

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE METABISSULFITO DE
SÓDIO E TEMPO DE EXPOSIÇÃO DO CAMARÃO *Litopenaeus*
vannamei (BOONE, 1931)**

KARLA PATRÍCIA BRITO DE ARAÚJO VIEIRA

RECIFE - PE
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

KARLA PATRÍCIA BRITO DE ARAÚJO VIEIRA

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE METABISSULFITO DE
SÓDIO E TEMPO DE EXPOSIÇÃO DO CAMARÃO
LITOPENAEUS VANNAMEI (BOONE, 1931)**

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

Orientador:
Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes
Co-orientador:
Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes

RECIFE - PE
2006



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE METABISSULFITO DE
SÓDIO E TEMPO DE EXPOSIÇÃO DO CAMARÃO *Litopenaeus*
vannamei (BOONE, 1931)**

Dissertação de Mestrado elaborada por

KARLA PATRÍCIA BRITO DE ARAÚJO VIEIRA

Aprovada pela

COMISSÃO EXAMINADORA

Orientadora:

Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes – Profa. Orientadora (DMV / UFRPE)

Examinador:

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes – Prof. Co-orientador (DEPAq/ UFRPE)

Examinador:

Prof. Dr. Walter Moreira Maia Júnior (UFPB - PB)

Examinador:

Prof. Dr. George Chaves Jimenez (DFMA / UFRPE)

Ficha catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

V658m Vieira, Karla Patrícia Brito de Araújo
Influência da concentração de metabissulfito de
sódio e tempo de exposição do camarão *Litopenaeus*
vannamei (Boone, 1931) / Karla Patrícia Brito de Araújo
Vieira. -- 2006
70 f. : il.

Orientadora: Emiko Shinozaki Mendes.
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco.
Departamento de Medicina Veterinária.
Inclui bibliografia.

CDD 636.089 444

1. *Litopenaeus vannamei*
2. Metabissulfito de sódio
3. Dióxido de enxofre
4. Camarão
5. Veterinária preventiva
6. Inspeção veterinária
 - I. Mendes, Emiko Shinozaki
 - II. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **João Evangelista e Odete Brito**, por todo o amor, dedicação e incentivo, sempre apoiando minhas escolhas e acreditando na minha capacidade;

A minha irmã **Karina Brito**, pelo amor e principalmente pelas lições de vida, encarando com coragem e perseverança todos os desafios, seu exemplo de força não me deixa fraquejar;

Ao meu marido **Silvio Romero**, por todo o amor, companheirismo e amizade, sempre me ajudando a superar todos os obstáculos, dividindo comigo as dificuldades e principalmente muitos sonhos e alegrias;

A todos os meus familiares e amigos, por todo o carinho e amizade, devo a vocês parte desta conquista.

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 Medicina Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, pelos conhecimentos adquiridos nas diversas áreas da Medicina Veterinária;

- Ao Departamento de Pesca e Aqüicultura, Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura, pela oportunidade de ingressar no programa como aluna especial e pelos ensinamentos na área da aqüicultura;

- Ao CNPq 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 e Leite do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, na pessoa da Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes, por consentir o 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 pelo o uso do Laboratório de físico-química, para a realização de análises de detecção de SO₂ residual;

- A Professora Dra. Emiko Shinozaki Mendes, por todo o apoio, incentivo e atenção que sempre me dedicou durante todo o curso, pela generosidade em repassar os conhecimentos e pelo compromisso e profissionalismo com seus orientados;

- Ao Professor Dr. Paulo de Paula Mendes, pela co-orientação e principalmente, pela atenção, disponibilidade e apoio, sempre contribuindo com valiosas sugestões e soluções;

- Ao Professor Dr. Alfredo Olivera Gálvez, pelo auxílio na captação de recursos juntamente com a FINEP (RECARCINE);

- Ao Professor Dr. George Chaves Jimenez, pela colaboração, atenção e auxílio técnico na manutenção e funcionamento do potenciômetro;

- 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;

- Ao Sr. Cláudio Moreira da Cunha Rabelo, proprietário da Tabatinga Aquacultura Ltda, pela atenção, interesse e disponibilização da infra-estrutura da referida carcinicultura para realização deste trabalho;

- A Médica Veterinária Msc. Lílian Maria Nery de Barros Góes, pela generosidade em ceder recursos financeiros do seu projeto para realização da pesquisa, bem como pela participação efetiva em todas as etapas do projeto, pela atenção, incentivo e carinho;

- As Médicas Veterinárias Roseli Pimentel P. e Silva; Jacqueline S. Guimarães; Verônica Arns, e ao Médico Veterinário Leonardo Gadelha M. de M. Filho, pela colaboração na coleta das amostras;

- As Médicas Veterinárias Monique Monteiro Pinto; Roseli Pimentel P. e Silva, à Bióloga Beatriz Regina Brito de Oliveira, pela efetiva participação nas análises laboratoriais;

- Aos alunos do curso de graduação em Medicina Veterinária da UFRPE, Priscila Daniella M. de Lima, Simone Francisca de Lira e Daniele Fonseca, pelo auxílio nas análises laboratoriais.

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1 Principais transformações <i>post-mortem</i> do pescado.....	21
FIGURA 2 Degradação de substâncias nitrogenadas não protéicas	22
FIGURA 3 Via de síntese da melanina e esclerotina.....	24
FIGURA 4 Reações químicas do bissulfito e metabissulfito de sódio.....	28
FIGURA 5 Preparo da solução com metabissulfito de sódio: A – Material utilizado para cada tratamento; B – Adição do metabissulfito de sódio em 12,5L de água doce; C – Adição do gelo a água doce com metabissulfito de sódio; D – Homogeneização da solução..	37
FIGURA 6 Tratamentos com metabissulfito de sódio: A – Despesca gradativa com tarrafa; B – Camarões despescados mantidos em baldes com aeração; C – Pesagem de amostras contendo 1.100 g; D – Amostras pesadas mantidas sob aeração; E – Choque térmico concomitante a exposição ao conservante; F – Armazenamento individual da amostra.....	38
FIGURA 7 Fluxograma do experimento.....	39
FIGURA 8 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 9 Preparo e processamento da amostra para titulação iodométrica a frio: A – Camarão sendo triturado; B – Homogeneizado de camarão e água destilada; C – Titulação com solução de iodo; D – Aquecimento da amostra.....	42
FIGURA 10 Método da fita reativa: A – Imersão da fita reativa em solução de água destilada e camarão triturado; B - Escore de leitura da fita reativa.....	43
FIGURA 11 Figura 11: Relação entre os valores observados e o resíduo	

	padronizado 1).....	(Equação 46)
FIGURA 12	Relação entre a concentração de SO ₂ residual e as concentrações de metabissulfito de sódio e os diferentes métodos de detecção de SO ₂ residual.....	47
FIGURA 13	Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (Equação 2).....	55
FIGURA 14	Relação entre a concentração de SO ₂ residual e as concentrações 1, 1.5, 2, 2.5 e 3% 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 56 dias de congelamento.....	56
FIGURA 15	Visualização do início de melanose em camarões na 8ª semana de armazenamento (56 dias): A – Concentração 1,5%; B – Concentração 2%; C – Concentração 2,5%; D – Concentração 3%.....	58

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 Escala usada para descrever e padronizar a ocorrência de melanose (<i>black spot</i>) em camarões.....	26
TABELA 2 Valores de lâmbda (λ) como transformador de Box e Cox (1964) ao correlacionar a concentração de SO ₂ , as concentrações de metabissulfito na solução de imersão e os métodos de detecção de SO ₂ residual utilizados.....	46
TABELA 3 Médias dos valores de SO ₂ residual (ppm) determinados através de diversos métodos em camarões marinhos <i>Litopenaeus vannamei</i> submetidos a nove diferentes concentrações de metabissulfito de sódio.....	48
TABELA 4 Valores de lâmbda (λ) como transformador de Box e Cox (1964) ao correlacionar a concentração de SO ₂ com a concentração de metabissulfito de sódio (1, 1.5, 2, 2.5 e 3%), do tempo de imersão dos camarões (10 a 30 min), do tempo de armazenamento e dos métodos de detecção de SO ₂ residual.....	55

SUMÁRIO

	Páginas
1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
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 Métodos de detecção de dióxido de enxofre residual	39
4.4.1 Método adaptado da titulação de SO ₂ em suco descrito no Instituto Adolfo Lutz (1985) (MTAL).....	40
4.4.2 Método da titulação iodométrica (MTIs/a e MTIc/a).....	41
4.4.3 Método da fita reativa (MFRs/a e MFRc/a).....	42
4.5 Análise de dados	43
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Concentrações de SO₂ residual em função da concentração de metabissulfito de sódio, do tempo de imersão e dos métodos de detecção	45
5.2 Avaliação da concentração de SO₂ residual em relação ao tempo de armazenamento nas concentrações 1, 1.5, 2, 2.5 e 3% de metabissulfito de sódio	53
6 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63

RESUMO

A aqüicultura surge como atividade de indiscutível relevância na produção de alimentos para o homem. Neste contexto, a carcinicultura tem se destacado como uma atividade de grande rentabilidade, contribuindo para o crescimento econômico do agronegócio no país. Por ser um produto alimentar nobre, a qualidade dos camarões assume importância fundamental sendo necessário o uso de aditivos para evitar a reação de melanose (mancha preta ou *black spot*). O metabissulfito de sódio é o conservante de maior aplicação na carcinicultura, seu uso está amparado em várias legislações vigentes no país, no entanto, o seu principal resíduo, o dióxido de enxofre (SO₂), quando em concentrações altas no alimento pode provocar reações adversas à saúde dos consumidores sensíveis. Desta forma, objetivou-se aprimorar o processo de aplicação do conservante metabissulfito de sódio em camarões marinhos cultivados, contribuindo para a diminuição do teor residual deste conservante, resultando em concentrações mínimas e suficientes no produto final. Camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* de classificação 81/100, foram submetidos a nove concentrações de metabissulfito de sódio (1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5%), concomitante ao choque térmico, durante cinco tempos de exposição (10, 15, 20, 25 e 30 min), correlacionando a concentração do conservante e o tempo de imersão dos camarões. Foram avaliados diferentes métodos de mensuração da concentração de SO₂ nos camarões e os níveis residuais de SO₂ nos camarões congelados, durante o período de oito semanas. Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando-se modelos lineares múltiplos. Os camarões submetidos à concentração 1, 1.5, 2% apresentaram boa conservação durante todo o período de armazenamento sob congelamento, com níveis de SO₂ satisfatórios. As concentrações de metabissulfito acima de 2.5% excederam os limites máximos permitidos pela legislação vigente para camarão resfriado e congelados (100 ppm de SO₂ residual) estando inapropriadas para utilização na prática. O tempo de armazenamento não influenciou significativamente (P<0.05) nos níveis de sulfito. O método da titulação Instituto Adolfo Lutz adaptado apresentou grande sensibilidade para detecção de sulfitos livres e combinados, não ocorrendo o mesmo com os métodos da titulação iodométrica com e sem aquecimento e da fita reativa com e sem aquecimento, em ordem de sensibilidade para sulfitos livres. Conclui-se que as concentrações de metabissulfito de sódio atualmente utilizadas na prática estão demasiadamente altas, ocasionando desperdício de conservante e gerando elevados níveis de SO₂ nos camarões.

Palavras-chaves: *Litopenaeus vannamei*. Metabissulfito de sódio. Dióxido de enxofre. Camarão.

ABSTRACTS

The aquaculture appears as activity of unquestionable relevance in the food production for the man. In this context, the shrimp culture if has detached as an activity of great yield, contributing for the economic growth of the agribusiness in the country. For being a noble alimentary product, the quality of the shrimps assumes basic importance being necessary the additive use to prevent the reaction of melanose`s (black spot). The sodium metabisulphite is the conservator of larger application in the shrimp culture; its use is supported in some effective legislation in the country, however, its main residue, the sulfur dioxide (SO₂), when in high concentrations in the food health of the sensible consumers can provoke adverse reactions health of the sensible consumers. Of this form, it was objectified to improve the process of application of the sodium metabisulphite conservator in cultivated marine shrimps, contributing for the reduction of the residual text of this conservator, resulting in minimum and enough concentrations in the end item. Shrimps of the species *Litopenaeus vannamei* of classification 81/100, had been submitted the nine concentrations of sodium metabisulphite (1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5%), concomitant to the thermal shock, during five times of exposition (10, 15, 20, 25 and 30 min), correlating the concentration of the conservator and the time of immersion of the shrimps. The different methods of measure of the concentration of SO₂ in the shrimps and the residual levels of SO₂ in the frozen shrimps had been evaluated, during the period of eight weeks. Statistical analyzed results were being used multiple linear models. The shrimps submitted to concentration 1, 1.5, 2% had all presented good conservation during the period of storage under freezing, with satisfactory levels of SO₂. The metabisulphite concentrations above of 2.5% had exceeded the maximum limits allowed by the current law for cooled and frozen shrimp (100 ppm of SO₂ residual) being inappropriate for use in practice. The time of storage did not influence significantly (P<0.05) in the sulphite levels. The method of the adapted titration of Institute Adolfo Lutz presented great sensitivity for detection of free and combined sulphites, not occurring the same with the methods of the titration iodometric with and without heating and of the reactive ribbon with and without heating, in sensitivity order for free sulphites. It is concluded that the concentrations of sodium metabisulphite of currently used in the practical one are excessively high, causing conservator wastefulness and generating raised levels of SO₂ in the shrimps.

Key words: *Litopenaeus vannamei*. Sodium metabisulphite. Sulfur dioxide. Shrimp.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a carcinicultura marinha no Brasil representa uma atividade de grande rentabilidade, atraindo investimentos e contribuindo para o crescimento econômico do agronegócio. Esta atividade adquiriu caráter empresarial com a introdução e adaptação da espécie *Litopenaeus vannamei* que garantiu em pouco mais de uma década um extraordinário crescimento, posicionando o Brasil entre os principais produtores mundiais.

A região Nordeste do Brasil destaca-se como o principal produtor nacional, sendo responsável por 95,2% da produção. A carcinicultura incrementou a economia da região, principalmente quanto à geração de empregos e o aumento das exportações do setor.

