SUPERINTENDÊNCIA REGIONAL DE SAÚDE DE DIAMANTINA – MG**

Ana Flávia Barroso  
Maria da Penha Rodrigues Firmes  
Daisy de Rezende Figueiredo Fernandes  
Carolina Di Pietro Carvalho

**DOI 10.22533/at.ed.98219300446**

**CAPÍTULO 7 ..... 62**

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS OBTIDOS DAS FRUTAS *Theobroma grandiflorum* E *Mauritia flexuosa***

George Barros Chaves  
Gabrielle Damasceno Evangelista Costa  
Maria Clara Caldas Costa  
Yasmim Costa Mendes  
Gabrielle Pereira Mesquita  
Lívia Muritiba Pereira de Lima Coimbra  
Luís Cláudio Nascimento da Silva  
Adrielle Zagnignan

**DOI 10.22533/at.ed.98219300447**

**CAPÍTULO 8 ..... 75**

**AVALIAÇÃO DE DISTÚRBIOS PULMONARES E MUDANÇA NAS ATIDADES DIÁRIAS EM TRABALHADORES CANAVIEIROS EM RUBIATABA-GO**

Menandes Alves de Souza Neto  
Jéssyca Rejane Ribeiro Vieira  
Juliana Aparecida Correia Bento  
Suellen Marçal Nogueira  
Luiz Artur Mendes Bataus  
Luciano Ribeiro Silva

**DOI 10.22533/at.ed.98219300448**

**CAPÍTULO 9 ..... 86**

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE COMPÓSITOS OBTIDOS A PARTIR DE PEEK/CaCO<sub>3</sub>**

Mayelli Dantas de Sá  
José William de Lima Souza  
Michele Dayane Rodrigues Leite  
José Filipe Bacalhau Rodrigues  
Hermano de Vasconcelos Pina  
Marcus Vinicius Lia Fook

**DOI 10.22533/at.ed.98219300449**

**CAPÍTULO 10 ..... 98**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE PRODUTO TIPO CAVIAR DEFUMADO PROVENIENTE DA TRUTA ARCO-ÍRIS (*Onchorynchus mykiss*)**

André Luiz Medeiros de Souza  
Flávia Aline Andrade Calixto  
Frederico Rose Lucho  
Marcos Aronovich  
Eliana de Fátima Marques de Mesquita

**DOI 10.22533/at.ed.982193004410**

<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>103</b>
AVALIAÇÃO DO TESTE RÁPIDO PARA DETECÇÃO DO VÍRUS HIV EM APARECIDA DE GOIÂNIA – GO	
Mariley Gomes da Silva Lucas Alexander Itria	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004411</b>	
<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>117</b>
AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS HIGIÊNICO-SANITÁRIOS DA COMERCIALIZAÇÃO DE PESCADO “IN NATURA” NO MERCADO DE PEIXES DO VER-O-PESO NO MUNICÍPIO DE BELÉM, PARÁ	
Sheylle Marinna Martins Garcia Nathalia Rodrigues Cardoso Malena Marília Martins Gatinho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004412</b>	
<b>CAPÍTULO 13</b> .....	<b>126</b>
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE <i>NUGGETS</i> DE FRANGO ENRIQUECIDO COM B-GLUCANA	
Evellin Balbinot-Alfaro Karen Franzon Kari Cristina Pivatto Alexandre da Trindade Alfaro Cristiane Canan	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004413</b>	
<b>CAPÍTULO 14</b> .....	<b>136</b>
DETERMINING CONTAMINANTS IN MINCED MEAT FROM BUTCHERIES IN CUIABÁ AND VÁRZEA GRANDE – MT	
Luan Stewart de Paula Jales de Oliveira James Moraes de Moura Alan Tocantins Fernandes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004414</b>	
<b>CAPÍTULO 15</b> .....	<b>144</b>
EPIDEMIOLOGIA DO HPV (PAPILOMAVÍRUS HUMANO) EM ADOLESCENTES, NA CIDADE DE ARAÇATUBA-SP	
Mayara Pepece Brassioli Gislene Marcelino Rossana Abud Cabrera-Rosa Juliane C.T. Sanches Natalia Félix Negreiros	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004415</b>	
<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>153</b>
INFECÇÃO SIMULTÂNEA POR MORBILIVÍRUS CANINO E ADENOVÍRUS EM UM MÃO-PELADA ( <i>Procyon cancrivorus</i> )	
Mariana de Mello Zanim Michelazzo Nayara Emily Viana Zalmir Silvino Cubas Selwyn Arlington Headley	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004416</b>	

<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>156</b>
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA: EPIDEMIOLOGIA DA FORMA MUCOSA NO ESTADO DO TOCANTINS NO PERÍODO DE 2011 A 2015	
Bruna Silva Resende	
Ana Livia Fonseca Ferreira	
Fernanda da Silva Ferreira	
Joandson dos Santos Souza	
Deyse Sabrinne de Souza Lopes	
Carina Scolari Gosch	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004417</b>	
<b>CAPÍTULO 18</b> .....	<b>173</b>
MICROBIOLOGICAL AND HUMIDITY ASSESSMENT OF BEANS GRAINS MARKETED IN THE MARKET OF PORTO, CUIABÁ - MT	
Gabriela Campos Caxeiro	
James Moraes de Moura	
Daniela Fernanda Lima de Carvalho Cavenaghi	
Alan Tocantins Fernandes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004418</b>	
<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>183</b>
OPTIMIZATION OF HYDROALCOHOLIC EXTRACTION OF CRUDE GUARANA SEEDS: PHENOLIC CONSTITUENTS, METHYLYXANTHINES AND ANTIOXIDANT CAPACITY	
Ádina Lima de Santana	
Gabriela Alves Macedo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004419</b>	
<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>197</b>
PERFIL DE SENSIBILIDADE DE STAPHYLOCOCCUS SPP. ENTEROCOCCUS SPP. E ESCHERICHIA COLI ISOLADOS DE MUÇARELA A ANTIBIÓTICOS DE USO FARMACÊUTICO	
Juliana dos Santos Loria de Melo	
Carolina Riscado Pombo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004420</b>	
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>205</b>
PERFIL DE SENSIBILIDADE DE <i>Staphylococcus</i> SPP. <i>Enterococcus</i> SPP. E ESCHERICHIA COLI ISOLADOS DE SALSICHA A ANTIBIÓTICOS DE USO FARMACÊUTICO	
Juliana dos Santos Loria de Melo	
Carolina Riscado Pombo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004421</b>	
<b>CAPÍTULO 22</b> .....	<b>213</b>
POTENCIAL PRODUÇÃO DE BIOMATERIAL PELA CIANOBACTÉRIA AMAZÔNICA <i>Tolypothrix</i> SP. CACIAM 22	
Diana Gomes Gradíssimo	
Murilo Moraes Mourão	
Samuel Cavalcante do Amaral	
Alex Ranieri Jerônimo Lima	
Evonnildo Costa Gonçalves	
Luciana Pereira Xavier	
Agenor Valadares Santos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004422</b>	



