

LÍLIAN MARIA NERY DE BARROS GÓES

**Uso do metabissulfito de sódio na pós-colheita do camarão marinho
Litopenaeus vannamei (Boone, 1931).**

RECIFE, 2005

LÍLIAN MARIA NERY DE BARROS GÓES

**Uso do metabissulfito de sódio na pós-colheita do camarão marinho
Litopenaeus vannamei (Boone, 1931).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura.

Orientador:

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes

Co-orientadora:

Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes

RECIFE, 2005

Ficha catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

G598u Góes, Lílian Maria Nery de Barros
Uso do metabissulfito de sódio na pós-colheita do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) / Lílian Maria Nery de Barros Góes. -- 2005.
83 f. : il., tabs.

Orientador: Paulo de Paula Mendes
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Pesca e Aqüicultura.
Referências

CDD 639.543

1. *Litopenaeus vannamei*
 2. Metabissulfito de sódio
 3. Dióxido de enxofre
 4. Camarão
- I. Mendes, Paulo de Paula
 - II. Título

**Uso do metabissulfito de sódio na pós-colheita do camarão marinho
Litopenaeus vannamei (Boone, 1931).**

Por: LÍLIAN MARIA NERY DE BARROS GÓES

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de

Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

E aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura.

Dra. Maria Raquel Moura Coimbra
(Coordenadora do PPG-RPAq)

Banca Examinadora:

Orientador: _____
Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes
Orientador

Examinador: _____
Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes
Co-orientadora

Examinador: _____
Prof. Dr. Eudes de Souza Correia

Examinador: _____
Prof. Dr. Walter Moreira Maia Júnior

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, **Lucilo Mauro de Barros Góes** (*in memoriam*) que sempre guiou meus passos, mesmo distante, e nunca me deixou fraquejar.

À minha mãe, **Lucinda Raquel Nery de Barros Góes**, por ser meu referencial de força e dignidade, sempre me impulsionando para maiores conquistas.

Às minhas sobrinhas, **Joana Góes e Raquel Góes**, que encheram minha vida de amor e felicidade.

A **Rodrigo José Delgado Jardim**, que se fez presente em minha vida como fonte de inspiração e alegria.

À minha família pelo incentivo e apoio durante todo curso.

AGRADECIMENTOS

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram na realização deste trabalho e de forma especial:

- A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Departamento de Pesca e Aqüicultura, Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura, pelos ensinamentos na área da aqüicultura;

- A CAPES pelo fornecimento da bolsa de estudo e a FINEP pelo auxílio financeiro ao projeto de pesquisa, através do programa RECARCINE;

- Ao Laboratório de Inspeção de Carne, Leite e Derivados do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, na pessoa da Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes, pelo uso de suas instalações para a realização da parte experimental deste trabalho;

- Ao Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), na pessoa da Profa. Dra. Nonete Guerra por permitir o uso do Laboratório de físico-química, para a realização de análises de detecção de SO₂ residual;

- Aos Professores Dr. Paulo de Paula Mendes e Dra. Emiko Shinozaki Mendes, pela orientação e co-orientação, respectivamente, no presente trabalho e principalmente, pela atenção e apoio que nos dispensou durante todo o período do curso sempre incentivando e acreditando no nosso potencial;

- Ao Professor Dr. Alfredo Olivera Gálvez, pelo auxílio na captação de recursos juntamente com a FINEP (RECARCINE), imprescindíveis para realização da pesquisa e pelo apoio e incentivo durante todo o curso;

- A todos os professores e funcionários que fazem o Departamento de Pesca e Aqüicultura da UFRPE, em especial aos Professores Dr. Eudes de Souza

Correia, Dr. William Severi, Dra. Maria Raquel Coimbra, Dra. Maria do Carmo e Dr. José Milton pelo ensinamentos, apoio e colaboração durante todo o curso;

- Aos Químicos técnicos do Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos (LEAAL) da UFPE, Sebastião Camilo de Melo Filho, Msc. Arthur Bibiano de Melo Filho, pela orientação e auxílio na realização das análises;

- A Tabatinga Aquacultura Ltda, na pessoa do proprietário Sr. Cláudio Moreira da Cunha Rabelo por toda a infraestrutura da referida carcinicultura disponibilizada;

- A Médica Veterinária Karla Patrícia Vieira, pela participação ativa em todas as fases da pesquisa, desde a realização das análises até a conclusão do trabalho escrito;

- As Médicas Veterinárias Jacqueline S. Guimarães, Monique Monteiro Pinto, Roseli Pimentel P. e Silva, Suely Santos Bezerra e Sumaya Emília M. Paulino e às Biólogas Beatriz Regina Brito de Oliveira e Cristiane M^a de F. Ribeiro pela participação efetiva, desde a coleta das amostras até a realização das análises;

- Aos alunos do curso de graduação em Medicina Veterinária da UFRPE Paulo César Nunes P. do Rêgo, Priscila Daniella M. de Lima, Leonardo Gadelha M. de M. Filho e Simone Francisca de Lira, pelo auxílio na coleta das amostras e nas análises laboratoriais.

- A Luciana Góes pelo auxílio nas traduções e construção do *abstract* do presente trabalho.

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1	Via de síntese da melanina e esclerotina adaptado por Napp e Vass (1993)..... 24
FIGURA 2	Tratamentos com metabissulfito de sódio: A – Infra-estrutura experimental na fazenda; B - Homogeneização do conservante; C - Tratamento com os cinco lotes referentes aos tempos de exposição; D - Drenagem de água da amostra..... 37
FIGURA 3	Acondicionamento das amostras: A - Armazenamento da amostra em sacos plásticos íntegros; B - Caixa térmica individual com gelo reciclável; C - Amostra acondicionada em caixa térmica; D - Armazenamento das amostras em congelador doméstico..... 38
FIGURA 4	Fluxograma do experimento..... 39
FIGURA 5	Destilação e titulação seguindo o método Adolfo Lutz adaptado: A - Equipamento de destilação; B e C – Viragem da coloração da solução de indicadores; D e E – Titulação da solução com NaOH a 0,1N até a viragem para coloração inicial..... 41
FIGURA 6	Preparo da amostra para titulação iodométrica a frio: A – Camarão sendo triturado com tesoura; B – Camarão triturado..... 42
FIGURA 7	Processamento das amostras segundo o método da titulação iodométrica a frio: A – Solução de camarão e água destilada durante 10 minutos de descanso; B – Titulação da amostra com solução de iodo e bicarbonato N/63 até a viragem para coloração azulada..... 43
FIGURA 8	Método da fita reativa: A - Kit Merckoquant para teste com sulfitos; B – Imersão da fita reativa na solução de água destilada e camarão..... 43
FIGURA 9	Leitura da fita reativa para sulfitos seguindo a escala do fabricante..... 44
FIGURA 10	Amostras em rede de <i>nylon</i> para exposição durante 10 e 20 minutos..... 46
FIGURA 11	Placas com desenvolvimento microbiano, em Ágar MacConkey, prontas para contagem 46

FIGURA 12	Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (modelo 1).....	50
FIGURA 13	Relação entre a concentração de SO ₂ residual e as concentrações de metabissulfito de sódio nos tempos exposição de 10 minutos (A); 15 minutos (B); 20 minutos (C); 25 minutos (D) e 30 minutos (E) na análise de camarões resfriados.....	51
FIGURA 14	Curva de calibração dos três métodos de detecção para a concentração 100 ppm de SO ₂ residual.....	56
FIGURA 15	Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (modelo 2).....	60
FIGURA 16	Relação entre a concentração de SO ₂ residual e as concentrações 1, 2, 3 e 4% de metabissulfito de sódio nos tempos exposição de 10 minutos (A); 15 minutos (B); 20 minutos (C); 25 minutos (D) e 30 minutos (E) durante os 30 dias de congelamento.....	61
FIGURA 17	Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (modelo 3).....	68
FIGURA 18	Relação entre o número de unidades formadoras de colônias e as concentrações de metabissulfito de sódio e os tempos de exposição nos camarões.....	69

LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1 Escala usada para descrever e padronizar a ocorrência de melanose em camarões (adaptado do Code Federal Regulations - USA).....	26
TABELA 2 Percentual do SO ₂ livre em diversos pHs.....	53
TABELA 3 Resultados de análises de SO ₂ em camarão pitu (<i>Macrobrachium carcinus</i>) de tamanhos variados:.....	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1 Período e local.....	36
4.2 Tratamentos com metabissulfito de sódio.....	36
4.3 Quantidade e processamento das amostras.....	38
4.4 Método adaptado da titulação de SO₂ para suco.....	40
4.5 Método da titulação iodométrica a frio.....	42
4.6 Método da fita reativa.....	43
4.7 Teste de susceptibilidade antimicrobiana.....	44
4.8 Análise de dados.....	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Concentrações de SO₂ residual em função da concentração de metabissulfito de sódio, do tempo de exposição e dos métodos de detecção.....	49
5.1.1 Curva de calibração entre os métodos da fita reativa (MFR), titulação Adolfo Lutz adaptada (MTAL) e titulação iodométrica a frio (MTIF).....	56
5.2 Avaliação da concentração de SO₂ residual em relação ao tempo de armazenamento nas concentrações 1, 2, 3 e 4% de metabissulfito de sódio.....	59
5.3 Avaliação do teste de susceptibilidade antimicrobiana.....	67
6 CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS.....	73

RESUMO

Na aquicultura mundial, a carcinicultura tem se destacado como uma atividade de grande rentabilidade, contribuindo para o crescimento econômico do agronegócio. No Brasil, a atividade apresenta excelente desempenho, mobilizando grandes investimentos e gerando empregos principalmente na região Nordeste, cuja produção em grande parte é destinada às exportações. Neste contexto, a qualidade do produto assume importância fundamental, sendo necessário o uso de aditivos. O metabissulfito de sódio é o conservante de maior aplicação na carcinicultura atuando como agente inibidor do oxigênio molecular, impedindo a reação de melanose. Desta forma, objetivou-se contribuir para a diminuição do teor residual deste conservante em camarões cultivados destinados ao mercado externo e interno. Camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* de classificação 81/100, foram submetidos a dez concentrações de metabissulfito de sódio (de 1 a 10%) durante cinco tempos de exposição (10, 15, 20, 25 e 30 min) buscando-se estabelecer a relação entre a concentração do conservante e tempo de imersão dos camarões. Avaliaram-se também os diferentes métodos de mensuração da concentração de SO₂ nos camarões e os níveis residuais de SO₂ nos camarões congelados, durante o período de 1 mês. Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando-se modelos lineares múltiplos. As concentrações de metabissulfito, acima de 4% excederam os limites máximos permitidos pela legislação vigente para camarão resfriado e congelados (100 ppm de SO₂ residual) estando inapropriadas para utilização na prática. Os camarões submetidos à concentração 1% apresentaram boa conservação durante os 20 primeiros dias, todavia após este período foi detectado início de melanose. As concentrações 2 e 3% conservaram adequadamente o produto pelo período de 30 dias, com níveis de SO₂ satisfatórios. O tempo de armazenamento não influenciou significativamente ($P < 0,05$) nos níveis de sulfito. O método da titulação Adolfo Lutz adaptado apresentou grande sensibilidade para detecção de sulfitos livres e combinados, não ocorrendo o mesmo com os métodos da titulação iodométrica a frio e da fita reativa, em ordem de sensibilidade para sulfitos livres. A ação antimicrobiana foi diretamente proporcional à concentração do conservante. Conclui-se que as concentrações de metabissulfito de sódio atualmente utilizadas na prática estão excessivamente altas, ocasionando desperdício de conservante e capital na produção e gerando elevados níveis de SO₂ nos camarões.

Palavras-chaves: *Litopenaeus vannamei*, metabissulfito de sódio, dióxido de enxofre, camarão.

ABSTRACTS

In the aquaculture world, the shrimp culture has outstanding an activity of great profitability, contributing to the economical growth of the agribusiness. In Brazil, the activity presents excellent acting, mobilizing great investments and generating jobs mainly in the Northeast area, whose production is largely destined to the exports. In this context, the quality of the product assumes fundamental importance, being necessary the use of additive. Sodium metabisulphite is the conservator of larger application in the shrimp culture acting as inhibiting agent of the oxygen molecular, stopping the melanose's reaction. Shrimps of the species *Litopenaeus vannamei* of classification 81/100, were submitted to 10 concentrations of sodium metabisulphite (from 1 to 10%) for 5 times of exhibition (10, 15, 20, 25 and 30 min) aiming to establish the relationship between the concentration of the conservator and time of shrimp immersion. It was also evaluated the different methods of measure of the SO₂ concentration in the shrimps and the SO₂ residual levels in the frozen shrimps, during the period of one month. Statistical analyzed results were being used multiple lineal models. The metabisulphite concentrations, above 4% exceeded the maximum limits allowed by the effective legislation for cooled and frozen shrimp (100 ppm of SO₂ residual) being inappropriate for use in practice. The shrimps submitted to the 1% concentration presented good conservation during the first 20 days, though after this period melanose's beginning was detected. The concentrations 2 and 3% conserved the product appropriately for the period of 30 days, with satisfactory SO₂ levels. The time of storage didn't influence significantly (P <0,05) in the sulphite levels. The method of the adapted titration Adolfo Lutz presented great sensibility for detection of free and combined sulphites, not happening the same with the methods of the cold titration iodométric and the bandelettes analytiques, in sensibility order for free sulphites. The action bactericide was directly proportional to the concentration of the conservator. It is ended that the concentrations of sodium metabisulphite now used in practice they are excessively discharges, causing conservator and capital waste in the production and generating high SO₂ levels in the shrimps.

Key words: *Litopenaeus vannamei*, sodium metabisulphite, sulfur dioxide, shrimp.

1 INTRODUÇÃO

O camarão marinho cultivado, nos últimos três anos, vem se destacando como um dos principais responsáveis pelo superávit da balança comercial do pescado brasileiro. De acordo com Rocha (2004), o total de US\$ 210,47 milhões foi o valor alcançado com as exportações do camarão brasileiro cultivado, no período de janeiro a novembro de 2003, representando mais da metade de toda a exportação do setor de pescado do país.

Segundo Rocha; Rodrigues; Amorim (2004), a produção mundial de camarão no ano de 2003 chegou a 1.630.000 t e o volume anual, envolvendo captura e cultivo, foi 4.630.000 t. No Brasil, a produção de camarão cultivado foi 90.190 t em 2003 e o valor das divisas captadas em 2002/2003 (mais de US\$ 155 milhões respectivamente) posicionou o produto em segundo lugar na pauta das exportações do setor primário da região Nordeste, ficando atrás apenas da tradicional cana-de-açúcar.

Sales et al. (2005) relataram a produção de 80.000 t de camarão cultivado no Brasil em 2004 (10.000 t a menos que o ano anterior), relacionando este resultado com a queda das exportações impostas pelas barreiras comerciais e com o surgimento de doenças. Contudo, os autores afirmaram que há expectativa de crescimento para a atividade em 2005.

Dada a importância econômica do camarão, principalmente para região Nordeste, a manutenção deste quadro deve ser priorizada. Neste contexto, a qualidade do produto deve assumir importância fundamental, sendo para isto necessário o uso de aditivos. Apesar da utilização de conservantes ser regulamentada por lei, limites máximos estão estabelecidos, visando a segurança

alimentar. Quando em excesso, os conservantes podem ocasionar reações adversas e até morte em consumidores sensíveis, como é o caso dos sais de sulfito e por isso há obrigatoriedade de sua discriminação, em rótulos e/ou embalagens, quanto a sua presença e quantidade.

Em camarões, o metabissulfito de sódio é utilizado para evitar o aparecimento de pontos pretos (*black spot* ou melanose). Segundo Perazzolo (1994), a melanose é consequência de uma reação enzimática oxidativa ocasionada pela enzima tirosinase ou fenoloxidase (PO). Essa reação ocorre no exoesqueleto do camarão, podendo atingir a musculatura, mas não ocasiona perda da qualidade no aspecto nutricional, tampouco indica contaminação microbiológica do produto. Todavia, acarreta perda da qualidade no que diz respeito à sua apresentação.

Na produção de camarão marinho em cativeiro a adição do metabissulfito de sódio é realizada no momento da despesca. Nessa fase, os camarões são submetidos ao choque térmico e imediatamente após ou concomitantemente são expostos a uma solução de água, gelo e conservante. O objetivo desse tratamento visa à eliminação do oxigênio (O_2), possibilitando a drástica redução no escurecimento do produto e na formação da melanose.

Como produto da reação do metabissulfito de sódio em meio ácido tem-se o dióxido de enxofre (SO_2), que é um gás incolor, não inflamável de odor sufocante que pode ocasionar crises de asma em indivíduos sensíveis. Reações cutâneas (urticárias), diarréias, choque anafilático, dores de cabeça, dores abdominais, náuseas e tonturas também são sintomas que podem ser acarretados pelos sulfitos.

Dentre os sulfitos, o metabissulfito de sódio é o composto de maior estabilidade e que dispõe de maior quantidade de SO_2 quando diluído em água, sendo desta forma o produto mais indicado para o tratamento do camarão.

As concentrações de metabissulfito de sódio e o tempo de exposição dos camarões à solução com conservante são muito variáveis, não existindo nenhuma padronização para esta prática. Variações de concentrações de 1,25 a 9,00% e tempos de exposição de um a 30 minutos são relatados como suficientes. Essa realidade ameaça a sustentabilidade da atividade em relação às perdas econômicas (desperdício do conservante e rejeição do lote) e comprometimento da qualidade do produto. Contudo, a super utilização do conservante (4 ou 5 vezes além da real necessidade) deve ser evitada, em prol da minimização de gastos desnecessários na produção e da necessidade de desvio de linha e/ou lavagens subseqüentes do produto nas unidades de beneficiamento.

Os países importadores do camarão brasileiro possuem exigências diferenciadas quanto à concentração de SO_2 residual em camarões frescos e congelados. Silva (1988) alertou que o procedimento preconizado pelo FDA é a rejeição de todo lote quando uma das amostras analisadas apresenta valores de SO_2 residual superiores a 100 ppm. Evidenciá-se assim, a necessidade de condicionar concentração e tempo de exposição, com os limites tolerados. Além disso, também são necessários estudos que visem aperfeiçoar sua aplicação de forma segura, buscando métodos de detecção de baixo custo e fácil manipulação, com obtenção de resultados confiáveis. Para isso, faz-se necessária a determinação de uma relação ótima entre o tempo de exposição e a concentração do conservante, assim como o estabelecimento de um método de fácil aplicação e baixo custo.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

- Aperfeiçoar o processo de aplicação do conservante metabissulfito de sódio em camarões marinhos cultivados (*Litopenaeus vannamei*) resultando em concentrações mínimas e suficientes do teor residual deste conservante no produto final.