Por ser um produto alimentar nobre e de alto custo, boa parte da produção nacional é voltada para o mercado externo. Esses mercados consumidores são muito rigorosos quanto aos aspectos organolépticos, carga microbiana, resíduo de antibiótico e concentrações residuais de metabissulfito de sódio.

A melanose, também conhecida como mancha preta ou *black spot*, destaca-se como um dos principais defeitos na apresentação do produto, desvalorizando seu valor comercial e seu aspecto visual, apesar de não denotar contaminação microbiológica ou perda de qualidade nutricional. Para evitar o surgimento da melanose *pós-mortem* no camarão, bem como para outros produtos alimentares, sujeitos ao enegrecimento oxi-enzimático, faz-se necessário a adição de sulfitos.

O uso do metabissulfito de sódio está amparado em várias legislações vigentes no país. No entanto, o seu principal resíduo, o dióxido de enxofre (SO₂), quando em concentrações altas no alimento podem provocar reações adversas á saúde dos consumidores sensíveis. A concentração de SO₂ residual é exigida pelo país importador, porém, segundo a Organização Mundial de Saúde, as concentrações devem estar entre 40 a 100 ppm.

Por não se ter um consenso da concentração mais eficaz e que resulte numa concentração residual dentro dos limites estabelecidos por lei, a aplicação de metabissulfito de sódio em camarões após a despesca, varia muito de um produtor para outro. Essa falta de uniformidade na aplicação

resulta em camarões com níveis variados de SO_2 , quando elevado pode ser rejeitado pelas exigências do mercado e quando baixo, perder a qualidade devido a melanose.

Estudos visando uma padronização desta concentração se faz necessário, no intuito de determinar uma relação ótima entre o tempo de exposição e a concentração do conservante, assim como o estabelecimento de um método de fácil aplicação, evitando desperdícios e diminuindo os custos da produção.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

- Padronização do teor residual do conservante metabissulfito de sódio em camarões marinhos cultivados (*Litopenaeus vannamei*), resultando em concentrações mínimas e suficientes no produto final.

Objetivos específicos

- Comparar a eficácia dos métodos de titulação do Instituto Adolfo Lutz adaptado, titulação iodométrica sem e com aquecimento, e fita reativa de detecção do dióxido de enxofre residual sem e com aquecimento;
- Verificar a interferência da temperatura do aquecimento (100°C), quando adaptado aos métodos de titulação iodométrica e fita reativa de detecção do dióxido de enxofre residual;
- Correlacionar a concentração do metabissulfito de sódio e o tempo de exposição dos camarões ao conservante durante o choque térmico;
- Mensurar as concentrações de SO₂ nos camarões conservados sob congelamento por um período de oito semanas.

1 REVISÃO DE LITERATURA

O crescimento da população mundial faz aumentar a necessidade de buscar novas alternativas para a produção de alimentos de qualidade. Neste contexto, a aquicultura surge como atividade de indiscutível relevância na produção de alimentos nobres para o homem, sendo um dos sistemas de produção alimentar que mais se desenvolveu no mundo. Na última década atingiu uma taxa de crescimento de 9,6% ao ano. Este aumento está diretamente relacionado com a contribuição que o sistema oferece para diminuir a diferença entre a demanda e a oferta de produtos pesqueiros (BEIRÃO; TEIXEIRA; MEINERT, 2000).

Dentre as principais atividades da aquicultura mundial, a carcinicultura marinha cresce expressivamente a cada ano, em 2002 incrementou em 1.319.128 toneladas a produção mundial (BATISTA, 2003). Desta forma, destaca-se como uma atividade de grande rentabilidade, atraindo investimentos e contribuindo para o crescimento econômico do agronegócio.

No ano de 2003, a produção mundial do camarão cultivado, em mais de 50 países, chegou a 1.630.000 t, representando 35,21% do total de camarão em todo o mundo, cujo volume anual envolvendo captura e cultivo foi de 4.630.000 t. No hemisfério oriental, a produção alcançou a marca de 1.359.000 t (83,37% da produção mundial), com a China, Tailândia, Vietnã, Indonésia, Índia, Bangladesh e Malásia, como principais centros produtores. No hemisfério ocidental a produção foi de 271.000 t (16,63% da produção mundial), estando o Brasil entre os principais produtores (ROCHA; RODRIGUES; AMORIM, 2004).

O cultivo comercial de camarões marinhos no Brasil teve início na década de 70, na região Nordeste, adquirindo caráter empresarial no final da década de 1980 e início dos anos 90 (SAMPAIO e COSTA, 2003). Browdy (2003) associou o sucesso desta atividade às ótimas condições climáticas da região, ao aperfeiçoamento de tecnologias, intensificação do sistema de cultivo e principalmente, a introdução e adaptação do camarão *Litopenaeus vannamei*, vulgarmente conhecido como camarão cinza.

A espécie *Litopenaeus vannamei* é originária da costa sul-americana do Oceano Pacífico, é considerada rústica e se destaca particularmente pela sua

fácil adaptação às condições climáticas e hidrobiológicas. Em cultivo, possui bom fator de conversão alimentar e fácil manejo, somando fatores fundamentais para os excelentes resultados dos cultivos (MENDES, 1999).

A introdução da espécie *Litopenaeus vannamei* garantiu elevados índices de produção, com um incremento de 317,81% em área cultivada e 499,41% em produtividade no período de apenas seis anos. Com base nesses índices evidenciou-se o extraordinário crescimento da atividade, ao superar a marca de 3.600 t produzidas no ano de 1997 para 90.190 t em 2003, segundo Rocha; Rodrigues; Amorim, 2004. Os mesmos autores afirmam que no ano de 2003, o Brasil se consolidou como líder do hemisfério ocidental, classificando-se como o sexto maior produtor mundial e líder mundial em produtividade (6.084 kg/ha/ano), superando o Equador e o México, países que tradicionalmente dominavam as técnicas de cultivo e ocupavam o 1º e 2º lugar, respectivamente, no hemisfério.

O Nordeste brasileiro é responsável por 95,2% da produção nacional de camarão cultivado. Os estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia e Pernambuco, situam-se entre os líderes de produção. O estado de Pernambuco é o 4º maior produtor nacional com 1.131 ha de área destinada à atividade (79 carciniculturas) e produção de 5.831 t, com a produtividade de 5.156 kg/ha/ano (ROCHA; RODRIGUES; AMORIM, 2004).

O crescimento das exportações é o grande indicativo de consolidação da carcinicultura brasileira. Para o setor agropecuário, esta atividade responde por 44,63% das exportações, totalizando US\$ 210,47 milhões em 2003 e 37% dos empregos, responsabilizando-se por 29% do PIB nacional (ABRACOA, 2003). Este resultado classificou o produto em segundo lugar das exportações do setor primário da economia da Região Nordeste, posicionando-o atrás apenas dos derivados da cana-de-açúcar (SAMPAIO e COSTA, 2003).

O Brasil exportou em 2004 54,3 mil t de camarão, o que correspondeu a US\$ 218,8 milhões. A expectativa para 2005 é um volume de exportação em torno de 68 mil t, cerca de US\$ 307 milhões. Estes valores poderiam aumentar caso a indústria do camarão investisse no beneficiamento do produto. De acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC), o Brasil não concorre em metade das importações dos EUA, em 60% das importações

japonesas e em 40% das européias por estes mercados consumidores exigirem produtos elaborados (KAARNA, 2005).

Em 2004, a produção do camarão brasileiro foi 75.940 t cerca de 15,8% menor que em 2003. Este fato contrariou as expectativas do setor que apostava no crescimento de 30% em expansão física e 15% na produtividade, atingindo a produção de 120 mil t (ROCHA, 2004). Segundo o autor, este decréscimo foi decorrente de problemas com barreiras comerciais impostas pelos Estados Unidos da América (EUA), que ao anunciarem a sobretaxa de 7,05% para o Brasil (*antidumping*), ocasionaram queda nas exportações. Kaarna (2005), alegou que esta ação protecionista dos EUA ocasionou o declínio nas exportações do camarão brasileiro da ordem de 20.456 t registradas no período de janeiro a novembro de 2003, para 8.533 t no mesmo período de 2004.

Outro fator relevante da atividade no país, no ano de 2004, refere-se à sanidade dos animais. De acordo com Mendes et al. (2005), a inexperiência dos produtores e técnicos em relação ao diagnóstico e controle de enfermidades, aliado à sobrecarga dos cultivos (alto nível de estresse dos animais) e mudanças climáticas (chuvas excessivas no período de junho de 2003) culminaram na reemergência de doenças endêmicas que, até então, não ocasionavam grandes perdas na produção.

Somado a estes fatores, Kaarna (2005), relatou que a notificação do primeiro caso da mancha branca (*white spot*) no estado de Santa Catarina (virose que dizimou a atividade em países tradicionalmente produtores como Equador e México) impôs medidas extremas de biossegurança nunca antes adotadas no país, como isolamento da área e sacrifício de todos os animais afetados. Este fato serviu de alerta para a fragilidade da atividade e a necessidade de maior monitoramento e controle dos cultivos, assim como a relevância de maiores estudos na área de terapêutica, patologia e biotecnologia aplicada a carcinicultura (MENDES et al., 2005).

A produção nacional no ano de 2005 atingiu cerca de 70 mil t, 8,4% a menos em relação ao volume do ano de 2004, que fechou em 75,9 mil t. A ação de antidumping dos Estados Unidos (EUA) contra os produtores brasileiros impôs, em 2005, uma nova estratégia comercial para o mercado,

que redirecionou suas exportações para a Europa (89%), Estados Unidos (7,3%) e para a Ásia (3%). O volume de 35,7 mil t exportadas até setembro de 2005 foi 14,38% menor e houve queda de 11,08% na redução da receita (US\$ 149,2 milhões) quando comparado aos nove primeiros meses de 2004, que fechou em 41,7 mil t (US\$ 167,8 milhões). Entre os motivos da retração, estão as reduções das receitas, motivada pela desvalorização do dólar em relação ao real, e a incidência da virose causadora da necrose idiopática muscular (NIM) (CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL, 2005).

Segundo Rocha (2004), o escoamento da produção brasileira destina-se aos EUA (43%) e países da Europa (57%), destacando-se a França, Espanha, Itália, Alemanha, Portugal e Bélgica. Nestes países o rígido controle pelas autoridades veterinárias impõe procedimentos rigorosos quanto à qualidade e especificações do produto. Critérios organolépticos, como ausência de defeitos morfológicos (firmeza da carapaça e cabeça), uniformidade da cor e ausência de melanose, são inspecionados. Além destes, a carga microbiana e os teores residuais de metabissulfito de sódio e antibióticos são aspectos rigorosamente observados (LUCIEN, 2003).

Para obtenção de um produto final de boa qualidade é indispensável adotar práticas adequadas durante todas as etapas do cultivo. Nas fazendas de camarão, a partir do primeiro mês do cultivo são realizados monitoramentos semanais denominadas biometrias. Este procedimento visa acompanhar o ganho de peso, o estado sanitário dos animais e o período de ecdise (muda). Deste modo, é possível detectar precocemente o surgimento de alterações comportamentais nos animais, decorrentes de enfermidades e/ou falhas no manejo (AVAILLE; MILLOUS; VIRMAUX, 2003). Outro aspecto fundamental é a possibilidade de controlar o tamanho e verificar a uniformidade dos animais, podendo-se estimar a produção do viveiro, bem como, o melhor período para realização da despesca, dimensionando previamente a quantidade de gelo e material necessário para agilizar o procedimento (BARBIERY JR e OSTRENSKY NETO, 2002).

A despesca é a última fase do cultivo, podendo ser realizada de forma manual ou mecânica e se constitui numa das etapas mais importantes da produção. Os cuidados dispensados a esta fase refletem diretamente na

qualidade do camarão colhido. Em relação ao tipo de operação, a despesca mecânica apresenta vantagens quanto à agilidade na colheita e a redução do custo de mão-de-obra empregada (LUCIEN, 2003).

Segundo Barbieri Jr. e Ostrensky Neto (2002), as concentrações de oxigênio dissolvido na água e a presença de predadores nos arredores dos viveiros são considerados pontos críticos durante a despesca. Para o primeiro, deve-se fazer o monitoramento freqüente dos níveis de O₂, pois a drenagem pode promover suspensão da matéria orgânica do fundo do viveiro, aumentando a atividade de bactérias decompositoras e diminuindo as concentrações de O₂ a níveis letais. Caso isto ocorra, uma das soluções seria abrir as comportas e permitir a entrada de água ou acelerar a despesca. Em relação à presença de predadores, pode-se resolver ou minimizar o problema utilizando fogos de artifício para espantar as aves.

Após a colheita, os camarões devem ser imediatamente resfriados abaixo de 5°C. Neste momento ocorre a morte do camarão em função de um violento choque térmico. Os camarões também são submetidos a tratamento com antioxidantes, e este pode ser realizado durante ou posteriormente ao choque térmico. Estes procedimentos são primordiais para manter a qualidade do produto e evitar reações enzimáticas indesejáveis (BARBIERI JR e OSTRENSKY NETO, 2002). Segundo os mesmos autores, o camarão é considerado um alimento altamente perecível sendo muito susceptível a sofrer deterioração, quando comparado a qualquer outro alimento protéico. Isto se deve às rápidas reações de degradação devido à desarticulação metabólica, ocasionando acidificação do meio interno e proporcionando mudanças no cenário enzimático que eventualmente poderiam predispor à instalação de agentes orgânicos deteriorantes.

De acordo com Medeiros (2002), as enzimas estão presentes normalmente na musculatura e são encarregadas de controlar os processos de elaboração de contração e relaxamento muscular. Quando ocorre a morte dos animais, algumas destas passam a ser implicadas nas reações degradativas. Uma destas reações é a hidrólise gradual do glicogênio (principal glicídio de origem animal), que em consequência da interrupção do suprimento de oxigênio ao tecido muscular não poderá completar sua degradação, uma vez que a fase de degradação mitocondrial está suprimida. Desta forma, este

substrato atingirá apenas a conformação de piruvato, que em meio ácido será convertido em ácido láctico.

