

# PRODUÇÃO DE FILÉS DE TILAPIA ACIDIFICADOS, ACONDICIONADOS A VÁCUO, COZIDOS E ESTÁVEIS À TEMPERATURA AMBIENTE

Giseli Carvalho **Magalhães**<sup>1</sup>; Miriam Gonçalves **Marquezini**<sup>2</sup>; Renata **Bromberg**<sup>3</sup>; Marcia Mayumi Harada **Haguiwara**<sup>4</sup>; José Ricardo **Gonçalves**<sup>5</sup>.

#### Nº 17240

**RESUMO** – Filés de tilapia fora de padrão comercial foram acidificados embalados a vácuo, cozidos e armazenados à temperatura ambiente para estudar a estabilidade físico-química e microbiológica durante 90 dias. A acidificação foi feita por imersão em salmoura acidificada com ácido fumárico 0,6% na proporção 1amostra:2 solução durante 24h. Foi observada uma queda de pH lenta e que não atingiu o valor 4,5 considerado microbiologicamente seguro para inibir o crescimento de *Clostridium botulinum*. Porém, durante o período de armazenamento as amostras permaneceram comercialmente estéreis.

Palavras-chaves: preservação-método; ácido fumárico; redução de pH; embalagem a vácuo.

- 1. Autor, Bolsista CNPq (PIBITI): Graduação em Engenharia de Alimentos; FAJ, Jaguariuna-SP; giselicmagalhaes@hotmail.com.
- 2. Colaborador, Técnico de Apoio à Pesquisa, Instituto de Tecnologia de Alimentos; Campinas-SP; miriamg@ital.sp.gov.br.
- 3. Colaborador, Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; renatab@ital.sp.gov.br.
- 4. Colaborador, Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP, marciam@ital.sp.gov.br
- 5. Orientador, Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; <u>iricardo@ital.sp.gov.br</u>



ABSTRACT – Small tilapia fillets samples were acidified, pre-cooked, vacuum packed, cooked and stored at room temperature to study the physicochemical and microbiological stability for 90 days. Acidification was carried out by immersion in acidified brine with 0.6% fumaric acid and 5% sodium chloride (fillet ratios 1: 2). A slow pH drop was observed and did not reach the value 4.5 considered microbiologically safe to inhibit the growth of Clostridium botulinum. Despite this during the storage period the samples remained commercially sterile.

**Key-words:** semi-preserved method; fumaric acid; pH reduction; vacuum packaging.

## 1 INTRODUÇÃO

A tilápia é um peixe originário da África e produzido no Brasil o ano inteiro principalmente nas regiões Nordeste e Norte, tornando-se importante para reduzir a sazonalidade da pesca. Os exemplares de maior tamanho tem valor comercial para a preparação de pratos em restaurantes ou para exportação, geralmente na forma de filé, cujo rendimento em relação ao pescado inteiro é inferior a 40% (SOUZA, 2002).

No processo de filetagem há certa disponibilidade de subprodutos, dentre eles os filés fora do padrão comercial, cuja origem está na própria produção do pescado e na filetagem manual. Como são considerados subprodutos perdem valor comercial e são destinados para outra finalidades.

Uma técnica muito antiga que pode ser utilizada como parte de um processo de preservação desses filés é a acidificação. Vários ácidos orgânicos são utilizados pela indústria de alimentos no cumprimento de determinadas funções. Um produto bem conhecido no Brasil é o palmito em salmoura acidificada com ácido citrico, cujas pesquisas ainda prosseguem (QUAST et al, 2010). O leite de coco tipo industrial foi estudado com base nesse princípio utilizando vários ácidos orgânicos (GONÇALVES et al, 1984). Também foram feitas pesquisas sobre semiconservas de pescado em salmoura acidificada com ácido acético (CARVALHO; LESSI, 1990).