Objetivos específicos

- Estabelecer uma curva de calibração entre os métodos da titulação Adolfo Lutz adaptado, titulação iodométrica a frio e fita reativa de detecção do dióxido de enxofre residual, visando comparar a eficácia dos diferentes métodos na mensuração da concentração de SO₂;
- Correlacionar a concentração do metabissulfito de sódio e o tempo de exposição dos camarões ao conservante;
- Analisar as concentrações residuais de SO₂ nos camarões expostos ao conservante após o choque térmico (mortos);
- Avaliar a manutenção das concentrações de SO₂ nos camarões durante o período de congelamento;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do metabissulfito de sódio nas dez concentrações pesquisadas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Na aqüicultura mundial, a carcinicultura tem se destacado como uma atividade de grande rentabilidade, atraindo investimentos e contribuindo para o crescimento econômico do agronegócio.

Barbieri Jr. e Ostrensky (2001a) citaram que a produção mundial de camarões cultivados apresenta ritmo acelerado (700.000 t /1999), sendo estimado que, em poucos anos, irá superar a produção oriunda do setor pesqueiro, que foi de 1.800.000 toneladas em 1999.

A produção brasileira vem apresentando um firme crescimento, com receita de US\$ 150 milhões, isso possibilitado pelo fato da carcinicultura no Brasil apresentar excepcional rendimento por unidade de área, com média de 4.706 kg/ha/ano no ano 2002, que o classificou mundialmente em primeiro lugar em produtividade. Em 2002, o Brasil foi colocado à frente do Equador e México, que ocupavam primeira e segunda posição, respectivamente, fazendo-o assumir a classificação de maior produtor de camarão cultivado no hemisfério Ocidental (ROCHA e RODRIGUES, 2003).

No ano de 2003, a produção mundial de camarão chegou a 4.630.000 toneladas envolvendo captura e cultivo, sendo ainda a captura responsável pela maior oferta do produto (64,79%). No hemisfério oriental, a produção alcançou a marca de 1.359.000 toneladas (88,37% da produção mundial) e no hemisfério ocidental a produção foi de 271.000 toneladas. O Brasil produziu 90.190 toneladas, o que o situou novamente como líder do hemisfério, superando o Equador e o México. Com esta produção o Brasil alcançou um crescimento de 50% em comparação com o ano de 2002. É importante salientar que em 2003 o

Brasil tinha apenas 14.624 ha em áreas destinadas à produção, em comparação com 130.900 ha do Equador e 27.500 ha do México (ROCHA; RODRIGUES; AMORIM, 2004).

Os mesmos autores também afirmaram que a região nordeste do Brasil foi responsável por 95,2% da produção nacional de camarão marinho cultivado no ano de 2003, e que o estado de Pernambuco produziu 5.831 toneladas com uma área de produção total de 1.131 ha.

Apesar do êxito alcançado na produção, o Brasil no final de 2003 começou a sofrer represarias dos Estados Unidos da América, principal comprador do camarão brasileiro, que ocasionaram quedas nas exportações. Segundo Rocha (2004), este fato trouxe sérias dificuldades para a atividade, forçando a busca de novos mercados para aumentar a competitividade do camarão cultivado do Brasil. Além da ação *antidumping*, a atividade ainda enfrentou problemas com a sanidade dos cultivos. Salienta-se que no segundo semestre de 2004, o Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAA) notificou o primeiro caso de mancha branca (*white spot*), no estado de Santa Catarina. Essa virose dizimou a carcinicultura em países como Equador e México, e não havia sido notificada no país até então.

Em 2004, a produção do camarão brasileiro foi aproximadamente 80.000 t, cerca de 10.000 t a menos que o ano anterior. Este decréscimo decorreu de problemas com barreiras comerciais e declínio da produção pela ocorrência de doenças, o que culminou com queda nas exportações (SALES et al., 2005). Todavia esses autores afirmaram que a expectativa é de que no ano 2005 a atividade retome o crescimento.

Segundo Sampaio e Costa (2003), um dos principais desafios para qualquer região do Brasil tem sido a geração de empregos e renda. Nesse sentido, o cultivo de camarão marinho vem possibilitando o crescimento e desenvolvimento econômico, principalmente na região Nordeste, gerando 2,2 empregos permanentes por hectare, sendo a maior parte ocupada por trabalhadores rurais.

Quanto ao destino da produção, Rocha (2004) citou que o escoamento do camarão cultivado do Brasil é realizado para a América do Norte (43%) e Europa (57%) com destaque para França, Espanha, Itália, Alemanha, Portugal e Bélgica. Onde existem controles rígidos pelas autoridades veterinárias, no tocante a sua qualidade, concernente às características organolépticas, como firmeza da carcaça e cabeça, ausência de defeitos morfológicos, uniformidade de cor e ausência de melanose. Além disso, a carga microbiana e os teores residuais de metabissulfito de sódio e antibióticos são aspectos rigorosamente observados por autoridades competentes.

Alimentos estáveis e seguros para o consumidor, com uma “vida de prateleira” longa são os principais objetivos da indústria alimentícia, que para este fim, faz uso de conservantes em seus processos de beneficiamento, estando os sulfitos como os conservantes mais utilizados, de acordo com Rubini (2003). Laurila; Kervinen; Ahvenainen (1998) destacaram os sulfitos como agentes multifuncionais, com capacidade de prevenir em alimentos o escurecimento enzimático e não enzimático, controlar o desenvolvimento microbiológico, atuar como agente branqueador, antioxidante ou redutor, dentre outras aplicações.

Os sais de sulfito são aditivos mais importantes na indústria de alimentos, com destaque para os sais sulfito de sódio anidro ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), o

metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$), o bissulfito de sódio (NaHSO_3) e o dióxido de enxofre (SO_2). O sulfito e o bissulfito de sódio não são utilizados no tratamento do camarão, porque se oxida quando exposto ao ar atmosférico (O_2) e é instável ao ar, liberando gás sulfuroso, respectivamente. O metabissulfito de sódio é o produto de maior estabilidade e dispõe de maior quantidade de SO_2 quando diluído em água, sendo desta forma o produto mais indicado para o tratamento do camarão (SILVA, 1988).

O metabissulfito de sódio é uma substância química utilizada na indústria como alvejante, desinfetante e antioxidante. Este produto funciona como agente inibidor do oxigênio molecular (O_2), impedindo que o alimento seja oxidado por bactérias aeróbias (RUSSEL, 1980). Seu resíduo é o dióxido de enxofre (SO_2), que não se constitui como fator prejudicial à saúde dos consumidores, quando sua concentração encontra-se numa faixa de 40 a 100 ppm, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), citado por Rocha e Maia (1998).

A adição direta de dióxido de enxofre ou indiretamente de sais de sulfito que o produzam, como o sulfito de sódio, bissulfito de sódio, bissulfito de potássio, metabissulfito de sódio e metabissulfito de potássio, como branqueador e conservador de alimentos é permitida pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1988) e aceitos como Geralmente Reconhecidos como Seguros (GRAS) pela Food and Drug Administration (FDA), segundo Behre (1986).

Com o objetivo de retardar o aparecimento de manchas pretas, a utilização de bissulfitos e metabissulfitos de sódio é permitida, aprovada pelo Decreto-lei nº 986, de 21/10/1969, que instituiu as “Normas Básicas sobre Alimentos” e o Decreto nº 55.871, de 23/03/1965, que regula o uso de aditivos em alimentos (BRASIL, 1978).

A utilização do metabissulfito de sódio também está amparada na Resolução de nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos – CNNPA (BRASIL, 1978) onde está citado: “Estender o emprego do metabissulfito de sódio em solução para imersão, ou no gelo, a 1,25%, como conservador para camarões e lagostas crus, não devendo o dióxido de enxofre residual ultrapassar de 100 mg/kg, pressuposto o emprego da avançada tecnologia de processamento”.

De acordo com a ata da Reunião Preparatória do Mercosul – II/2000, instituiu-se o valor de 0,01 g de sulfito em 100 g na parte comestível do produto cru e 0,03 g de sulfito em 100 g na parte comestível do produto cozido (BRASIL, 2000).

Na carcinicultura, para obtenção de camarões de boa qualidade é necessário que se atente às diversas etapas do seu cultivo e mais precisamente, o momento da sua despesca. Segundo Lucien (2003), após a despesca, o camarão é imediatamente submetido ao resfriamento em temperatura inferior a 5°C (choque térmico) e posteriormente transferido para caixas contendo metabissulfito de sódio, numa concentração de 7 a 8 %, durante sete a oito minutos.

A relação do tempo e da concentração da solução do metabissulfito de sódio sofre variação de acordo com a região e com o procedimento adotado pelos produtores, apesar das recomendações da CNNPA (BRASIL, 1978). Atualmente, não existe uma relação comprovadamente segura entre a concentração estabelecida em função do tempo de imersão dos camarões na solução de metabissulfito de sódio, bem como uma forma padronizada de exposição dos camarões ao conservante. Barbieri Jr. e Ostrensky (2001b) sugeriram os valores

de 10 kg de metabissulfito de sódio para cada 500 litros de água (2%) por 20 a 10 minutos como suficientes.

Diferentemente, Ogawa e Ferreira (2003) sugeriram soluções com cerca de 6% do conservante (24 kg do produto em 400 L de água) e o tempo de imersão de 15 a 20 minutos com reposições subseqüentes de três kg de conservante a cada reutilização da solução. Araújo e Araújo (2004) recomendaram concentrações entre 7 e 9% por 12 a 15 minutos; Boyd e Gautier (2002) citaram concentração de 5% por dois a cinco minutos e McEvily; Iyengar; Otwell (1991) relataram a concentração 1,25% por um minuto como suficiente. Desta forma, percebe-se a grande variabilidade nos procedimentos recomendados e, por conseguinte, a desuniformidade das concentrações de SO₂ encontradas no produto final. Ressalta-se a necessidade de levar em consideração o tamanho do camarão a ser processado e o seu estado de muda (ecdise) para determinar a concentração da solução.

Nos dias atuais, o tempo de exposição e a concentração do conservante são estabelecidos pelas empresas de beneficiamento brasileiras, que seguem os requisitos impostos pelos países para onde a produção será exportada. Portanto, no Brasil, o processo está condicionado a critérios variáveis, de acordo com o país ao qual o produto é destinado.

Rocha (2000) citou que os objetivos do tratamento com o metabissulfito de sódio e a manutenção da temperatura a 5°C visam à eliminação do oxigênio molecular (O₂), o que possibilita drástica redução do escurecimento no produto por processo enzimático (melanose ou manchas negras ou *black spot*). A melanose é resultante da ação da enzima tirosinase ou fenoloxidase (PO), que está presente em grandes quantidades no sistema digestivo e circulatório dos

camarões. De acordo com Perazzolo (1994) esta enzima contém íons de cobre (Cu^{2+}) em sua estrutura, onde moléculas de oxigênio (O_2) podem ligar-se, de forma semelhante à hemocianina, pigmento respiratório dos crustáceos. A oxidação da tirosina (aminoácido presente no hepatopâncreas dos camarões), na ausência de sais de sulfito, desencadeia o processo de enegrecimento do produto segundo Rocha (2000).

Uma prática muito utilizada no passado era a interrupção da alimentação dos camarões dois dias antes da despesca, visando eliminar, ao máximo, o conteúdo intestinal e conseqüentemente, diminuir os níveis de tirosinase. Todavia, sabe-se que o camarão por ser onívoro, na ausência de alimento exógeno (ração), busca outros tipos de alimentos, como alimento vivo, detritos e restos de camarões mortos presentes no viveiro. Com esta prática, os camarões terão o intestino repleto com material escuro (preto) e não haverá diferença entre arraçoa-los ou não antes da despesca, no que diz respeito à quantidade de alimento no trato digestivo, porém sujeito a sabor desagradável, comumente denominado de *flavour* (BARBIERI JR. e OSTRENSKY, 2001b). Ressalta-se que a contaminação microbiana, com certeza, será maior quando o camarão ingerir detritos e sujidades, podendo-se detectar areia no trato digestivo dos animais, comprometendo a qualidade do produto final.

As melaninas animais são heteropolímeros derivados das quinonas, cuja função refere-se fundamentalmente à proteção contra raios ultravioleta (PERAZZOLO, 1994). Nappi e Vass (1993) citaram que as o-quinonas e seus derivados têm sido descritos como participantes das reações de esclerotização (ecdise) e melanização, associadas com formação e reparo da cutícula em artrópodes.

Está sobremodo evidenciado que a formação de melanina compreende uma reação enzimática oxidativa, seguida de reações de autooxidação e polimerização (OGAWA e MAIA, 1999). Em estudos histoquímicos com lagostas, Ogawa e Maia (1999) evidenciaram que havendo minimização do estresse durante o sacrifício (anestesia com gelo - choque térmico) os substratos e enzimas se distribuem uniformemente nos tecidos tegumentares, evitando, desta forma, a concentração de substâncias nas regiões afetadas e diminuindo o nível de escurecimento. Este fenômeno é considerado reflexo do mecanismo de defesa própria do animal acionado para reparação de injúrias, podendo resultar da reação de compostos fenólicos e polifeniloxidasas, substâncias desencadeadoras das vias da melanina, esclerotina e adrenalina.

A ocorrência da melanose em função das fases do ciclo de muda também é considerada por Ogawa e Maia (1999), que relataram maior incidência de melanose em lagostas e camarões, com tegumento rígido, não se observando manchas em cutículas isoladas e exúvias. Contudo, dependendo dos estágios do ciclo de muda, a melanose pode ocorrer em diferentes camadas do tecido tegumentar e sua relação com os estágios do ciclo de muda só pode ser explicada considerando-se os mecanismos de defesa do animal.

De acordo com Santos¹ (2004), a melanose pode ocorrer em vida (*ante-mortem*) ou após a morte dos camarões (*post-mortem*) e é necessário diferenciá-las sob o ponto de vista anatomopatológico. Porém as reações de biossíntese da melanina (Figura 1) ocorrem da mesma forma nos dois eventos, através da ação oxienzimática de escurecimento desencadeadora da melanose em crustáceos.

A melanose *ante-mortem*, de acordo com Perazzolo (1994), está

¹SANTOS, F.L. Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Explicação obtida pessoalmente na UFRPE, Recife – PE, 2004.

relacionada com o processo de defesa e reconstituição dos tecidos do camarão quando ocorre um trauma no exoesqueleto ou invasão da hemocele dos camarões por algum organismo patogênico. Nesse caso, as células da hemolinfa dos camarões (hemócitos) migram para o local da injúria para cessar a hemorragia (coagulação) e reconstituir o tecido lesado (cicatriz de melanina) e/ou imobilizar o agente patogênico, sendo possível visualizar manchas pretas (cicatriz comumente nomeada de necrose). Quando houver a captura ou despesca destes animais, em poucas horas (dependendo das condições de manipulação e conservação) de armazenamento em gelo sem conservante, ocorrerá o aparecimento dos pontos negros (*black spot*) em seu exoesqueleto, ocasionados pela oxidação da melanina.

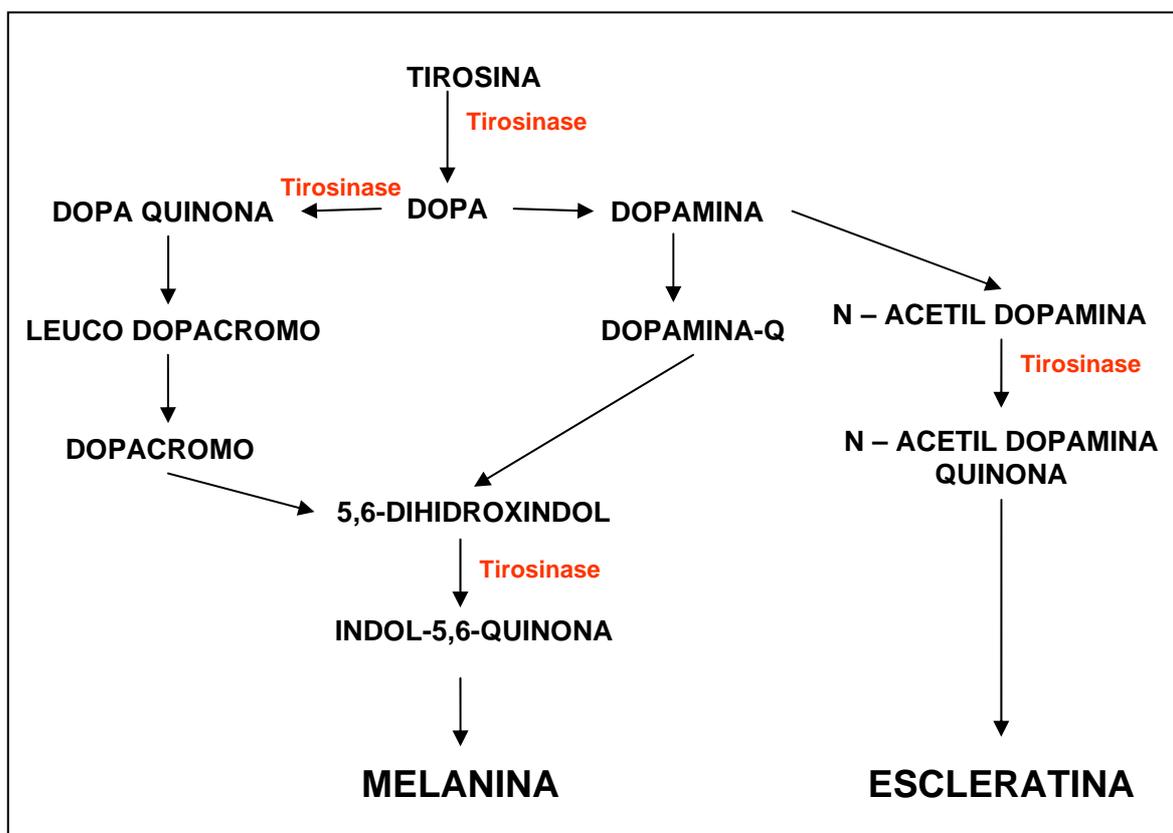


Figura 1: Via de síntese da melanina e da esclerotina adaptado de Napp e Vass (1993).