<b>CAPÍTULO 23</b> .....	<b>225</b>
PRODUÇÃO DE LIPASE POR <i>Yarrowia lipolytica</i> PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Jully Lacerda Fraga</li> <li>Adejanildo da Silva Pereira</li> <li>Fabiane Ferreira dos Santos</li> <li>Kelly Alencar Silva</li> <li>Priscilla Filomena Fonseca Amaral</li> </ul>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004423</b>	
<b>CAPÍTULO 24</b> .....	<b>230</b>
QUALIDADE DA FARINHA DE MANDIOCA ( <i>Manihot esculenta Crantz</i> ) EM COMUNIDADE TRADICIONAL DO MUNICÍPIO DE MACAPÁ-AP	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Lia Carla de Souza Rodrigues</li> <li>Roberto Quaresma Santana</li> <li>Jorge Emílio Henriques Gomes</li> <li>Marília de Almeida Cavalcante</li> </ul>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004424</b>	
<b>CAPÍTULO 25</b> .....	<b>236</b>
QUANTIFICAÇÃO DE TMA EM CARANHAS DESCONGELADAS E RECONGELADAS POR RMN DE <sup>1</sup> H	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Vinícius Silva Pinto</li> </ul>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004425</b>	
<b>CAPÍTULO 26</b> .....	<b>248</b>
RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS A PARTIR DE FRUTAS E HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS EM CAPANEMA, PARÁ	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Suania Maria do Nascimento Sousa</li> <li>Cintya de Oliveira Souza</li> <li>Fagner Freires de Sousa</li> <li>Patrícia Suelene Silva Costa Gobira</li> <li>Hellen Kempfer Philippsen</li> </ul>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004426</b>	
<b>CAPÍTULO 27</b> .....	<b>259</b>
USO DE FERMENTAÇÃO POR LACTOBACILOS PARA AUMENTO DAS CARACTERÍSTICAS ANTIOXIDANTES DE <i>Theobroma grandiflorum</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Amanda Caroline de Souza Sales</li> <li>Brenda Ferreira de Oliveira</li> <li>Hermerson Sousa Maia</li> <li>Warlison Felipe de Silva Saminez</li> <li>Tiago Fonseca Silva</li> <li>Rita de Cássia Mendonça de Miranda</li> <li>Adrielle Zagnignan</li> <li>Luís Cláudio Nascimento da Silva</li> </ul>	
<b>DOI 10.22533/at.ed.982193004427</b>	
<b>CAPÍTULO 28</b> .....	<b>276</b>
VIGILÂNCIA DE EPIZOOTIAS EM PRIMATAS NÃO HUMANOS (PNH) ENTRE 2015	

A 2017 NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL

Danielle Domingos da Silva

Durval Moraes da Silva

Cintia de Sousa Higashi

Fabiola de Souza Medeiros

**DOI 10.22533/at.ed.982193004428**

**SOBRE O ORGANIZADOR..... 284**

## QUANTIFICAÇÃO DE TMA EM CARANHAS DESCONGELADAS E RECONGELADAS POR RMN DE $^1\text{H}$

**Vinicius Silva Pinto**

Universidade Federal de Goiás, Instituto de  
Química  
Goiânia-Goiás

**RESUMO:** Os peixes são importantes fontes de ácidos graxos insaturados, aminoácidos essenciais e vitaminas. Porém, são altamente susceptíveis a deterioração e a proliferação de microrganismos, resultando numa vida útil reduzida. Para retardar a extensão dessas reações, é indicado o uso do frio em todas as etapas do processamento. Uma vez interrompido, reações indesejadas são favorecidas, que podem comprometer o consumo. Embora importantes, nem sempre é possível ao consumidor identificar peixes impróprios ao consumo devido ao recongelamento. Nesse contexto, foi avaliada a influência de sucessivos recongelamentos em caranhas por meio da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  (RMN de  $^1\text{H}$ ). Os recongelamentos ocorreram em ciclos executados em intervalos de 1, 4, 7, 11, 15, 19 e 24 dias. A cada ciclo, foram realizadas extrações em fase aquosa seguidas de experimentos de RMN de  $^1\text{H}$ . Após a caracterização do perfil metabólico, foi identificado que o sinal em 2,90 ppm, referente a trimetilamina (TMA), apresentou aumento de intensidade devido aos recongelamentos. A

variação na concentração entre o primeiro e o último ciclo foi de  $0,09 \pm 0,005$  mmolar para  $0,63 \pm 0,005$  mmolar, respectivamente. Os resultados indicaram que durante os descongelamentos/recongelamentos houve aumento da atividade microbiana, visto que a TMA, metabólito responsável pelo odor do peixe estragado, é formada pela redução enzimática exógena do óxido de trimetilamina (OTMA). Isso reforça a importância da estabilidade da cadeia do frio do peixe.

**PALAVRAS-CHAVE:** RMN de  $^1\text{H}$ ; perfil metabólico; cadeia do frio do pescado.

**ABSTRACT:** Fish are important sources of unsaturated fatty acids, essential amino acids and vitamins. However, they are highly susceptible to deterioration and proliferation of microorganisms, resulting in a reduced shelf life. To delay the extension of these reactions, the use of cold is indicated at all stages of processing. Once interrupted, unwanted reactions are favored, which can compromise consumption. Although important, it is not always possible for the consumer to identify fish unfit for consumption by refreezing. In this context, the influence of successive freeze-ups on caranhas was evaluated by means of  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR). The refreezes occurred in cycles performed at 1, 4, 7, 11, 15, 19 and 24 day

intervals. At each cycle, extractions were performed in aqueous phase followed by  $^1\text{H}$  NMR experiments. After characterization of the metabolic profile, the signal at 2.90 ppm, referring to trimethylamine (TMA), showed an increase in intensity due to re-freezing. The variation in concentration between the first and the last cycle was from  $0.09 \pm 0.005$  mmolar to  $0.63 \pm 0.005$  mmolar, respectively. The results indicated that during the thawing / re-freezing period there was an increase in the microbial activity, since the TMA, the metabolite responsible for the odor of spoiled fish, is formed by the exogenous enzymatic reduction of trimethylamine oxide (OTMA). This reinforces the importance of the stability of the cold chain of the fish.