Segundo Barros (2003), quanto maior o estresse sofrido pelos camarões durante a captura e/ou despesca e sacrifício, maior será o esgotamento da reserva de glicogênio, provocando grande diminuição da quantidade de adenosina trifosfatase (ATPase) nos animais. Estas são as principais razões para o rápido início e a curta duração do *rigor mortis* e, conseqüentemente, para a menor vida útil do pescado (Figura 1).

O primeiro estágio após a morte é o aparecimento do *rigor mortis*, que modifica a textura da musculatura e é considerada uma contração muscular irreversível, devido à formação de grande quantidade de pontes de actina e miosina. Estas pontes não podem ser desfeitas, pois não existe energia (ATP) suficiente para tal (BARROS, 2003).

O aumento da acidez do meio, devido a presença do ácido láctico, tem efeito sobre os protídeos musculares, permitindo o rompimento dos lisossomos e a liberação das catepsinas. As catepsinas formam um grupo heterogêneo de enzimas intracelulares que hidrolisam ligações peptídicas, provocando transformações autolíticas redundando na desnaturação das proteínas. Os protídeos desnaturados mudam sua conformação estrutural, afetando a sua capacidade de constituir-se como pigmento, além de perder a capacidade de reter a água, resultando em exsudação, que por sua vez irá acelerar o processo de decomposição (MEDEIROS, 2002).

Ogawa e Maia (1999), relataram que a grande diminuição *ante mortem* do glicogênio tem como conseqüência valores mais altos de pH final no produto, que junto à formação de amônia (NH_3), pela degradação do ATP e pela liberação de aminoácidos, permitem a rápida proliferação bacteriana. Contudo, os autores relataram que a ação microbiana na musculatura acarreta alterações químicas, proporcionando características de odor e sabor alterados, tendo-se inicialmente, um odor e sabor ácido, evoluindo para odor sulfuroso e sabor amargo e culminando com odor pútrido.

Segundo Medeiros (2002), bactérias proteolíticas elaboram proteases que degradam as proteínas fornecendo novo suprimento de nutrientes para o desenvolvimento bacteriano e acumulando metabólitos da deterioração: NH_3 ,

H₂S, CO₂, indol, cadaverina, putrescina, responsáveis pelos odores desagradáveis.

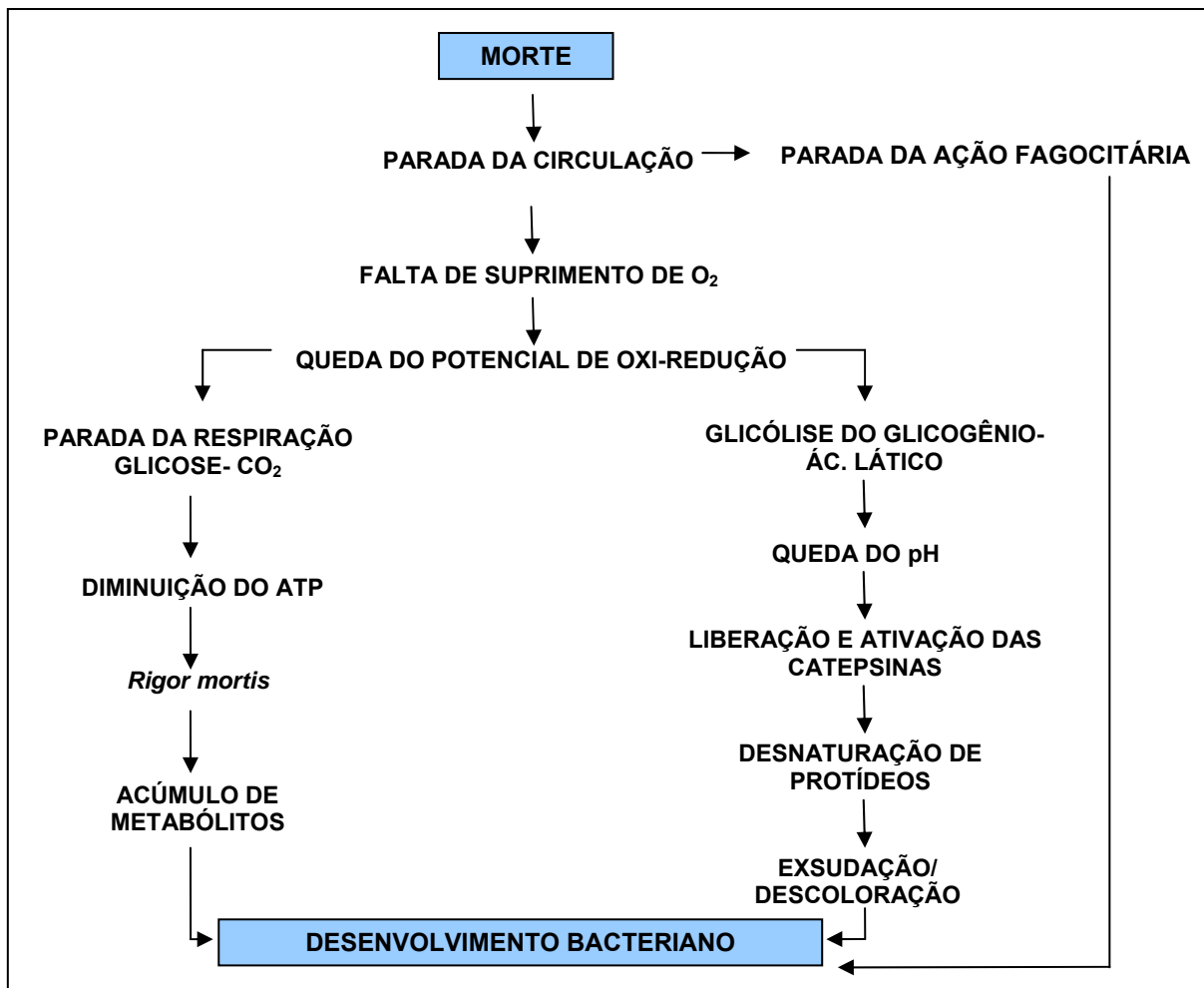


Figura 1: Principais transformações *post-mortem* do pescado.
Fonte: Medeiros (2002).

Reações de degradação de algumas substâncias nitrogenadas não protéicas (Figura 2), como a uréia (resultando em amônia), histidina (resultando em histamina), aminoácidos livres (passando a aminoácidos sulfurados e resultando em H₂S) e óxido de trimetilamina (OTMA) também estão associadas à deterioração por ação das bactérias, segundo Ogawa e Maia (1999).

De acordo com Ogawa e Maia (1999), o OTMA é um importante componente ativo do pescado marinho e a sua redução ocorre pela enzima OTMA redutase, proveniente de bactérias. Este mecanismo origina a trimetilamina (TMA), que se degrada a dimetilamina (DMA) e formaldeído, resultando em amônia. Essa redução se constitui numa das principais reações

relacionados ao odor característico do pescado em estado de baixa qualidade ou em deterioração (Figura 2).

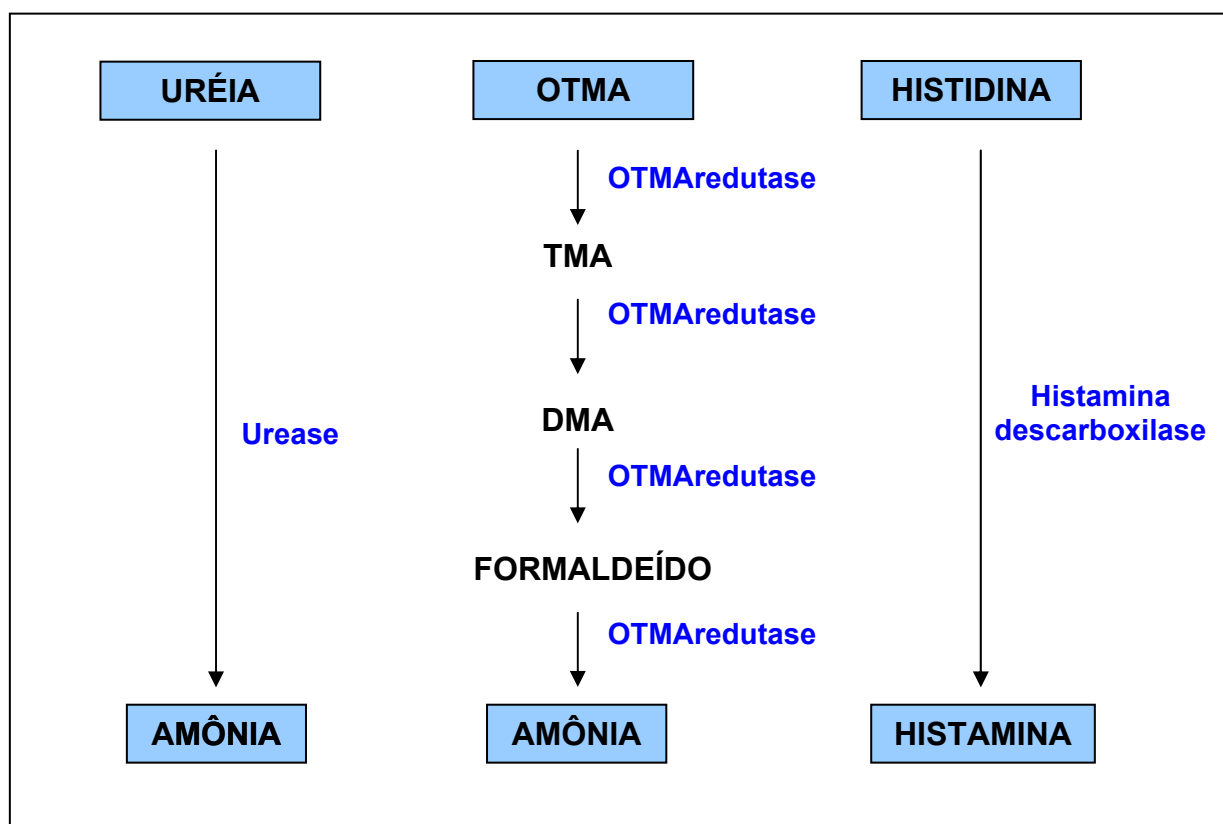


Figura 2: Degradação de substâncias nitrogenadas não protéicas.
Fonte: Medeiros (2002).

A morte dos camarões através da imersão em gelo é o modo mais rápido e eficaz para retardar e prolongar o período de *rigor mortis*. Quanto maior este período, maior a possibilidade de se retardar os processos de deterioração anteriormente descritos (OGAWA e MAIA, 1999).

Com relação a falhas na despesca e no resfriamento dos camarões, outra consequência muito freqüente é o aparecimento de melanose. Em crustáceos, a melanose, também conhecida como mancha preta ou *black spot*, constitui um dos principais defeitos na apresentação do produto, desvalorizando seu valor comercial e seu aspecto visual, apesar de não denotar contaminação microbiológica ou perda de qualidade nutricional (BARBIERI JR e OSTRENSKY NETO, 2002).

Segundo Santos¹ (2004), a melanose pode ocorrer em vida (*ante-mortem*), ou após a morte dos camarões (*post-mortem*), por ser uma reação oxienzimática decorrente de uma mesma substância precursora, para ambas

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

as situações (Figura 3). Perazzolo (1994), relatou que a enzima responsável pelo desencadeamento das reações que culminam com a formação da melanina, e conseqüentemente com escurecimento dos camarões, é denominada tirosinase.

A enzima tirosinase, uma fenoxidase (PO), está fisiologicamente presente em grandes quantidades no sistema digestivo dos camarões. Em presença de O₂ esta enzima assume sua forma ativa e oxida a tirosina (aminoácido presente no hepatopâncreas dos camarões), que na ausência de substâncias antioxidantes (sais de sulfito), temperatura elevada e valores de pH entre 6 a 8 tem suas reações aceleradas, ocasionando escurecimento em duas até 12 horas após a despesca (SILVA,1988). Na Figura 3 é apresentada a reação enzimática que originam a melanina e a escleratina.

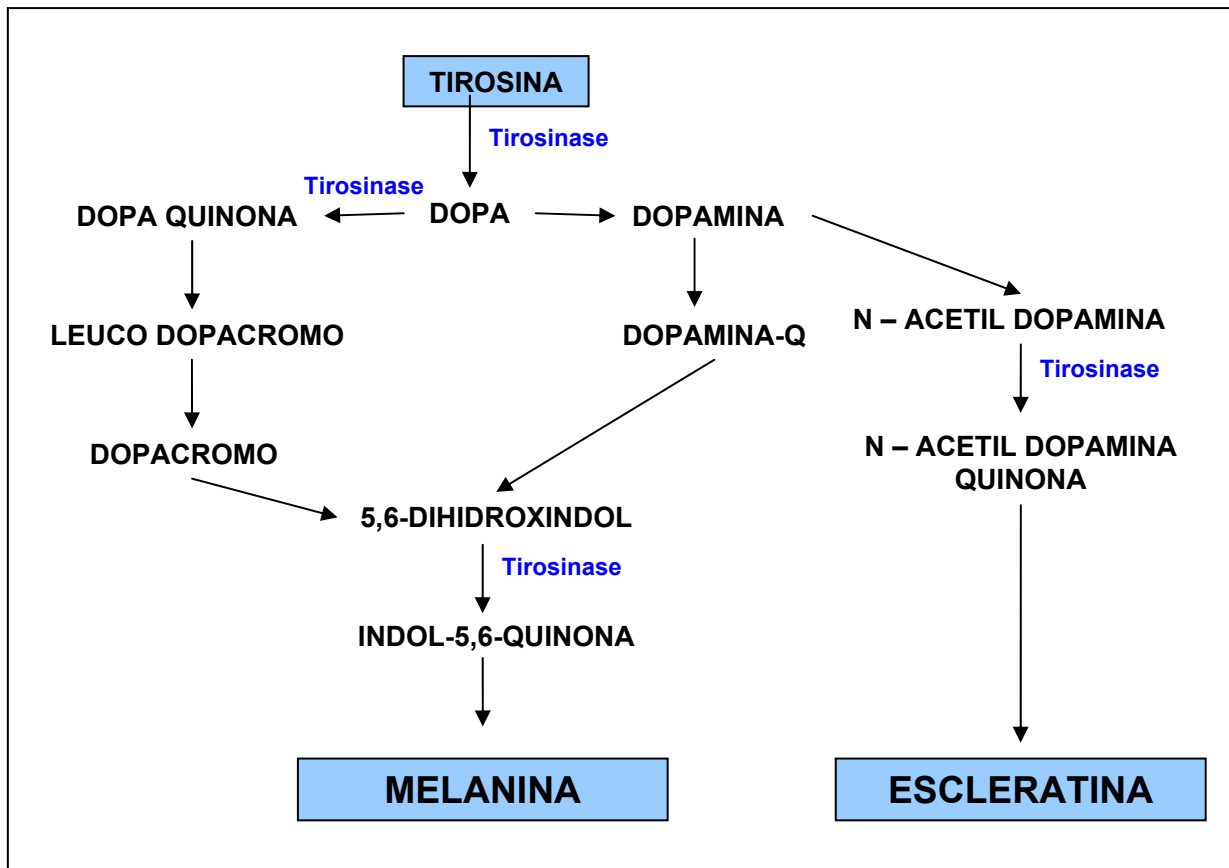


Figura 3: Via de síntese da melanina e da escleratina.
Fonte: Nappi e Vass (1993).

