

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS LICENCIATURA**

MICHELE GOMES DE SOUZA

**IDENTIFICAÇÃO DE PEIXES COMERCIALIZADOS EM
RESTAURANTES DE MACEIÓ POR MEIO DA TÉCNICA DE DNA
BARCODING**

Maceió

2020

MICHELE GOMES DE SOUZA

**IDENTIFICAÇÃO DE PEIXES COMERCIALIZADOS EM RESTAURANTES DE
MACEIÓ POR MEIO DA TÉCNICA DE DNA BARCODING**

Monografia apresentada à coordenação do curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas, como pré-requisito para a obtenção do grau de licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Dalmo Almeida de Azevedo

Maceió

2020

**Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S729i Souza, Michele Gomes de.
Identificação de peixes comercializados em restaurantes de Maceió por meio da técnica de DNA barcoding / Michele Gomes de Souza. – 2020.
32 f. : il., figs., grafs. e tabs. color.

Orientador: Dalmo Almeida de Azevedo.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas: Licenciatura) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 30-32.

1. Fraude. 2. Pescado. 3. DNA barcoding. I. Título.

CDU: 637.56

MICHELE GOMES DE SOUZA

**IDENTIFICAÇÃO DE PEIXES COMERCIALIZADOS EM RESTAURANTES DE
MACEIÓ POR MEIO DA TÉCNICA DE DNA BARCODING**

Monografia apresentada à coordenação do curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas, como pré-requisito para a obtenção do grau de licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^o Dalmo Almeida de Azevedo

Aprovada pela Banca Examinadora em

Maceió, 13 de novembro de 2020

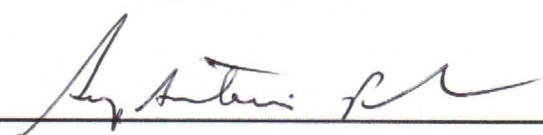
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Dalmo Almeida de Azevedo – UFAL (Orientador)



Prof. Dr. Francisco Javier Tovar – UFAL (Avaliador)



Prof. Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva – UFAL (Avaliador)

*Dedico este trabalho aos meus pais por todo apoio e todos os sacrifícios que fizeram para
que eu chegasse até onde estou hoje.*

Ao meu noivo e melhor amigo Anthony, que sempre esteve comigo nos maus momentos.

Ao meu irmão Gabriel, estaremos sempre juntos.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dalmo Almeida de Azevedo, pela oportunidade de fazer parte desse projeto, por todo ensinamento e orientação.

Ao professor Vandick da Silva Batista que foi o primeiro a acreditar em mim e no meu potencial.

À professora Lilian Carmen Lima dos Santos por toda amizade, palavras de apoio e carinho e todo incentivo e ajuda durante o curso.

À equipe do Laboratório de DNA Forense da Universidade Federal de Alagoas, pela amizade, ajuda e ensinamentos durante esses anos.

À minha família, em especial aos meus pais, pelo amor, apoio e confiança que sempre depositaram em mim.

À minha mãe em especial, que sempre foi uma inspiração de mulher e acadêmica para mim, por todos os ensinamentos.

Ao meu pai, por todo suporte e confiança durante esses anos de curso.

Aos amigos que fiz nessa trajetória, que estiveram sempre ao meu lado durante as dificuldades que encontrei na graduação.

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem como são.”

(Aristóteles)

RESUMO

O consumo de pescado tem destacada importância nutricional, respondendo por 17% da proteína de origem animal consumida pela população mundial. Dependendo da forma de processamento a que for submetida uma espécie de peixe, sua identificação por parte do consumidor depende completamente da informação passada pelo estabelecimento onde foi comprado. A fraude na identificação da espécie comercializada é uma prática frequente e consiste na substituição de uma espécie por outra, geralmente de menor valor comercial. Este trabalho tem como propósito investigar se a prática de fraude ocorre também no mercado de Maceió. Foram analisadas amostras comercializadas na forma preparada, obtidas em restaurantes de Maceió. A identificação genética foi feita utilizando-se a técnica de DNA barcoding. A taxa de substituições encontrada em dois anos de pesquisa foi de 12%, sendo relativamente baixa quando comparada a outros estudos.

Palavras chave: Detecção de fraude em pescado; DNA barcoding; Maceió, AL.

ABSTRACT

Fish consumption has an outstanding nutritional importance, accounting for 17% of the animal origin protein consumed by the world population. Depending on the form of processing to which a specie of fish is submitted, its identification by the consumer depends completely on the information provided by the establishment where it was bought. The Fraud in identifying commercialized species is a common practice and consists in replacing one specie with another, usually of lesser commercial value. This work aims to investigate whether the practice of fraud also occurs in Maceió fish market. Samples commercialized in prepared form, obtained in restaurants in Maceió, were analyzed. Genetic identification was performed using the DNA barcoding technique. The rate of substitutions found in two years of research was 12%, being relatively low when compared to other studies.

Keywords: Fish fraud detection; DNA barcoding; Maceió, AL.