Uma prévia seleção dos acidulantes é importante, pois podem conferir ao produto um sabor característico, além da própria acidez. O sabor é devido ao ânion do ácido enquanto a acidez é função das constantes de dissociação (ZAPATA; QUAST, 1975). Então, os vários ácidos usados na mesma quantidade não promovem igual sensação de acidez. Isto pode ser interessante para reduzir o pH do produto com menor interferência no sabor. Gardner (1972) afirma que o cloreto de



sódio em quantidades muito pequenas é capaz de reduzir, moderadamente, o sabor azedo dos ácidos acético, clorídrico e cítrico e, notavelmente, dos ácidos málico, láctico e tartárico.

Num produto acidificado a principal função do ácido é inibir o crescimento de *Clostridium botulinum*. Nesse caso, a legislação norte-americana permite um pH de até 4,6 (e a brasileira, até 4,5) para uma acidificação adequada (ALIMENTOS ENLATADOS, 2001). Então, é necessário que o pH recomendado seja mantido durante a vida útil do produto. Um detalhe importante é que a penetração da acidez nos tecidos seja a mais breve e uniforme possivel, pois se ocorrerem falhas de processo poderá haver crescimento do patógeno com produção da toxina em apenas alguns dias na temperatura de 22°C (LUND; PECK, 2000). Consequentemente, a acidificação deve ser um ponto crítico de controle no processo de fabricação.

Aliado à redução de pH tem-se o processo de pasteurização, cujo objetivo principal é destruir formas vegetativas de patógenos e deterioradores, os quais são menos termorresistentes, reduzindo a carga microbiana inicial.

O aproveitamento de filés de tilápia fora de padrão comercial para a fabricação de semiconservas por redução de pH e pasteurização é uma forma de proporcionar agregação de valor e direcionar o produto para a alimentação humana. O processo de fabricação é fundamentado em princípios tecnológicos que oferecem ao produto segurança microbiológica e vida útil de até seis meses (em média) à temperatura ambiente, dependendo de outras condições. Portanto, o uso da refrigeração torna-se dispensável durante a distribuição e armazenamento do produto, ampliando as suas chances de consumo em regiões mais distantes dos grandes centros urbanos.

#### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Filés de tilapia fora de padrão comercial obtidos em regiões produtoras foram transportados congelados até o local do experimento, pré-selecionados, pesados, e armazenados a -18°C. Momentos antes dos experimentos foram descongelados a 4°C durante 24 horas para cálculo da perda de peso no descongelamento e determinações fisico-quimicas (composição centesimal, pH, acidez total, cloretos e atividade de água) e microbiológicas (clostridio sulfito redutores, *Salmonella* ssp, estafilococus coagulase positiva, coliformes termotolerantes e mesófilos aeróbios totais). Posteriormente, foram executados ensaios desenvolvidos em três etapas: a) construção das curvas de acidificação das amostras para a redução de pH até valores iguais ou inferiores a 4,5 com seis ácidos geralmente empregados na indústria de alimentos; b) determinação do tempo de imersão



das amostras em salmoura (5% de cloreto de sódio) acidificada com o ácido menos consumido (item a) para atingir o pH≤4,5 utilizando três processos: convencional (único estágio), estágio de concentração crescente e estágio de concentração decrescente; e c) avaliação da estabilidade físico-química (pH, acidez total, umidade e atividade de água) e microbiológica (esterilidade comercial) das amostras salmouradas/acidificadas (com o ácido menos consumido) pelo processo convencional, pré-cozidas em forno (200°C/15min), acondicionadas a vácuo em embalagens plásticas flexíveis, cozidas (pasteurizadas) em água (85°C/40min) e mantidas a 20-25°C durante até 90 dias (determinações a cada 30 dias). Os métodos analíticos foram descritos a seguir.

### 2.1 Construção das curvas de acidificação das amostras e consumo de ácido

Filés escolhidos aleatoriamente foram pesados e triturados em processador até a obtenção de uma massa homogenea. Do montante foram separadas aliquotas de 50g, acrescidas de 20ml de água destilada e acidificadas até atingir o pH  $\leq$  4,5 com soluções de seis ácidos organicos: acético (2,5%), lático (6,5%), málico (2,5%), tartárico (2,5%), fumárico (0,6%) e cítrico (4,5%). Os valores de pH foram obtidos em triplicata por peagâmetro da marca Digimed, modelo DM2, com duas casas decimais, previamente calibrado na faixa 4,0-7,0 e o consumo de ácido foi expresso em gramas de ácido por 100 gramas de amostra (BRASIL,1999).