Práticas de indução da muda para eliminar manchas pretas (cicatrices) oriundas de injúrias e/ou infecções externas por bactérias (doença da carapaça) são, comumente, realizadas com adição de calcário no viveiro, alguns dias antes da despesca, segundo Mendes² (2004). Todavia, apesar de no momento da despesca os camarões apresentarem o exoesqueleto livre de manchas, quando as reações oxienzimáticas se iniciarem, surgirão novamente manchas nos locais afetados, caso não ocorra adição do conservante.

Ogawa e Maia (1999) citaram que, quando os camarões e lagostas morrem sob circunstâncias anormais, a exemplo de traumatismos e estresse, ocorre formação de melanina por via de reação enzimática oxidativa, durante a estocagem. Para comprovar este fenômeno os autores sugeriram provocar intencionalmente a melanose *ante-mortem* em lagostas e camarões mediante aplicação de injúrias no animal vivo. Neste caso, será possível visualizar, sem exceção, as manchas negras, após um dia de estocagem em gelo.

A melanose *post-mortem* (pseudomelanose) também é ocasionada pela ação da enzima tirosinase ou fenoloxidase (PO) (presente no hepatopâncreas e intestino do camarão), que no momento da morte do animal extravasa para os tecidos adjacentes. Este processo gera, em cascata, as reações anteriormente mencionadas culminando na formação da melanina e promovendo o escurecimento do camarão. Esta seqüência depois de iniciada não regride, sendo necessário descabeçar e descascar os camarões para comercialização, caso o processo não tenha atingido a musculatura (OGAWA e MAIA, 1999).

Foi desenvolvido no Serviço Nacional de Pesca Marinha dos Estados Unidos (1982), citado por Otwell e McEvily (1990), uma escala de melanose

²MENDES, P.P. Professor Adjunto do Departamento de Pesca e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Explicação obtida pessoalmente na UFRPE, Recife – PE, 2004.

(Tabela 1) para classificação de camarões *in natura*. Nesta escala, o valor limite para obtenção de produto de qualidade é quatro, sendo os camarões classificados abaixo deste valor (6, 8 ou 10), considerados inapropriados e/ou inaceitáveis em relação à qualidade.

Bons resultados da utilização do metabissulfito de sódio são obtidos quando se efetiva antes dos mecanismos *post-mortem* se iniciarem, causando a melanose. Após o início da ação dos organismos, pode ocorrer, na melhor das hipóteses, o retardamento do aparecimento das manchas escuras. Sendo assim, grandes são as possibilidades de se obter altas taxas de melanose no momento do descongelamento dos camarões, com possíveis conseqüências comerciais deploráveis. Por isso, aconselha-se a execução imediata deste procedimento, após a colheita e resfriamento dos camarões.

Tabela 1: Escala usada para descrever e padronizar a ocorrência de melanose em camarões (adaptado do Code Federal Regulations - USA):

Escala	Condição de melanose	Conseqüências comerciais	USDC*
0	Ausência		
2	Leve, perceptível em poucos camarões.	Valor possivelmente reduzido	A
4	Leve, perceptível na maioria dos camarões.	Valor reduzido	B
6	Moderado, perceptível na maioria dos camarões.	Valor definitivamente reduzido	B
8	Forte, perceptível na maioria dos camarões.	Inaceitável	C
10	Muito forte, em todo o camarão.	Inaceitável	C

Fonte: Otwell e McEvily (1990). * Departamento de Comércio dos Estados Unidos (U.S. Department of Commerce).

Grandes perdas de divisas em países que exploram as lagostas do gênero *Panulirus* e camarões do gênero *Penaeus* foram relatadas por Ogawa e Maia (1999), como consequência da ocorrência de melanose ao longo da estocagem em gelo ou sob congelamento.

Conforme relatado por Lucien (2003), o resultado do processamento com o metabissulfito de sódio não é final, pois quando sua concentração nos tecidos decai com o tempo, os mecanismos *post-mortem* se reiniciam. Por este motivo, deve-se ter uma precisão na sua aplicação, a fim de se obter um efeito suficientemente durável. Todavia, com a devida atenção para que a taxa residual de sulfito no tecido fresco não exceda limite autorizado pelos órgãos competentes.

Os sulfitos podem ocorrer naturalmente em alimentos. Os alimentos contêm grande variedade de compostos sulfatados incluindo os aminoácidos sulfatados, sulfatos, sulfitos e sulfides. Estes compostos são estáveis, sendo mobilizados apenas em alguns alimentos que possuem determinadas enzimas (TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986). Estes autores descreveram valores de 0,2 a 11 ppm e 15 a 125 ppm de SO₂ total (livre e combinado) em cervejas e vinhos, elaborados sem adição de sulfitos, respectivamente.

Os sulfitos são conhecidos pelos efeitos citotóxicos, mutagênicos e anti-nutricionais. Eles interagem, particularmente, com algumas vitaminas, nicotinamida, tiamina, ácido fólico, reduzindo a qualidade nutricional do alimento (PIZZOFERRATO; LULLO; QUATTRUCCI, 1998).

Segundo Silva (1988), a natureza química do alimento, o processo de adição, as condições de armazenamento, dentre outros fatores, podem influir nos níveis finais de sulfito no produto, uma vez que reagem com seus constituintes,

podendo ser oxidado em sulfato (inofensivo) e volatilizado. O sulfito livre (inorgânico) é que pode sensibilizar a parcela da população de asmáticos. A maioria do sulfito acrescentado à salada de alface, por exemplo, permanece livre (sulfito inorgânico), não reagindo com seus constituintes, tornando-se fonte de problemas. Taylor; Higley; Bush (1986) ressaltaram que apenas os sulfitos livres possuem propriedades antimicrobianas.

Por outro lado, Pizzoferrato; Lullo; Guattrucci (1998) citaram que o sulfito combinado, que reagiu com os constituintes do alimento, quando acidificado e aquecido, *in vitro*, é liberado sob forma de SO₂. E que estudos posteriores comprovaram que reação semelhante ocorre no trato digestivo, *in vivo*, sendo necessário quantificar esta porção combinada (sulfito não livre) para segurança alimentar dos consumidores.

O método oficialmente reconhecido pelo Food and Drug Administration (FDA), para análise de sulfito é o Monier Williams, descrito na Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1984). Todavia, existem vários métodos para detectar SO₂ em alimentos, dentre eles: cromatográfico, potenciométrico, iodométrico e métodos semi-quantitativos (fita reativa e métodos adaptados), sendo importante diferenciá-los quanto a obtenção de sulfito livre e combinado.

Segundo Mideo e Martins (2000), a adição de sulfitos aos alimentos destrói a tiamina (vitamina B₁), o que passa a restringir o seu uso como aditivo, atrelado ao fato de poder desencadear respostas alérgicas em indivíduos imunologicamente sensibilizados, principalmente quando utilizados em produtos de origem vegetal (frutas e verduras).

Em trabalhos com ratos, Ribera et al. (2001) não observaram sinais de deficiência dos níveis de tiamina quando alimentados com biscoitos

manufaturados, contendo metabissulfito de sódio sem suplementação vitamínica. Consideraram que a interação existente entre os componentes alimentícios e os sulfitos durante a preparação do alimento não pareceu conduzir à deficiência da tiamina, visto que os níveis hepáticos das vitaminas A, B₁, C e E não sofreram alteração, com exceção do aumento da vitamina E em machos, após 28 dias de exposição a altas doses.

Hardisson et al. (2002), em estudo realizado com camarões marinhos e de água doce congelados, provenientes da Espanha e da Venezuela, observaram altas concentrações de sulfitos decorrentes da adição indiscriminada do conservante em ambos os produtos. Os autores relataram que o limite máximo descrito na legislação da Espanha RD 145/1997 de 150 mg/kg foi excedido nas partes comestíveis (musculatura) dos camarões. Mencionando ainda que as altas concentrações de sulfitos encontradas nas partes não comestíveis (cabeça e cutícula) devem ser levadas em consideração devido ao hábito da população espanhola de sugar a cabeça dos camarões no momento de seu consumo.

Por ser considerada uma iguaria de custo elevado, a carne de camarão marinho ou de água doce é reservada para ocasiões especiais, por isso seu consumo diário é pequeno, podendo aumentar em épocas festivas e exceder o limite seguro fixado pela FAO/WHO (1998) de 45,5 mg/dia para uma pessoa de 65 kg de peso corpóreo, ocasionando reações adversas em indivíduos asmáticos, de acordo com Hardisson et al. (2002).

Conforme relatado por Rubini (2003), tem sido observado em diversos estudos que os alimentos contendo sulfitos podem desencadear ou agravar crises de asma em cerca de 24% das crianças e 1% dos adultos, confrontando com os achados de Allen (1985) que, em estudos pediátricos, relatou a ocorrência da

doença em 30-40% das crianças e 1-5% dos adultos. Dentre os principais alimentos comprovadamente causadores de crises asmáticas, os crustáceos são citados.

A asma causada por alergia alimentar pode estar atrelada ao metabissulfito de sódio, pelo fato de que no estômago, devido à acidez, o sulfito é transformado em dióxido de enxofre (SO₂), conforme relatos de Tebyriça (2003). Segundo Mideo e Martins (2000), este se trata de um gás incolor, não inflamável, de odor sufocante, que quando presente na atmosfera ou no ambiente de trabalho, pode ser bastante danoso para os indivíduos expostos. Papazian (1996) alertou sobre a possibilidade da ocorrência de choque anafilático em indivíduos alérgicos, usualmente não asmáticos, sensíveis ao teste para sulfitos (teste de sensibilidade realizado na pele).

Mideo e Martins (2000) citaram que a dose letal de 50 mg/kg (DL₅₀) via oral de SO₂, para a maior parte dos animais de laboratório é bastante alta, atingindo cerca de 1 g/kg de peso corporal. Doses inferiores à letal tendem a provocar vômitos em humanos e em cães. Devido a essas características, a ocorrência de intoxicações agudas por SO₂ é incomum. Há relatos de que algumas pessoas chegam a tolerar até 50 mg/kg de peso corpóreo, enquanto outras apresentam sintomas como dor de cabeça, náuseas, vômitos e diarréias, consumindo quantidades bem menores.

Ribera et al. (2001) relataram a ausência de efeitos adversos no metabolismo de ratos alimentados por 28 e 85 dias com biscoitos manufacturados contendo diferentes concentrações de metabissulfito de sódio. Estabelecendo 310 mg SO₂/kg dieta ou 25 mg/kg de peso corpóreo/dia como valores seguros (NOAEL – *no-observed-adverse-effect-level*), dada a ausência de anormalidades

clínicas ou morte dos animais, que foram monitorados no tocante a hematologia, clínica química, oftalmologia, função renal, urinálise, peso corpóreo ou bruto e exames microscópicos.

Quanto a sua ação antimicrobiana, o metabissulfito de sódio, por ser um antioxidante, seqüestra o oxigênio (O₂) tanto da água quanto no alimento onde foi adicionado, gerando assim um ambiente anaeróbico, o que conseqüentemente interfere sobre os microrganismos aeróbicos presentes. Todavia, aqueles microrganismos aeróbios que possuem capacidade de serem também anaeróbicos facultativos (geralmente todos os microrganismos patogênicos são anaeróbicos facultativos) e os anaeróbicos são favorecidos com esta modificação segundo Horowitz³ (2004). Por isso é necessário saber qual é a microbiota naturalmente presente no ambiente em que o referido alimento está envolvido.

Laurila; Kervinen; Ahvenainen (1998) relataram que em linhas de processamentos de alimentos, onde ocorre adição de sulfitos concomitantes à embalagem a vácuo cria-se condições anaeróbicas ideais para o desenvolvimento de fermentação anaeróbica e organismos patogênicos.

No caso dos camarões, as bactérias do gênero *Vibrio* predominam no ambiente de cultivo. Segundo Perazzolo (1994), para os camarões estes microrganismos são patógenos oportunistas e não obrigatórios por apresentarem perigo patológico apenas em determinadas condições ambientais ou fisiológicas em que o hospedeiro se encontra. São bastonetes Gram negativos, curvos ou retos e halofílicos, bastante sensíveis às baixas temperaturas e por isso, em produto congelado é pequena a probabilidade de sua presença (TWEDT;

³HOROWITZ, A. consultor da UPAH - Environmental and Aquaculture Microbiological Consulting and Service (Ohio, USA). Explicação obtida pessoalmente durante curso de extensão no Departamento de Pesca e Aqüicultura da UFRPE, em Recife – PE, 2004.

MADDEN; COLWELL, 1984). Bactérias resultantes de contaminação como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e os coliformes também merecem atenção.

Silva; Daniel; Ogawa (2003) alertaram quanto à obrigatoriedade de isenção de qualquer nível de contaminação microbiológica em camarões congelados destinados a exportação, visando evitar prejuízos ao consumidor. Enfatizaram também que, do ponto de vista econômico, contaminações microbiológicas podem comprometer seriamente a imagem do produto brasileiro, prejudicando futuras exportações.

Hatha; Maqbool; Kumar (2003) avaliaram microbiologicamente camarões *Penaeus monodon*, sob diversas formas de apresentação, sem a adição de metabissulfito de sódio, sendo 846 amostras de camarões *in natura* descascado sem veia e com cauda (RPTO), 928 amostras de camarões cozido descascado sem veia e com cauda (CPTO), 295 amostras de camarões descabeçado com veia e com casca (HLSO), 141 amostras de camarões *in natura* descabeçado, descascado e sem veia. Obtiveram resultados para contagem total de germes (PCA) em todas as amostras de camarões cozidos dentro dos limites aceitáveis ($1,0 \times 10^6$ UFC/g), porém as demais formas de apresentações excederam o limite máximo.

Resultados semelhantes foram relatados por Silva; Daniel; Ogawa (2003), que avaliaram a qualidade microbiológica dos camarões tipo exportação congelados do estado do Ceará, encontrando contaminação por coliformes totais e fecais e contagem padrão de bactérias acima dos limites máximos estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Para a manipulação do metabissulfito de sódio, a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) tais como luvas de PVC cano longo, botas e máscaras com filtro de ar, são indispensáveis, pois no momento da dissolução, o pó em suspensão pode causar irritação e pequenas úlceras nas mucosas nasal e oral e quando em contato com a pele de indivíduos imunologicamente sensibilizados, pode ocasionar urticária. De acordo com Araújo e Araújo (2004), o grau de insalubridade do metabissulfito de sódio é máximo (NR 15) com limite de tolerância de 4 ppm em 10 mg/m³, todavia não é considerado carcinogênico.

Atkinson; Sim; Grant (1993) relataram que dois tripulantes de uma embarcação para pesca de camarão foram encontrados mortos no convés. A morte dos homens ocorreu quando estes estavam preparando a solução de metabissulfito de sódio para imersão dos camarões. Exames *post-mortem* demonstraram congestão visceral e edema pulmonar difuso, resultando em óbito por asfixia, devido à metabissulfito de sódio.

Em janeiro de 2003, um trabalhador de uma fazenda de camarão do estado do Ceará, morreu vítima de falência múltipla dos órgãos. Segundo os médicos, o operário apresentava insuficiência respiratória aguda como conseqüência de uma pneumonia química, possivelmente, ocasionada pela exposição ao metabissulfito de sódio. Outro trabalhador da mesma fazenda foi internado apresentando quadro de hipertensão arterial pulmonar, havendo necessidade de transplante de pulmão. Neste período, foram realizadas auditorias pela Delegacia Regional do Trabalho (DRT) do Estado e segundo Alberto Fernandes, titular da DRT, várias empresas da região não disponibilizavam equipamentos de segurança aos trabalhadores, os

quais não tinham treinamento, tampouco noção do perigo a que estavam expostos ao manipular o conservante (ARAÚJO e ARAÚJO, 2004).

Conforme relatado por Almeida (1978), os agravos de menor percepção, como os resíduos tóxicos, são passíveis de ocorrerem e de grande importância, não somente ao consumidor, como também ao meio ambiente. Apesar da volatilidade, o descarte do metabissulfito de sódio utilizado nas despescas é um grande problema. Valença (2003) citou que a solução de metabissulfito de sódio descartada no ambiente reage com o oxigênio dissolvido da água formando sulfato ácido de sódio, que resultará em sulfatos e íons de hidrogênio. Podendo estes produtos finais ocasionar a redução do pH e da alcalinidade total das águas receptoras através da neutralização dos bicarbonatos.

Segundo Bezerra (2003), existem maneiras para o descarte adequado desta água com resíduos, como por exemplo, a transferência da água por intermédio de caminhão pipa para outras regiões ou escoando-a em sumidouros ou cisternas fabricadas exclusivamente para isto. Desta forma, os resíduos serão oxidados e neutralizados dentro destes sistemas de tratamento, antes de serem descarregados para meio ambiente.

Caso não seja possível o sistema de tratamento com cisternas, Boyd e Gautier (2002) sugeriram que a solução seja colocada em tanques com aeração mecânica e adicionado hidróxido de cálcio ou hidróxido de sódio para a neutralização segura dos resíduos. Outra forma segura e econômica citada por esses autores, é o descarte dos resíduos na esterilização dos viveiros. Este material é uma alternativa como substituto do cloro e poderá ser usado com segurança sem prejuízo do futuro cultivo, já que se trata de um produto

degradável que será diluído no volume total do viveiro após sua inundação, encontrando-se totalmente neutralizado no ato do povoamento.

O metabissulfito de sódio é um conservante amplamente utilizado na carcinicultura e pode oferecer risco a saúde do consumidor quando em excesso, apesar de ser permitido pela legislação. Assim, urge avaliar sua utilização como conservante na pós-colheita da carcinicultura marinha buscando a otimização de sua aplicação, assim como a minimização de custos desnecessários na produção.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Período e local.

Experimentos com a aplicação de metabissulfito de sódio em camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* foram realizados no primeiro semestre de 2005, na carcinicultura marinha Tabatinga Aquacultura Ltda., localizada no município de Goiana-PE. As análises para detecção de dióxido de enxofre (SO₂) residual foram realizadas nos Laboratórios de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e de Inspeção de Carne, Leite e Derivados do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

4.2 Tratamentos com metabissulfito de sódio.

Foram testadas soluções de metabissulfito de sódio nas concentrações de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10%. As soluções foram preparadas em bacias plásticas com capacidade de 40 L, dissolvendo-se o metabissulfito de sódio em um volume de 25 L de água. A adição e dissolução do conservante foram realizadas momentos antes da exposição dos camarões à solução, visando evitar perda por volatilização de sulfatos (Figuras 2A e 2B).