LISTA DE TABELAS

Tab. 1 – Quantificação das amostras de acordo com o nome informado pelo estabelecimento.....	21
Tab. 2–Resultado do sequenciamento e análise das amostras, assim como das substituições encontradas.	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fragmentos de DNA amplificado por PCR, visualizados em gel de agarose (2%), corado com brometo de etídio.....	22
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Porcentagem de substituições de peixes em restaurantes de Maceió.	25
Gráfico 2 - Relação entre a quantidade total (QT.) de amostras sequenciadas e as substituições (SB.) encontradas.	26
Gráfico 3 - Taxa de substituições de Salmão em restaurantes de Maceió.	26
Gráfico 4 - Taxa de substituições de Atum em restaurantes de Maceió.	27
Gráfico 5 - Taxa de substituições de Dourado em restaurantes de Maceió.	27
Gráfico 6 - Taxa de substituições de Peixe-prego em restaurantes de Maceió. .	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Importância do pescado no cenário nacional e internacional.....	15
2.2 DNA Barcoding na identificação molecular de espécies	16
2.3 DNA Mitocondrial	17
2.4 Identificação de fraude no mercado pesqueiro	18
3 OBJETIVOS.....	20
3.1 Objetivo Geral	20
3.2 Objetivos Específicos:	20
4 METODOLOGIA	21
4.1 Coleta das amostras	21
4.2 Extração do DNA	21
4.3 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).....	21
4.4 Gel de Agarose e purificação das amostras.....	22
4.5 Sequenciamento das amostras e análise das sequências.....	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

O consumo de pescado tem destacada importância nutricional, respondendo por 17% da proteína de origem animal consumida pela população mundial. Mais da metade da produção mundial de pescado é comercializada com diferentes tipos de processamento. Segundo o Ibol (international barcode of life) em 2003 o grupo de pesquisa de Paul Herbert da Universidade de Guelph publicou o artigo científico “Biological identification through DNA barcodes” chamando a atenção da comunidade científica. Eles propuseram um novo sistema de identificação de espécies usando uma pequena parte do DNA mitocondrial, a subunidade 1da citocromo C oxidase (CO1).

Esse fragmento de DNA tem cerca de 650 pares de bases, cuja sequência funciona como um código de barras único para cada espécie. A ideia é a mesma de um código de barras universal de produtos, que emprega 10 números alternados em 11 posições para gerar 100 bilhões de identificadores únicos (HEBERT et al,2003). Sua sequência é bastante curta, quando comparada ao genoma inteiro e por isso pode ser obtida de modo rápido e barato (KOSMANN, 2009).

Esta técnica tem sido utilizada com sucesso para a detecção de fraudes na identificação de espécies de peixe, fazendo parte de um protocolo desenvolvido pela FDA. Segundo Danilo Alves Pimenta Neto (2013) em países como Canadá, Estados Unidos, Japão e Coreia foram relatadas ocorrências de substituição de pescado. A técnica tem sido usada com sucesso na identificação de ‘carne de baleia’ no Japão e Coreia. Nos Estados Unidos a técnica foi utilizada para manter o registro de 93 nomes de mercados aprovados para proteger os consumidores de fraudes econômicas.

A fraude na identificação da espécie comercializada é uma prática frequente, tanto no mercado internacional como no mercado brasileiro e consiste na substituição de uma espécie por outra, geralmente de menor valor comercial. Além de ser uma violação ao direito do consumidor, pode apresentar riscos para a saúde, uma vez que certas espécies de peixe contêm proteínas alergênicas. Este trabalho teve como objetivo investigar se a identificação de espécies de pescado,

comercializadas em restaurantes de Maceió nas formas preparada ou processada, está sendo feita de forma correta.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância do pescado no cenário nacional e internacional

O pescado é um alimento que se destaca nutricionalmente quanto à quantidade e qualidade das suas proteínas, à presença de vitaminas e minerais e, principalmente, por ser fonte de ácidos graxos essenciais ômega-3 eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA). O consumo desses lipídios é associado à redução do risco de doenças cardiovasculares e a funções importantes nas fases iniciais do desenvolvimento humano. (SARTORI, 2012). Seu consumo responde por 17% da proteína de origem animal consumida pela população mundial. A OMS (Organização Mundial da Saúde) recomenda o consumo regular de peixe de uma a duas vezes por semana (WHO, 2003).

Em 2012 o ministério da Saúde realizou uma campanha para incentivar o consumo regular de pescado nas famílias brasileiras. Segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2008-09, o consumo anual de peixe do brasileiro é de nove quilos de pescado por habitante ao ano. A meta da campanha era aumentar esse número para 12 quilos por habitante ao ano, que é o recomendado pela OMS.

Segundo dados de aquisição domiciliar do IBGE, por meio da POF 2008-2009, as espécies de peixes mais adquiridas foram pescada, camarão, tambaqui, sardinha em conserva, curimatã, corvina, filés de pescado de espécies não identificadas congelados, sardinha fresca, jaraqui e tainha. Com exceção da sardinha em conserva e dos filés de pescado de espécies não identificadas congelados, as demais foram adquiridas frescas. (SARTORI, 2012).