#### 2.2 Determinação do tempo de salmouragem acidificada

Foi determinado durante a imersão das amostras na salmoura acidificada com o ácido menos consumido para obter o pH≤ 4,5 nos seguintes processos: convencional (imersão em único estágio); estágio de concentração crescente (imersão na salmoura acidificada em três concentrações subsequentes durante 2,5h em cada uma delas no sentido da menor para a maior); e estágio de concentração decrescente (imersão na salmoura acidificada em três concentrações subsequentes durante 2,5h em cada uma delas no sentido da maior para a menor). Os valores de pH foram medidos em triplicata via inserção do eletrodo diretamente na porção muscular dos filés utilizando o peagâmetro descrito no item 2.1.

## 2.3 Avaliação da estabilidade físico-química e microbiológica das amostras

As amostras foram imersas na salmoura acidificada com o ácido menos consumido durante 24h nas condições descritas no item 2c e armazenadas a 20-25°C durante 90 dias para determinações analíticas a cada 30 dias.



## 2.4 Determinação da composição centesimal

Foram determinados os teores de umidade e substancias voláteis, proteína-bruta, extrato etéreo e cinzas nas amostras *in natura*, segundo metodologia da AOAC (HORWITZ, 2005).

#### 2.5 Perda de peso no descongelamento

Foi determinada pela diferença de peso das amostras antes do congelamento e após o descongelamento, expressando-se o resultado em porcentagem.

## 2.6 Perda de peso na pré-cocção

Foi determinada pela diferença de peso dos filés salmourados/acidificados antes e após a pré-cocção, expressando-se o resultado em porcentagem.

#### 2.7 Determinação de acidez total

Foi realizada nas amostras *in natura* e a cada 30 dias nas amostras cozidas durante 90 dias, segundo Instrução Normativa nº 20 de 21/07/99 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999).

## 2.8 Determinação de atividade de água

Foi determinada nas amostras *in natura* e a cada 30 dias nas amostras cozidas, embaladas e armazenadas a 20-25°C durante 90 dias, utilizando-se o medidor Aqualab modelo 4TE (Decagon, USA), operando a 25°C.

## 2.9 Análises microbiológicas.

Foram escolhidos aleatoriamente três filés *in natura* para a determinação de clostridios sulfito redutores, mesófilos aeróbios totais e estafilococus coagulase positiva (DOWNES; ITO, 2001). Também foram determinados coliformes termotolerantes/45°C (ISO, 2005) e *Salmonella* spp (ISO, 2007). As análises de estafilococus e salmonela estão previstas na legislação (BRASIL, 2001). Os filés acidificados, embalados, cozidos e armazenados à temperatura ambiente foram submetidos à análise de esterilidade comercial a cada 30 dias durante 90 dias (FDA, 1998).



## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filés descongelados sofreram uma perda de peso de 10,47±0,24%, que é uma ocorrência natural em operações deste tipo, mas pode significar um impacto econômico em linhas de produção industrial.

A Tabela 1 mostra os dados de caracterização físico-química dos filés utilizados no experimento. A composição centesimal é comparável aos resultados para filés *in natura* da espécie nilótica tailandesa encontrados por Simões *et al.* (2007), que encontrou 19,63; 2,60; 77,13; e 1,09%, respectivamente para proteína, gordura, umidade e cinzas. As diferenças nos teores podem ser típicas das condições de produção do peixe, tais como origem, alimentação e outros fatores. Em relação ao pH o resultado é parecido com o encontrado na literatura, que foi de 6,3 a 6,4 para a espécie nilótica *in natura* criada no Brasil (BATISTA, 2005; ANDRÉ *et al.*, 2014). O teor de cloretos é compatível com o valor de 0,08 g/100g encontrado por André *et al.* (2014) para a mesma espécie. O elevado valor da atividade de água está associado à alta perecibilidade da matéria-prima e é típico de alimentos *in natura* (FRAZIER, 2009).