**KEYWORDS:**  $^1\text{H}$  NMR; metabolic profile; fish cold chain

## 1 | INTRODUÇÃO

O termo pescado caracteriza todos os animais aquáticos destinados à alimentação humana. Dentre os principais produtos oriundos da pesca, destacam-se os peixes, que podem ser obtidos pelo consumidor na forma fresca (*in natura*), caracterizada pelo animal recém-capturado, submetido ou não a refrigeração e no estado cru; e/ou na forma industrializada, que compreende o produto submetido a processos elaborados de manuseio e preservação, como o processamento em postas, salga ou adição de conservantes (OETTERER, D'ARCE, SPOTO, 2006; DIPOA, 2018; FAO, 2018).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica a carne do peixe como fonte proteica de alta qualidade e recomenda o consumo mínimo de 20 kg per capita/ano (OMS, 2018). Segundo levantamento realizado no ano de 2017, o brasileiro apresentou consumo médio de aproximadamente 14 kg per capita/ano, abaixo do recomendado pela OMS, porém acima da recomendação da *Food And Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) de 12 kg per capita/ano (DIPOA, 2018; FAO, 2018).

A crescente demanda no consumo do peixe está ligada ao seu alto valor nutricional, sendo esse decorrente da presença de lipídios com ácidos graxos poliinsaturados, osmorreguladores, vitaminas, aminoácidos essenciais e não essenciais, baixas concentrações de colesterol de baixa densidade além de um tecido de fácil digestibilidade (GHALY *et al.*, 2010; KHAN, ALDOSARI, HUSSAIN, 2018).

A disponibilidade desses componentes é máxima na forma fresca. Porém, devido à grande disponibilidade de nutrientes, pH próximo a neutralidade e a alta umidade (65-85%), os peixes são susceptíveis a proliferação de microrganismos e de reações que levam a sua deterioração, conferindo uma baixa vida útil (VIDAL, 2012; SHUMILINA *et al.*, 2015).

Para aumentar a vida útil do pescado, procedimentos de armazenamento a frio são recomendados até o momento do preparo do alimento. O uso do frio em habitações (frio doméstico), no comércio (frio comercial), na Indústria (frio industrial) e nos transportes, caracteriza a cadeia do frio do pescado. Quanto mais baixa for a temperatura de conservação, menor é a possibilidade de desenvolvimento de microrganismos que

levam à deterioração do produto. O aumento da temperatura de forma acidental ou intencional, pode diminuir o tempo total de conservação inicialmente previsto. Assim, a manutenção da cadeia do frio do pescado apresenta relação direta com a qualidade adquirido pelo consumidor (FAO AND WHO, 2012; TOLSTOREBROV, 2016).

Determinadas classes de substâncias podem ser utilizadas para identificar a ocorrência de práticas inadequadas (ex: quebra da cadeia do frio) no armazenamento do pescado. Um exemplo são as metilaminas, substâncias formadas principalmente pela atividade bacteriana na carne do peixe (CASTEJON, 2016). Durante a deterioração bacteriana do peixe, o óxido de trimetilamina (OTMA), substância que atua como osmorregulador proteico, é reduzido a trimetilamina (TMA), substância que caracteriza o cheiro do peixe estragado e indica que o alimento é impróprio ao consumo. A TMA por sua vez, pode ser reduzida por ação enzimática, ocorrendo a formação de dimetilamina (DMA) e formaldeído. Logo, a detecção de metilaminas apresenta grande relevância nutricional e sanitário (HUSS, 1995; CASTEJON, 2016).

As análises sensoriais e de determinação de bases voláteis totais (N-BVT) são as principais metodologias usadas para identificar as metilaminas (MAPA, 2018). Porém, à natureza subjetiva da análise sensorial e o emprego de substâncias químicas nocivas (ex: ácido bórico p.a.; ácido clorídrico 37% etc.) no método N-BVT, conferem limitações as técnicas (SHUMILINA et al., 2015; DIPOA, 2018). Nesse contexto, a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), amplamente usada na elucidação estrutural, encontra grande utilidade como ferramenta analítica para a detecção de metilaminas em pescado. Sua natureza não seletiva e sua grande reprodutibilidade, permite a obtenção de espectros que apresentam verdadeiros *fingerprints* metabólicos, sem a necessidade de protocolos rebuscados de separação, em curto período de tempo e com uso de quantidades reduzidas de solventes. Assegurando determinados parâmetros (ex: tempo de relaxação transversal, pulsos calibrados, relação sinal/ruído etc.), a análise por RMN, permite ainda, a obtenção de resultados quantitativos e qualitativos de forma concomitante (TERESA, 2016).

As análises quantitativas por RMN (RMNq) em matrizes complexas como alimentos ou fluídos biológicos, apresentam um desafio no que tange a escolha de um padrão interno para a quantificação. Essa substância deve atender a requisitos como pureza, inércia química, baixa volatilidade e uma solubilidade similar ao analito. Sua estrutura química também deve ser considerada a fim de evitar a sobreposição aos sinais de RMN do analito. Como proposta alternativa para a RMNq, Siege Akoka *et al.* desenvolveram uma série de algoritmos que dispensam o uso de padrões internos inseridos diretamente no tubo de análise. O protocolo denominado *Electronic Reference to access In-vivo Concentration* (ERETIC), permite a inserção de sinais de RMN sintéticos em qualquer região espectro que contém o analito, tornando possível, a quantificação em matrizes complexas sem o risco de interação padrão-analito. O ERETIC depende apenas de uma etapa de calibração com o uso de uma amostra de pureza e concentração conhecidas (BHARTI E ROY, 2012; AKOKA *et al.*, 1999).