As amostras foram acondicionadas em redes de *nylon*, previamente identificadas, em quantidade suficiente para a realização de todas as análises. Assim sendo, cada lote de amostra foi constituída de 1.100 g de camarão, a qual foi retirada

a cada tempo de exposição (10, 15, 20, 25 e 30 minutos) em todas as concentrações (Figura 2C).

Após a exposição aos diferentes tratamentos, os lotes tiveram o excesso de água escorrido por 5 minutos e foram armazenados individualmente em dois sacos plásticos íntegros, para acondicionamento individual em caixa térmica com gelo reciclável (Figuras 2D, 3A, 3B e 3C). A proporção gelo/camarão foi de 1:3 (aproximadamente 5°C).

Imediatamente após a aplicação do metabissulfito e acondicionamento das amostras, estas foram transportadas ao laboratório de Inspeção de Carne, Leite e Derivados do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foram armazenadas em congelador doméstico para análises posteriores (Figura 3D)

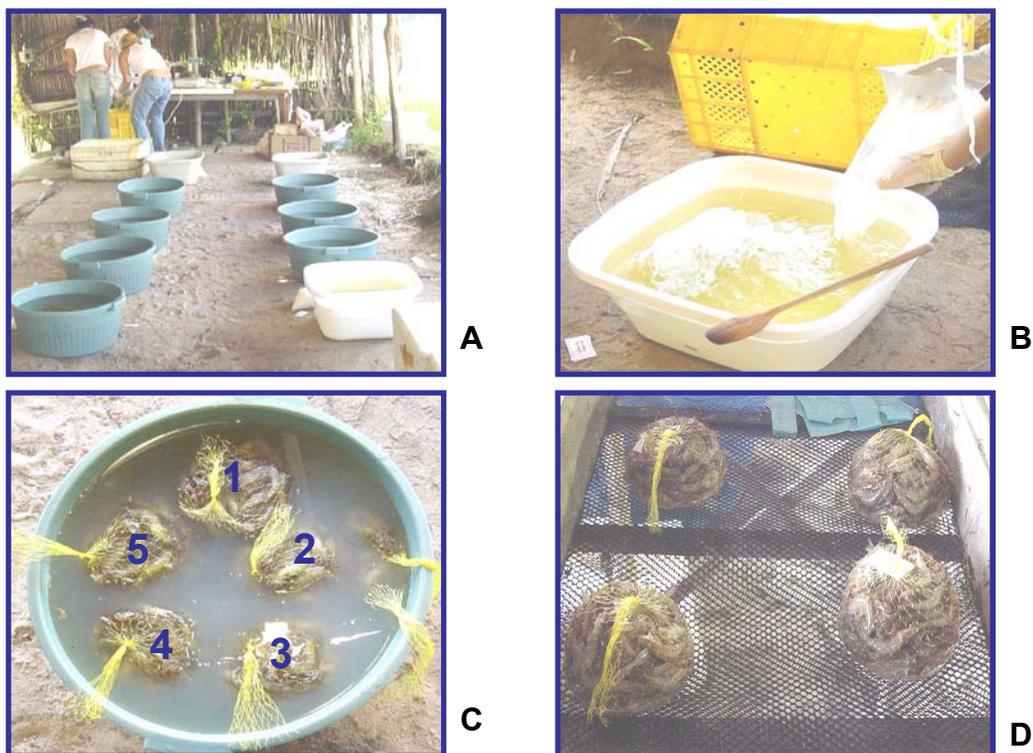


Figura 2: Tratamentos com metabissulfito de sódio: A – Infra-estrutura experimental na fazenda; B - Homogeneização do conservante; C - Tratamento com os cinco lotes referentes aos tempos de exposição; D - Drenagem de água da amostra.



Figura 3: Acondicionamento das amostras: A - Armazenamento da amostra em sacos plásticos íntegros; B - Caixa térmica individual com gelo reciclável; C - Amostra acondicionada em caixa térmica; D - Armazenamento das amostras em congelador doméstico.

4.3 Quantidade e processamento das amostras.

Foram coletados 55 kg de camarões marinhos, obtidos de um viveiro de cultivo comercial, que apresentavam peso variável de 10 a 12 g, equivalente à classificação 81/100. Os camarões foram capturados de forma convencional e em seguida submetidos a choque térmico, de conformidade com os métodos tradicionalmente usados na fazenda (água doce + gelo) sem a presença do conservante metabissulfito de sódio.

Para avaliar dez tratamentos com soluções em diversas concentrações de metabissulfito de sódio e diferentes tempos de exposição, porções de 1.100 g de

camarões foram pesadas, totalizando 50 unidades. Cada tratamento foi composto por cinco unidades (uma para cada tempo de exposição), as quais foram expostas ao conservante ao mesmo tempo.

As porções de 1.100 g de camarões foram subdivididas em 22 amostras de 50 g, totalizando 260 amostras analisadas. A cada semana porções de 100 g de camarões de cada lote referente aos diferentes intervalos de tempo (10, 15, 20, 25 e 30 minutos) de cada um dos tratamentos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10%) foram retiradas para a realização dos testes (Figura 4).

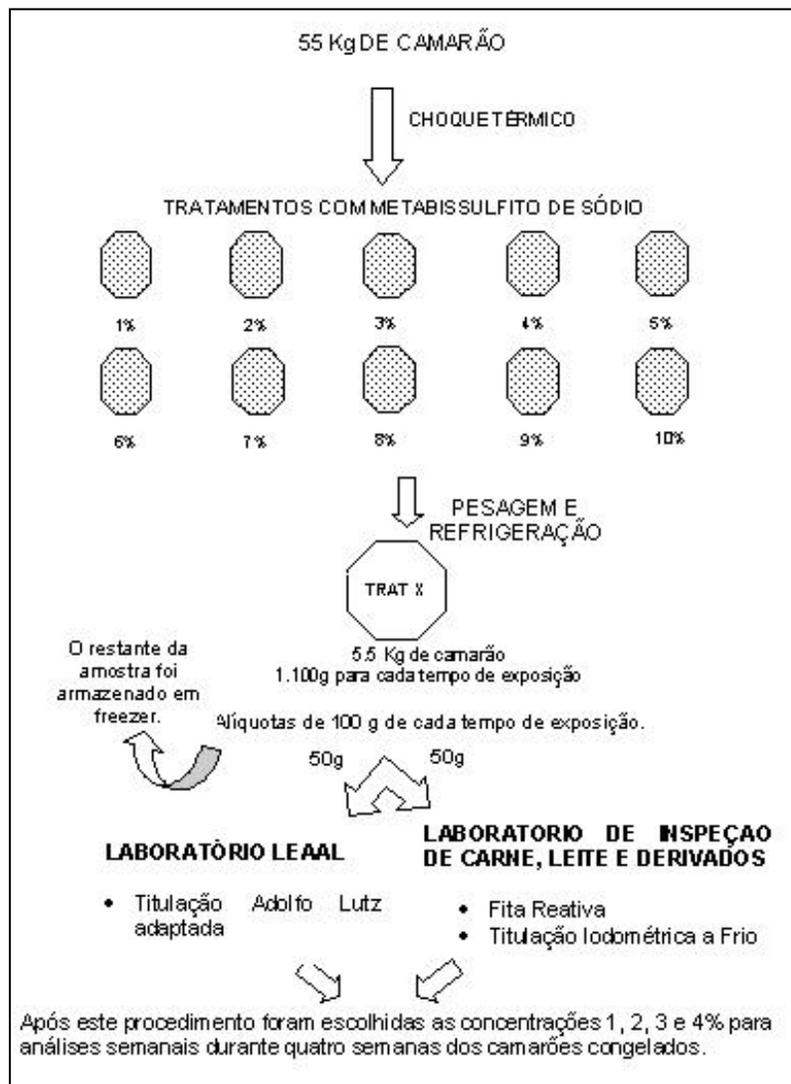


Figura 4: Fluxograma do experimento.

4.4 Método adaptado da titulação de SO₂ em suco descrito no Instituto Adolfo Lutz (1985) (MTAL).

Em 130 amostras de camarão foi determinada a concentração residual de SO₂ pelo método da titulação para sucos conforme descrito nas normas analíticas (SÃO PAULO, 1985), adaptado para o camarão no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos da UFPE. Cada amostra de 50 g de camarão inteiro foi ligeiramente triturada em liquidificador e homogeneizada com 50 mL de metanol no balão (nº. 1) do aparelho de destilação. Adicionou-se 15 mL de ácido fosfórico concentrado (84 – 85%) por um funil com torneira após se acoplar ao aparelho um balão (nº. 2) contendo 50 mL de solução 0,1N hidróxido de sódio (NaOH). Foram preparadas duas soluções com 60 mL de água destilada, 10 mL de peróxido de hidrogênio a 0,2% (H₂O₂) e cinco gotas de uma mistura de indicadores (vermelho de metila 0,03% e azul de metileno a 0,05%), ambos em etanol absoluto na proporção 1:1. Estas soluções foram acondicionadas em dois balões (nº. 3 e 4) acoplados ao aparelho, após serem tituladas com hidróxido de sódio a 0,1N até a viragem para a cor verde.

Quando o aparelho estava completamente montado (Figura 5A), foram ligados o nitrogênio e o aquecimento (bico de Bunsen) durante 15 minutos após o início da ebulição e a viragem da solução para a coloração roxa (Figuras 5B e 5C). As soluções dos balões nº 4 e 5 foram transferidas para um erlenmeyer de 500 mL para titulação com hidróxido de sódio 0,1N até a viragem para a cor verde (Figuras 5D e 5E).

A concentração de SO_2 , em ppm, foi obtida utilizando-se a seguinte fórmula:

$$CSO_2 = V \times F \times Eg \times N / P$$

Em que: CSO_2 - concentração de SO_2 residual em ppm; V - volume em mililitro gasto na titulação com NaOH 0,1N; F - fator da solução de NaOH; Eg - equivalente grama do enxofre (3,2); N - normalidade da solução NaOH e P - peso em grama da amostra.

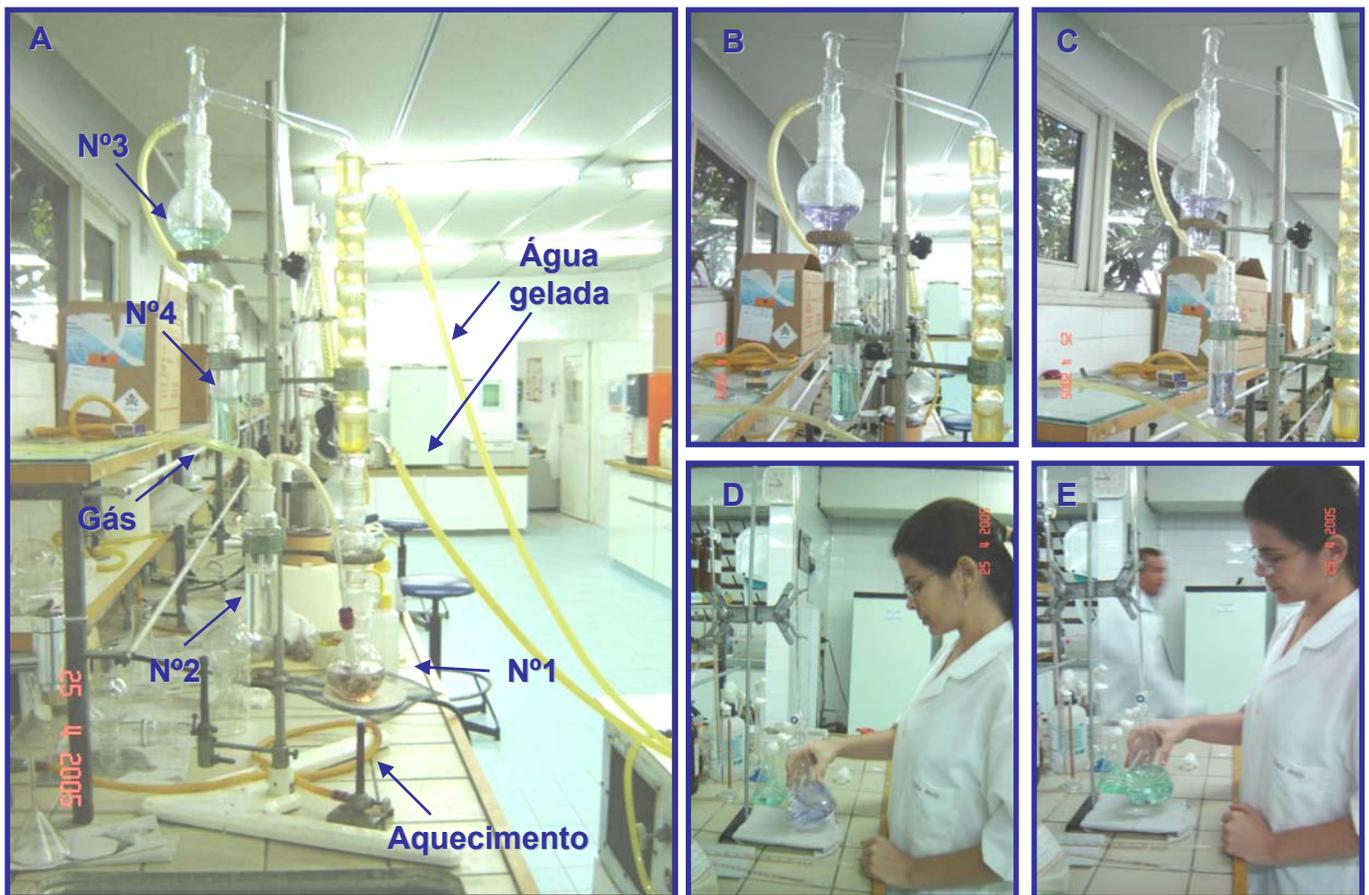


Figura 5: Destilação e titulação seguindo o método Adolfo Lutz adaptado: A - Equipamento de destilação; B e C - Viragem da coloração da solução de indicadores; D e E - Titulação da solução com NaOH a 0,1N até a viragem para coloração inicial.

4.5 Método da titulação iodométrica a frio (MTIF).

Em 130 amostras foi determinada a concentração residual de SO_2 pelo método da titulação iodométrica a frio descrita na EMPAF (2003). Foram triturados com tesoura 50 g de camarão inteiro (cefalotórax e cauda) em uma placa de Petri (Figuras 6A e 6B) e posteriormente transferidos para um erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 100 mL de água destilada e após 10 minutos de descanso com homogeneizações intermitentes, transferiu-se 10 mL da solução para um béquer, onde foi adicionado 1,4 mL de ácido clorídrico 1N e 1 mL de solução de amido a 1%. A titulação foi realizada com iodo e bicarbonato N/63 até a viragem para a coloração azul (Figuras 7A e 7B). Obteve-se a concentração de SO_2 em ppm, através da seguinte fórmula:

$$\text{CSO}_2 = 5000V / P$$

Em que: CSO_2 - concentração de SO_2 residual em ppm; V - volume em mililitro gasto na titulação com solução de bicarbonato e iodo N/63; P - peso em grama da amostra.

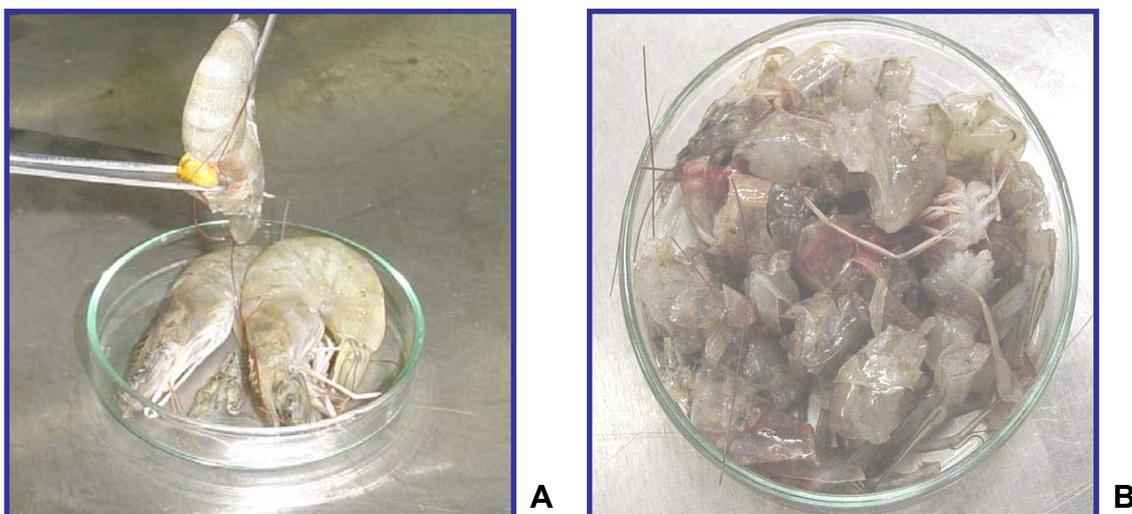


Figura 6: Preparo da amostra para titulação iodométrica a frio: A – Camarão sendo triturado com tesoura; B – Camarão triturado.

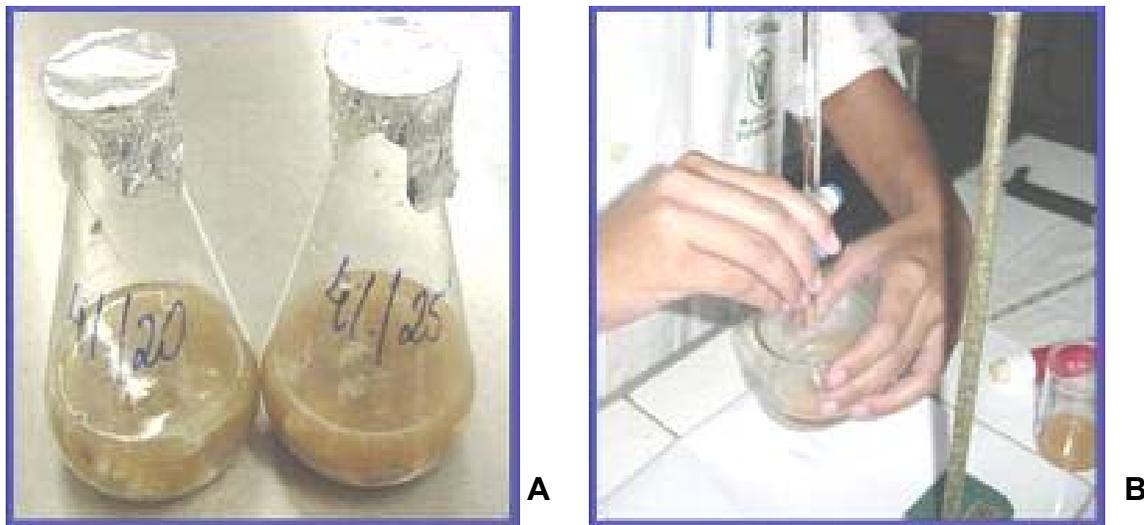


Figura 7: Processamento das amostras segundo o método da titulação iodométrica a frio: A – Solução de camarão e água destilada durante 10 minutos de descanso; B – Titulação da amostra com solução de iodo e bicarbonato N/63 até a viragem para coloração azulada.