Tabela 1. Composição centesimal e determinações em filés de tilápia in natura.

Determinações	Resultados
Proteína (g/100g)	18,00 ± 0,15
Gordura total (g/100g)	$1,53 \pm 0,07$
Umidade e substâncias voláteis	$79,54 \pm 0,14$
Cinzas (g/100/g)	$0.91 \pm 0.03$
Cloretos (g/100g)	$0,09 \pm 0,11$
Acidez total (g/100g)	$3,04 \pm 0,16$
pH \overline{\pi}	$6,35 \pm 0,00$
Atividade de água	$0.99 \pm 0.00$

A Tabela 2 mostra os resultados da avaliação microbiológica dos filés utilizados como matéria-prima no experimento. Não foram detectadas contagens nas análises de clostridios sulfito redutores, coliformes termotolerantes (45°C) e estafilococus coagulase positiva. Constatou-se a ausência de Salmonella spp (em 25g). A legislação brasileira não estabelece padrão microbiológico para a determinação de mesófilos aeróbios totais (BRASIL,2001). Segundo a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMS), citada por Soares *et al.*(2011) o limite indicativo de boa qualidade para pescado congelado é 5 log UFC/g e considera como aceitável até 6 log UFC/g. Nesse caso o resultado encontrado é indicativo de condições limitantes de higiene durante as etapas anteriores ao processamento das amostras.



Tabela 2. Análise microbiológica dos filés de tilápia in natura.

Resultados	Legislação <sup>A</sup>
ND	NC
	NC NC
	_
–	3,0
6,25	NC
Ausente	Ausência
	ND ND ND 6,25

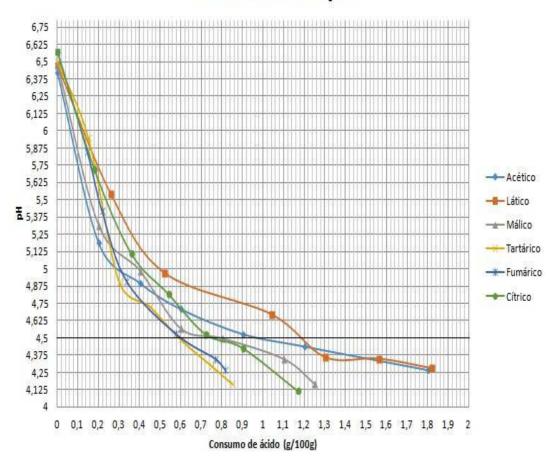
A: ANVISA, RDC n°12, de 02/01/2001.

ND: não detectado (abaixo do limite inferior do método).

NC: nada consta na legislação.

A Figura 1 mostra que os ácidos orgânicos com menor consumo em ordem crescente são: fumárico, tartárico, cítrico, málico, acético e lático.

# Curva de Acidificação



**Figura 1.** Curvas de acidificação de filés de tilapia *in natura* com solução dos ácidos utilizados para atingir o pH=4,5 (em gramas de ácido por 100 gramas de amostra).



O ácido fumárico obteve o menor consumo, com, aproximadamente, 0,60g/100g de amostra, seguido do tartárico com 0,67g/100g de amostra. Já o ácido lático foi o mais consumido para atingir o mesmo objetivo (1,16g/100g de amostra) mostrando um poder tamponante maior, fato que também foi observado em estudos similares com palmito e leite de coco (ZAPATA;QUAST, 1975; GONÇALVES *et al.*,1984). O ácido acético também resultou em alto consumo da solução nos ensaios, obtendo-se 0,90g/100g de amostra. Além disso, o aroma do ácido ficou bem evidente durante os experimentos.

Como o ácido fumárico foi o menos consumido foram realizados ensaios por imersão das amostras em salmoura acidificada em estágios de concentração crescente e decrescente durante um período total de 7,5h. Assim sendo, as amostras permaneceram no intervalo de 2,5h em cada concentração, iniciando com 0,2% e terminando com 0,6% e vice-versa (Tabela 3).

**Tabela 3**. Queda de pH em função do tempo de imersão das amostras em salmoura acidificada nos processos de estágio de concentração crescente e decrescente.