O presente trabalho descreve o uso da RMNq como ferramenta analítica usada para a detecção de TMA em amostras de caranhas submetidas a ciclos de descongelamentos e recongelamentos, simulando a quebra da cadeia do frio. Para efeitos de comparação, foram quantificados os teores de TMA em amostras de caranhas apenas armazenadas e não recongeladas após o experimento. Os resultados indicaram forte intensificação na produção de TMA nas amostras que foram progressivamente descongeladas e recongeladas.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Coleta e Preparo Das Amostras

Vinte e quatro amostras de caranha (*Piaractus brachipomus*) oriundas do mesmo tanque de confinamento foram adquiridas na cidade de Goiânia (Goiás). Logo após o abate, os peixes limpos e eviscerados foram levados em caixas resfriadas até o laboratório de RMN do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, onde foram armazenadas a temperatura de aproximadamente  $-20^{\circ}\text{C}$  até o instante de cada análise. As amostras foram divididas em dois grupos:

- 21 amostras **controles**, sendo 3 peixes para cada instante ( $T_{0-6}$ ) de análise. Foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do experimento e não recongeladas;
- 3 amostras **tratamento**, descongeladas em cada instante ( $T_{0-6}$ ) de análise e após o experimento, recongeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A figura 1 apresenta o fluxograma de instantes de descongelamento, análise e recongelamentos.

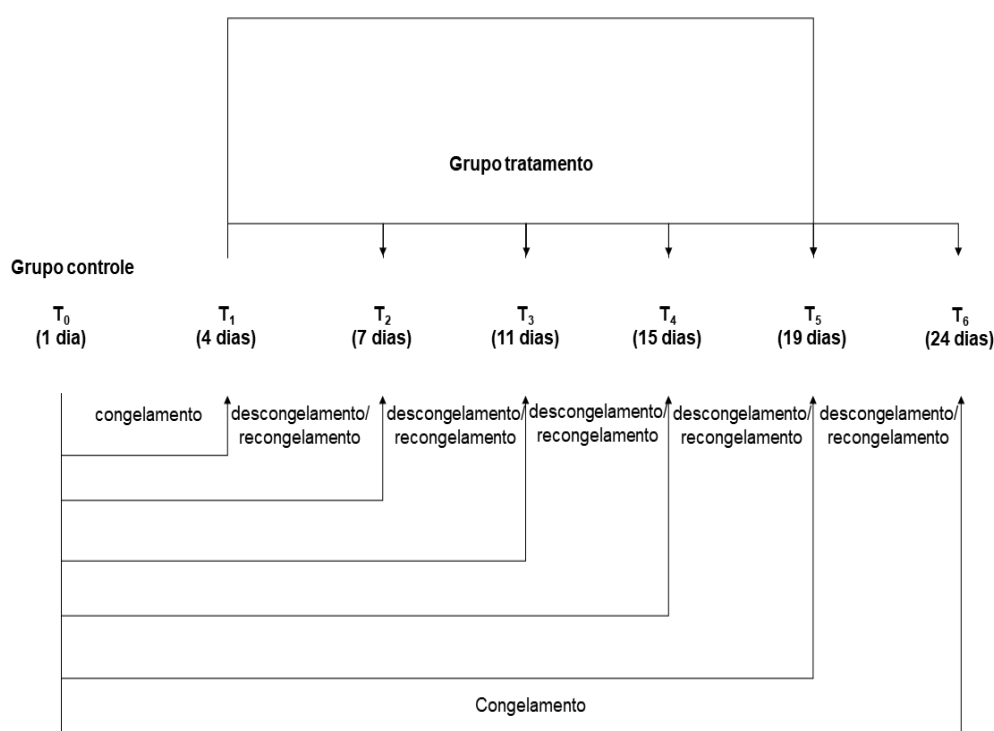


Figura 1. Protocolo experimental de armazenamento e ciclos de descongelamentos e

recongelamentos.

## 2.2 Extração dos Metabólitos Polares

Alíquotas da carne interna da caranha, removidas das áreas próximas a cauda, dorso e cabeça, com massa total de 2,0g foram transferidas para um moinho analítico para a trituração. 100,0mg do triturado foram submetidos a extração com 1000,0  $\mu\text{L}$  de  $\text{D}_2\text{O}$  (óxido de deutério) em banho ultrassônico por 30 minutos e centrifugação por 30 minutos. O homogeneizado foi filtrado e transferidos 600,0 $\mu\text{L}$  do extrato para tubo de análise de RMN (figura 2).

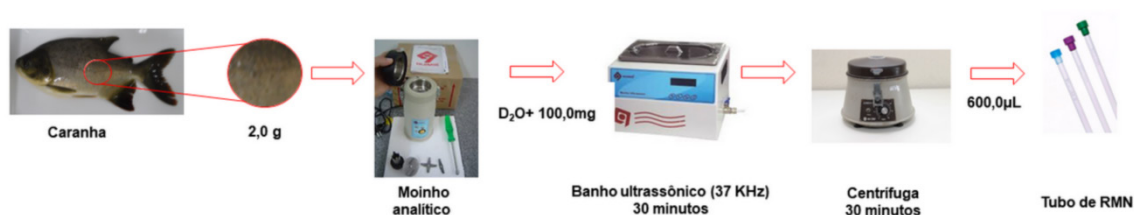


Figura 2. Protocolo de extração.

## 2.3 Experimentos de Rmn De $^1\text{H}$

Os experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  foram adquiridos em espectrômetro *Bruker Avance III 11,75 T* equipado com sonda de detecção inversa (TBI) de 5 mm, situado no laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (LAB-RMN-UFG). Os experimentos foram realizados com controle de temperatura a 25 °C utilizando 600,0  $\mu\text{L}$  de extrato. O ácido trimetilsililpropanóico (TSP-*d*4) 0,01 % (m/m) foi utilizado como referência interna de deslocamento químico.

Os experimentos de  $^1\text{H}$  foram realizados com 256 promediações e 8 “dummy scans”. Foram usados 65536 pontos para a digitalização do FID com janela espectral de 20,0 ppm e sem giro da amostra. O tempo total de repetição para cada promediação, que contempla a condição quantitativa de 5 x o tempo de relaxação transversal ( $T_1$ ), foi de 11,0 segundos. Tanto a calibração dos pulsos e ajuste da homogeneidade foram realizados automaticamente. As linhas de base e as fases dos espectros foram corrigidas manualmente.