O mercado pesqueiro tem se tornado uma importante parte da economia nacional também por meio dos restaurantes espalhados pelo país, sejam de frutos do mar, churrascarias ou restaurantes japoneses. Segundo a ABRESI (Associação Brasileira de Gastronomia, Hospedagem e Turismo) a cidade de São Paulo tem mais restaurantes japoneses do que churrascarias e por dia, a capital paulista

produz cerca de 400 mil peças de sushi. (FERREIRA, 2013). Considerando que o sushi também, muitas vezes, faz parte do cardápio das churrascarias.

Estima-se que o Brasil deve registrar um crescimento de 104% na produção da pesca e aquicultura em 2025. O aumento na produção brasileira será o maior registrado na região, seguido de México (54,2%) e Argentina (53,9%) durante a próxima década. O crescimento no país se deve aos investimentos feitos no setor nos últimos anos (FAO, 2016).

Em âmbito global, a produção deve crescer até alcançar 195,9 milhões de toneladas em 2025, um aumento de 17% em comparação a produção de 2013-15, de 166,8 milhões, após 2014 registrar pela primeira vez aumento na produção aquícola para o consumo direto em relação às capturas por pesca (FAO, 2016).

2.2 DNA Barcoding na identificação molecular de espécies

Ao longo do tempo foram propostos inúmeros conceitos de espécie, mas o mais aceito e difundido foi proposto em 1977 por Mayr, que conceitua espécie como agrupamentos de populações naturais intercruzantes, reprodutivamente isoladas de grupos semelhantes.

A identificação de espécies é parte da sistemática e taxonomia, que usava caracteres morfológicos para dividir espécies, a priori, e com o tempo, características moleculares começaram a ser levadas em consideração. Há cerca de 40 anos atrás, a identificação de espécies era realizada pela eletroforese de proteínas em gel de amido e a abordagem com DNA mitocondrial passou a predominar na sistemática molecular nas décadas de 1970 e 1980 (AVISE, 1994 apud ALVES, 2012).

Segundo o Ibol (international barcode of life) em 2003 o grupo de pesquisa de Paul Herbert da Universidade de Guelph publicou o artigo científico "Biological identification through DNA barcodes" chamando a atenção da comunidade científica. Eles propuseram um novo sistema de identificação de espécies usando uma pequena parte do DNA mitocondrial, a citocromo C oxidase subunidade 1 (CO1).

O DNA Barcoding é um método taxonômico que utiliza um marcador genético curto de uma parte padrão do genoma do DNA de um organismo para identificá-lo como pertencente a um indivíduo, raça/cultivar em particular, ou espécie. Representa uma ferramenta essencial para garantir controles de qualidade de alimentos, para garantir rastreabilidade de alimentos, para proteger a saúde pública, minimizar a

pirataria de alimentos e valorizar locais e típicos sistemas de produção agroalimentar (BARCACCIA et al, 2015). Esse fragmento de DNA tem cerca de 650 pares de bases levando em consideração que toda espécie possui uma sequência típica que funciona como um código de barras único. A ideia é a mesma de um código de barras universal de produtos, que emprega 10 números alternados em 11 posições para gerar 100 bilhões de identificadores únicos (HEBERT et al, 2003).

O DNA Barcoding pode ser usado, em ambos, materiais frescos e crus para autenticação, delimitação de espécies e identificação a partir de diferentes partes individuais, onde outros métodos de caracterização geralmente falham. (BARCACCIA et al, 2015).

Para auxiliar melhor nas descobertas sobre o DNA barcoding, foi desenvolvido o Barcode of Life Data Systems (BOLD), uma ferramenta bioinformática onde foi compilado os dados, suportando desde a coleta do espécime à validação da sequência deste como barcode (TRESBACH et al. 2015). Esse banco de dados permite associar outros tipos de dados às amostras tais como: fotos do espécimen (voucher), ponto de coleta, data da coleta e coletor, número do espécimen, instituição na qual foi depositado, dados taxonômicos e informações moleculares (como eletroferogramas das sequências e primers utilizados na amplificação e no sequenciamento) (ALVES, 2012).

Na última década, o DNA Barcoding foi proposto como uma ferramenta universal baseada em DNA para identificação de espécies e autenticação de produtos alimentares processados. A revolução introduzida pelo DNA Barcoding não está apenas no poder de discriminação em si, mas também reside na conjugação de inovações distintas, incluindo a molecularização, a informatização e a padronização da abordagem de identificação (BARCACCIA et al, 2015).

2.3 DNA Mitocondrial

A identificação de espécies pode ser feita através do DNA Ribossomal ou do DNA mitocondrial. O DNA mitocondrial apresenta como vantagem, o fato de ser haplóide e a transmissão geralmente ser materna com ausência de recombinação gênica, tornando-o menos diferenciado entre indivíduos da mesma espécie (TRESBACH et al. 2015).

A estrutura do DNA é circular dupla fita, sendo fechado e compacto, não apresentando macromutações – sua evolução é cerca de 10 vezes mais rápida que a de genes nucleares de cópia única. Esta taxa permite que haja uma maior chance de serem gerados marcadores espécie específicos, o que torna este DNA excelente para a técnica de DNA barcoding (TRESBACH et al. 2015). Dos genes codificadores de proteínas presentes no genoma mitocondrial animal, o uso da subunidade 1 do citocromo C oxidase (cox1 ou COI) foi proposto como um marcador barcode padrão para espécies animais por duas razões principais: os primers universais fazem um fragmento de 648 pares de bases no final 5' desse gene fácil de amplificar em um amplo espectro de filos, e sua taxa de substituição de nucleotídeos permite distinguir não apenas espécies estreitamente relacionadas, mas, em alguns taxa, também populações, biótipos ou raças diferentes da mesma espécie. (BARCACCIA et al, 2015).