4.6 Método da fita reativa (MFR).

Para a análise da fita reativa Merckoquant[®] da Merck, utilizou-se a mesma amostra processada na titulação a frio. Após a retirada dos 10 mL da solução de água destilada e camarão, imergiu-se a fita por 30 segundos na solução restante contida no erlenmeyer. A reação colorimétrica obtida foi comparada com a escala contida no produto seguindo as recomendações do fabricante (Figuras 8A, 8B e 9).

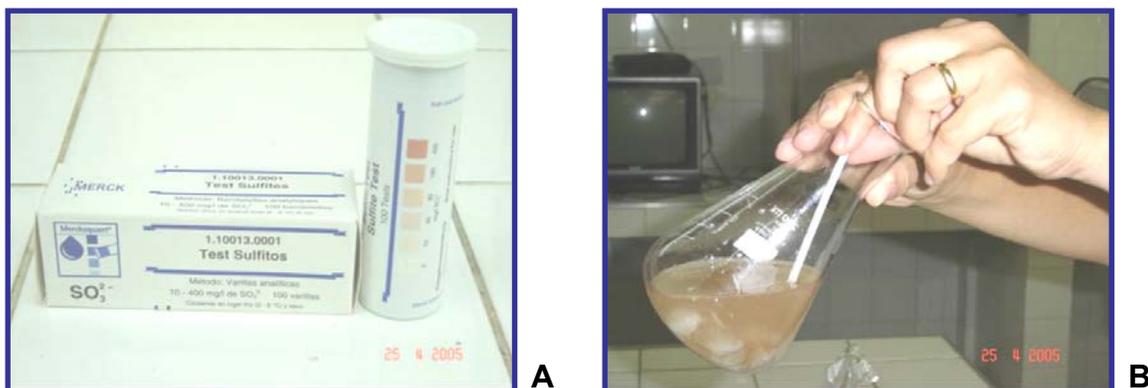


Figura 8: Método da fita reativa: A - Kit Merckoquant para teste com sulfitos; B – Imersão da fita reativa na solução de água destilada e camarão.



Figura 9: Leitura da fita reativa para sulfitos seguindo a escala do fabricante.

4.7 Teste de susceptibilidade antimicrobiana.

Foram coletadas amostras da água do cultivo, de camarões mortos sem conservante (após choque térmico), de camarões expostos ao conservante após choque térmico, para avaliação da susceptibilidade bacteriana ao metabissulfito de sódio.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana do metabissulfito de sódio, foram coletadas amostras de quatro camarões (cerca de 50 g) nos intervalos de 10 e 20 minutos, das dez concentrações estudadas. Os camarões foram expostos ao

conservante em redes de *nylon*, seguindo-se o mesmo procedimento adotado nos tratamentos com metabissulfito (Figura 10). Passado o tempo de exposição às soluções, as amostras foram acondicionadas em placas de Petri estéreis e envolvidas em sacos plásticos individuais para, posteriormente, serem transportadas ao Laboratório de Inspeção de Carne, Leite e Derivados da UFRPE, onde se procederam as análises.

Seguiu-se o método descrito no FDA (1998) para contagem de germes totais em todas as amostras. Diluiu-se 25 g ou mL da amostra em 225 mL de Água Peptonada Alcalina (APA), obtendo-se a diluição de 10^{-1} . Alíquotas de 0,1 mL da diluição foram distribuídas em placas de Petri estéreis em duplicatas, contendo Ágar MacConkey suplementado com 1% de cloreto de sódio (NaCl). Após estes procedimentos as placas foram invertidas e incubadas a 35-37°C durante 48 horas.

As contagens foram realizadas com 24 e 48 horas. As colônias que apresentavam características diferenciadas foram novamente repicadas para Ágar MacConkey com 1% de cloreto de sódio (NaCl) para isolamento e incubadas a 35-37°C por 24 horas (Figura 11). Colônias típicas de bactérias do gênero *Vibrio* foram submetidas ao teste bacterioscópico pelo método de Gram e aquelas que apresentavam características de bastonetes retos ou curvos e Gram-negativos foram estocadas em Tríplice Soy Ágar (TSA) com 1% de cloreto de sódio (NaCl) para posterior identificação através de provas bioquímicas.



Figura 10: Amostras em rede de *nylon* para exposição durante 10 e 20 minutos.

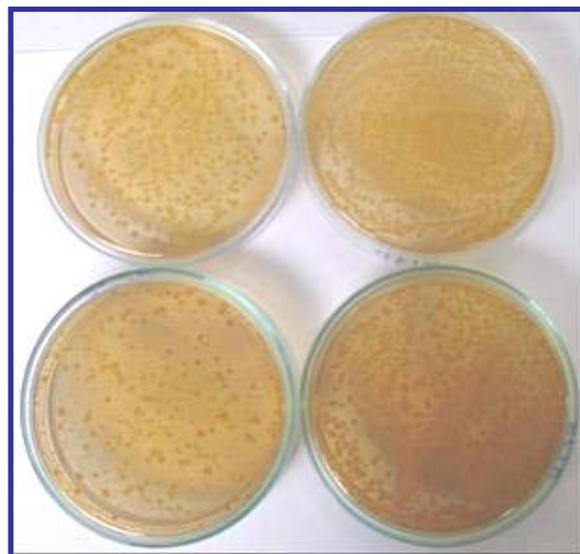


Figura 11: Placas com desenvolvimento microbiano, em Ágar MacConkey, prontas para contagem.

4.8 Análise de dados

Para correlacionar a concentração de dióxido de enxofre residual nos camarões em função de todas as concentrações testadas de metabissulfito de sódio na solução (de 1 a 10%), do tempo de exposição dos camarões ao conservante e dos métodos de detecção realizados (fita reativa, titulação adaptada Adolfo Lutz e titulação iodométrica a frio) utilizou-se o seguinte modelo matemático:

$$C_{SO_2}^\lambda = \beta_1 C_{Met} + \beta_2 T_{exp} + \beta_3 MFR + \beta_4 MTAL + \beta_5 MTIF + \varepsilon_i$$

Modelo 1

Em que: C_{SO_2} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; λ – fator de transformação de Box e Cox (1964); $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_5$ - parâmetros do modelo; C_{Met} – concentração do metabissulfito de sódio na solução; T_{exp} – tempo de exposição em minutos; MFR – método da fita reativa; MTAL – método da titulação Adolfo Lutz adaptada; MTIF – método da titulação iodométrica a frio; ε_i - erro associado a cada observação.

Caso no modelo 1, seja detectado diferença significativa entre as concentrações de SO₂ residual, os tempos de exposição e os métodos de análise (MFR, MTAL e MTIF), serão propostos modelos para correlacionar os diferentes resultados, visando a construção da curva de calibração dos métodos para camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* em tamanho comercial 81/100 nas condições descritas no experimento.

Para avaliar a concentração de SO₂ residual nos camarões em função do tempo de armazenamento, da concentração da solução de metabissulfito de sódio, do tempo de exposição dos camarões ao conservante e os métodos de detecção de SO₂ nas quatro concentrações escolhidas, foi utilizado o seguinte modelo:

$$C_{SO_2}^{\lambda} = \beta_1 C_{Met} + \beta_2 T_{exp} + \beta_3 TA + \beta_4 MFR + \beta_5 MTAL + \beta_6 MTIF + \epsilon_i$$

Modelo 2

Em que: C_{SO₂} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; λ – fator de transformação de Box e Cox (1964); β₁, β₂...β₆ - parâmetros do modelo; C_{Met} – concentração do metabissulfito de sódio na solução; T_{exp} – tempo de exposição em minutos; TA – tempo de armazenamento; MFR – método da fita reativa; MTAL – método da titulação Adolfo Lutz adaptada; MTIF – método da titulação iodométrica a frio; ε_i - erro associado a cada observação.

Para avaliar o número de bactérias (UFC/g) presentes nos camarões em função da concentração de metabissulfito de sódio na solução de imersão e do tempo de exposição dos camarões ao conservante utilizou-se o modelo matemático descrito abaixo:

$$\text{UFC}^\lambda = \beta_0 + \beta_1 \text{CMet} + \beta_2 \text{Texp} + \varepsilon_i$$

Modelo 3

Em que: UFC – unidades formadoras de colônias; λ – fator de transformação de Box e Cox (1964); β_0 ... β_2 - parâmetros do modelo; CMet – concentração do metabissulfito de sódio na solução; Texp – tempo de exposição em minutos; ε_i - erro associado a cada observação.

Em todos os modelos em que foram avaliados os diferentes métodos de detecção de SO_2 (MFR, MTAL e MTIF) eles foram inseridos nos respectivos modelos sob forma de variável muda, ou seja, "0 ou 1".

Para selecionar as variáveis dependentes significativas nos modelos, utilizou-se o processo de *Stepwise*, estabelecendo-se como padrão a estatística "F" de Snedecor de entrada e saída em quatro. Associado ao processo de *Stepwise*, utilizou-se o processo de Box e Cox (Box e Cox, 1964), à variável resposta, objetivando minimizar a variância e conseqüentemente o índice determinístico R^2 .

Para verificar se as pressuposições de normalidade não foram violadas em decorrência das transformações, utilizaram-se os testes de D' Agostino e Pearson para os modelos 1 e 2 e o teste de Shapiro-Wilk para o modelo 3, de acordo com Zar (1999).

Para estimar os parâmetros dos modelos e o uso de diferentes testes de normalidade, utilizou-se o programa computacional Syseapro versão β . Foi utilizado também o programa Excel para obtenção de gráficos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Concentrações de SO₂ residual em função da concentração de metabissulfito de sódio, do tempo de exposição e dos métodos de detecção.

Ao correlacionar a concentração de SO₂ residual em função das concentrações de 1 a 10% de metabissulfito de sódio, na solução de imersão dos camarões, do tempo de exposição ao conservante de 10 a 30 minutos e dos métodos de detecção de SO₂ residual utilizados, método da fita reativa (MFR), método da titulação Adolfo Lutz adaptado (MTAL) e do método da titulação iodométrica a frio (MTIF), obteve-se maximização da estatística R² ao se utilizar o transformador logaritmo, na variável resposta. Obtendo-se a seguinte função matemática:

$$\hat{C}_{SO_2} = e^{0,1845.CMet + 0,0187.Texp + 3,2758.MFR + 4,9260.MTAL + 3,8116.MTIF}$$

$$R^2 = 99,58\%$$

Modelo 1

Em que: \hat{C}_{SO_2} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; CMet – concentração do metabissulfito de sódio na solução; Texp – tempo de exposição em minutos; MFR – método da fita reativa; MTAL – método da titulação Adolfo Lutz adaptada; MTIF – método da titulação iodométrica a frio.

Para avaliar a consistência do referido modelo, verificou-se a quantidade de pontos discriminantes na relação do resíduo padronizado. De acordo com a Figura 12, nota-se a presença de 6 pontos discrepantes, ou seja, fora dos limites de -2 e +2. Como este total, encontra-se nos limites aceitáveis, ou seja menos de 5% do número de pontos do modelo (5% de 144 = 7,2) pode ser considerado

normal de acordo com Mendes (1999). Nota-se ainda que não existe uma tendência na distribuição dos pontos, evidenciando-se a consistência do modelo. Apesar da transformação logarítmica, do vetor da concentração de SO_2 residual os dados atenderam as pressuposições de normalidade ($P < 0,05$), de acordo com a estatística de D'Agostino e Pearson, segundo Zar (1999).

Quanto ao modelo, verifica-se que as três variáveis inclusas, como análise, foram significativas ($P < 0,05$), pois permaneceram no citado modelo. Nota-se também, que entre os métodos avaliados, existe diferença e que para uma mesma amostra a concentração de SO_2 residual assume valores diferenciados.

Comprovada a consistência do modelo 1, pode-se representá-lo graficamente em função dos tempos de exposição ao metabissulfito (Figura 13).

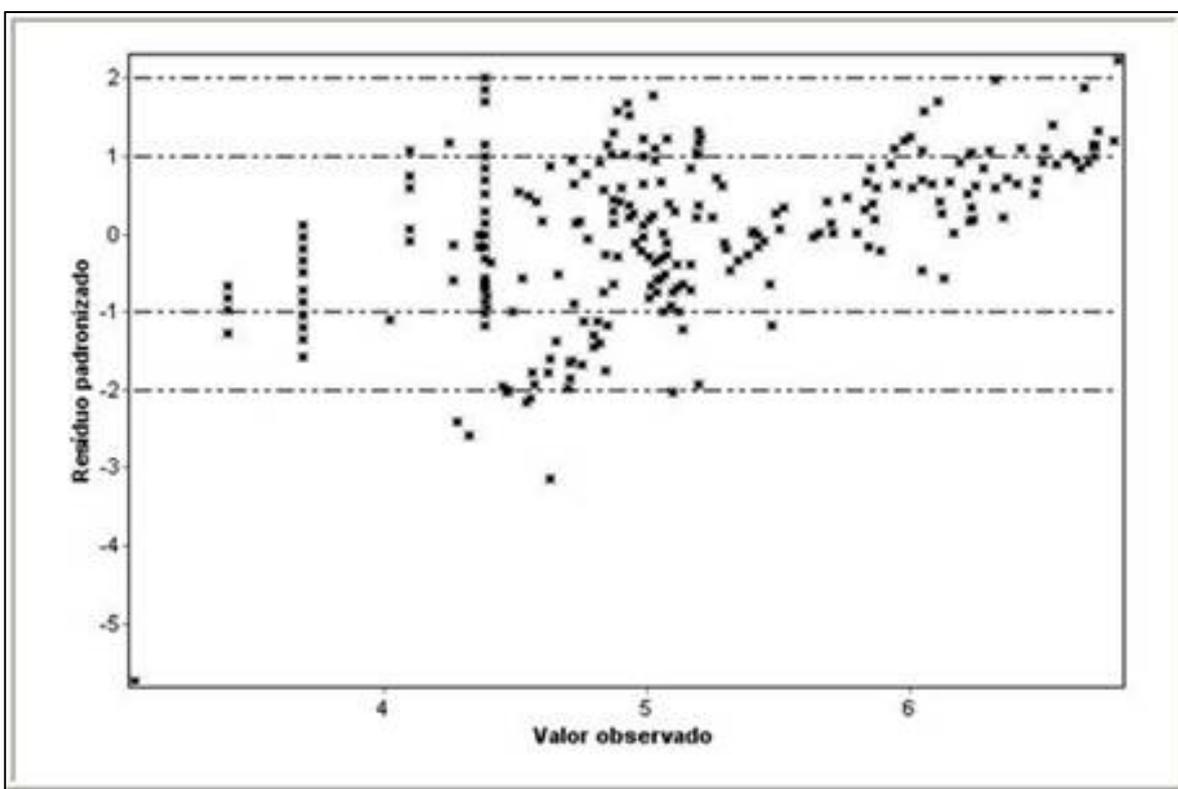


Figura 12: Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (modelo 1).

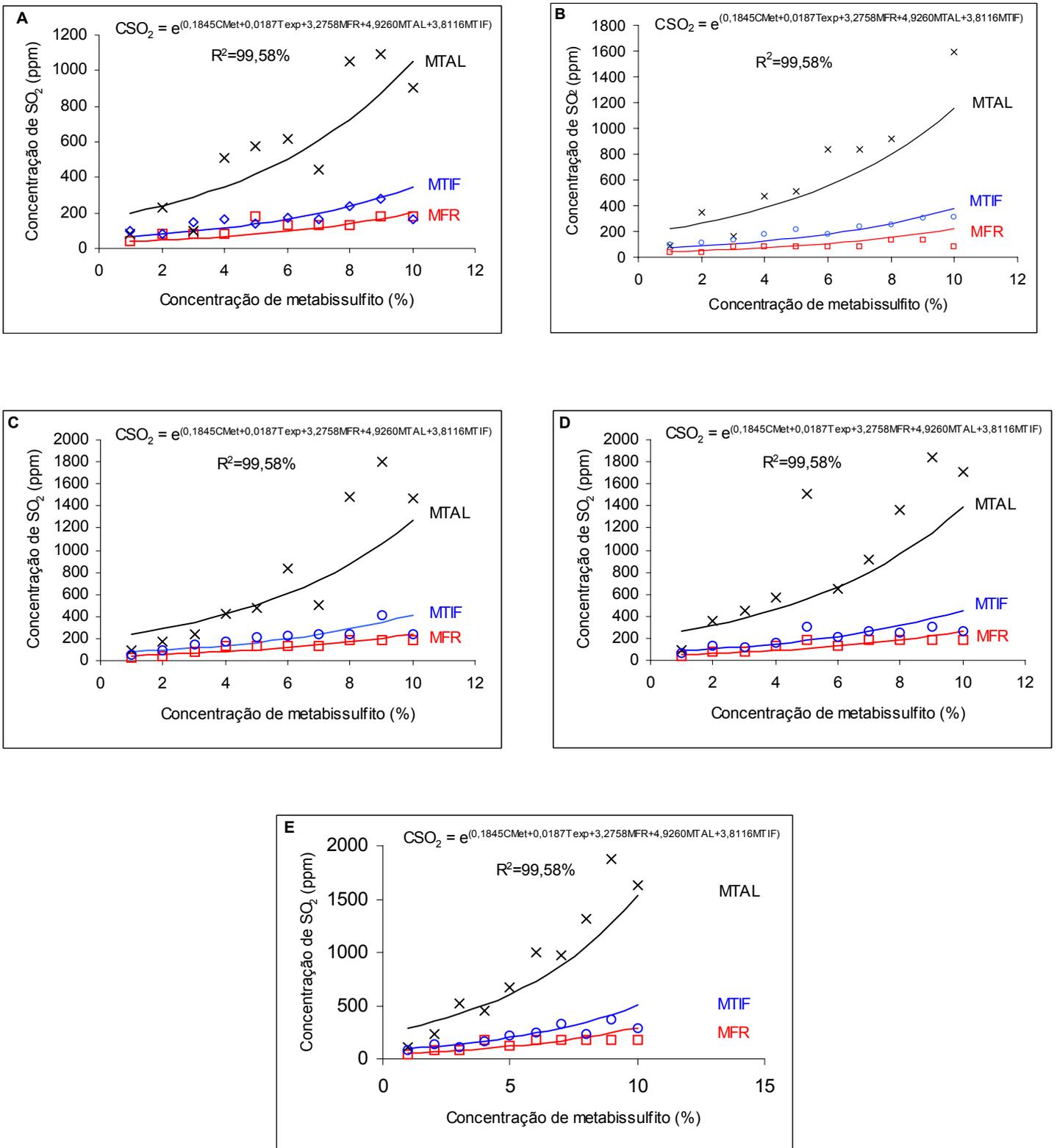


Figura 13: Relação entre a concentração de SO_2 residual e as concentrações de metabissulfito de sódio nos tempos exposição de 10 minutos (A); 15 minutos (B); 20 minutos (C); 25 minutos (D) e 30 minutos (E) na análise de camarões resfriados.