Nappi e Vass (1993) citaram que as quinonas (Figura 3) e seus derivados participam das reações de esclerotização (processo de ecdise) e melanização em artrópodes, sendo associadas com formação e reparo da

cutícula. Nos mamíferos, a melanina está associada à proteção contra raios ultravioleta, todavia nos artrópodes esta substância apresenta implicações mais complexas relacionadas também aos processos de defesa (PERAZZOLO, 1994).

Traumas no exoesqueleto ou invasão da hemocele dos camarões por algum organismo patogênico desencadeiam os mecanismos de defesa e reconstituição dos tecidos, dando origem a melanose *ante-mortem* (PERAZZOLO, 1994). Segundo o mesmo autor, a melanose *ante-mortem* está relacionada com a ação das células da hemolinfa dos camarões denominados hemócitos, que migram para o local da injúria para cessar a hemorragia e reconstituir o tecido lesado e/ou imobilizar o agente patogênico, sendo possível visualizar manchas pretas. De acordo com Ogawa e Maia (1999), pode-se observar em poucas horas após a captura ou despesca destes animais (dependendo das condições de manipulação e conservação) o aparecimento dos pontos negros nos locais traumatizados *ante-mortem* quando conservados em gelo sem antioxidantes, ocasionados pela oxidação da tirosina.

A melanose *ante-mortem* é fortemente influenciada por traumatismos e ciclos de muda. Ogawa e Maia (1999), constataram que 10% das caudas de lagostas traumatizadas vivas e imersas durante o choque térmico numa concentração de metabissulfito de sódio a 2,5% durante 10 minutos, apresentaram melanose durante o armazenamento, mesmo estando com concentrações de dióxido de enxofre (SO₂) residual em torno de 500 ppm, evidenciando a dificuldade de se inibir este fenômeno empregando concentrações usuais do conservante, uma vez que o animal já tenha sofrido traumatismo prévio.

As alterações *post-mortem* resultam de reações estruturais na molécula de melanina, ocasionando descoloração do camarão como também proporcionando o surgimento de manchas negras, que se concentram preferencialmente na região do cefalotórax (cabeça), cauda, articulações e periópodos (patas) do camarão (BARBIERI JR e OSTRENSKY NETO, 2002).

O processo de melanose depois de iniciado não regride, o que pode inviabilizar as vendas para países que comprem o camarão inteiro, sendo muitas vezes necessário ser feito o beneficiamento destes animais, como o descabeçamento e retirada da cutícula, ou seja, com mudanças na estratégia

de comercialização. As enzimas permanecem ativas durante a refrigeração e estocagem em gelo, porém algumas enzimas têm as suas reações inativadas e outras minimizadas sob estas condições (FRANKOS et al.,1991; OTWELL e MARSHALL,1986; TAOUKIS et al., 1990).

Otwell e Marshall (1986), em pesquisas realizadas com o camarão rosa (*P. duorarum*) *in natura*, observaram o desenvolvimento de melanose num intervalo de dois a três dias, quando estocados sob refrigeração ou em gelo, progredindo para um produto com melanose severa num período de sete a 14 dias. Na estocagem sob congelamento (abaixo de -10°C), o processo de melanose foi interrompido, embora tenha se acentuado novamente no momento do descongelamento.

Com a finalidade de padronizar o grau de severidade dos defeitos causados pela melanose, bem como determinar os limites aceitáveis quanto à apresentação e qualidade dos camarões *in natura*, o Departamento de Comércio do EUA faz uso de uma escala de melanose, baseada na escala desenvolvida pelo Serviço Nacional de Pesca Marinha dos EUA (Tabela 1). O valor limite aceitável para um produto de qualidade é no máximo 4. Os camarões classificados abaixo deste valor (6, 8 e 10) são considerados impróprios ou inaceitáveis no tocante à qualidade (OTWELL e MARSHALL, 1986; OTWELL e McEVILY, 1990).

Tabela 1: Escala usada para descrever e padronizar a ocorrência de melanose (*black spot*) em camarões

Escore	Descrição	Conseqüência comercial
0	Ausência	-
2	Leve, perceptível em poucos camarões	Possível redução de valor
4	Leve, perceptível na maioria dos camarões	Redução de valor
6	Moderado, perceptível na maioria dos camarões	Explícita redução de valor
8	Severo, perceptível na maioria dos camarões	Inaceitável
10	Severo, perceptível em todos os camarões	Inaceitável

Fonte: Otwell e McEvily (1990).

Como prevenção do escurecimento oxi-enzimático para o camarão, bem como para outros produtos alimentares sujeitos ao enegrecimento, faz-se necessário à adição de sulfitos. Os sais de sulfito são aditivos que pertencem à categoria dos conservantes e têm papel importante na indústria de alimentos (SILVA, 1988). De acordo com a definição do Ministério da Saúde, aditivo para alimento é toda substância intencionalmente adicionada ao mesmo com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo (CALIL e AGUIAR, 1999).

Os sulfitos estão presentes em vários alimentos e seu uso foi aprovado nos Estados Unidos no início de 1800 e desde então, faz-se presente em quase todos os alimentos que passam por algum tratamento industrial. São potentes agentes redutores para vários produtos alimentícios, visando inibir o processo oxidativo associado à deterioração dos alimentos, prevenir ou reduzir a perda da cor em frutas e vegetais, prevenir a melanose em camarões e lagostas, impedir o desenvolvimento bacteriano em alimentos e bebidas fermentadas (TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986; TELLES FILHO, 2004). São também utilizados na indústria química como alvejantes e desinfetantes e na indústria farmacêutica, como excipiente em alguns anestésicos locais de uso odontológico e em analgésicos.

Em 1958, o *Federal Food, Drug and Cosmetic Act*, órgão responsável pela regulamentação dos preservativos e aditivos alimentares nos EUA, reconheceu os sulfitos como seguros, quando usados em concentrações adequadas, recebendo a sigla GRAS (*generally reconized as safe* - "usualmente recomendado como seguro"), conforme citado por Valença e Mendes, 2004. Segundo Silva (1988), os sais de sulfito mais utilizados como aditivos são o sulfito de sódio anidro ou anidrido ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$), o metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$), o bisulfito de sódio (NaHSO_3) e o dióxido de enxofre (SO_2).

Em camarões, usualmente não se utilizam o sulfito e o bissulfito de sódio, para a prevenção da melanose, pois são considerados moderadamente redutores e instáveis quando expostos ao ar atmosférico (O_2). Ressalta-se ainda que o sulfito de sódio oxida-se formando sulfato, perdendo suas propriedades químicas para o tratamento do camarão (SILVA, 1988).

Valença e Mendes (2004), alertaram que o bissulfito de sódio libera SO_2 quando em contato com o ar, além de conter pequena porcentagem de sais de cobalto (0,04%), considerados potencialmente cancerígenos se inalados. Relato semelhante foi mencionado por Araújo e Araújo (2004), que afirmaram haver liberação de SO_2 quando o metabissulfito de sódio entra em contato com ácidos, água e/ou gelo (Figura 4). Todavia, Taylor; Higley; Bush (1986), afirmaram que somente ocorre liberação de SO_2 em meio ácido e que as formas inorgânicas dos sais de sulfito (sulfito, bissulfito e metabissulfito de sódio) permanecem, em equilíbrio umas com as outras quando em contato com a água. Na Figura 4 é apresentada a reação química do bissulfito e metabissulfito de sódio.

Silva (1988), recomendou o metabissulfito de sódio para o uso em camarões, por ser mais estável que o sulfito e bissulfito de sódio, além de possuir maior disponibilidade de SO_2 quando dissolvido em água. Taylor; Higley; Bush (1986), citaram os valores de 67.39% de SO_2 no metabissulfito de sódio comparados a 50.82% e 61.56% de SO_2 do sulfito e bissulfito de sódio, respectivamente.

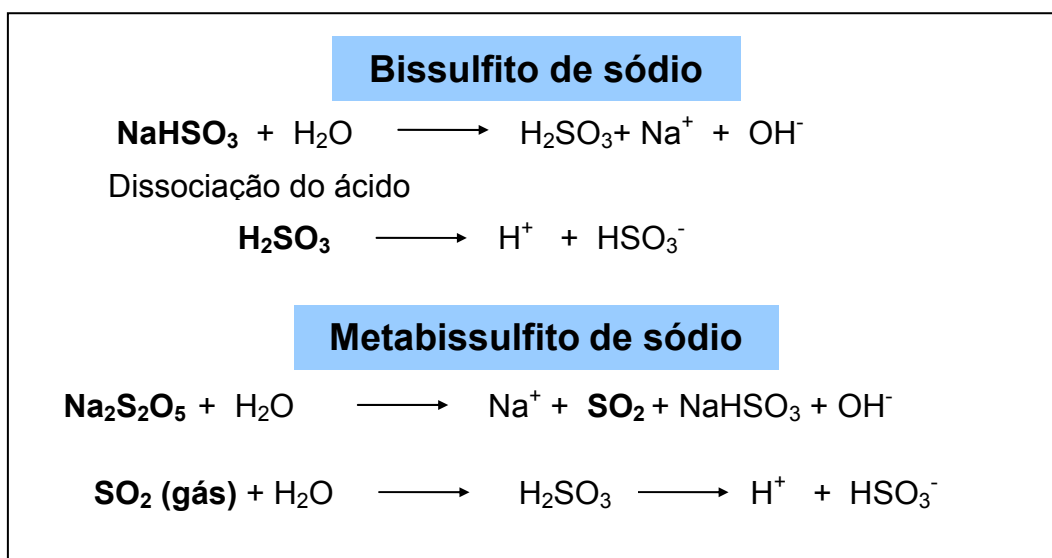


Figura 4: Reações químicas do bissulfito e metabissulfito de sódio.

Fonte: Atkinson; Sim; Grant (1993).

Recomenda-se que os camarões, logo após a captura, sejam submetidos ao tratamento com metabissulfito de sódio, mediante imersão na solução, que pode ser feita concomitantemente ao choque térmico, ou posterior

a ele (LUCIEN, 2003). Este conservante funciona como agente inibidor do oxigênio molecular (O_2), competindo com a tirosinase pelo oxigênio, evitando a formação de melanina e impedindo que o alimento seja oxidado por bactérias aeróbias (RUSSEL, 1980).

Segundo Góes (2005), a concentração de metabissulfito de sódio recomendada para a imersão dos camarões é uma questão muito importante. Segundo a autora, apesar dos estudos e de observações práticas de campo, ainda não se chegou a um consenso por parte de vários pesquisadores quanto à concentração mínima mais eficaz a ser utilizada na prevenção da melanose e que se enquadre nos parâmetros máximos aceitáveis de resíduo do conservante.

Barbieri Jr e Ostrensky Neto (2002), recomendaram a concentração de 2% de metabissulfito de sódio, por no mínimo 20 segundos e no máximo 20 minutos. Lucien (2003), orientou o uso das concentrações de 7 a 8%, por 7 a 10 minutos. O Departamento Americano de Controle de Alimentos e Drogas (*FOOD AND DRUG ADMINISTRATION* - FDA) recomenda que a concentração de metabissulfito de sódio seja de 1,25% e o tempo de imersão de um minuto. No entanto, Ogawa e Ferreira (2003), afirmaram que na prática esta concentração não é suficiente para evitar a melanose. Normalmente, as concentrações de metabissulfito utilizadas variam entre 5 e 10% e com tempo de imersão de dois a 20 minutos (ARAÚJO e ARAÚJO, 2004; BOYD e GAUTIER, 2002).

É importante salientar que no decorrer da despesca, o metabissulfito de sódio é absorvido gradativamente pelo camarão e a dissolução do gelo também enfraquece a concentração inicial da solução de imersão. A quantidade de conservante e o intervalo de tempo das reaplicações do metabissulfito de sódio também precisam ser padronizados, visando uma uniformidade das concentrações finais de dióxido de enxofre nos camarões despescados (LUCIEN, 2003).

No Brasil, o uso de bissulfito e metabissulfito de sódio em pescado é permitido, estando aprovado pelo Decreto-lei nº 986, de 21/10/1969, que institui as “Normas Básicas sobre Alimentos” e no Decreto nº 55.871, de 23/03/1965, que regula o uso de aditivos em alimentos (BRASIL, 1978). O Ministério da Agricultura, através do Serviço de Inspeção Federal, determina na circular

2031/76 de 22/09/76 o emprego deste aditivo como conservante de camarão e lagosta, desde que o teor residual de SO₂ não ultrapasse 100 ppm (BRASIL, 1976). Recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), na Resolução RDC nº 34 de 09 de março de 2001 aprovou o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos.