2.4 Identificação de fraude no mercado pesqueiro

A fraude na identificação da espécie comercializada é uma prática frequente, tanto no mercado internacional como no mercado brasileiro e consiste na substituição de uma espécie por outra, geralmente de menor valor comercial. Além de ser uma violação ao direito do consumidor, pode apresentar riscos para a saúde, uma vez que certas espécies de peixe contêm proteínas alergênicas. No Brasil esta prática é prevista como crime no Decreto-Lei nº 2.848, de 7 de dezembro de 1940, que diz: Art. 272 - Corromper, adulterar, falsificar ou alterar substância ou produto alimentício destinado a consumo, tornando-o nociva à saúde ou reduzindo-lhe o valor nutritivo: (Redação dada pela Lei nº 9.677, de 2.7.1998). E pode ter pena de reclusão, de 4 (quatro) a 8 (oito) anos, e multa. (BRASIL, 1998).

Na Europa a adulteração de produtos alimentícios para ganho financeiro é proibida. Quando os adulterantes são tóxicos ou alergênicos, podem ocorrer sérias consequências para a saúde pública. Nesse caso, a rotulagem incorreta de alimentos não apenas rouba valor aos consumidores, mas também coloca em risco as pessoas que têm intolerância ou alergia a determinados alimentos ou componentes. (BARCACCIA et al, 2015). A Vigilância de DNA é aplicada atualmente para a identificação das cerca de 90 espécies de baleias, golfinhos e botos (ordem dos cetáceos), utilizando sequências da região controle do DNA mitocondrial e do

gene do citocromo b. O programa tem sido usado com sucesso na rotina, para identificação de espécies da "carne de baleia", em pesquisas de mercado feitas no Japão e na Coreia (Endo et al., 2005; Baker et al., 2006 apud ALVES, 2012). Os Estados Unidos mantêm o registro de 93 nomes de mercados aprovados para proteger os consumidores de fraudes econômicas.

Um peixe muito comum em restaurantes, principalmente de culinária japonesa, é o Salmão. Sendo um peixe migratório típico das águas frias do norte da Eurásia e da América, vive no oceano pacífico e volta à água doce para se reproduzir, contribuindo assim para sua pesca. Com a intervenção humana nos processos ambientais a pesca do Salmão passou a ser prejudicada e o mesmo começou a ser produzido em cativeiro. Apesar de ser originário do Hemisfério Norte, das regiões à beira do Ártico, hoje seu cultivo é um sucesso abaixo da linha do Equador, em especial no litoral do Chile. Segundo a Seafood Brasil, de julho de 2015 a junho de 2016 importamos 89 352 toneladas, sendo 87 951 de berço chileno. (PEREIRA, 2017).

É importante salientar que a cor vermelha do salmão é derivante de um pigmento chamado astaxantina, encontrado em algas e organismos unicelulares consumidos por camarões do mar, que são parte da dieta do salmão. A astaxantina (3,3'-dihidroxi-beta,betacaroteno-4,4'-diona) é um pigmento carotenóide oxigenado, que confere a característica de coloração rosa-avermelhada de alguns peixes, crustáceos, aves e micro-organismos, apresentando forte atividade de eliminar radicais livres e proteger contra peroxidação de lipídios e danos causados pela oxidação das membranas celulares e tecidos (FERREIRA et al., 2014). No mercado pesqueiro, a adição de pigmentos como a astaxantina, é uma das principais formas de substituição de peixes de menor valor comercial por salmão, por exemplo, vendidos de forma filetada ou processada, o que dificulta ainda mais sua identificação.

No trabalho de ALVES (2012), o qual coletou amostras de diversos estabelecimentos (supermercados, restaurantes e lanchonetes) da região sudeste do Brasil, nos anos de 2010-2012, constatou-se que "Para o grupo de Merluza, Traíra, Salmão e Panga foram identificadas outras espécies que não são correspondentes com as comercializadas. Entre as amostras de Salmão, o grupo com a maior amostragem (n=52), foram identificadas as espécies: *Salmo salar*

(Salmão do Atlântico) (n=45), *Oncorhynchus keta* (Salmão Cão) (n=3), *Oncorhynchus mykiss* (Truta arco-iris) (n=2), *Oncorhynchus gorbuscha* (Salmão Rosa) (n=1) e *Oncorhynchus kisutch* (Salão Prateado) (n=1).”

A regulamentação do mercado pesqueiro, assim como sua fiscalização é de extrema importância tanto para o direito do consumidor como para a saúde pública.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Verificar se a identificação de espécies pescado, comercializadas em restaurantes de Maceió nas formas preparada ou processada, está sendo feita de forma correta.