Nas concentrações testadas observou-se influência significativa do tempo de exposição sob os níveis de SO₂. De acordo com os gráficos da Figura 13, verificou-se que os valores estimados da concentração de SO₂ encontram-se muito acima do permitido na legislação (100 ppm), refletindo a realidade do uso indiscriminado do conservante na prática. Esse quadro se agrava ainda mais, aliando-se o fato de que, mesmo com lavagens subseqüentes dos camarões, os níveis de sulfito permaneceram elevados em pesquisas realizadas por Marshall; Otwell; Martin (1986). Fato que se justifica pela combinação dos sulfitos com os constituintes do produto, impossibilitando sua liberação, exceto em pH ácido. Ressalta-se que a maioria das unidades de beneficiamento julga que lavagens consecutivas diminuem significativamente os níveis de SO₂.

A legislação em vigor faz menção apenas da concentração de SO₂ que deveria estar presente na musculatura do camarão. No entanto, alguns laboratórios ao realizarem essas análises seguem instruções do solicitante quanto à forma de preparo da amostra. Por isso, dependendo do destino e do tipo do produto a ser exportado (camarão inteiro, camarão sem cabeça ou camarão descabeçado e descascado) é estabelecido onde será pesquisado o residual de SO₂. Habitualmente, camarões em tamanho comercial 81/100 são consumidos inteiros. Desta forma o fato dos camarões terem sido analisados inteiros (com cefalotórax e cutícula) está em acordo com a realidade da prática.

As altas concentrações de SO₂ encontradas corroboram com os trabalhos de Ogawa et al. (2003). Segundo estes autores, o teor residual de SO₂ obtido em camarões congelados tipo exportação no estado do Ceará foram, em termos relativos, 50% das amostras acima do limite de 100 ppm, 30,8% na faixa de 100 a 200 ppm, 15,4% entre 200 e 300 ppm e 3,8% acima de 300 ppm. Por esse

motivo, sugeriram o consumo de camarão sem casca (cutícula) justificando que cerca de 60% do SO₂ permanece nessa região, alertando ainda que esse quadro não condiga com as boas práticas de fabricação.

Controvérsias foram constatadas a respeito das reações decorrentes da adição do metabissulfito em água. Araújo e Araújo (2004) relataram que a adição do conservante em água libera SO₂, preconizando a utilização do bissulfito de sódio em substituição ao metabissulfito na carcinicultura como solução. Todavia outros autores (BOYD e GAUTIER, 2002; PIZZOFERRATO; LULLO; QUATTRUCCI, 1997; SILVA, 1988 e TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986) relataram que as formas inorgânicas dos sais de sulfito (sulfitos, bissulfito e metabissulfito) em contato com a água permanecem em equilíbrio umas com as outras, dependendo do pH para haver exacerbação de alguma e que as reações adversas, ocasionadas pelo contato ou inalação do conservante, são ocasionadas pela liberação de sulfatos. Segundo Taylor; Higley; Bush (1986), somente há liberação de SO₂ em pH abaixo de quatro (Tabela 2).

Tabela 2: Percentual do SO₂ livre em diversos pHs:

pH	SO ₂ livre (%)
1	86
2	37
2,5	16
3	6
4	0,5

Fonte: Taylor; Higley; Bush (1986).

Taylor; Higley; Bush (1986) relataram que, dependendo do método de extração, podem-se obter diferentes níveis de SO₂ de uma mesma amostra.

Detalharam que com a acidificação da amostra obtêm-se apenas a parcela de sulfito livre e havendo acidificação com aquecimento obtêm-se sulfitos livres e combinados. Segundo os mesmos autores, dificilmente é possível obter todo o sulfito combinado de uma amostra, sendo possível mobilizar apenas uma parte destes.

Os camarões que foram expostos às concentrações de metabissulfito de sódio 1, 2, 3 e 4%, apresentaram menores quantidades de SO₂ residual respectivamente, quando comparados com as demais concentrações (de 5 a 10%). Todavia, os níveis de SO₂ livre e combinado encontrados ainda estavam muito acima do permitido na legislação vigente chegando a atingir valores bem superiores a 100 ppm. Na concentração 1% obtiveram-se os menores teores de SO₂ (entre 55,51 e 151,68 ppm para sulfito livre e 21,1 e 248,19 ppm para sulfito livre e combinado), concordando com os achados de Slattery; Williams; Nottingham (1991).

Slattery; Williams; Nottingham (1991) analisaram os níveis de SO₂ na musculatura de camarões resfriados de diferentes espécies (*Penaeus esculentus*, *P. merguensis*, *P. plebejus*, *P. monodon* e *Metapenaeus endeavouri*), quando submetidos vivos e mortos à imersão em solução de água e 1% de metabissulfito de sódio, durante 30 segundos de exposição, com drenagem da solução por cinco minutos. Mesmo utilizando tempo exposição e concentração de metabissulfito relativamente pequenos, os autores obtiveram altos níveis de sulfito residual. Concluíram que o tempo de drenagem da água (5 minutos) foi insuficiente, apesar de este exceder 20 vezes o preconizado pelo FDA (15 segundos).

Nos resultados de Slattery; Williams; Nottingham (1991), os camarões submetidos ao choque térmico na presença do conservante apresentaram teores

mais elevados de SO₂, não havendo necessidade de reaplicação do produto posteriormente. Segundo estes mesmos autores não houve diferença significativa das concentrações de SO₂ residual entre as diferentes espécies e tamanhos (variação de 25 a 50 g) dos camarões analisados. Discordando dos resultados obtidos por Silva (1988), que relatou depósito mais elevado de SO₂ em camarões de pequeno porte (Tabela 3), e por Otwell e Marshall (1986) que relataram variações na ocorrência da melanose entre diferentes espécies.

Tabela 3: Resultados de análises de SO₂ em camarão pitu (*Macrobrachium carcinus*) de tamanhos variados:

Classificação	Musc. (ppm)	Casca (ppm)	Proporção (musc:casca)
10/12	19	60	3:1
12/15	10	64	6:7
15/18	13	27	2:1
18/24	08	48	6:0
24/30	05	77	15:4
30/40	13	85	6:5
40/up	42	254	6:0

Fonte: Silva (1988).

Analisando camarões da espécie *Xiphopenaeus kroyeri*, provenientes da pesca, coletados na baixada Santista, Estado de São Paulo, Munuera et al. (2004) verificaram que 50% e 100% das amostras provenientes do varejo e de barcos pesqueiros, respectivamente, apresentaram valores de SO₂ acima de 100 ppm. Os autores alertaram que apesar da lavagem e retirada da cutícula e cefalotórax, os níveis permaneceram altos, colocando em risco a saúde dos consumidores.

5.1.1 Curva de calibração entre os métodos da fita reativa (MFR), Titulação Adolfo Lutz adaptada (MTAL) e Titulação iodométrica a frio (MTIF).

Com base no modelo 1 tem-se $C_{SO_2} = e^{(0,1845.CMet + 0,0187.Texp + 3,2758.MFR + 4,9260.MTAL + 3,8116.MTIF)}$, portanto $\ln(C_{SO_2}) = 0,1845.CMet + 0,0187.Texp + 3,2758.MFR + 4,9260.MTAL + 3,8116.MTIF$, sendo o modelo apresentado para os três métodos separados tem-se:

$\hat{C}_{Met} = -0,1014Texp + (\ln(C_{SO_2}) - 3,2758) / 0,1845 \quad (\text{MFR})$ $\hat{C}_{Met} = -0,1014Texp + (\ln(C_{SO_2}) - 4,926) / 0,1845 \quad (\text{MTAL})$ $\hat{C}_{Met} = -0,1014Texp + (\ln(C_{SO_2}) - 3,8116) / 0,1845 \quad (\text{MTIF})$ $R^2 = 99,58\%$	Modelo 1.1
---	-------------------

Em que: \hat{C}_{Met} – concentração do metabissulfito de sódio na solução; Texp – tempo de exposição em minutos; C_{SO_2} – concentração de SO_2 residual; MFR – método da fita reativa; MTAL – método da titulação Adolfo Lutz adaptada; MTIF – método da titulação iodométrica a frio.

Como referência apresenta-se a curva de calibração dos métodos MFR, MTAL e MTIF (Figura 14) para o valor de SO_2 igual a 100 ppm.

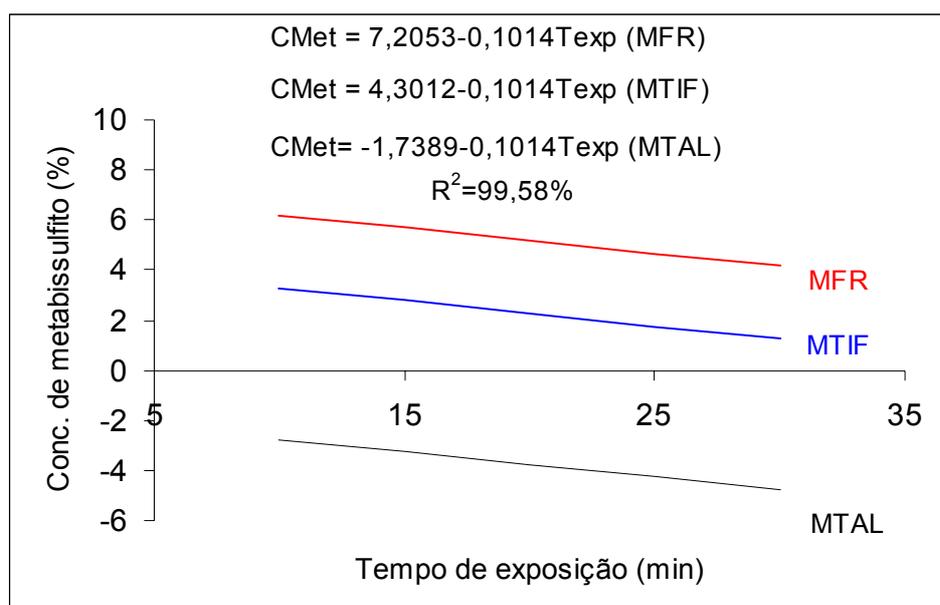


Figura 14: Curva de calibração dos três métodos de detecção para a concentração 100 ppm de SO_2 residual.

Determinaram-se valores de sulfitos combinados e livres pelo método MTAL, que extrapolaram o modelo proposto (Figura 14). A análise dos métodos MTIF e MFR demonstrou detecção apenas dos sulfitos livres. Concordando com Pizzoferrato; Lullo; Quattrucci (1998) que relataram à extração de sulfitos combinados apenas em métodos onde há junção do pH ácido com o aquecimento.

Apesar do método MTAL não ser oficialmente indicado para determinação de SO₂ em camarões, ficou demonstrado ser o método de grande sensibilidade. Taylor; Higley; Bush (1986) citaram que o método oficial de Monier-Williams, apesar de ser o mais comumente utilizado para detecção de sulfitos, é bastante laborioso, além de consumir muito tempo. Segundo os autores, numerosos métodos de detecção de SO₂ têm sido desenvolvidos ao longo dos anos, fazendo-se necessária maior análise crítica a esse respeito.

Existem duas linhas de métodos para determinar SO₂ total: aqueles onde a extração de SO₂ é realizada por destilação ácida e aqueles onde é realizada por álcalis. Todavia, nas duas formas a extração de SO₂ não se dá totalmente, devido a grande estabilidade de alguns sulfitos combinados (TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986).

Taylor; Higley; Bush (1986) relataram a existência de muitas variações (adaptações) do método da titulação iodométrica, originalmente, descrito por Ripper⁴ (1892). Segundo os autores, com este método é possível detectar os sulfitos livres e apenas uma pequena parcela dos sulfitos combinados. Entretanto, relataram que o iodo tem capacidade de reduzir outros compostos que podem ser erroneamente confundidos com o SO₂. No presente estudo, ao utilizar o MTIF, a

⁴RIPPER, M., (1892). Die schweflige Aäure im Weine und deren Bestimmung. J. Prakt. Chem. 46, p. 428-473, citado por Taylor; Higley; Bush (1986), p. 18.

parcela de sulfitos combinados não foi mobilizada, visto que não houve aquecimento associado ao pH ácido, como preconizado por Pizzoferrato; Lullo; Quattrucci (1998).

Ao analisar resíduos de sais de sulfitos em camarões frescos inteiros e descascados pelo método de Monier-Williams otimizado, Daniels et al. (1992) observaram valores de 175 ppm e 52 ppm respectivamente, o que significou uma redução de cerca de 60% nos níveis de SO₂ ao descascar o produto. Recomendação para o uso do método Monier-Williams apenas em alimentos onde a concentração de SO₂ esperada seja ≥ 10 ppm, são realizadas por Hillery e Elkins (1989).

O método MFR, não apresentou boa sensibilidade aos sulfitos livres, quando comparado com os resultados obtidos pelo MTIF nas mesmas amostras. Recomenda-se que o fabricante descreva, na instrução de uso do produto, maiores especificações de como este deve ser utilizado para mensurar SO₂ residual em camarões *in natura*, visto que os valores máximos obtidos não ultrapassaram 180 ppm nas concentrações com 10% de metabissulfito e que o produto tem capacidade máxima para mensurar 400 ppm.

Silva (1988) preconizou a imersão da fita reativa diretamente no camarão triturado (pasta) durante trinta segundos, justificando que no método de Monier-Williams, o homogeneizado de camarão é constituído tanto do meio, como da superfície da musculatura. Por outro lado, nas instruções de uso do produto, faz-se menção a capacidade de detecção de resíduos de sulfitos em camarões, entretanto, não há descrição do preparo da amostra, apenas indica-se imersão da fita no líquido a ser analisado por 30 segundos.

5.2 Avaliação da concentração de SO₂ residual em relação ao tempo de armazenamento nas concentrações 1, 2, 3 e 4% de metabissulfito de sódio.

Os resultados da modelagem estatística da concentração de SO₂ residual em função das concentrações de metabissulfito de sódio (1, 2, 3 e 4%) na solução de imersão dos camarões, do tempo de exposição (10 a 30 min) dos camarões ao conservante, do tempo de armazenamento de 1 mês e dos métodos de detecção de SO₂ residual é apresentado no modelo 2.

$$\hat{C}_{SO_2} = e^{0,3147.CMet + 0,0115.Texp + 3,2125.MFR + 4,7286.MTAL + 3,8769.MTIF}$$

$$R^2 = 99,46\%$$

Modelo 2

Em que: \hat{C}_{SO_2} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; CMet – concentração do metabissulfito de sódio na solução; Texp – tempo de exposição em minutos; MFR – método da fita reativa; MTAL – método da titulação Adolfo Lutz adaptada; MTIF – método da titulação iodométrica a frio.

De acordo com a análise de resíduo do referido modelo, verificou-se a presença de 9 pontos discriminantes (Figura 15), portanto dentro dos limites aceitáveis de 5% do total de números do modelo (5% de 294 = 15) segundo Mendes (1999). Nota-se que não há uma tendência na distribuição dos pontos, evidenciando-se, desta forma a consistência do modelo. De acordo com o teste de D'Agostino e Pearson (ZAR, 1999), constatou-se também que o vetor da concentração de SO₂ residual, apesar da transformação logarítmica, foi considerado normal (P<0,05).

Verifica-se de acordo com o modelo que a variável tempo de armazenamento não foi incluída, por não haver influência significativa (P≥0,05) na

concentração de SO_2 residual. Quanto às demais variáveis, como análise, foram significativas ($P < 0,05$), pois permaneceram, no citado modelo.

Comprovada a consistência do modelo 2, pode-se representá-lo graficamente em função dos tempos de exposição ao metabissulfito (Figura 16).

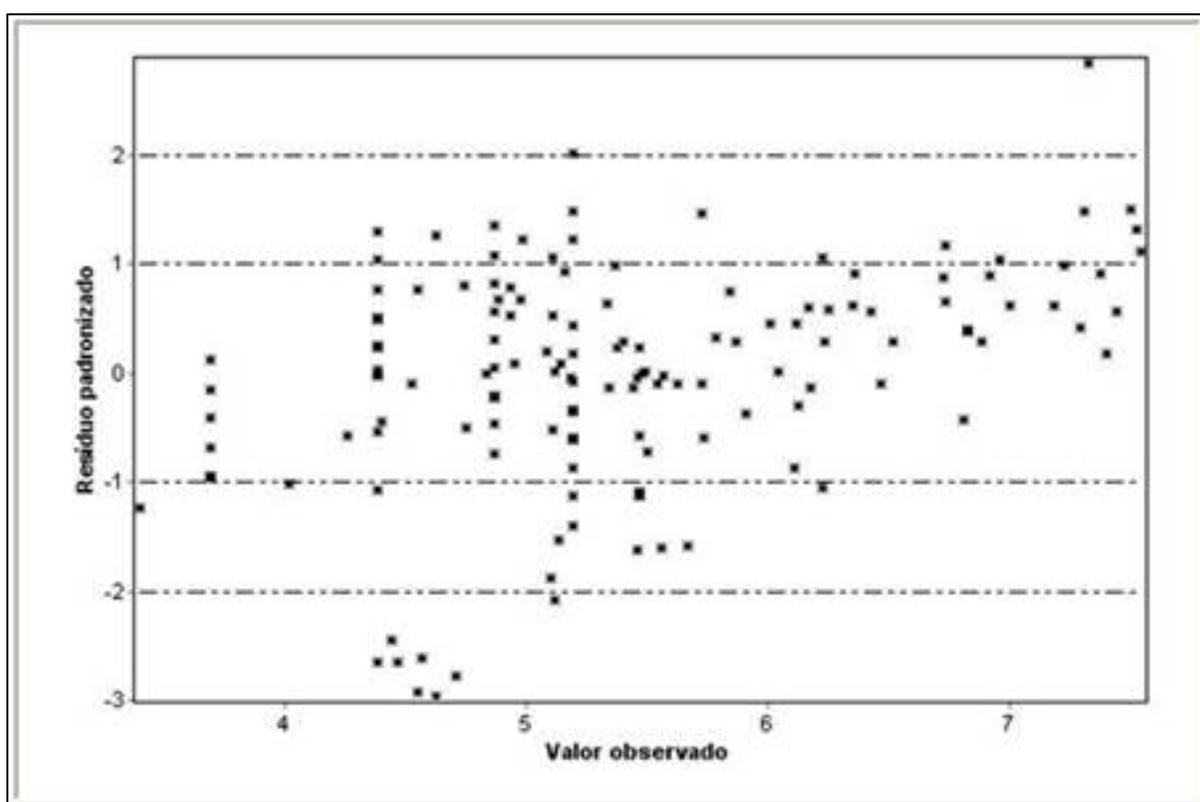


Figura 15: Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (modelo 2).