A concentração do dióxido de enxofre (SO₂) pode variar em decorrência das exigências dos países importadores. Na Austrália, por exemplo, aceita o produto fresco com no máximo 60 ppm, já a Espanha estabelece níveis de 50 ppm em camarões pré-cozidos e 80 a 150 ppm em camarões frescos (BARBIERI JR e OSTRENSKY NETO, 2002). Nos Estados Unidos o limite permitido é de 100 ppm para o camarão fresco, enquanto no Japão, o país mais rigoroso quanto ao nível de resíduo, a concentração máxima permitida é 30 ppm (VALENÇA e MENDES, 2004).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), concentrações de 40 a 100 ppm não se constituem como fator prejudicial à saúde dos consumidores (ROCHA e MAIA 1998). A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) estimou a ingestão diária aceitável para seres humanos em 42 mg de SO₂, após realizar vários testes comparando estimativas de ingestão de sulfitos em animais experimentais (SILVA, 1988). Segundo o mesmo autor, pesquisas realizadas nos EUA comprovaram que os americanos consomem em média 6 mg de SO₂ por dia. Bragagnolo; Silva; Taniwaki (2001), citaram que a ingestão diária aceitável de SO₂ é de 0,7 mg/Kg de peso corpóreo e estimaram que a ingestão diária de sulfito esteja em torno de 180 mg.

Ribera et al. (2001), concluíram que concentrações de 310 mg SO₂/kg de dieta ou 25 mg/kg de peso corpóreo/dia foram consideradas seguras. Estes autores chegaram a esta conclusão após observar o metabolismo de ratos alimentados com biscoitos manufaturados, contendo diferentes concentrações de metabissulfito de sódio (10-15; 35-45; 150-170 e 310-340 mg de SO₂ /kg de dieta) durante 28 e 85 dias. Nenhuma morte ou anormalidade clínica foi relatada pelos autores.

A concentração final dos sulfitos depende da natureza química do alimento, do tipo e extensão do processamento do produto, das condições de

armazenamento, da permeabilidade da embalagem e logicamente da quantidade adicionada durante o tratamento (SILVA, 1988; TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986). Ressalta-se que os sulfitos reagem com uma variedade de constituintes dos alimentos, incluindo reações de redução de açúcares, aldeídos, cetonas e proteínas, formando sulfitos combinados. Eles também podem ser oxidados a sulfato, um produto inócuo e/ ou volatilizados (RIBERA et al., 2001; SILVA, 1988; TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986).

De acordo Silva (1988), em muitos alimentos, somente uma pequena fração do sulfito total permanece como sulfito livre (inorgânico) no produto acabado. Nos biscoitos, por exemplo, 63% dos sulfitos reagem com componentes da farinha, 30% são oxidados a sulfato, e menos de 0,2% permanecem como sulfito livre (THEWLIS et al., 1974 citado em RIBERA et al., 2001). Diferentemente é o que ocorre em alfaces, onde a maioria dos sulfitos acrescentados não reage com seus constituintes e permanecem livres, tornando-se potencial fonte de problemas (SILVA, 1988).

Os sulfitos ingeridos são oxidados em sulfatos e tiosulfatos por ação enzimática e excretados pela urina (média de 2,5 g por dia), segundo Silva (1988). Pizzoferrato; Lullo; Quattrucci (1998), citaram que o sulfito combinado, 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 não só a porção de sulfito livre, mas também a porção combinada (sulfito não livre) para segurança alimentar dos consumidores.

O FDA reconhece oficialmente apenas o método de Monier e Williams, descrito na Association of Official Analytical Chemists - AOAC Horowitz (1984), para análise de sulfitos. Porém, vários métodos são capazes de detectar os níveis de SO₂ residual em alimentos, dentre eles têm-se: cromatografia, potenciometria, iodometria e métodos semi-quantitativos (fita reativa e métodos adaptados), sendo necessário a diferenciação e determinação prévia do método mais adequado para cada caso, ou seja, a obtenção de sulfito livre e/ou combinado (TAYLOR; HIGLEY; BUSH, 1986).

O sulfito livre (inorgânico), pode afetar pessoas que apresentam sensibilidade. Neste caso, a asma tem sido a reação adversa mais freqüente. Em 1973 foi descrita a primeira correlação entre sulfitos e asma, após a

ingestão de frutas secas por uma criança (SILVA, 1988). Anos depois, Bush et al. (1986), ao testarem 203 pacientes adultos asmáticos, encontraram resposta positiva ao teste de provocação oral com sulfitos em 8,4% dos pacientes asmáticos graves, corticóide-dependentes, sendo baixa a frequência (0,8%) em asmáticos não-dependentes de corticóide.

Reações cutâneas (vermelhidão, urticária, dermatite), distúrbios gastrintestinais (diarréias, dores abdominais), cefaléia, náuseas, tonturas e em casos mais graves, choque anafilático, ataque asmático agudo e perda de consciência, têm sido relatados em pacientes sensíveis (BRAGAGNOLO; SILVA; TANIWAKI, 2001; SILVA, 1988). Devido à notificação de numerosas manifestações de hipersensibilidade a sulfitos, o FDA, em 1982, iniciou uma reavaliação do status GRAS dos sulfitos, visando o aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos e a proteção à saúde da população (PAPAZIAN, 1996).

De acordo com Papazian (1996), foram estabelecidas inicialmente pelo FDA, pela Comunidade Européia Econômica (EEC), pela ANVISA no Brasil, e mais recentemente pelo Mercosul, normas específicas sobre o uso dos sulfitos, que vigoram na atualidade. Desta forma, ficou proibido o uso de sulfitos em frutas e vegetais crus para manutenção da cor e consistência, em carnes com o intuito de restaurar e manter a cor vermelha e em alimentos reconhecidos como fontes de vitamina B1. Ainda tornou-se obrigatória a discriminação no rótulo de alimentos e bebidas, quando a concentração de sulfitos estiver acima de 10 ppm (PAPAZIAN, 1996; VALENÇA e MENDES, 2004).

Os efeitos citotóxicos, mutagênicos e anti-nutricionais dos sulfitos são amplamente conhecidos. Eles interagem, particularmente, com algumas vitaminas (nicotinamida, tiamina, ácido fólico) reduzindo a qualidade nutricional do alimento (PIZZOFERRATO; LULLO; QUATTRUCCI, 1998). 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. Resultados encontrados por Ribera et al. (2001), contradizem esta afirmação, pois os autores não observaram sinais de deficiência dos níveis de tiamina em ratos alimentados com biscoitos manufaturados, contendo metabissulfito de sódio sem suplementação vitamínica. 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).

Como alternativas para substituição ao uso de sulfitos em alimentos, vários autores desenvolveram pesquisas utilizando substitutos como o ácido ascórbico, erisorbato de sódio, ácido kojico, 4-hexilresorcinol, dentre outros (OGAWA e MAIA, 1999). Entretanto, o metabissulfito de sódio ainda se destaca como o conservante de maior eficiência e menor custo, podendo ser usado em diversos tipos de alimentos, especialmente em camarões.

Pessoas que se expõem periodicamente a conservantes (ingestão e/ou contato físico) apresentam-se mais susceptíveis a problemas de saúde, dentre as quais destacam-se os trabalhadores das carcinoculturas. Segundo Mideo e Martins (2000), o SO₂ é um gás incolor às condições normais de temperatura, de sabor ácido, odor pungente, sufocante. Quando em contato com as mucosas umedecidas, combina-se com a água formando ácido sulfúrico e ácido sulfuroso. É considerado de insalubridade máxima pelo Ministério do Trabalho quando atingir concentração de 4 ppm/ 10 mg/m³, conforme descrito no quadro N° 01 da Norma Regulamentadora N° 15 (ARAÚJO e ARAÚJO, 2004).

Frank et al. (1965), examinaram os efeitos agudos do gás de SO₂ em humanos saudáveis. Em seus resultados somente um indivíduo de um grupo de 11 pessoas apresentou resistência do fluxo pulmonar quando submetido à exposição de 1 ppm de SO₂; aumentando a proporção para 39% e 72% quando submetidos a 5 e 13, respectivamente.

Silva (1988), relatou que a intoxicação aguda resulta da inalação de elevadas concentrações de SO₂, que são rapidamente absorvidas nas vias aéreas superiores. Observa-se irritação intensa da conjuntiva ocular e da mucosa nasal, dispnéia, cianose nas extremidades, podendo evoluir para edema de glote, ocasionando edema pulmonar e choque. A tosse é o sintoma mais comum em indivíduos expostos a baixas concentrações de SO₂.

Em exposições crônicas, é comum ocorrer inflamações da mucosa nasal, faringe e laringe, provocando dor, ardência, edema e secreções sanguinolenta. Em estágios mais avançados, pode-se observar atrofia e ulceração do septo nasal, sangramentos profundos da mucosa nasal e perda do olfato. Ao nível de vias aéreas inferiores os sintomas correlacionados são

bronquite crônica, enfisema pulmonar e freqüentes infecções respiratórias (ARAÚJO e ARAÚJO, 2004).

É imprescindível que os trabalhadores das carciniculturas que manuseiam o conservante estejam devidamente protegidos com equipamentos de proteção individual (EPI), que consiste de óculos, máscara com filtro químico para gases ácidos e filtros mecânicos, avental, luvas e botas impermeáveis. Por falta desse cuidados, ao longo dos anos tem sido constante o relato de mortes de trabalhadores, tanto em barcos pesqueiros, quanto em fazendas de camarão (ARAÚJO e ARAÚJO, 2004).

Glass et al. (1980), avaliaram os registros da Guarda Costeira dos EUA quanto a mortes de pescadores no período de 1970 a 1978. Eles documentaram 21 mortes por asfixia entre pescadores, dentre as quais seis foram entre pescadores de camarão, evidenciando o risco ocupacional da atividade, principalmente quando somado ao uso inadequado do metabissulfito de sódio.

Atkinson; Sim; Grant (1993), relataram a morte de dois tripulantes de uma embarcação comercial para pesca de camarão, no Golfo do México, em julho de 1998. 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.

No Brasil, em julho de 2003, registrou-se o óbito de um trabalhador em uma carcinicultura do estado do Ceará. Segundo Araújo e Araújo (2004), o trabalhador apresentou dificuldade respiratória e reações cutâneas quando exposto ao metabissulfito de sódio durante a despesca. Este quadro evoluiu em seis meses para uma insuficiência renal aguda e síndrome do desconforto respiratório do adulto (SDRA), causando a morte do mesmo. Nessa mesma carcinicultura, outro trabalhador após manipular o metabissulfito de sódio durante aproximadamente seis despescas, foi internado apresentando quadro de hipertensão arterial pulmonar, vindo a precisar de um transplante de pulmão. A Delegacia Regional do Trabalho do Ceará em auditorias realizadas nas carciniculturas locais constataram falhas quanto ao uso e a disponibilidade de equipamentos de segurança para os trabalhadores.

O metabissulfito de sódio quando utilizado inadequadamente acarreta prejuízos à saúde dos consumidores, manipuladores e suas soluções residuais quando descartadas sem nenhum tratamento, provoca grande impacto ambiental ao entrar em contato com corpos de águas naturais. Boyd e Gautier (2002), afirmaram que a solução de metabissulfito de sódio reage com o oxigênio dissolvido na água formando o sulfato ácido de sódio, que por sucessivas reações de dissociação, resultam em sulfatos e íons de hidrogênio. Estes íons causam declínio no pH e na alcalinidade total da água, devido à neutralização dos bicarbonatos. Como alternativas para o descarte seguro das soluções de metabissulfito de sódio, os mesmos pesquisadores, recomendam a oxidação e neutralização das soluções em lagoa de oxidação ou em sistemas de tratamento residual de efluentes. Caso não seja possível, outra alternativa é o uso de tanques com aeração mecânica e neutralização da solução com hidróxido de cálcio ou hidróxido de sódio.

A solução residual de metabissulfito de sódio pode também ser usada na esterilização do viveiro, substituindo o cloro. Esta prática é segura, pois sendo um produto degradável, no ato da inundação do viveiro estará diluído no volume total e completamente neutralizado no ato do povoamento (BOYD e GAUTIER, 2002).

Atualmente, o metabissulfito de sódio ainda se constitui o conservante mais eficaz e de menor custo para a prevenção da melanose em camarões (OGAWA, 1999). Este conservante, mesmo sendo reconhecido como seguro e tendo seu uso permitido na legislação, quando em excesso acarreta danos à saúde do consumidor. Diante do exposto, fazem-se necessários estudos que avaliem as concentrações de metabissulfito de sódio utilizadas na carcinicultura marinha, visando sua otimização e minimizando custos na produção, além de garantir um alimento seguro aos consumidores.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Período e local.

Camarões marinhos da espécie *Litopenaeus vannamei*, obtidos de um viveiro de cultivo comercial, que apresentavam peso de 10 a 12 g (classificação 81/100), foram submetidos à aplicação de diferentes concentrações do metabissulfito de sódio durante o choque térmico.

Foram utilizadas as instalações da carcinicultura marinha Tabatinga Aquacultura Ltda., localizada no município de Goiana – PE, durante o segundo semestre de 2005.

4.2 Tratamentos com metabissulfito de sódio.

Camarões foram submetidos ao choque térmico concomitante à aplicação do conservante metabissulfito de sódio. Utilizaram-se diferentes concentrações do conservante e diferentes tempos de exposição. As concentrações de metabissulfito de sódio utilizadas foram: 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5%, durante cinco tempos de exposição (10, 15, 20, 25 e 30 minutos).

As soluções de metabissulfito de sódio foram preparadas momentos antes da imersão dos camarões, visando evitar perda por volatilização de sulfatos. Primeiramente procedeu-se a homogeneização do conservante na água e posteriormente adicionou-se o gelo. As soluções foram preparadas em recipientes plásticos com capacidade para 40 L e o metabissulfito de sódio foi dissolvido num volume total de 25 L, sendo 12.5 L de água doce e 12.5 kg de gelo em escama, seguindo a proporção de 1:1 a qual é normalmente recomendada na despesca de camarões marinhos (Figura 5).

Os camarões foram despescados gradativamente com tarrafa e mantidos em baldes contendo água do próprio viveiro, sob aeração, visando minimizar o estresse e fornecer condições de sobrevivência aos animais (Figuras 6A e 6B). Em seguida, amostras de 1.100 g de camarões, foram acondicionadas em redes de nylon previamente identificadas. Após a pesagem de cinco amostras contendo 1.100 g cada, foi realizado, individualmente, o experimento para cada concentração, retirando-se uma amostra a cada tempo de exposição (Figuras 6C e 6D).