3.2 Objetivos Específicos:

- Fazer a identificação genética de amostras de peixe comercializado na forma preparada em restaurantes, utilizando a técnica de DNA barcoding.
- Verificar se a espécie informada no cardápio corresponde à espécie identificada pela técnica de DNA barcoding.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta das amostras

Foi coletado um total de 40 amostras de pescado, representadas na tabela 1 abaixo, as quais foram adquiridas em diferentes restaurantes de Maceió, vendidas em sua maioria na forma de sushi, nos anos de 2017 a 2019. Das quais 30 (trinta) foram comercializadas como Salmão; 6 (seis) como Atum; 1 (uma) como Arabaiana; 1 (uma) como Peixe-prego; e 1 (uma) como Dourado. Os restaurantes onde foram coletadas as amostras foram escolhidos de forma aleatória, sem levar em conta localização geográfica e/ou classe social.

Tab. 1 - Quantificação das amostras de acordo com o nome informado pelo estabelecimento.

Amostra (nome identificado na hora da aquisição)	Quantidade
SALMÃO	31
ATUM	6
ARABAIANA	1
PEIXE-PREGO	1
DOURADO	1

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

As amostras foram armazenadas em microtubos de 2ml, etiquetadas e congeladas para assim serem preservadas.

4.2 Extração do DNA

O DNA foi extraído das nove primeiras amostras, usando um protocolo de extração orgânica com Fenol/Clorofórmio seguida de precipitação com Isopropanol/Etanol, sendo que para as demais amostras foi feita utilizada a metodologia de extração com Chelex segundo Estoup et al. (1996).

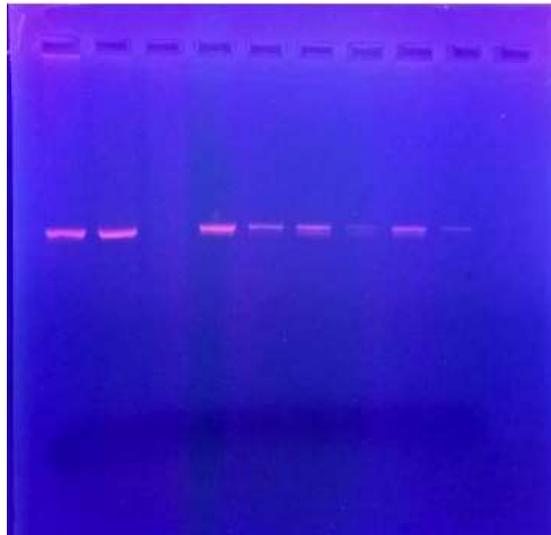
4.3 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

Após a extração foi feito a PCR em reações contendo 200 μ M de dNTPs, 1,5 mM de MgCl₂, 1,25 μ g/ μ l de BSA e 2,5 μ l de tampão PCR 10X (Tris-HCl 200 mM – pH 8,0, KCl 500 mM), 0,8 μ M de primers, 1 U de Platinum® Taq DNA Polimerase (Invitrogen) e 4 μ l de DNA em um volume final de 25 μ l. O protocolo de termociclagem consistiu em 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30 s, 52°C por 40 s e 72°C por 1 min, seguidos por 1 min a 72°C.

4.4 Gel de Agarose e purificação das amostras

Foi feita eletroforese em gel de agarose, a 2% concentrado e corado com brometo de etídio, para confirmação do sucesso da amplificação do DNA (Figura 1). Os produtos de PCR foram purificados por precipitação com Isopropanol e lavagem com Etanol, para remoção de primers e de dNTPs não incorporados.

Figura 1 – Fragmentos de DNA amplificado por PCR, visualizados em gel de agarose (2%), corado com brometo de etídio.



Fonte: Foto tirada pela autora, 2020.

4.5 Sequenciamento das amostras e análise das sequências

O sequenciamento das amostras foi feito com o Kit Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA), sendo utilizado o protocolo recomendado pelo fabricante, modificando-se apenas o número de ciclos de termociclagem que foi aumentado para 45 ciclos. A concentração de cada primer na reação de sequenciamento foi 0,2 μ M.

Para a identificação da espécie utilizou-se a ferramenta Nucleotide Basic Local Alignment Tool (BLASTnt), para a busca no GenBank por sequências que apresentassem similaridade com a sequência obtida. Foi considerada bem-sucedida a identificação quando a sequência obtida apresentou 99% de similaridade com as sequências depositadas no GenBank.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 40 (quarenta) amostras que foram coletadas, 37 (trinta e sete) foram sequenciadas com sucesso, sendo possível fazer a identificação da espécie. As outras 3 (três) amostras apresentaram sequência com baixa qualidade, portanto, não puderam ser usadas para verificação de dados relacionados a substituições no mercado pesqueiro Maceioense. Dentre as 37 amostras identificadas, 5 (cinco) não apresentaram concordância entre a espécie verificada e a espécie informada, tipificando a ocorrência de substituição. A relação de amostras, espécie informada e verificada se encontra na tabela 2 abaixo, as substituições estão encontradas em vermelho.