Durante o tempo de armazenamento não foi observado o desenvolvimento de melanose nos camarões das concentrações 2, 3 e 4%. Sugere-se a realização de estudos que visem averiguar a manutenção deste quadro em períodos de armazenamento maiores que 30 dias sob congelamento.

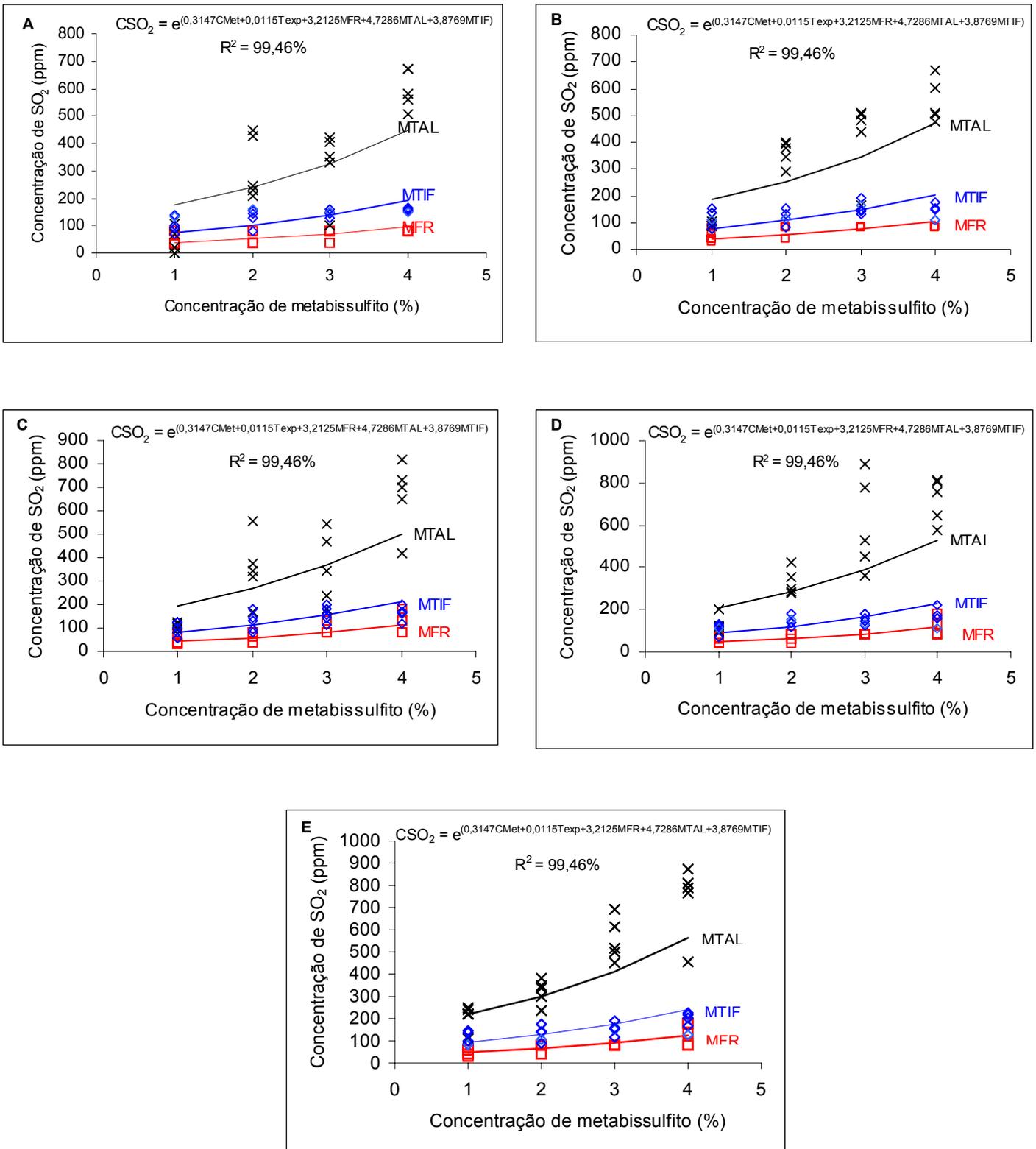


Figura 16: Relação entre a concentração de SO_2 residual e as concentrações 1, 2, 3 e 4% de metabissulfito de sódio nos tempos exposição de 10 minutos (A); 15 minutos (B); 20 minutos (C); 25 minutos (D) e 30 minutos (E) durante os 30 dias de congelamento.

Os resultados obtidos com a concentração 1% foram os mais próximos do desejado, pois se obtiveram valores máximos entre 110 e 248,19 ppm de SO₂ livre e combinado, apenas nos tempos de exposição de 25 e 30 minutos (Figura 16). Concordando com a indicação do FDA que preconiza imersão dos camarões em solução com metabissulfito de sódio a 1,25% por 10 minutos. Todavia, constatou-se que os camarões provenientes da concentração 1% apresentaram discreto escurecimento do hepatopâncreas nas últimas semanas (a partir do 20º dia de armazenamento). Enquanto os camarões das demais concentrações apresentavam o hepatopâncreas com coloração alaranjada, o que demonstrou maior conservação do produto.

Nos camarões expostos à concentração 4% de metabissulfito de sódio, em todos os tempos de exposição, foram obtidos resultados de SO₂ livre e combinados bastante elevados, acima de 480 e 150 ppm para SO₂ combinado e livre, respectivamente. Contudo, obtiveram-se valores residuais acima do permitido na legislação ao utilizar esta concentração. Recomenda-se a utilização das concentrações 2% e 3% em todos os tempos de exposição. Todavia, para escolha da concentração adequada, o produtor e/ou a empresa de beneficiamento precisam definir, anteriormente, qual será o tamanho do camarão e sua condição de muda, o tipo de produto final (camarão inteiro ou descascado) e o período de armazenamento proposto.

Em relação ao período de armazenamento, apesar de Ogawa e Ferreira (2003) relatarem que concentrações de metabissulfito de sódio abaixo de 6% são insuficientes para armazenamento prolongado, observou-se que as concentrações 2 e 3% conservaram adequadamente o produto por 30 dias.

Os tempos de exposição estudados (10, 15, 20, 25 e 30 minutos) influenciaram significativamente nos níveis residuais de SO₂ dos camarões analisados. Recomenda-se que os produtores e/ou unidades de beneficiamento analisem qual o produto desejado (concentração de SO₂) para determinar a melhor relação entre a concentração de metabissulfito na solução e o tempo de exposição. Ressalta-se que o tamanho, ciclo de muda e formas de apresentação do camarão podem interferir no resultado final (Figura 16).

Resultados semelhantes com ação mais efetiva na prevenção da melanose em camarões rosa (*Farfantepenaeus duorarum*) com a concentração 2,5% de metabissulfito de sódio por um minuto de exposição foram obtidos por Otwell e Marshall (1986).

Ogawa e Ferreira (2003) relataram que, na prática, a concentração 1,25% por dez minutos, preconizada pelo FDA, não é suficiente para manter a integridade do produto por tempo prolongado de armazenamento. Sugerindo a concentração de 6% por 15 e/ou 20 minutos como suficiente. Os autores justificaram que os níveis de SO₂ caem significativamente com as lavagens consecutivas durante o beneficiamento do produto. Todavia relataram que nos mesmos camarões, quando pré-cozidos, os valores de SO₂ foram superiores aos do produto acabado devido à desidratação, naturalmente, decorrente do cozimento.

No presente estudo os valores de SO₂ obtidos com a concentração de 6% variaram, em média, de 80 a 130 ppm (MFR), de 614,41 a 1004,66 ppm (MTAL) e de 170,48 a 241,54 ppm (MTIF). Estes valores encontram-se muito acima do permitido pela legislação, estando dentro da margem permitida apenas os valores

encontrados pelo método MFR que, mensura somente o sulfito livre e que apresentou baixa sensibilidade em comparação ao MTIF.

Marshall; Otwell; Martin (1986) avaliaram os níveis de SO₂ na musculatura de camarões de água doce congelados expostos a soluções de água e metabissulfito de sódio nas concentrações 0,5, 1,25 e 2% por um minuto com 30 segundos de drenagem. Valores entre 41 e 72 ppm, 72 e 188 ppm e 112 e 301 ppm de SO₂, foram obtidos, respectivamente, para as concentrações estudadas.

Ao avaliar a influência da lavagem e de diferentes métodos de cozimento (cozido, frito, grelhado e *sauté*) em camarões, Marshall; Otwell; Martin (1986) relataram que após descongelar, descascar e lavar os camarões, os níveis de SO₂ foram reduzidos, mas o percentual de redução foi limitado, sendo similar para camarões pequenos (51/60) e grandes (26/30).

Quanto aos métodos de cozimento, os mais típicos (cozido, frito e grelhado) apenas apresentaram pequenas vantagens na redução dos sulfitos em camarões expostos à concentração 2% de metabissulfito, por esta apresentar maior quantidade de sulfito livre. Somente o cozimento de alta intensidade (*sauté*) foi capaz de reduzir os níveis de SO₂ (livre e combinado) em todas as concentrações pesquisadas. Baseado nesse fato, os autores sugeriram reavaliação do limite de 30 ppm de SO₂ em camarão cozido preconizado pela FAO (MARSHALL; OTWELL; MARTIN, 1986).

O Codex Alimentarius Commission (CAC) estabelece que o cozimento dos alimentos ocasiona diminuição, em cerca de 70%, do resíduo do metabissulfito. Todavia, os achados de Marshall; Otwell; Martin (1986) contradizem o descrito, indicando que em camarões *in natura*, a maioria dos métodos convencionais de cocção não foram efetivos na diminuição dos resíduos de sais de sulfitos.

Ao avaliar as concentrações de SO₂ antes e depois dos camarões serem submetidos à fritura com e sem empanamento, Marshall; Otwell; Martin (1986) relataram que não foi observada migração dos sulfitos para a massa e que estes provavelmente foram diluídos nas partes comestíveis dos camarões.

Correlacionando os resultados, verifica-se que o excedente de conservante não pode ser eliminado do produto, na sua totalidade, por meio de lavagem e métodos tradicionais de cocção, procedimentos comuns na maioria das empresas de beneficiamento, evidenciando-se a necessidade de precisão durante a aplicação do produto.

Nos resultados obtidos pelo Centro de Experimentação e Valorização dos Produtos do Mar - CEPVPM (2001), situado em Paris – França, foi observado a ausência de redução nas taxas residuais de sulfitos na musculatura de camarões *Litopenaeus vannamei*, após o descongelamento, cozimento e resfriamento por banhos. Contudo, discreto aumento dos níveis de SO₂ foi constatado após o tratamento térmico (cocção por imersão em água quente), devido à difusão dos sulfitos presentes em forte proporção na cutícula e cefalotórax, em direção à musculatura. Os autores afirmaram que a cocção dos camarões, por meio de estufa, microondas e vapor, não levou a nenhuma diminuição da taxa de sulfito, ao contrário, tendeu a concentrá-los devido a desidratação do produto. Estes resultados estão de acordo com os de Ogawa e Ferreira (2003), uma vez que estes autores afirmaram que o cozimento propicia maior concentração de SO₂ residual por desidratação do produto.

O teor de sulfito em camarões *in natura* da espécie *Litopenaeus vannamei*, em tamanho comercial 121/140 e 81/100, provenientes do México (lote 1), Brasil (lote 2) e Equador (lote 3) foi avaliado no CEPVPM (2001). As taxas de sulfito

encontradas entre os camarões do mesmo lote apresentaram grandes variações, de 200 a 323 ppm e de 80 a 157 ppm para os do México e do Brasil respectivamente, o que pode ser conseqüente da utilização do metabissulfito de sódio de forma variada no campo. Foi ainda verificado que os sulfitos estavam mais concentrados no cefalotórax e na cutícula e que possivelmente estas regiões apresentam capacidade intrínseca de fixar sulfitos (sulfitos combinados).

Diferentes substâncias conservadoras e combinações de dois ou mais conservantes foram testados por Otwell e Marshall (1986) em camarões rosa (*Farfantepenaeus duorarum*) para substituir ou reduzir o uso de sais de sulfitos na inibição da melanose. Todavia, nenhum substituto ou combinação de substância apresentou melhores resultados (incluindo-se custo-benefício) do que o metabissulfito de sódio na concentração 1,25%. Ressaltando-se que melhores resultados na inibição da melanose foram alcançados com a concentração do referido conservante em 2,5%, semelhante aos resultados obtidos no presente trabalho.

Segundo Taylor; Higley; Bush (1986), bons resultados têm sido obtidos com substitutos para sais de sulfito em alimentos. Em contrapartida, Wagner e Finne (1986) relataram que é, praticamente, impossível a completa substituição do uso dos sulfitos em camarões. Contudo, Guandalini et al. (1998) e Otwell e McEvily (1990) obtiveram resultados satisfatórios utilizando 4-hexylsorcinol e a formulação everfreshTM, respectivamente, a nível experimental em camarões. Todavia, maiores pesquisas são requeridas pelos autores para resultados conclusivos.

Otwell e Marshall (1986) sugeriram que misturas de metabissulfito de sódio, ácido cítrico, eritrobato e/ou EDTA podem oferecer prevenção moderada

da melanose em camarões *Farfantepenaeus duorarum*, indicando que a mistura é mais efetiva quando são adicionadas maiores concentrações de metabissulfito.

Diferentes soluções para lavagem dos camarões foram testadas por Marshall; Otwell; Martin (1986), que determinaram melhores níveis de redução do teor residual de SO₂ quando se utilizou água mineral e soda nas lavagens. Ao utilizar peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% e água ozonizada, os autores verificaram diminuição significativa dos níveis de sulfitos residuais apenas nos camarões que foram submetidos a concentração 2% de metabissulfito.

5.3 Avaliação do teste de susceptibilidade antimicrobiana.

Ao correlacionar a carga microbiana dos camarões, quando submetidos às concentrações de metabissulfito de sódio e aos tempos de exposição (10 e 20 min) pode-se modelar essas variáveis e maximizar o índice determinístico (R²), utilizando transformador raiz quadrada. Desta forma, os parâmetros do modelo foram estimados de acordo com a seguinte função:

$$\text{UFC} = (2,1807\text{CMet} + 2,0723\text{Texp})^2$$

$$R^2 = 93,90\%$$

Modelo 3

Em que: UFC – unidades formadoras de colônias; C_{Met} – concentração do metabissulfito de sódio na solução; T_{exp} – tempo de exposição em minutos.

Apesar do modelo possuir R² ligeiramente pequeno, em relação aos anteriores, verificou-se que ele não apresenta pontos discrepantes (Figura 17), assim como os dados transformados possuem distribuição normal, de acordo com o teste de Shapiro Wilk citado por Zar (1999).

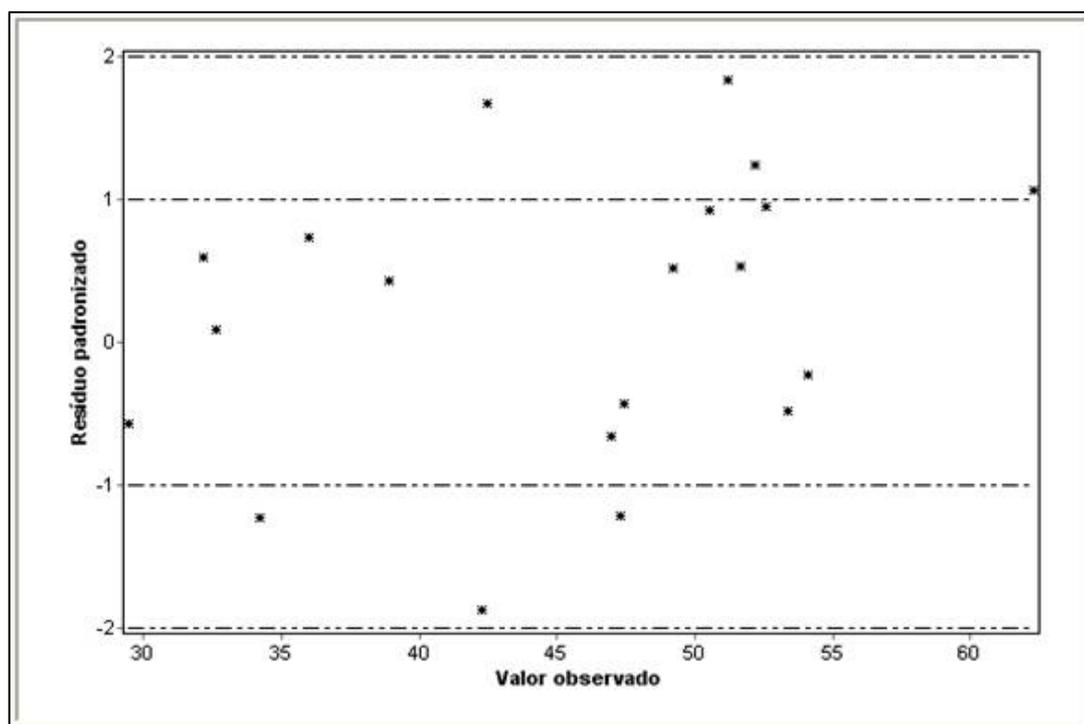


Figura 17: Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (modelo 3).