## 2.4 Calibração do Método Eretic2

Como padrão de calibração do ERETIC2 foram utilizados os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  da sacarose na concentração de 2 mmol/l solubilizada em solução de 90,0 %  $\text{H}_2\text{O}$  + 10,0%  $\text{D}_2\text{O}$  + 0,05% ácido 4,4-dimetil-4-silapentano sulfônico (DSS) em tubo selado. Os parâmetros de aquisição, processamento, sonda e temperatura foram os mesmos usados nos experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  dos extratos.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Caracterização do Perfil Metabólico por Rmn de $^1\text{H}$

A figura 3 apresenta o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do extrato em  $\text{D}_2\text{O}$  de uma amostra de caranha. A caracterização dos sinais dos metabólitos foi realizada com base em informações contidas no *Human Metabolomics Database* (HMDB, 2018) e na literatura (SHUMILINA, 2015).

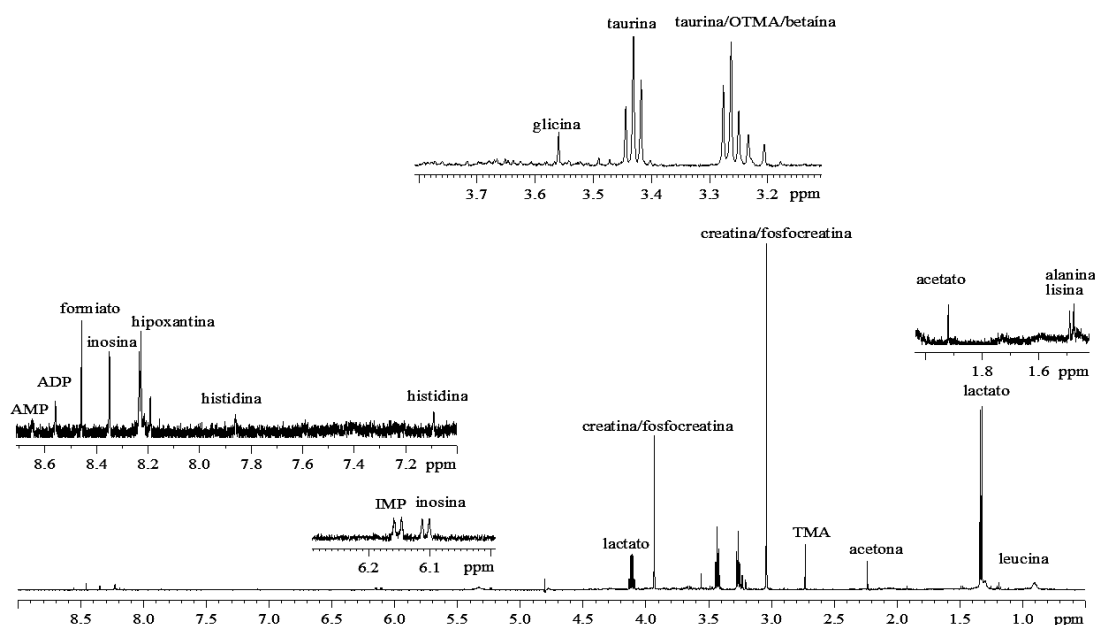


Figura 3. Caracterização do perfil metabólico da caranha por RMN de  $^1\text{H}$  em fase aquosa.

A faixa do espectro compreendida entre 0,6-3,0 ppm foi caracterizada pelos sinais de hidrogênio de grupos alifáticos. Foram identificados sinais de aminoácidos como lisina, leucina, alanina. Também foram identificados os sinais de bases conjugadas dos ácidos acético e láctico, sendo o último, de intensidade dominante na região de 1,38 ppm. Na região entre 6,0-10,0 ppm, foram caracterizados os sinais da adenosina trifosfato (ATP) e de seus produtos de degradação como adenosina difosfato (ADP) e monofostato (AMP), respectivamente. Essa região espectral refletiu as alterações post mortem que ocorreram no peixe. Durante os primeiros instantes após abate, o sistema enzimático endógeno promoveu reações que consumiram glicogênio, fosfocreatina e ATP. Com a escassez de oxigênio nas células, o sistema aeróbio que sintetizava o ATP foi inutilizado e a síntese anaeróbia de ATP continuou até que todo o glicogênio fosse consumido. Ao término do processo foi iniciada a degradação do ATP. Quando a concentração de ATP chegou a valores abaixo de  $1,0 \mu\text{mol/g}$ , foi iniciado o rigor mortis. As desfosforilações sucessivas do ATP levaram a formação de ADP e AMP, identificadas em 8,5 e 8,6 ppm, respectivamente. A desaminação do AMP formou a Inosina 5'-monofostato (IMP), que foi identificada em 6,15 ppm. Essa por sua vez, sofreu reações de desfosforilações, levando a formação de moléculas de inosina (INO), caracterizadas pelos sinais em 6,10 e 8,38 ppm. Também ocorreu a formação de



hipoxantina (Hx), identificada pelos sinais em 8,18 e 8,22 ppm (TEJADA, 2009). Entre 3,0-6,0 ppm foram identificados os sinais da taurina, em 3,3 e 3,4 ppm, da betaína, em 3,2 ppm, do aminoácido glicina, em 3,65 ppm além do segundo sinal do ácido láctico, próximo a 4,0 ppm. Os dois sinais de grande intensidade em 3,1 e 3,9 ppm, foram atribuídos a presença da creatina/fosfocreatina.

Em 3,23 ppm, o simpleto de grande intensidade caracterizou a presença do OTMA. Devido a rotação livre das ligações  $\sigma_{C-C}$  e conseqüente equivalência química, os nove hidrogênios metílicos originaram sinal com mesmo valor de deslocamento químico. O OTMA constitui uma importante fração do nitrogênio não proteico dos peixes. É formado através da ação enzimática no músculo e atua principalmente como osmorregulador proteico, impedindo o encharcamento da carne. Constitui um dos principais substratos para a utilização e decomposição microbiana, que após reações de redução, leva a formação da TMA, identificada próximo a 3,0 ppm (figura 4).