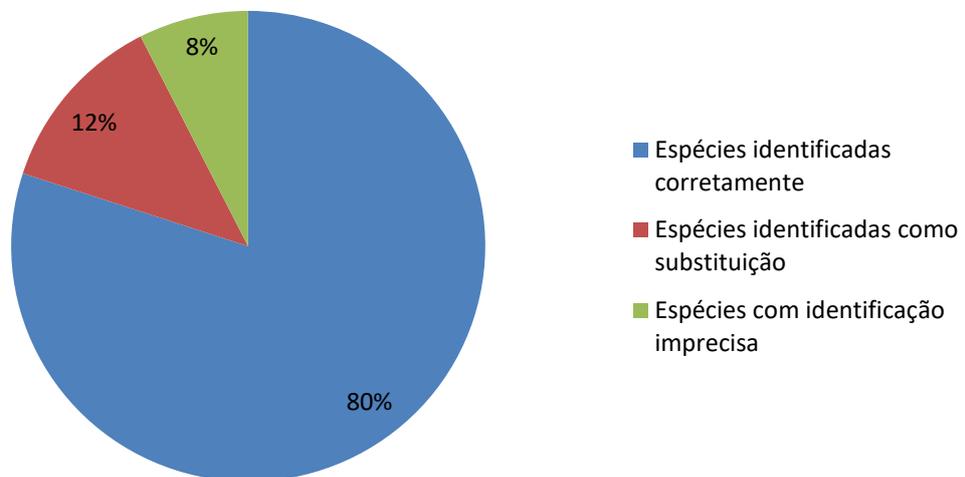
Tab. 2–Resultado do sequenciamento e análise das amostras, assim como das substituições encontradas. Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

AMOSTRA	ESPÉCIE INFORMADA	ESPÉCIE VERIFICADA	NOME VULGAR
R1	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R2	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R3	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R4	ATUM	<i>Thunnus albacares</i>	Atum
R5	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R6	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R7	ARABAIANA	<i>Seriola Lalandi</i>	Arabaiana
R8	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R9	DOURADO	<i>Thunnus alalunga</i>	Atum
R10	SALMÃO	<i>Thunnus alalunga</i>	Atum
R11	ATUM	<i>Thunnus albacares</i>	Atum
R12	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R13	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R14	SALMÃO	<i>Samo salar</i>	Salmão
R15	ATUM	<i>Thunnus albacares</i>	Atum
R16	ATUM	<i>Thunnus sp.</i>	Atum
R17	SALMÃO	<i>Thunnus albacares</i>	Atum
R18	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R19	PEIXE-PREGO	<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>	Escolar preto
R20	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R21	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R22	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R23	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R24	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R25	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R26	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R27	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R28	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R29	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R30	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R31	ATUM	<i>Thunnus albacares</i>	Atum
R32	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R33	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R34	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R35	ATUM	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R36	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R37	SALMÃO	<i>Salmo salar</i>	Salmão
R38	SALMÃO	Sem identificação precisa	
R39	SALMÃO	Sem identificação precisa	
R40	SALMÃO	Sem identificação precisa	

A quantificação amostral pode ser observada em porcentagem no gráfico 1 abaixo. A taxa de substituição observada no mercado pesqueiro corresponde a 12% num período de dois anos de pesquisa (agosto de 2017 a julho de 2019). A espécie com mais substituições foi o salmão, o que pode estar diretamente relacionado ao fato de ser esta a espécie com maior quantidade de amostras (28) no presente estudo, uma vez que é muito usada em restaurantes de sushi. Outro fator a ser considerado é o de ser, o salmão, uma espécie de alto valor comercial.

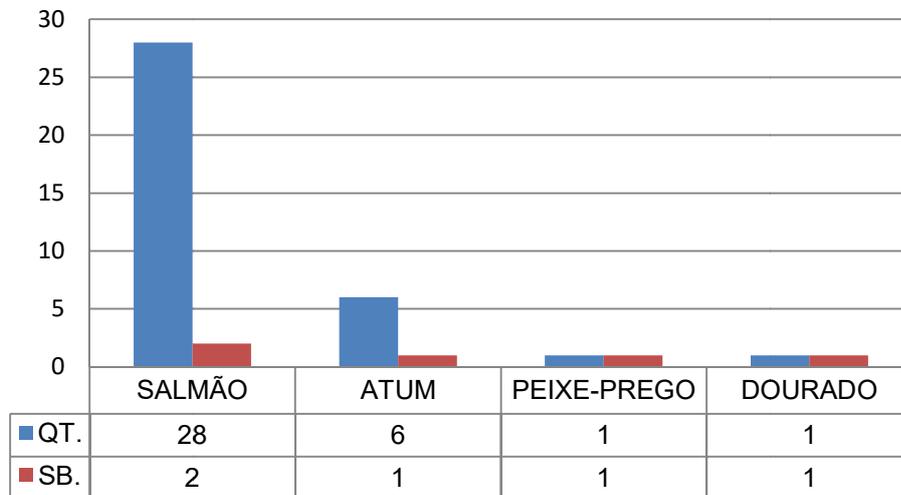
As demais espécies ainda apresentam resultado preocupante, haja vista que sendo representadas por uma pequena quantidade de amostras, apresentaram substituição. Por exemplo, verificou-se substituição nos peixes vendidos como Dourado e Peixe-prego, apesar de terem apenas uma amostra coletada para cada uma destas espécies. A relação entre a quantidade de espécies sequenciadas e suas substituições podem ser verificada no gráfico 2 abaixo.