Nos resultados obtidos (Figura 18), observou-se decréscimo do número de unidades formadoras de colônias (UFC) em função do aumento da concentração de metabissulfito, concordando com relatos de Taylor; Higley; Bush (1986) de que o metabissulfito de sódio é um bom agente antimicrobiano. Verificou-se ainda, que o número de UFC/g praticamente dobrou no tempo de exposição de 20 minutos, em comparação com o tempo de 10 minutos nas mesmas amostras. Isto pode ser devido à condição de anaerobiose proporcionada em decorrência do seqüestro de oxigênio pelo metabissulfito de sódio, que beneficiou uma determinada população de microrganismos anaeróbica e/ou anaeróbica facultativa, que se encontrava inibida pela aerobiose ou pela predominância de outros microrganismos aeróbicos.

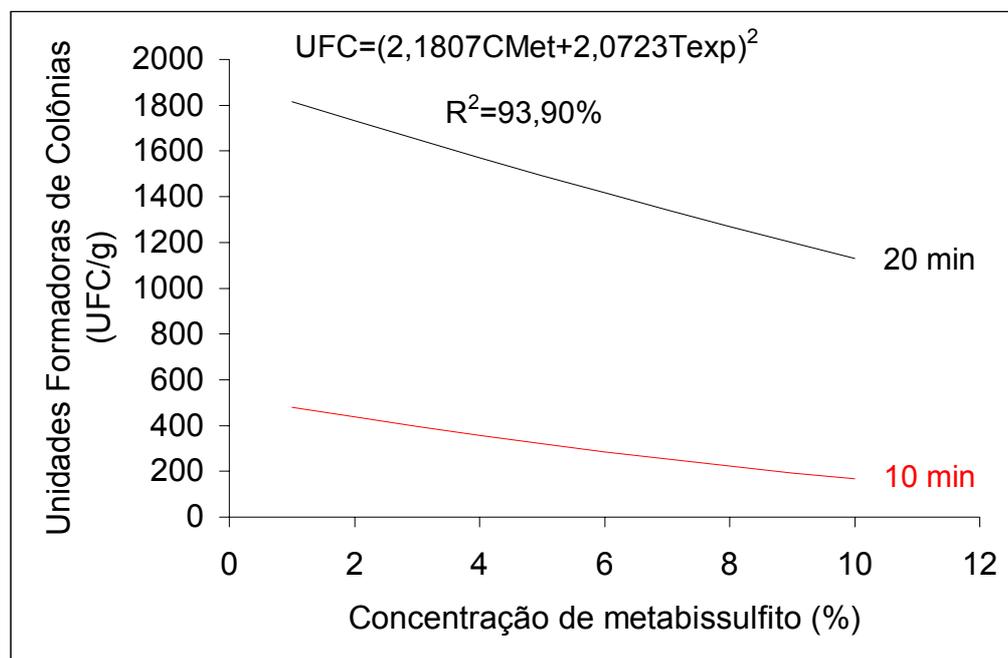


Figura 18: Relação entre o número de unidades formadoras de colônias e as concentrações de metabissulfito de sódio e os tempos de exposição nos camarões.

Mendes et al. (2003) testaram diversas concentrações de metabissulfito de sódio perante algumas bactérias de origem marinha. Apresentaram sensibilidade ao conservante, nas concentrações de 10 a 100 ppm, na presença ou ausência de matéria orgânica (10% de camarão triturado estéril), *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella Albany*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. harvey*, *V. cholerae* não O1, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*.

Mendes (op. cit.) relataram ainda que o *V. alginolyticus* foi sensível apenas na ausência de matéria orgânica, enquanto o *Proteus mirabilis* foi sensível na sua presença. Os demais microrganismos *Salmonella enterica* Infantis, *Citrobacter freundii*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (EPEC 025, EPEC 019 e EIEC) foram resistentes ao conservante,

independente da matéria orgânica. A *Aeromonas caviae* demonstrou resistência na ausência de matéria orgânica.

Ao analisar cogumelos em conserva, Bragagnolo; Silva; Taniwaki (2001) observaram que baixos níveis de dióxido de enxofre são suficientes para exercer função antimicrobiana. Da mesma forma, Dipersio et al. (2003) relataram à eficiência do metabissulfito de sódio na inativação de bactérias do gênero *Salmonella* durante o processo de secagem e armazenamento de fatias de maçãs.

A ação antimicrobiana do metabissulfito de sódio em camarões do gênero *Penaeus* expostos a soluções com concentrações 0,6, 1,25 e 2,5% por 5 minutos foram pesquisadas por Pyle e Koburger (1981). Ao analisarem o percentual de redução dos microrganismos nos camarões com metabissulfito em comparação com camarões não submetidos ao tratamento com o conservante, detectaram taxas com 49, 66 e 74% de redução respectivamente. Confirmando desta forma a eficiência do metabissulfito com agente antimicrobiano.

6 CONCLUSÕES

Ao avaliar o uso do metabissulfito de sódio na pós-colheita do camarão *Litopenaeus vannamei* e a eficácia dos diferentes métodos de detecção de SO₂ residual, conclui-se que:

- O método da titulação Adolfo Lutz adaptado foi mais eficiente na detecção dos sulfitos livres e combinados que os métodos da titulação iodométrica a frio e da fita reativa;
- O método da titulação iodométrica a frio apresentou maior sensibilidade aos sulfitos livres do que o da fita reativa;
- As concentrações, atualmente utilizadas, estão excessivamente altas, ocasionando desperdício de conservante e gerando elevados níveis de SO₂ nos camarões;
- A concentração 1% de metabissulfito de sódio foi eficiente na inibição da melanose apenas nos primeiros 20 dias de armazenamento sob congelamento;
- As concentrações de 2 e 3% de metabissulfito de sódio conservaram adequadamente os camarões, pelo período de 30 dias sob congelamento;
- As concentrações de metabissulfito de sódio, superiores a 4%, foram consideradas inapropriadas para utilização em camarões, por acarretarem resíduos de sulfitos muito acima do permitido por lei;
- Os tempos de exposição (10, 15, 20, 25 e 30 minutos) ao conservante influenciaram significativamente nos níveis de SO₂ residual e devem ser determinados em consonância com o tempo de armazenamento previsto para o produto;

- Não houve redução significativa das concentrações de SO₂ residual nos camarões durante os 30 dias de armazenamento;
- A ação antimicrobiana deste conservante, provavelmente, beneficiou microrganismos anaeróbicos e/ou anaeróbicos facultativos, dominantes no cultivo, devido a sua ação antioxidante.

REFERÊNCIAS

ALLEN, D. H. Asthma induced by sulphites. **Food Technology in Australia**, Sidney, v.37, n.11, p.506-507, Nov. 1985.

ALMEIDA, A. E. G. **A comercialização de alimentos in natura na região da grande São Paulo**. São Paulo: Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal, 1978.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. 14th. **Official Methods of Analysis**. Washington, D.C., 1984.

ARAÚJO, F. R.; ARAÚJO, Y. M. G. Metabissulfito de sódio e SO₂: Perigo químico oculto para os trabalhadores que realizam a despesca do camarão em cativeiro. **Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, Recife, ano 6, n.4, dez. 2004.

ATKINSON, D. A.; SIM, T. C.; GRANT, J. A. Sodium metabisulfite and SO₂ release: an under-recognized hazard among shrimp fishermen. **Annals of Allergy**, Prospect, v.71, n.6, p.563-566, Dec. 1993.

BARBIERI Jr., R. C.; OSTRENSKY, A. N. **Camarões marinhos: reprodução, maturação e larvicultura**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2001a. 258p.

BARBIERI Jr., R. C.; OSTRENSKY, A. N. **Camarões marinhos: engorda**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2001b. 372p.

BEHRE, L. M. Sulfite food additives: to ban or not ban? **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, Ames, v.6, n.9, p.386-390, 1986.

BEZERRA, M. A. Lista sobre carcinicultura. São Paulo. [200?].
<<http://br.groups.yahoo.com/group/carcinicultor/message/1474>> Acesso em: 25 de maio de 2003.

BOYD, C. E.; GAUTIER, D. Sodium bisulphite treatment improves shrimp appearance but require proper disposal. **Global Aquaculture Advocate**, St. Louis, p.70-71, Aug. 2002.

BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of Royal Statistic Society**, Ser.B, v.26, p.211-243, 1964.

BRAGAGNOLO, N.; SILVA, C. A.; TANIWAKI, M.H. Avaliação dos teores de enxofre e da qualidade microbiológica de cogumelos em conserva. **Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.60, n.2, p.103–107, 2001.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Resolução nº12 de 1978. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 de maio de 1978.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Resolução nº04, de 1988. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 1988. Seção I, p.24716-24723.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Ata da reunião preparatória do MERCOSUL-II: pescados**, Brasília, DF, 2000.

CENTRO DE EXPERIMENTAÇÃO E VALORIZAÇÃO DOS PRODUTOS DO MAR – CEPVPM. **Dossiê técnico sobre as taxas de sulfitos residuais nos camarões cozidos**. Paris, 2001. 32p.

DANIELS, D. H. et al. Survey of sulphites determined in a variety of foods by the optimized Monier-Williams method. **Food Additives and Contaminants**, Basingstoke, v.9, n.4, p.283-289, 1992.

DIPERSIO, P. A. et al. Inactivation of *Salmonella* during drying and storage of apple slices treated with acidic or sodium metabisulfite solutions. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.66, n.12, p.2245 – 2251, Dec. 2003.

EMPAF. **Controle de qualidade: método de determinação do resíduo de metabissulfito de sódio**, Recife, 2003. p.1-2.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological analytical manual 8. ed.** Gaithersburg: AOAC International, 1998.

GUANDALINI, E. et al. 4-Hexylresorcinol as inhibitor of shrimp melanosis: efficacy and residues studies; evaluation of possible toxic effect in a human intestinal *in vitro* model (Caco-2); preliminary safety assessment. **Food Additives and Contaminants**, Basingstoke, v.15, n.2, p.171-180, 1998.

HARDISSON, A. et al. Content of sulphite in frozen prawns and shrimps. **Food Control**, Guildford, v.13, p.275-279, 2002.

HATHA, A. A. M.; MAQBOOL, T. K.; KUMAR, S. S. Microbial quality of shrimp products of export trade produced from aquacultures shrimp. **Journal Food Microbiology**, London, v.82, p.213-221, 2003.

HILLERY, B. R.; ELKINS, E. R. Optimized Monier-Willimas method for determination of sulphites in foods: Collaborative study. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v.72, n.3, p.470-475, Mar. 1989.

LAURILA, E.; KERVINEN, R.; AHVENAINEN, R. The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits. **Agbiotech News and Information**, Oxon, v.9, n.4, p.53-66, 1998.

LUCIEN, H. Processo de despesca do camarão “hoso” (Head on Shell on). **Revista Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, Recife, ano 5, n.1, p.90-96, mar. 2003.

MARSHALL, M.; OTWELL W. S.; MARTIN, R. E. Influence of washing and cooking on sulfite residuals on treated shrimp. In: ANNUAL TROPICAL AND SUBTROPICAL FISHERIES TECHNOLOGICAL CONFERENCE OF THE AMERICAS, 11., 1986, Gainesville. **Proceedings**... Gainesville: [s.n.], 1986. p.15-22.

McEVILY, A. J.; IYENGAR, R.; OTWELL, S. Sulfites Alternatives Prevents Shrimp Melanosis. **Food Technology**, Florida, p.81–86, Sep. 1991.

MENDES, E. S. et al. Efeito do metabissulfito de sódio em algumas bactérias de origem marinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA - CONBEP, 13., 2003, Porto Seguro. **Anais**... Porto Seguro: [s.n.], 2003.

MENDES. P. P. **Estatística aplicada a aqüicultura**. Recife: Bagaço, 1999. 265p.

MIDEO, A. F.; MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. p.146-147.

MUNUERA, J. C. et al. Análise quantitativa de bissulfito de sódio residual em amostras de camarão colhidas na Baixada Santista, estado de São Paulo, Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.116/117, jan/fev. 2004.

NAPPI, .A. J.; VASS, E. Melanogenesis and the generation of cytotoxic molecules during insect cellular immune reactions. **Pigment Cell Researchs**, [s.l.], v.6, p.117-126, 1993.

OGAWA, N. B. P. et al. Teor residual de SO₂ em camarões congelados exportados pelo estado do Ceará. In: **Boletim Técnico e Científico/IBAMA**, Fortaleza, v.3, n.1, p.191-196, 2003.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. v.1, 430p.

OGAWA, M.; FERREIRA, O. M. Comportamento de teor de SO₂ residual em camarão relacionado à inibição da melanose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA - CONBEP, 13., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: [s.n.], 2003.

OTWELL W. S.; MARSHALL, M. Screening alternatives to sulfating agents to control shrimp melanosis. In: ANNUAL TROPICAL AND SUBTROPICAL FISHERIES TECHNOLOGICAL CONFERENCE OF THE AMERICAS, 11., 1986, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: [s.n.], 1986. p.35-44.

OTWELL W. S.; McEVILY, A. J. Inhibition melanosis in trawled and pond-reared shrimp species. In: ANNUAL TROPICAL AND SUBTROPICAL FISHERIES TECHNOLOGICAL CONFERENCE OF THE AMERICAS, 15., 1990, Orlando. **Proceedings...** Orlando: [s.n.], 1990. p.369-372.

PAPAZIAN, R. Sulfites: Safe for most, dangerous for some. **FDA Consumer**, Washington, v.30, n.10, Dec. 1996.

PERAZZOLO, L. M. **Estudo do sistema imune do camarão marinho *Penaeus paulensis*, com ênfase no sistema pró-fenoloxidase.** 1994. 121f. Dissertação. (Mestrado em Aqüicultura) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade de Santa Catarina, Florianópolis.

PIZZOFERRATO, L.; LULLO, G.; QUATTRUCCI, E. Determination of free, bound and total sulphites in foods by direct photometry-HPLC. **Food Chemistry**, London, v.63, n.2, p.275-279, 1998.

PYLE, M. L.; KOBURGER, J. A. The effect of water, bisulfite and hypochlorite rinses on the microbial flora of shrimp. In: ANNUAL TROPICAL AND SUBTROPICAL FISHERIES TECHNOLOGICAL CONFERENCE OF THE AMERICAS, 6., 1981, Santo Antonio. **Proceedings...** Santo Antonio: [s.n.], 1981. p.70-74.

RIBERA, D. et al. Absence of adverse effects of sodium metabisulphite in manufactured biscuits: results of subacute (28-days) and subchronic (85-dayz) feeding studies in rats. **Food Additives and Contaminants**, Basingstoke, v.18, n.2, p.103-114, 2001.

ROCHA, I. P.; MAIA, E. P. Desenvolvimento tecnológico e perspectivas de crescimento da carcinicultura marinha brasileira. In: AQUACULTURA BRASIL, 1998, Recife. **Anais...** Recife: [s.n.], v.1, 1998. p.213-235.

ROCHA, I. P. Agronegócio do camarão cultivado - Uma nova ordem econômico-social para o litoral nordestino, **Revista Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, Recife, ano 2, n.1, p.23-30, mar. 2000.

ROCHA, I. P.; RODRIGUES, J. A carcinicultura brasileira em 2002. **Revista Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, Recife, ano 5, n.1, p.30-45, mar. 2003.

ROCHA, I. P.; RODRIGUES, J.; AMORIM, L. A carcinicultura brasileira em 2003. **Revista Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, Recife, ano 6, n.1, p.10-18, mar. 2004.

ROCHA, I. P. ABCC Aponta crescimento da carcinicultura nacional. **Revista Nacional da carne**, São Paulo, n.323, 2004.

RUBINI, N. **Asma e alergia alimentar**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Asmáticos, 2003. Disponível em: <<http://www.asmaticos.org.br>> Acesso em 03 de jan. 2003.

RUSSEL, J. B. **Química geral**. São Paulo: Mc Graw Hill, 1980. p.648-653.

SALES, D. S. et al. O desenvolvimento recente da aqüicultura brasileira. In: ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA - ANUALPEC, 2005. Piracicaba: Livroceres, 2005. p.252-256.

SAMPAIO, Y.; COSTA, E. Geração de empregos diretos e indiretos na cadeia produtiva do camarão cultivado. **Revista Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, Recife, ano 5, n.1, p.60-64, mar. 2003.

SÃO PAULO. Secretaria de Estado de Saúde. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

SILVA, R. R. da. Considerações sobre o uso e o mal uso de sais de sulfito em crustáceos. In: SEMINÁRIO SOBRE CONTROLE DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE PESCADO, 1988, Santos: **[Anais...]**. Santos: Loyola, 1988. p.244-259.

SILVA, A. I. M.; DANIEL, E. F.; OGAWA, M. Qualidade microbiológica de camarão tipo exportação, processado – congelado em estabelecimento no estado do Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA - CONBEP, 13., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: [s.n.], 2003.

SLATTERY, S. L.; WILLIAMS, D. J.; NOTTINGHAM, S. M. Factors influencing use of sulphite for prevention of black spot in prawns. **Food Australia**, North Sidney, v.43, n.7, p.311-313, Jul. 1991.

TAYLOR, S. L.; HIGLEY, N. A.; BUSH, R. **Sulfites in foods: uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity.** Nova Jersey: Academic Press, 1986. 77p.

TEBYRIÇÁ, C. **Metabissulfito de sódio.** São Paulo: Sociedade Brasileira de Asmáticos, 2000. Disponível em: <<http://www.asmaticos.org.br>> Acesso em 03 jan. 2003.

TWEDT, R. M.; MADDEN, J. M.; COLWELL, R. R. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, Washington, DC: American Public Health Association, 1984. p.368.

VALENÇA, A. R. Tratamento de efluentes. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.13, n.76, p.73-74, 2003.

WAGNER, T.; FINNE, G. Evaluation of alternatives to sulfiting agents as melanosis inhibitors in raw shrimp. In: ANNUAL TROPICAL AND SUBTROPICAL FISHERIES TECHNOLOGICAL CONFERENCE OF THE AMERICAS, 11., 1986, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: [s.n.], 1986. p.23-34.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 4th ed. [s.l.]: Prentice Hal, 1999. 663p.