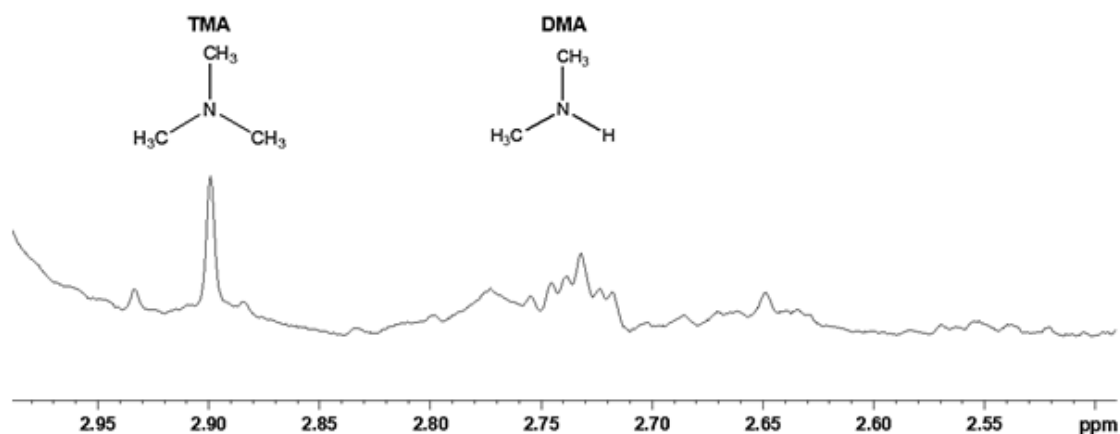


Figura 4. Identificação dos sinais da TMA e DMA.

### 3.2 Quantificação da Tma por Rmnq

As concentrações de TMA obtidas para as amostras de caranhas do grupo controle foram representadas pela figura 5. Ao final do primeiro 1º dia de armazenamento constante a  $-20^{\circ}\text{C}$ , foi registrado aumento na concentração de TMA igual a  $0,07 \pm 0,02$  mM, em relação a concentração inicial. Com o decorrer do tempo de armazenamento até o 24º dia, foram registradas diminuições nas concentrações da TMA, até o valor final de  $0,07 \pm 0,01$  mM. O decréscimo observado na concentração, indicada na curva de quantificação do grupo controle, foi associada à sua contínua conversão a DMA por atividade microbológica. Assim descrito por Castejón *et al.*, a DMA é uma metilamina com formação induzida durante o congelamento, sendo um bioindicador de peixes armazenados por longos períodos (CASTEJÓN, 2016).

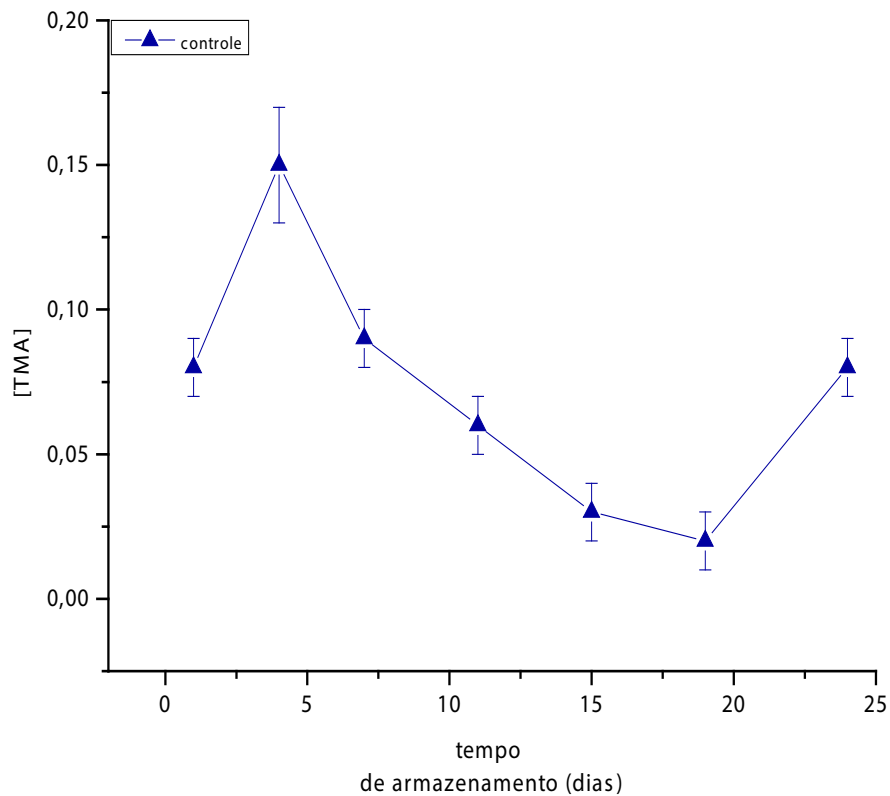


Figura 5. Variações nas concentrações da TMA em mmolar determinadas pelo método ERETIC2 nas amostras de caranha do grupo controle.

Por outro lado, a curva de quantificação da TMA para as amostras de caranhas descongeladas e recongeladas por 7 ciclos ao longo dos 24 dias de armazenamento (grupo tratamento), demonstrou a forte influência que quebra da cadeia do frio teve na alteração da qualidade dos peixes (figura 6).