Gráfico 1 - Porcentagem de substituições de peixes em restaurantes de Maceió.



Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Gráfico 2 - Relação entre a quantidade total (QT.) de amostras sequenciadas e as substituições (SB.) encontradas.



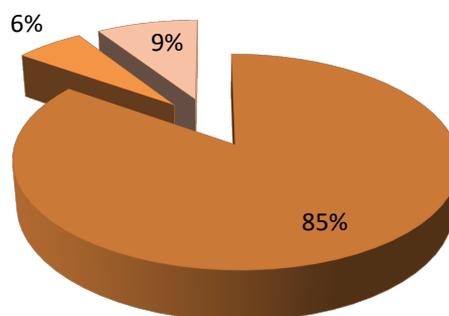
Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

As taxas de substituição por espécie podem ser verificadas nos gráficos abaixo (gráficos 3, 4, 5 e 6), levando em consideração não apenas as amostras que obtiveram sucesso no seqüenciamento, mas também as amostras com seqüência indeterminada.

Gráfico 3 - Taxa de substituições de Salmão em restaurantes de Maceió.

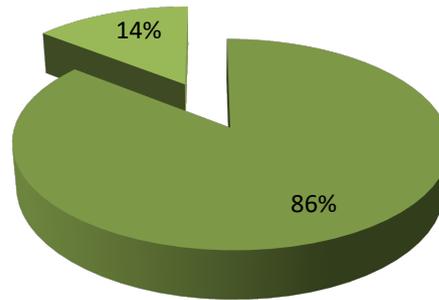
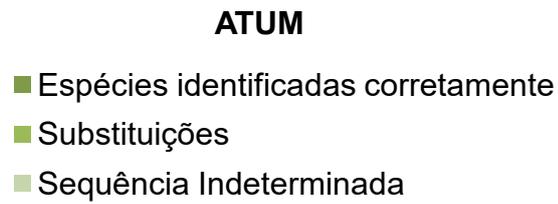
SALMÃO

- Espécies identificadas corretamente
- Substituições
- Sequência Indeterminada



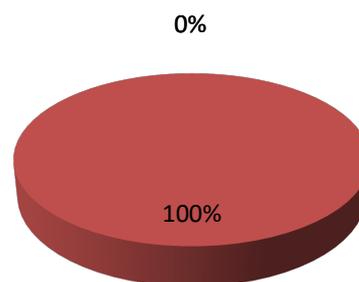
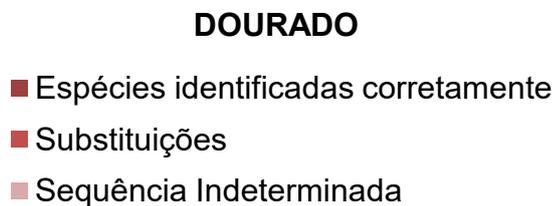
Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Gráfico 4 - Taxa de substituições de Atum em restaurantes de Maceió.



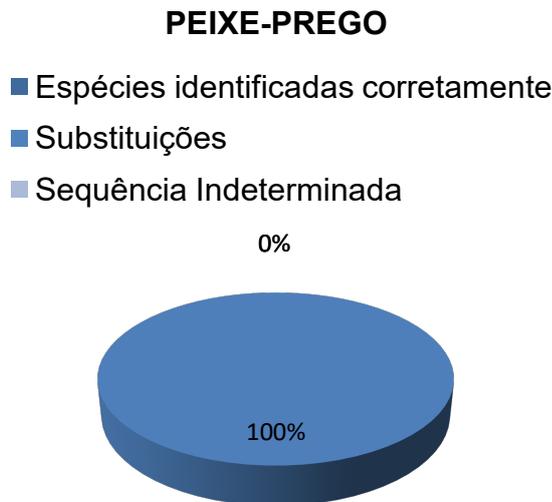
Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Gráfico 5 - Taxa de substituições de Dourado em restaurantes de Maceió.



Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Gráfico 6 - Taxa de substituições de Peixe-prego em restaurantes de Maceió.



Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

Mesmo a taxa de substituição em restaurantes de Maceió sendo de 12% em dois anos de coleta de amostras e sequenciamento, está bem abaixo do que foi observado em estudos prévios reportados por Willette et al. (2017) que aponta que a taxa de substituições pode chegar a mais de 70%.

No trabalho de ALVES (2012), na região sudeste do Brasil, o peixe com mais substituições foi a Merluza, com 70% de substituição entre as amostras analisadas, seguido do bacalhau com 63% de substituição. Já o Salmão apresentou uma taxa de 4% de substituição, diferente do mercado de Maceió, onde apresenta uma taxa de 6% de substituição. No trabalho de STAFFEN (2015) a taxa de substituição do Salmão chegou a 5% em Florianópolis.

O salmão (*Salmo salar*) é um peixe de alto valor comercial e seu comércio deve ser monitorado constantemente, já que fraudes, por parte dos comerciantes, podem ser facilmente realizadas colocando outra espécie, como a truta salmonada, que apresenta características morfológicas e sensoriais semelhantes às do salmão (Vallandro, 2010 apud ALVES 2012).