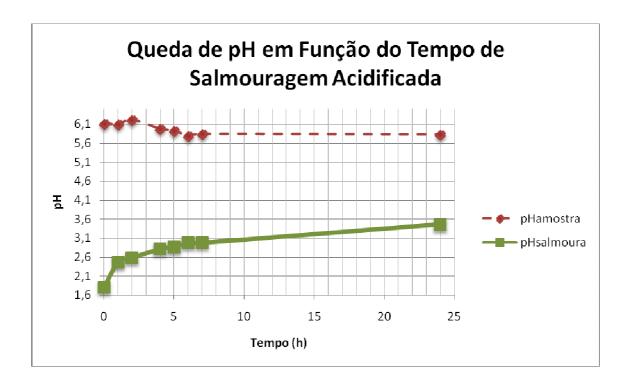
Concentração Crescente		Concentração Decrescente		
Tempo (h)	Amostra	Salmoura Acidificada* (%)	Amostra	Salmoura Acidificada* (%)
0	6,49 ± 0,10	-	6,52 ± 0,09	-
2,5	6,42 ± 0,08	0,2	6,42 ± 0,02	0,6
5,0	6,23 ± 0,10	0,4	5,91 ± 0,36	0,4
7,5	5,84 ± 0,20	0,6	5,99 ± 0,26	0,2

<sup>\*</sup> Concentração de ácido fumárico na salmoura.

Os resultados mostram que a queda de pH foi muito lenta no período total de 7,5h, independentemente do tipo de estágio empregado, diferentemente de quando se adicionou a solução 0,6% do ácido na amostra triturada como foi feito na construção das curvas de acidificação. Isso revela certa dificuldade de transferência do ácido em solução (salmoura acidificada) para o interior da amostra na forma íntegra (filé), podendo ter origem em barreiras naturais do pescado para a sua difusão (ou o sistema ter encontrado o seu equilíbrio).



Na preparação do lote experimental para a produção de amostras para a avaliação da estabilidade físico-química e microbiológica, os filés foram imersos na salmoura acidificada com 0,6% de ácido fumárico durante 24h e, apesar do periodo mais prolongado, apresentaram uma queda de pH muito lenta, tendendo à estabilidade e não atingindo o valor de 4,5 (Figura 2).



**Figura 2**. Queda de pH das amostras durante a salmouragem acidificada com 0,6% de ácido fumárico.

Após a pré-cocção em forno elétrico houve uma perda de peso de 32,27±0,86% em razão da eliminação de umidade e voláteis durante o processo. As amostras foram então embaladas a vácuo, cozidas em água e armazenadas à temperatura ambiente, cujos resultados constam da Tabela 4. Nota-se que, em geral os valores apresentados são relativamente estáveis, podendo-se atribuir as diferenças a variações na uniformidade das amostras, as quais foram consideradas comercialmente estéreis. Embora os valores de pH estejam acima de 4,5, as medidas foram feitas por inserção na porção interna das amostras. Na superfície o pH da amostra deve estar mais próximo do pH da salmoura, que permaneceu abaixo de 4,5. Há a hipótese de que a eventual contaminação de esporos se concentre na superfície da amostra, embora não tenham sido detectados na matéria-prima utilizada. A redução da atividade de água foi causada pela presença de cloreto de sódio, que contribui para a preservação. De qualquer modo a inibição do crescimento



de *Clostridium botulinum* só estaria assegurada nos valores de pH≤4,5 ou atividade de água de 0,94 ou inferior (LUND; PECK, 2000).

**Tabela 4**. Determinações em filés de tilápia acidificados, embalados a vácuo, cozidos e armazenados à temperatura ambiente.