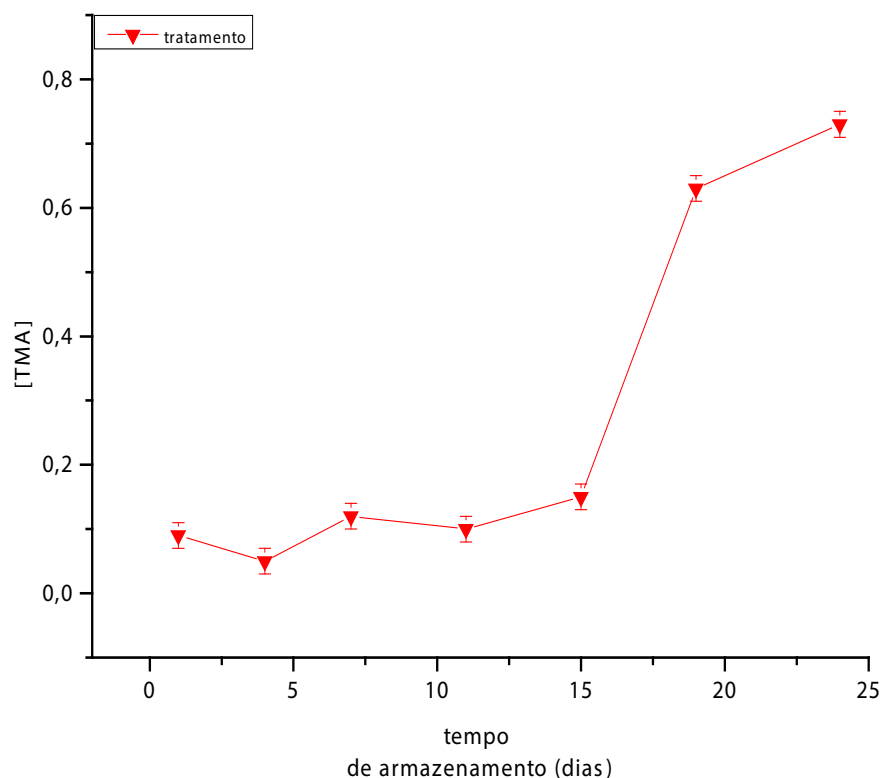


Figura 6. Variações nas concentrações da TMA em mmolar determinadas pelo método ERETIC2 nas amostras de caranha do grupo tratamento.

Foi registrado decréscimo na concentração apenas ao final do primeiro ciclo de descongelamento e recongelamento (tempo igual a 1 dia), com variação na concentração de  $0,10 \pm 0,01$  mM para  $0,05 \pm 0,01$  mM (figura 6). Com o aumento do número de ciclos de descongelamentos e recongelamentos, foi registrado aumento contínuo na concentração de TMA até o valor final de aproximadamente  $0,70 \pm 0,01$  mM. Shumilina *et al.*, descreveram um resultado similar em seu trabalho sobre o uso da RMN no monitoramento de mudanças *post mortem* em amostras de salmon (*Atlantic salmon*) que foram armazenados a temperaturas constantes de 0 e 4 °C. Foi identificado a influência que o aumento da temperatura apresentou no aumento da formação de TMA. Os autores identificaram que após 10 dias de armazenamento a temperatura de 0 °C, o valor de TMA produzida no músculo foi de 0,1 mg /100g de músculo de salmon. Após o dia 14, a concentração de TMA aumentou para 0,3 mg/100 g de salmon. Para as amostras de salmon armazenadas a temperatura de 4°C, ao final do 7 dia de armazenamento, a TMA já apresentava concentração de 0,4 mg/100 g de salmon. A concentração de TMA ao final dos 14 dias a temperatura de 4°C foi de 2,5 mg/100 g de salmon (SHUMILINA, 2015). No presente trabalho, o aumento da temperatura foi associado ao ato de descongelar, momento onde provavelmente a ação das bactérias foi estabelecida no tecido em maior extensão o que resultou na formação da TMA.

Vale ressaltar que a legislação brasileira, representada no poder do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), regulamenta através da Portaria N° 185, de 13 de maio de 1997, que a concentração permitida de bases voláteis totais (n-BVT) no pescado apto ao consumo humano deverá ser inferior a 30 mg/ 100g de carne (MAPA, 2018). As n-BVT são representadas pela amônia, TMA e DMA. Quando convertemos as concentrações da TMA, apresentadas na figura 6 para mg e a normalizamos para 100 g de carne de caranha, torna-se claro o risco do consumo de peixes descongelados e recongelados (figura 7).

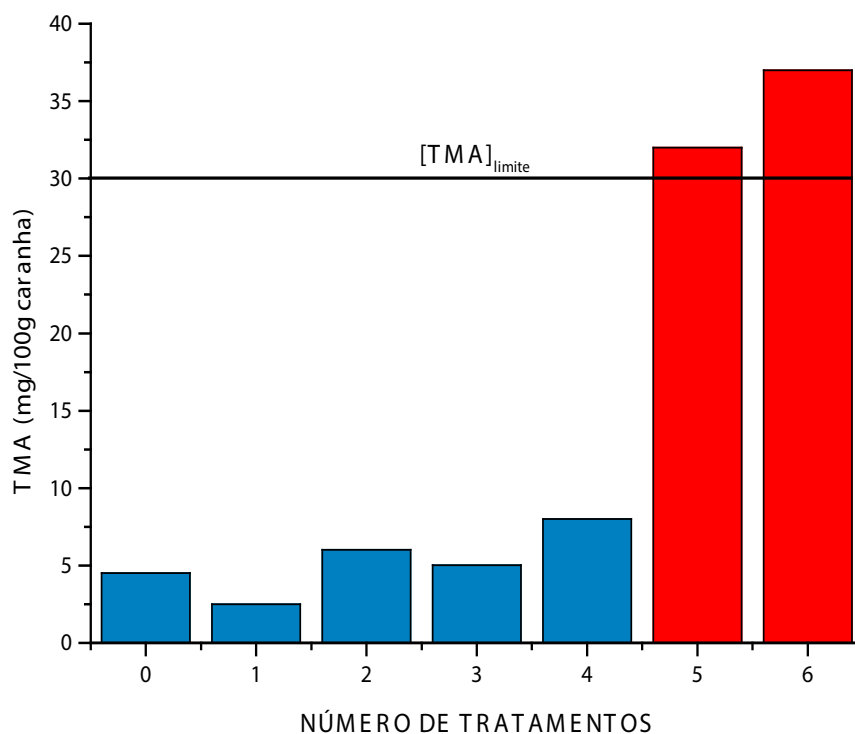


Figura 7. Concentração de TMA em mg/ 100 g de carne de caranha recongelada. O limite legal permitido pela legislação MAPA foi representada pela linha.

Os sucessivos descongelamentos e recongelamentos, tornam as caranhas impróprias ao consumo a partir dos tratamentos 5 e 6, onde foram registrados valores de concentração de TMA, acima do limite estabelecido no regulamento técnico do MAPA. O mesmo não ocorreu com as amostras controle que foram mantidas a temperatura constante de -20°C e descongeladas apenas para a análise (figura 8). A concentração da TMA apresentou oscilações, indicando que existiu formação da mesma no peixe, porém, o limite estabelecido pelo regulamento MAPA não foi excedido.