Figura 5: Preparo da solução com metabissulfito de sódio: A – Material utilizado para cada tratamento; B – Adição do metabissulfito de sódio em 12,5L de água doce; C – Adição do gelo a água doce com metabissulfito de sódio; D – Homogeneização da solução.

Após a imersão à concentração do metabissulfito de sódio (Figura 6E), os camarões foram retirados do recipiente para drenagem do excesso de água, e foram armazenados individualmente em dois sacos plásticos íntegros e acondicionados individualmente em caixa térmica com gelo reciclável (Figura 6F). A proporção gelo /camarão foi de 1:3, para a manutenção da temperatura da amostra em aproximadamente 5°C.

Ao final do experimento, as amostras foram imediatamente transportadas ao Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL) do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, onde permaneceram armazenadas em freezer (Temp. 18°C) até a realização das análises.



Figura 6: Tratamentos com metabissulfito de sódio: A – Despesca gradativa com tarrafa; B – Camarões despescados mantidos em baldes com aeração; C – Pesagem de amostras contendo 1.100 g; D – Amostras pesadas mantidas sob aeração; E – Choque térmico concomitante a exposição ao conservante; F – Armazenamento individual da amostra.

4.3 Quantidade e processamento das amostras.

No total foram coletados 49.5 kg de camarões marinhos, divididos em 45 amostras de 1.100 g cada, para avaliar as nove concentrações de metabissulfito de sódio, nos cinco diferentes tempos de exposição.

As amostras de 1.100g de camarões foram subdivididas em 22 amostras de 50 g. Primeiramente, foram analisadas todas as concentrações de todos os tempos de exposição, totalizando 90 amostras, das quais 45 foram analisadas no Laboratório Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) e 45 no Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL). Após a avaliação dos resultados destas análises, foram escolhidas as cinco concentrações de metabissulfito de sódio (1, 1.5, 2, 2.5 e 3%) significativas para serem analisadas durante o período de 56 dias. Semanalmente, porções de 50 g de camarões de cada concentração escolhida e dos cinco tempos de exposição foram retiradas para a realização dos testes nos laboratórios acima citados, totalizando 400 amostras analisadas (Figura 7).

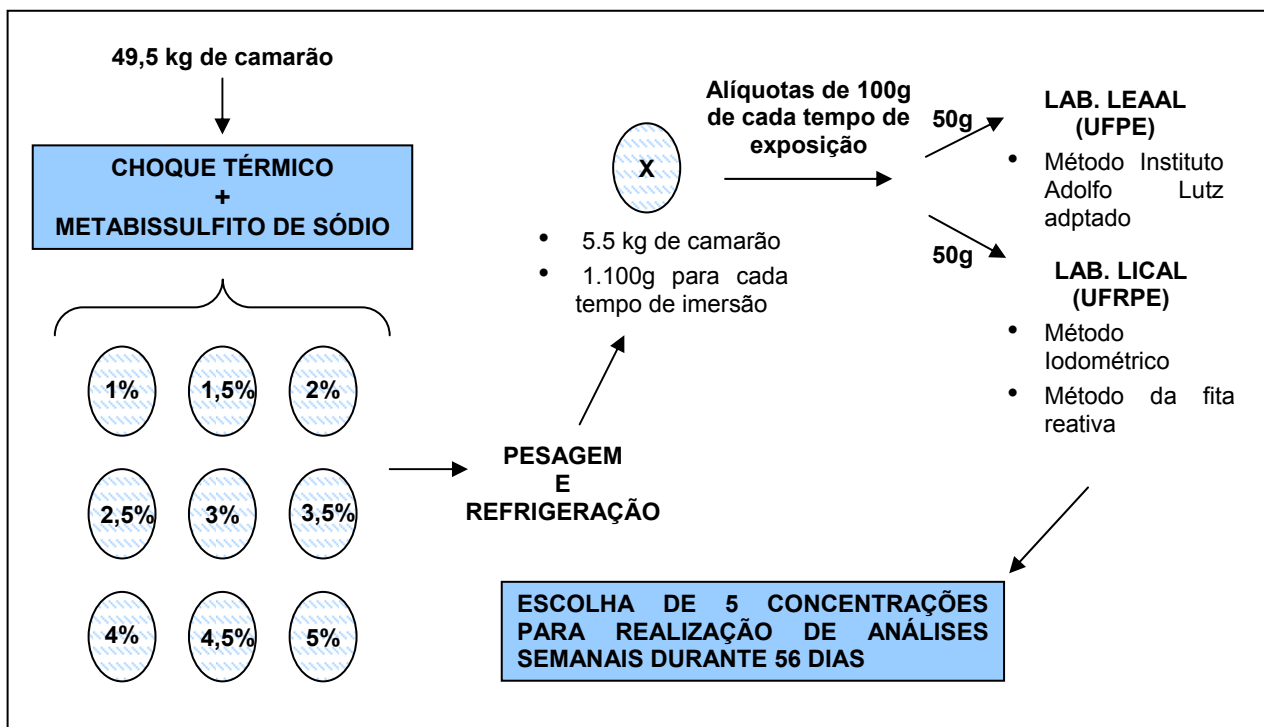


Figura 7: Fluxograma do experimento.

4.4 Métodos de detecção de dióxido de enxofre residual.

As análises laboratoriais para detecção de dióxido de enxofre (SO₂) residual foram realizadas nos Laboratórios de Inspeção de Carne e Leite (LICAL) do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Foram realizados três tipos de análise para detecção do dióxido de enxofre residual: a titulação iodométrica (sem aquecimento - MTIs/a e com aquecimento - MTIc/a), o método adaptado da titulação de SO₂ em suco descrito no Instituto Adolfo Lutz (1985) (MTAL), o método da fita reativa (sem aquecimento - MFRs/a e com aquecimento - MFRc/a).

4.4.1 Método adaptado da titulação de SO₂ em suco descrito no Instituto Adolfo

Lutz (1985) (MTAL).

Determinou-se a concentração residual de SO₂ pelo método da titulação para sucos conforme descrito nas normas analíticas (SÃO PAULO, 1985),

adaptado para o camarão no LEAAL da UFPE, perfazendo o total de 245 amostras analisadas. Cada amostra, constituída de 50 g de camarão inteiro, era ligeiramente triturada em liquidificador e homogeneizada com 50 mL de metanol (balão I). Após este procedimento, adicionou-se 15 mL de ácido fosfórico concentrado (84 – 85%) por um funil com torneira. Em seguida adicionou-se 50 mL de solução 0,1N hidróxido de sódio (NaOH) no balão II acoplado ao aparelho. 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. Acondicionaram-se as soluções em dois balões (III e IV) acoplados ao aparelho, e posteriormente realizou-se a titulação destas com hidróxido de sódio a 0,1N até a viragem para a cor verde.

Quando o aparelho estava completamente montado (Figura 8A), foram ligados o gás nitrogênio e o aquecimento (bico de Bunsen). Após o início da ebulição e a viragem da solução para a coloração roxa (Figuras 8B e 8C) contaram-se 15 minutos. As soluções dos balões III e IV foram transferidas para um erlenmeyer de 500 mL para titulação com hidróxido de sódio 0,1N até a viragem para a cor verde (Figuras 8D e 8E). A concentração de SO₂, em ppm, foi obtida utilizando-se a seguinte fórmula:

$$C_{SO_2} = V \times F \times E_g \times N / P$$

Em que: C_{SO₂} - concentração de SO₂ residual em ppm; V - volume em mililitro gasto na titulação com NaOH 0,1N; F - fator da solução de NaOH; E_g - equivalente grama do enxofre (3.2); N - normalidade da solução NAOH e P - peso em grama da amostra.

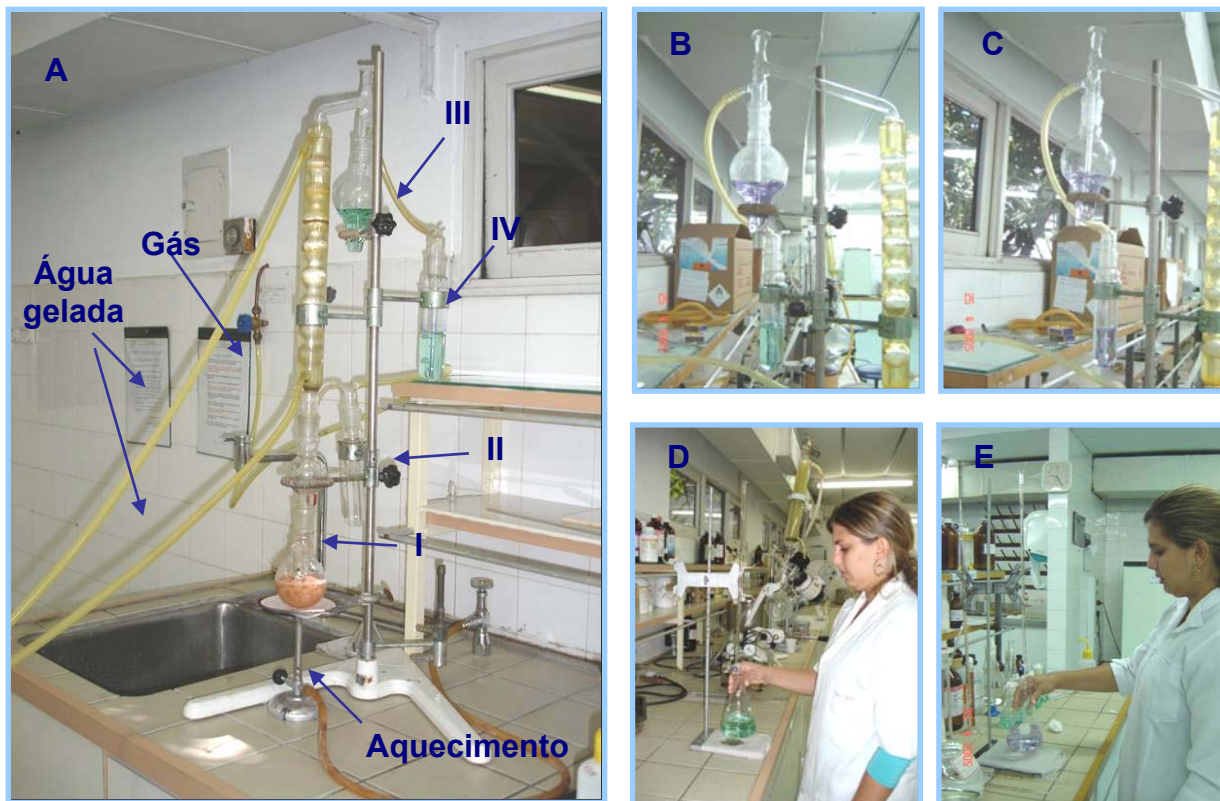


Figura 8: Destilação e titulação seguindo o método Adolfo Lutz adaptado: A - Equipamento de destilação; B e C – Viragem da coloração da solução de indicadores; D e E – Titulação da solução com NaOH a 0,1N até a viragem para coloração inicial.

4.4.2 Método da titulação iodométrica (MTIs/a e MTIc/a).

As titulações iodométricas, com e sem aquecimento, foram realizadas no Laboratório de Inspeção de Carne, Leite e Derivados, da UFRPE, seguindo o método descrito pela Empresa de armazenamento frigorífico – EMPAF, Recife, (2003). Para a titulação iodométrica sem aquecimento (MTIs/a), 245 amostras de camarão inteiro (cefalotórax e cauda) variando de 45 a 50g foram trituradas com tesoura em uma placa de Petri, pesadas e posteriormente transferidas para um erlenmeyer de 250 mL (Figuras 9A e 9B). Adicionou-se 100 mL de água destilada e após 10 minutos de descanso com homogeneizações intermitentes a cada 3 minutos, 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 (Figura 9C).

Para a titulação iodométrica com aquecimento (MTIc/a) seguiu-se o mesmo procedimento supracitado, todavia após a retirada da alíquota para realização do MTIs/a, as amostras homogeneizadas em água destilada foram aquecidas com bico de Bunsen durante 10 minutos após atingir o ponto de fervura. No total, foram realizadas 490 titulações, visto que as amostras depois de analisadas pelo método da titulação iodométrica sem aquecimento (MTIs/a) eram aquecidas e tituladas novamente seguindo o método da titulação iodométrica com aquecimento (MTIc/a). Obteve-se a concentração de SO₂, em ppm, através da seguinte fórmula:

$$C_{SO_2} = 5000V / P$$

Em que: C_{SO₂} - concentração de SO₂ 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 9: Preparo e processamento da amostra para titulação iodométrica a frio: A – Camarão sendo triturado; B – Homogeneizado de camarão e água destilada; C – Titulação com solução de iodo; D – Aquecimento da amostra.

4.4.3 Método da fita reativa (MFRs/a e MFRc/a).

A análise do dióxido de enxofre residual utilizando a fita reativa Merckoquant[®] da Merck foi realizada a partir da mesma amostra processada na titulação iodométrica sem aquecimento (MTIs/a) e com aquecimento (MTIc/a). Imergiu-se a fita na solução de camarão e água destilada contida no erlenmeyer, por 30 segundos. A reação colorimétrica obtida foi comparada com a escala contida no produto seguindo as recomendações do fabricante (Figuras 10A e 10B).



Figura 10: Método da fita reativa: A – Imersão da fita reativa em solução de água destilada e camarão triturado; B - Escore de leitura da fita reativa.

4.5 Análise de dados

Utilizou-se o modelo matemático I para correlacionar a concentração de dióxido de enxofre residual nos camarões em função das concentrações de metabissulfito de sódio testadas na solução de imersão (de 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 e 5%), do tempo de imersão dos camarões nas soluções e dos métodos de detecção realizados (fita reativa com e sem aquecimento, titulação

adaptada do Instituto Adolfo Lutz e titulação iodométrica com e sem aquecimento).