Tempo (dias)	Aw <sup>1</sup>	рН	Umidade (%)	Acidez (g/100g)
01	0,97±0,00	5,76±0,04	67,48±0,45	2,81±0,05
30	0,97±0,00	5,69±0,14	65,98±0,41	3,97±0,06
60	0,97±0,00	5,06±0,01	64,06±0,80	4,23±0,01
90	0,97±0,00	5,15±0,03	66,03±0,20	4,96±0,19

<sup>1:</sup> Atividade de água

## 4 CONCLUSÃO

Com os dados obtidos experimentalmente pode-se observar que as condições de acidificação não asseguram plenamente a inibição do crescimento do *Clostridium botulinum* e, consequentemente, a produção da toxina botulínica. Novos estudos devem ser realizados para o aprimoramento dos resultados no sentido de aumentar a segurança microbiológica das amostras.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pela bolsa PIBITI concedida e oportunidade de aprendizado.



#### 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIMENTOS ENLATADOS. **Principios de Controle do Processo Térmico, Acidificação e Avaliação do Fechamento de Recipientes.** The Food Processors Institute. 5<sup>th</sup> edition. 4<sup>a</sup> edição traduzido pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, 2001.

ANDRÉ, T.; ANDRADE, J. C.; HAGUIWARA, M. M.; H; HASHIMOTO, J. M.; GONÇALVES, J. R. **Aproveitamento de aparas da filetagem de tilapia para o desenvolvimento de produto em conserva.** In: 8° Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica. Anais. 2014. Campinas-SP, 12 a 14 de agosto.

BRASIL. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Oficializa métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. ANEXO. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/instnorm20.html">http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/instnorm20.html</a>. Acesso em setembro de 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análises de alimentos/Instituto Adolfo Lutz. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 4ª Edição. Pág. 112-113.

CARVALHO, N. L.A.; LESSI, E. Elaboração de uma Semi-Conserva de Pescado de Água Doce "Picles de Peixe". I. Tempo de Cura, Acidificação, Textura e Nivel de Sal. ACTA AMAZONICA, 20 (único):321-329, 1990.

FRAZIER, R. A. **Food chemistry.** *In*: CAMPBBEL-PLATT, G.(ed.). Food Science and Technology. Blackwell Publishing Ltd, Singapure. Chapter 2, 2009.

DOWNES, F. P.; ITO, K. (ED.) **Compendium of methods for microbiological examination of foods.** 4<sup>th</sup> edition. Washington: American Public Health Assocoation, 2001.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). *Bacteriological Analytical Manual.* 8<sup>th</sup> ed. Revision A. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Arlington, VA, USA, 1998.

GARDNER, W.H. Acidulants in food processing. In: FURIA, E. T. Handbook of Food Additives, 2<sup>nd</sup> ed. USA.The Chemical Rubber Co., (1):225-270, 1972.

GONÇALVES, J.R., TEIXEIRA NETO; LEITÃO, M.F.F. **Aspectos Preliminares na Conservação do Leite de Coco Tipo Industrial por Acidificação e Pasteurização.** Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 21(4):489-502, out./dez.1984.

HORWITZ (ed.) ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official methods of analysis of AOAC** international. 18 ed. Washington: Gaithersburg, Maryland, AOAC International, 2005.

ISO 7251 –International Organization for Standardization. *Microbiology of food and animal feeding stuffs* – Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* – Most probable number technique, 2005.

ISO 6597- International Organization for Standardization. Microbiology of food animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of Salmonella sp., 2007.

LUND, B.M.; PECK, M. W. Evaluation on the Risk of Growth and Toxin Production by *Clostridium botulinum* in Selected New Products of Concern. Conely, Norwich: Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, Institute of Food Research, Norwich Research Park, 2000. 60p.



QUAST, E. RUIZ, N. L.; SCHMIDT, F. L. Cinética de Acidificação de Palmito de Pupunha (*Bactris gasipaes Kunth.*). Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v.13, n.4, p.286-292, out/dez. 2010.

SOUZA, M.L.R.; MARANHÃO, T.C.F. Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem de tilápia do Nilo, , em função do peso corporal. Acta Scientiarium. Maringá, v.23, n.4, p.897-901,2002.

SIMÕES, M.R; RIBEIRO; C. F. A; RIBEIRO, S.C.A; PARK, K; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(3): 608-613, jul.-set. 2007.

ZAPATA, M. M.; QUAST, D. G. Curvas de titulação do palmito-doce (*Euterpe edulis* Mart.). Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 6, p. 167-187, 1975.