Apesar de uma taxa total baixa, é importante que haja a fiscalização desses estabelecimentos, uma vez que pode haver propriedades alergênicas em determinados peixes, que podem provocar uma reação grave no consumidor.

Também deve ser considerada uma fiscalização direta aos supermercados e pisciculturas, que podem ser a origem das substituições.

6 CONCLUSÃO

Considerando a literatura e estudos realizados em outras cidades e estados do Brasil a taxa de substituição no mercado pesqueiro de Maceió, mais especificamente em restaurantes, é relativamente baixa, mas não é inexistente. Essa prática além de lesiva aos direitos do consumidor pode apresentar riscos para a saúde, uma vez que certas espécies de peixe contêm proteínas alergênicas. No Brasil esta prática é prevista como crime no Decreto-Lei nº2.848, de 7 de dezembro de 1940, que diz: Art. 272 - Corromper, adulterar, falsificar ou alterar substância ou produto alimentício destinado a consumo, tornando-o nociva à saúde ou reduzindo-lhe o valor nutritivo: (Redação dada pela Lei nº 9.677, de 2.7.1998). E pode ter pena de reclusão, de 4 (quatro) a 8 (oito) anos, e multa. (BRASIL, 1998). Devem ser tomadas as medidas de segurança e fiscalização para que a qualidade dos serviços oferecidos nos estabelecimentos cresça e os riscos de fraude diminuam, também deve haver a fiscalização nos supermercados e pisciculturas, podendo ser eles as origens das substituições.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, D. Detecção de adulteração de espécies em pescado e derivados por meio da técnica de DNA Barcoding. Belo Horizonte: UFMG, 2013.

BARCACCIA, G. Et al. DNA Barcoding as a Molecular Tool to Track Down Mislabeling and Food Piracy. *Diversity* 2016, 8, 2; doi:10.3390/d8010002, 2015. 2-16 P.

BLOG DA SAÚDE, Ministério da Saúde. Governo Federal incentiva o consumo regular de peixe. 2012. Disponível em: <<http://www.blog.saude.gov.br/index.php/promocao-da-saude/31008-governo-federal-incentiva-consumo-regular-de-peixe>> acesso em: 25 mai. 2020.

BRASIL. LEI Nº 9.677, DE 2 DE JULHO DE 1998. Altera dispositivos do Capítulo III do Título VIII do Código Penal, incluindo na classificação dos delitos considerados hediondos crimes contra a saúde pública, e dá outras providências. Brasília, DF, jul 1998.

ESTOUP, A. et al. Rapidone-tube DNA extraction for reliable PCR detection of fish polymorphic markers and transgenes. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, v. 5, p. 295-298, 1996.

FAO – Novo relatório da FAO aponta que produção da pesca e aquicultura no Brasil deve crescer mais de 100% até 2025 - 2016 SOFIA. Disponível em: <<http://www.fao.org>> acesso em: 27 mai. 2020.

FERREIRA, A. SP tem mais sushi do que churrasco; veja franquias de comida oriental. 2013. Disponível em: <<https://economia.uol.com.br/noticias/redacao/2013/06/28/franquias-de-comida-oriental-faturam-r-400-milhoes-em-um-ano-veja-opcoes.htm>> acesso em: 27 mai. 2020.

FERREIRA, M. M.;ZAMITH, H. P. S.;ABRANTES, S. Astaxantina: seu uso como corante natural alimentício. *Ver. Inst. Adolfo Lutz*. São Paulo, 2014; 73(1):1-8.

GONÇALVES, P. O potencial do DNA Barcode na identificação de espécies de aves neotropicais. São Paulo: USP, 2009.

HERBERT et al. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal*. 2003 2-9 P.

IBOL (International Barcode of Life), disponível em: <ibol.org>. Acesso em: 19/01/2019.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/educacao/9050-pesquisa-de-orcamentos-familiares.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 20 mai. 2020.

KOSMANN, C. Código de barras (DNA Barcode) de dípteros de interesse forense. Curitiba: UFPR, 2009.

PEREIRA, C. Salmão: que peixe é esse? 2017. Disponível em: <<https://saude.abril.com.br/alimentacao/salmao-que-peixe-e-esse/>> acesso em: 29 mai. 2020.

SARTORI, Alan. AMANCIO, Rodrigo. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, 19(2): 83-93, 2012

STAFFEN, Mari Dalva. USO DA TÉCNICA MOLECULAR DNA BARCODE NA IDENTIFICAÇÃO DE SUBSTITUIÇÕES FRAUDULENTAS DE PESCADOS COMERCIALIZADOS EM RESTAURANTES DE CULINÁRIA JAPONESA DE FLORIANÓPOLIS/ SC, 2015.

TREBACH, R. H. et al. DNA BARCODING: UMA FERRAMENTA DE APOIO MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE PEIXES. *Marechal Cândido Rondon*, v. 14, n. 2, abr./jun., p. 77-81, 2015.

WILLETE et al. Using DNA barcoding to track seafood mislabeling in Los Angeles restaurants. *Conservation Biology*, 2017, DOI: 10.1111/cobi.12888 V. 31 P. 1076-1085.

WHO. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. *WHO Technical Report Series 916*, 2003.