- **MODELO I**

$$C_{SO_2i}^\lambda = \beta_0 + \beta_1 MFRs/a_i + \beta_2 MFRc/a_i + \beta_3 MTIs/a_i + \beta_4 MTIc/a_i + \beta_5 Timer_i + \beta_6 CMeta_i + \varepsilon_i$$

Em que: C_{SO_2} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; λ – fator de transformação de Box e Cox (1964); $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_6$ - parâmetros do modelo; MFRs/a – método da fita reativa sem aquecimento; MFRc/a – método da fita reativa com aquecimento; MTIs/a – método da titulação iodométrica sem aquecimento; MTIc/a – método da titulação iodométrica com aquecimento; Timer – Tempo de imersão; CMeta – concentração do metabissulfito de sódio na solução; ε_i - erro associado a i -ésima observação.

A avaliação da concentração de SO_2 residual nos camarões em função do tempo de armazenamento, da concentração da solução de metabissulfito de sódio, do tempo de imersão dos camarões nas soluções e dos métodos de detecção de SO_2 nas cinco concentrações escolhidas, foi realizada utilizando-se o modelo II:

- **MODELO II**

$$C_{SO_2i}^\lambda = \beta_0 + \beta_1 MFR_i + \beta_2 MTIs/a_i + \beta_3 MTIc/a_i + \beta_4 Timer_i + \beta_5 CMeta_i + \beta_6 TA_i + \varepsilon_i$$

Em que: C_{SO_2} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; λ – fator de transformação de Box e Cox (1964); $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_6$ - parâmetros do modelo; MFR – método da fita reativa; MTIs/a – método da titulação iodométrica sem aquecimento; MTIc/a – método da titulação iodométrica com aquecimento; Timer – Tempo de imersão; CMeta – concentração do metabissulfito de sódio na solução; TA – Tempo de armazenamento; ε_i - erro associado a i -ésima observação.

Nos modelos em que foram avaliados os diferentes métodos de detecção de SO_2 (MFR com e sem aquecimento, MTAL e MTI com e sem aquecimento), estes foram inseridos nos respectivos modelos sob forma de sistema binário, ou seja, "0 ou 1".

Utilizou-se o processo de *Stepwise*, estabelecendo-se como padrão a estatística "F" de Snedecor de entrada e saída em 4 para selecionar as variáveis dependentes significativas nos modelos. Associado ao processo de *Stepwise*, utilizou-se o processo de Box e Cox (BOX e COX, 1964), à variável resposta, objetivando minimizar a soma dos quadrados dos resíduos.

Utilizou-se o teste de D' Agostino e Pearson para os modelos I e II, de acordo com Zar (1999), para verificar se as pressuposições de normalidade não foram violadas em decorrência das transformações. Os parâmetros dos modelos e o uso de diferentes testes de normalidade foram estimados através do programa computacional Syseapro versão β . Também foi utilizado 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 imersão e dos métodos de detecção.

Ao correlacionar a concentração de SO₂ residual em função das concentrações de metabissulfito de sódio na solução de imersão (1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 e 5%), do tempo de imersão dos camarões nas soluções (10, 15, 20, 25 e 30 minutos) e dos métodos de detecção de SO₂ residual utilizados (MFRc/a, MFRs/a, MTAL, MTIc/a e MTIs/a), verificou-se a minimização da soma dos quadrados dos resíduos ou maximização R² (Tabela 2) ao utilizar o transformador logaritmo. Portanto a Equação 1, pode-se escrever da seguinte forma:

• EQUAÇÃO 1

$$\hat{C}_{SO_2} = e^{5,4152 - 1,5005.MFRs/a - 1,9643.MFRc/a - 0,8846.MTIs/a - 0,8897.MTlc/a + 0,1632.CMeta}$$

$$R^2 = 81,68\%$$

(Eq. 1)

Em que: C_{SO₂} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; MFRs/a – método da fita reativa sem aquecimento; MFRc/a – método da fita reativa com aquecimento; MTIs/a – método da titulação iodométrica sem aquecimento; MTIc/a – método da titulação iodométrica com aquecimento; CMeta – concentração do metabissulfito de sódio na solução.

Ao analisar a consistência da Equação 1 (Eq.1), com base na análise do resíduo, verificou-se a presença de 10 pontos discrepantes, isto é, fora dos limites -2 e +2 (Figura 11). Como regra geral, o número aceitável destes pontos não deve ultrapassar 5% do número de pontos do modelo (MENDES, 1999). No referido modelo foram analisados 222 pontos, permitindo cerca de 11 pontos discrepantes. Portanto, o total de pontos discrepantes encontra-se nos limites aceitáveis. Observou-se ainda, que não existe uma tendência na distribuição dos pontos, evidenciando a consistência da equação 1. Apesar da transformação logarítmica no vetor da concentração de SO₂ residual as pressuposições de normalidade (P<0.05), de acordo com a estatística de D'Agostino e Pearson, segundo Zar (1999), não foram violados.

Tabela 2: Valores de lâmbda (λ) como transformador de Box e Cox (1964) ao correlacionar a concentração de SO₂, as concentrações de metabissulfito na solução de imersão e os métodos de detecção de SO₂ residual utilizados:

Valores de lâmbda (λ)	Índice determinístico (R ²)
1	69,53
0,5	78,16
Ln	81,68

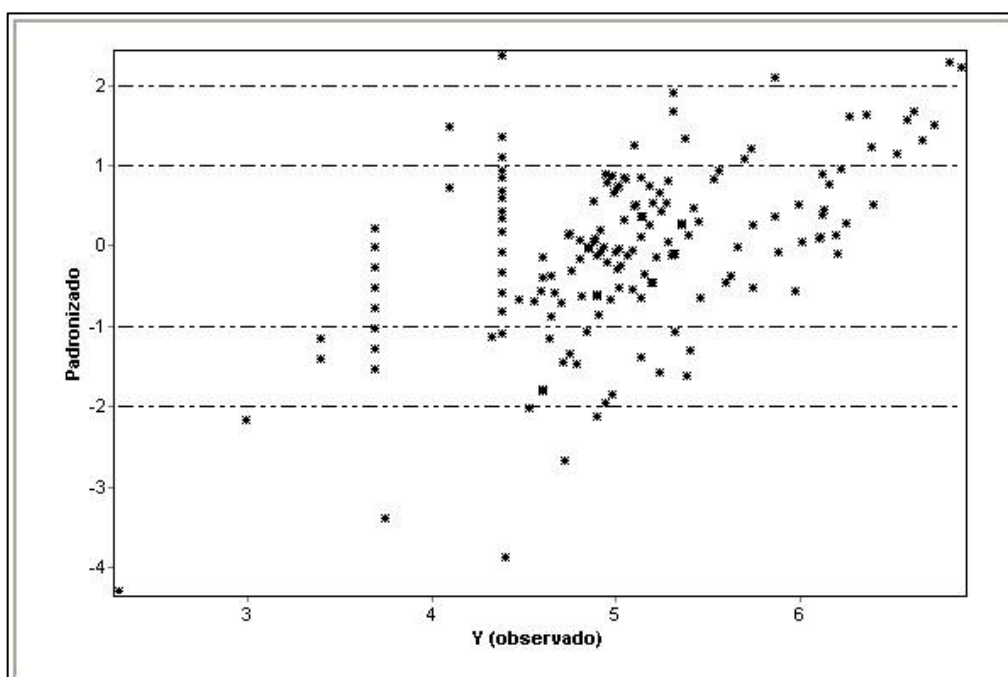


Figura 11: Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (Equação 1).

Considerando, portanto, estatisticamente apropriada à relação entre a concentração de SO₂ residual em função das concentrações de metabissulfito de sódio na solução de imersão, do tempo de imersão dos camarões nas soluções e dos métodos de detecção de SO₂ residual utilizados, pode-se representá-la graficamente (Figura 12).

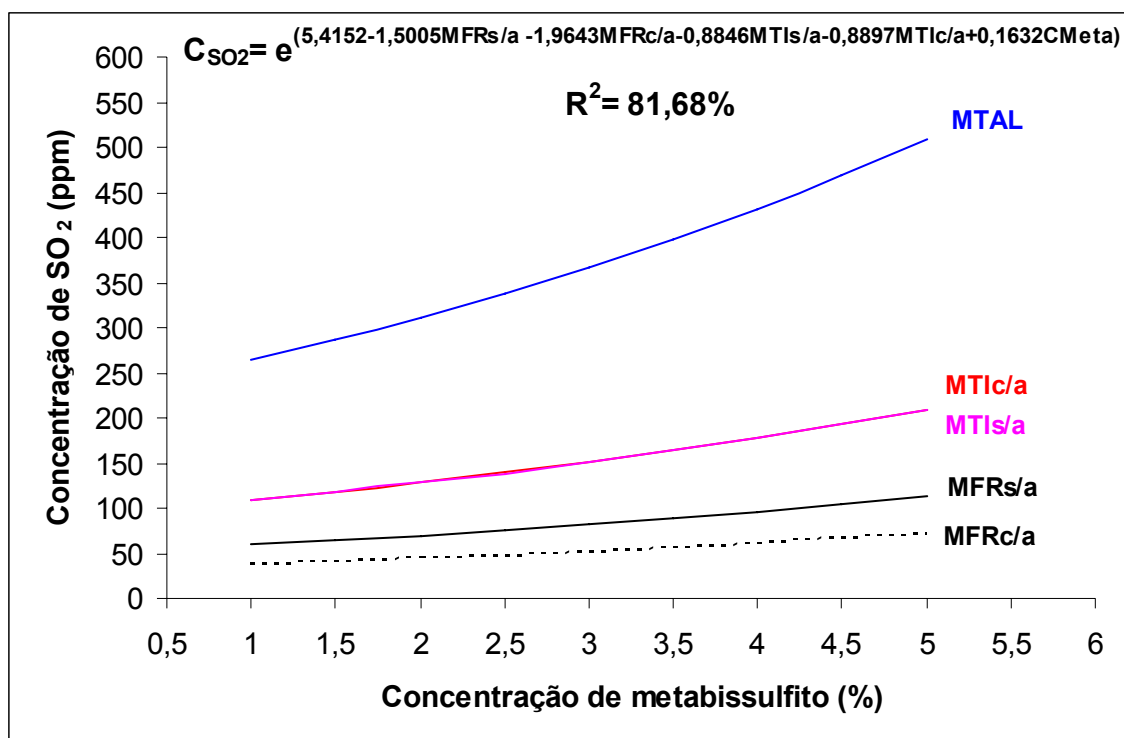


Figura 12: Relação entre a concentração de SO₂ residual e as concentrações de metabissulfito de sódio e os diferentes métodos de detecção de SO₂ residual.

Verificou-se que dentre as variáveis incluídas no modelo (CMeta, Timer, MFRs/a, MFRc/a, MTIs/a, MTIc/a e MTAL), apenas a concentração de metabissulfito na solução de imersão e os métodos de detecção de SO₂ foram significativos ($P < 0,05$), pois permaneceram no mesmo. Ressalta-se que, de acordo com a equação 1, o tempo de imersão (Timer) não foi incluído, por não haver influência significativa ($P \geq 0,05$) na concentração de SO₂ residual. Constatou-se também que existe diferença entre os métodos avaliados em que para uma mesma amostra a concentração de SO₂ residual assume valores diferenciados (Tabela 3).

Salienta-se que em todas as literaturas consultadas o tempo de imersão e as concentrações de metabissulfito de sódio são considerados de grande relevância para a obtenção de níveis residuais de SO₂ dentro dos limites estabelecidos na legislação. Nesta primeira situação do experimento o tempo de imersão não influenciou significativamente na concentração de SO₂ residual, caracterizando uma circunstância atípica. Acredita-se que esta interferência esteja relacionada com a fisiologia dos camarões, sendo necessário estudos mais aprofundados nessa área.

Tabela 3: Médias dos valores de SO₂ residual (ppm) determinados através de diversos métodos em camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* submetidos a nove diferentes concentrações de metabissulfito de sódio:

C. Mb ¹ (%)	MFRs/a ² (ppm)	MFRc/a ³ (ppm)	MTIs/a ⁴ (ppm)	MTIc/a ⁵ (ppm)	MTAL ⁶ (ppm)
1	80 ± 0	52 ± 22,24	129,26 ± 17,82	146,03 ± 75,87	140,11 ± 25,76
1,5	80 ± 0				223,42 ±
		30 ± 17,58	123,53 ± 34,14	152,41 ± 43,21	111,71
2	80 ± 0				322,25 ±
		38 ± 5,56	135,44 ± 24,75	106,74 ± 46,74	160,17
2,5	80 ± 0				412,46 ±
		42 ± 13,62	170,08 ± 37,10	130,10 ± 29,34	183,38
3	80 ± 0				371,28 ±
		64 ± 27,24	166,31 ± 24,74	148,03 ± 45,88	145,19
3,5	80 ± 0				478,37 ±
		64 ± 27,24	173,72 ± 23,00	150,27 ± 22,86	101,17
4	80 ± 0				590,07 ±
		64 ± 27,24	120,83 ± 25,23	163,68 ± 132,06	206,05
4,5	96 ± 32,42				608,20 ±
		72 ± 22,24	178,19 ± 47,89	220,97 ± 46,08	279,89
5	84 ± 11,12				675,98 ±
		80 ± 0	201,37 ± 31,71	237,67 ± 75,31	194,21

Em que: ¹ C. Mb – Concentração de metabissulfito de sódio; ² MFRs/a – Método da fita reativa sem aquecimento; ³ MFRc/a - Método da fita reativa com aquecimento; ⁴ MTIs/a – Método da titulação iodométrica sem aquecimento; ⁵ MTIc/a - Método da titulação iodométrica com aquecimento; ⁶ MTAL – Método da titulação do Instituto Adolfo Lutz adaptado.

Analisando o gráfico da Figura 12 e os valores médios de SO₂ residual obtido pelos diferentes métodos de detecção (Tabela 3), observou-se que a maioria dos valores encontrados está acima do permitido pela legislação (100 ppm). Destaca-se que as concentrações de metabissulfito de sódio testadas no experimento são usualmente consideradas “fracas” e ineficientes pelos produtores, sendo observado na prática o uso de concentrações muito superiores (cerca de 10%) para a prevenção da melanose.