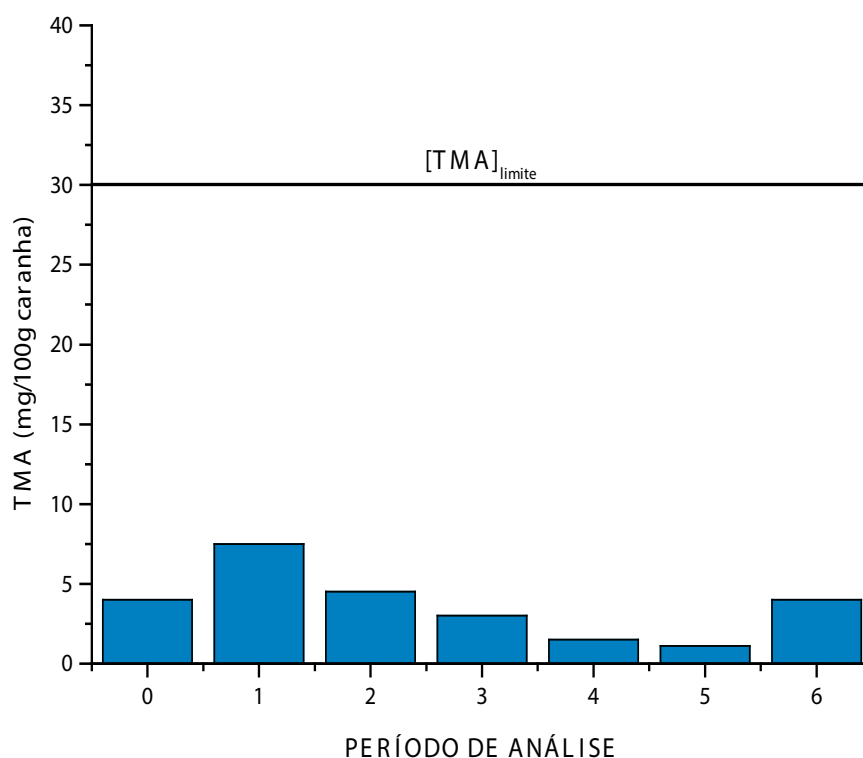


Figura 8. Concentração de TMA em mg/ 100 g de carne de caranha controle. O limite legal permitido pela legislação MAPA foi representada pela linha.

O risco do consumo de peixes submetidos a processamentos inadequados de conservação aumenta no que concerne à falta de esclarecimento da população sobre segurança alimentar e de políticas sanitárias efetivas. Os resultados apresentados indicaram que caranhas armazenadas a temperaturas de  $-20^{\circ}\text{C}$ , comuns em câmaras frias de grandes mercados e em refrigerados domiciliares, se submetidas a contínuos processos de descongelamento e recongelamentos, podem apresentar formação de compostos como a TMA, que conferem risco ao consumidor, por serem biomarcadores indicativos da atividade bacteriana no alimento.

#### 4 | CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a grande aplicabilidade da espectroscopia de RMN no estudo metabólico do pescado. Amostras de caranha descongeladas e recongeladas intencionalmente foram usadas para avaliar a influência da quebra da cadeia do frio do pescado no que tange a formação da TMA. Quando comparado aos teores de TMA, determinados para amostras apenas armazenadas congeladas, foi demonstrado que a atividade biológica, principal mecanismo de formação da substância, foi extensivamente favorecido. Os resultados trazidos pela RMN reforçam a ideia do consumo do peixe em seu estado fresco além da necessidade de métodos

estáveis de armazenamento durante todas as etapas da cadeia do frio, para que o consumo do peixe recongelado não seja inviabilizado pelos processos degradativos aqui identificados.

## 5 | AGRADECIMENTOS

O autor agradece a CAPES, CNPq e a UFG.

## REFERÊNCIAS

- Akoka, S., L. Barantin, M., Trierweiler, M. Concentration Measurement by Proton NMR using the ERETIC Method. *Analytical Chemistry* (1999) 71, 25-54.
- Bharti, S.K., Roy, R. Quantitative  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. *Trends in Analytical Chemistry* (2012) 35, 5-25.
- Castejón, D., García-Segura, J.M., Herrera, A., Cambero, M.I. NMR-detection of methylamine compounds in Atlantic salmon (*Salmo salar*) subjected to E-beam irradiation. *Food Control* (2016) 60, 455-460.
- Departamento de Inspeção de Origem Animal, DIPOA. Brasil, 2018.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, 2018.
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., Brooks, M.S. Fish spoilage and preservation techniques: Review. *American Journal of Applied Sciences* (2010) 7, 859-877. acessado em 2018.
- Huss, H.H. Quality and quality changes in fresh fish. *FAO Fisheries Technical Paper* (1995), 348.
- Khan, A. Q., Aldosari, F., Hussain, S. M. Fish consumption behavior and fish farming attitude in Kingdom of Saudi Arabia (KSA). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* (2018) 17, 195-199.
- Ministério da Agricultura, Pecuária, Abastecimento e Pesca, 2018.
- Oetterer M., D'arce M.A.B.R., Spoto M., *Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Editora: Manole LTDA, 35 (2006), ISBN: 8520419780. Organização Mundial da Saúde, 2018.
- Shumilina, E., Ciampa, A., Capozzi, F., Rustad, T., Dikiy, A. NMR approach for monitoring post-mortem changes in Atlantic salmon fillets stored at 0 and 4°C. *Food Chemistry* (2015) 1, 12-22.
- Tejada, M. *ATP-derived products and K-value determination Fishery products*. Wiley-Blackwell (2009), 68-88.
- Teresa W., Fan M., Lane A, N. (2016). Applications of NMR spectroscopy to systems biochemistry. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 92-93, 18-53.
- Tolstorebrov I., Eikevik T, M., Bantle M. (2016). Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. *International journal of refrigeration*, 63, 37-47.
- Vidal N, P., Manzanos, M, J., Goicoechea E., Guillén M, D. Quality of farmed and wild sea bass lipids studied by  $^1\text{H}$  NMR: Usefulness of this technique for differentiation on a qualitative and a quantitative basis. *Food Chemistry* 135 (2012) 1583–1591.

## **SOBRE O ORGANIZADOR**

### **Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto**

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia. Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Também possui seu segundo Pós doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com Análise Global da Genômica Funcional e aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany.

Palestrante internacional nas áreas de inovações em saúde com experiência nas áreas de Microbiologia, Micologia Médica, Biotecnologia aplicada a Genômica, Engenharia Genética e Proteômica, Bioinformática Funcional, Biologia Molecular, Genética de microrganismos. É Sócio fundador da “Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde” (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Como pesquisador, ligado ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG), o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-298-2