Os resultados do SO₂ residual obtidos pelo método da fita reativa (MFRs/a e MFRc/a) foi uma exceção, pois praticamente todas as concentrações de SO₂ residual permaneceram abaixo de 100 ppm. Não houve variação nos resultados, mesmo quando existiu aumento nas concentrações das soluções de metabissulfito de sódio, o que denota a pouca sensibilidade do teste.

É importante salientar que o limite de SO₂ residual (100 ppm) está mencionado na legislação apenas para a musculatura do camarão. Em alguns métodos, as amostras são preparadas de acordo com o solicitante, considerando o tipo de beneficiamento aplicado, que varia de acordo com o mercado para o qual o camarão é destinado (camarão inteiro, camarão sem cabeça ou camarão descabeçado e descascado, etc). No referido experimento, foram utilizados camarões marinhos de classificação 81/100, que normalmente são comercializados e consumidos inteiros, o que justifica a análise do camarão com cefalotórax e cutícula (camarão inteiro).

Silva (1988), afirmou que os valores de SO₂ residual encontrados na cutícula são maiores do que os observados na musculatura do camarão. De acordo com o autor, a proporção de SO₂ residual na cutícula/musculatura de

camarões pitu foi, de no mínimo de 2:1 e variou de acordo com a classificação de peso do animal. Daniels et al. (1992), ao analisarem camarões frescos inteiros e descabeçados pelo método Monier-Williams otimizado constatou valores de 175 ppm e 52 ppm de SO₂ residual, respectivamente. Destacaram que, ao se descascar o produto ocorreu uma redução de 60% nos níveis de SO₂ residual, e aconselharam que esta prática seja adotada pelos consumidores em geral.

Em pesquisa realizada no Centro de Experimentação e Valorização dos Produtos do Mar (CEPVPM) Paris, França (2001), com o objetivo de verificar a variabilidade de SO₂ residual em diferentes partes dos camarões provenientes de um mesmo lote, foi constatado uma forte heterogeneidade no teor de sulfitos em um mesmo camarão. O método empregado foi o Monier-Williams otimizado (amostras de 50g) e obtiveram média de 1206,67ppm para SO₂ residual em camarões inteiros crus, 902,33 ppm em camarões crus descabeçados e 258,29 ppm para a musculatura do camarão, confirmando que a concentração do SO₂ é maior no cefalotórax e cutícula.

Inspecionando amostras de camarões numa indústria de pescado, localizada em João Pessoa-PB, Rêgo (2005), comparou dois métodos de detecção de SO₂ residual, o da titulação iodométrica a frio, realizado de forma rotineira na indústria e o método Monier-Williams, realizado no Laboratório Nacional Agropecuário em Recife - PE (LANAGRO). Em seus resultados, os níveis de SO₂ residual foram bastante desiguais quando comparado os dois métodos de detecção. No método Monier-Williams analisou-se apenas a musculatura de camarão e todas as amostras não ultrapassaram 100 ppm, enquanto que na titulação iodométrica a frio utilizou-se o camarão inteiro e

66,6% das amostras ultrapassaram o limite preconizado de 100 ppm. O autor justificou esta desigualdade como sendo em consequência da diferença do material analisado, uma vez que o método Monier-Williams é considerado o mais preciso na detecção do SO₂ residual, sendo o uso das vísceras do cefalotórax como o fator diferencial, comprovando a grande concentração do conservante nas vísceras e cutícula.

Os métodos de detecção residual de SO₂ realizados nesta pesquisa diferenciaram quanto à obtenção de sulfitos livres e combinados no camarão inteiro. Segundo Taylor; Higley; Bush (1986), o sulfito livre é obtido quando a amostra é acidificada, procedimento este realizado no método da titulação iodométrica sem aquecimento (MTIs/a). Ainda de acordo com os mesmos autores, a acidificação combinada ao aquecimento mobiliza os sulfitos livres e parte dos sulfitos combinados. As amostras analisadas pelos métodos da titulação iodométrica com aquecimento (MTIc/a) e da titulação do Instituto Adolfo Lutz adaptada (MTAL) sofreram este tipo de tratamento.

Nos resultados (Figura 12 e Tabela 3), pode-se observar que as amostras que foram acidificadas e aquecidas (MTAL, MTIc/a), obtiveram, em média, maior detecção de SO₂ residual quando comparado ao método que usou apenas a acidificação (MTIs/a). Demonstrou-se que a obtenção do SO₂ residual aumentou em cerca de 4,09% no MTIc/a e em 177,81% no MTAL, quando comparado ao MTIs/a, corroborando com as afirmações de Taylor; Higley; Bush (1986).

No método da fita reativa sem aquecimento (MFRs/a) as amostras não sofreram nenhum tipo de interferência e a obtenção de SO₂ residual foi praticamente constante, independente da concentração da solução de

metabissulfito de sódio. Posteriormente, ao aquecimento da amostra, repetiu-se o método da fita reativa (MFRc/a) e constatou-se decréscimo de 31,62% nas obtenções de SO₂ residual. Acredita-se que por esta adaptação não estar de acordo com as especificações do produto (fita reativa Merckoquant[®] da Merck), o aquecimento da amostra tenha interferido negativamente na reação colorimétrica da fita. Por este motivo, na segunda fase do experimento, quando foi analisado o efeito do tempo de armazenamento sobre a concentração de sulfito o MFRc/a não foi utilizado.

Dentre os métodos analisados, o MTAL foi considerado o método mais sensível à detecção de SO₂ residual nas amostras de camarão. Sua técnica é mais laboriosa e requer equipamentos específicos. Apesar de ter sido elaborado para titulação de sucos, foi adaptado para o camarão no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos da UFPE (LEAAL), sendo considerado um método muito confiável, uma vez que combina a acidificação com o aquecimento em circuito fechado.

Góes (2005), obteve resultados semelhantes analisando amostras de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* submetidos a diferentes tempos e concentrações de metabissulfito de sódio. Em seu trabalho, o MTAL foi considerado o método de detecção de SO₂ residual mais sensível, quando comparado ao método de titulação iodométrica a frio e ao método da fita reativa.

Com relação aos resultados das concentrações de 1, 1.5, 2, 2.5 e 3% de metabissulfito de sódio foi observado valores de SO₂ residual que variaram em média de 140,11 a 412,46 ppm para sulfitos livres e combinados (MTAL) e de 123,53 a 166,31 ppm para os sulfitos livres (MTIs/a). As concentrações subseqüentes (3.5, 4, 4.5 e 5%) apresentaram valores elevados de SO₂ residual e por este motivo não foram analisadas na segunda etapa do experimento, observou-se valores em média de 478,37 a 675,98 ppm para sulfitos livres e combinados (MTAL) e 120,83 a 201,37 ppm para os sulfitos livres (MTIs/a), como apresentado na Tabela 3.

Góes (2005), testou diferentes concentrações de metabissulfito de sódio (1 a 10%) e diferentes tempos de exposição em camarões marinhos cultivados após serem submetidos ao choque térmico, e constatou elevados níveis de SO₂ residual nas amostras. Os camarões expostos às concentrações 1, 2 e 3%

apresentaram menores quantidades de SO₂ residual quando comparado às demais concentrações (4 a 10%). 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), enquanto que na concentração 4% os valores de SO₂ residual foram bastante elevados, acima de 480 e 150 ppm para SO₂ combinado e livre, respectivamente. Diante destes resultados, a autora afirmou que as concentrações de 2 e 3% de metabissulfito de sódio em todos os tempos testados, conservaram adequadamente os camarões durante o período do experimento.

Ogawa et al. (2003), ao analisarem 52 amostras de camarões congelados tipo exportação procedente de diferentes indústrias de beneficiamento do estado do Ceará pelo método Monier-Williams otimizado, relataram que o teor residual de SO₂ variou de 3,91 a 367,37 ppm. Em termos percentuais, 50% das amostras apresentaram valor de SO₂ residual até 100 ppm, 30,8% situou-se na faixa de 100 a 200 ppm, 15,4% entre 200 e 300 ppm e 3,8% acima de 300 ppm.

Munuera et al. (2004), analisando camarões da espécie *Xiphopenaeus kroyeri*, provenientes da pesca e do varejo, coletados na baixada Santista - SP, verificaram que 80% do total das amostras analisadas encontravam-se fora do padrão regulamentar vigente (100 ppm). Relataram ainda que 50% das amostras do varejo e 100% das amostras provenientes de barcos pesqueiros apresentaram valores de SO₂ acima de 100 ppm. Alertaram que quando há abuso na utilização do metabissulfito de sódio as operações de processamento (lavagem e retirada da cutícula e cefalotórax) podem não ser suficientes para diminuir a quantidade de SO₂ residual a níveis aceitáveis pela legislação, colocando em risco a saúde dos consumidores.

Ressalta-se que na maioria das unidades de beneficiamento é considerado que lavagens consecutivas diminuem significativamente os níveis de SO₂ residual em camarões. Ogawa e Ferreira (2003), embasaram esta suposição ao afirmarem que os níveis de SO₂ residual diminuem significativamente com as lavagens consecutivas durante o beneficiamento, após analisarem camarões marinhos (*Litopenaeus vannamei*) submetidos a diferentes concentrações de metabissulfito de sódio (5, 6 e 7%) por 15 e 20 minutos de imersão, coletados em diversas etapas do fluxograma de

beneficiamento. Os autores constataram variação dos níveis de SO₂ residual, sendo na recepção verificados valores elevados de SO₂ em todas as amostras (variou de 183,7 a 354 ppm), enquanto as amostras coletadas na linha de beneficiamento apresentaram significativo declínio, variando de 76,3 a no máximo 224 ppm, devido ao processo de lavagem.

Em desacordo a esta afirmação, pesquisas realizadas por Marshall; Otwell; Martin (1986), com camarões *Penaeus setiferus* submetidos às soluções de metabissulfito de sódio com 0.5, 1.25 e 2% por 1 minuto, e diferentes alternativas de cozimento (cozido, frito, grelhado e *sauté*) verificaram que quando os camarões apresentavam concentrações iniciais elevadas, as lavagens e os métodos de cozimento reduziram limitadamente os níveis de SO₂ residual.

Apesar de estar estabelecido no *Codex Alimentarius Commission* (CAC) que o cozimento dos alimentos diminua em cerca de 70% os níveis de SO₂ residual, Marshall; Otwell; Martin (1986), verificaram apenas pequenas reduções, em torno de 23%, no camarão ao ser cozido, frito ou grelhado, com casca e descabeçado expostos à concentração 2% de metabissulfito. O cozimento de alta intensidade (*sauté*) foi o único capaz de reduzir os níveis de SO₂ (livre e combinado) em 52, 51 e 28% nas concentrações de 0.5, 1.25 e 2%, respectivamente.

Diante do exposto, demonstrou-se a necessidade de precisão durante a aplicação do produto, uma vez que o excedente do conservante não pode ser totalmente eliminado por meio de lavagens e métodos tradicionais de cocção, procedimentos comuns na maioria das empresas de beneficiamento.

5.2 Avaliação da concentração de SO₂ residual em relação ao tempo de armazenamento nas concentrações 1, 1.5, 2, 2.5 e 3% de metabissulfito de sódio.

Ao correlacionar a concentração de SO₂ residual com as concentrações de metabissulfito de sódio (1, 1.5, 2, 2.5 e 3%) na solução de imersão dos camarões, do tempo de imersão (10 a 30 min) dos camarões nas soluções, do tempo de armazenamento de 56 dias e dos métodos de detecção de SO₂

residual, foi obtido a Equação 2. Semelhante ao modelo I, obteve-se minimização da soma dos quadrados dos resíduos ou maximização R^2 ao utilizar o transformador logaritmo na variável resposta (Tabela 4). Portanto a Equação 2, pode-se escrever da seguinte forma:

- **EQUAÇÃO 2**

$$\hat{C}_{SO_2} = e^{4,8835 - 1,4436.MFR - 0,5865.MTIs/a - 0,0737MTIc/a + 0,0089.Timer + 0,3312.CMeta + 0,0033.TA}$$

$R^2 = 77,80\%$ (Eq. 2)

Em que: C_{SO_2} – concentração de dióxido de enxofre residual no camarão; MFR – método da fita reativa; MTIs/a – método da titulação iodométrica sem aquecimento; MTIc/a – método da titulação iodométrica com aquecimento; Timer – Tempo de imersão; CMeta – concentração do metabissulfito de sódio na solução; TA – Tempo de armazenamento.

Com base na análise de resíduo da equação 2, verificou-se a presença de 43 pontos discriminantes (Figura 13), portanto, ligeiramente fora dos limites aceitáveis de 5% (5% de 794 \approx 40), preconizado por Mendes (1999). Nota-se que no gráfico de resíduos ocorreu uma pequena tendência na distribuição dos resíduos observados, mas os dados foram aceitos quanto a sua normalidade de acordo com o teste de D'Agostino e Pearson (ZAR, 1999).

Nesta segunda etapa do experimento, verificou-se que todas as variáveis analisadas foram significativas ($P < 0.05$), pois permaneceram no citado modelo. Ressalta-se que a variável tempo de exposição foi incluída, nesta segunda situação, diferentemente do verificado na primeira etapa, na Equação 1.

Considerando estatisticamente apropriada a Equação 2, pode-se representar graficamente a relação entre a concentração de SO_2 residual em função das concentrações de metabissulfito de sódio na solução de imersão (1, 1.5, 2, 2.5 e 3%), do tempo de imersão dos camarões nas soluções (10, 15, 20, 25 e 30 minutos), dos métodos de detecção de SO_2 e do tempo de armazenamento sob congelamento (56 dias) na Figura 14.

Tabela 4: Valores de λ como transformador de Box e Cox (1964) ao correlacionar a concentração de SO_2 com a concentração de metabisulfito de sódio (1, 1.5, 2, 2.5 e 3%), do tempo de imersão dos camarões (10 a 30 min), do tempo de armazenamento e dos métodos de detecção de SO_2 residual:

Valores de λ	Índice determinístico
(λ)	(R^2)
1	56,43
0,5	69,79
Ln	77,80

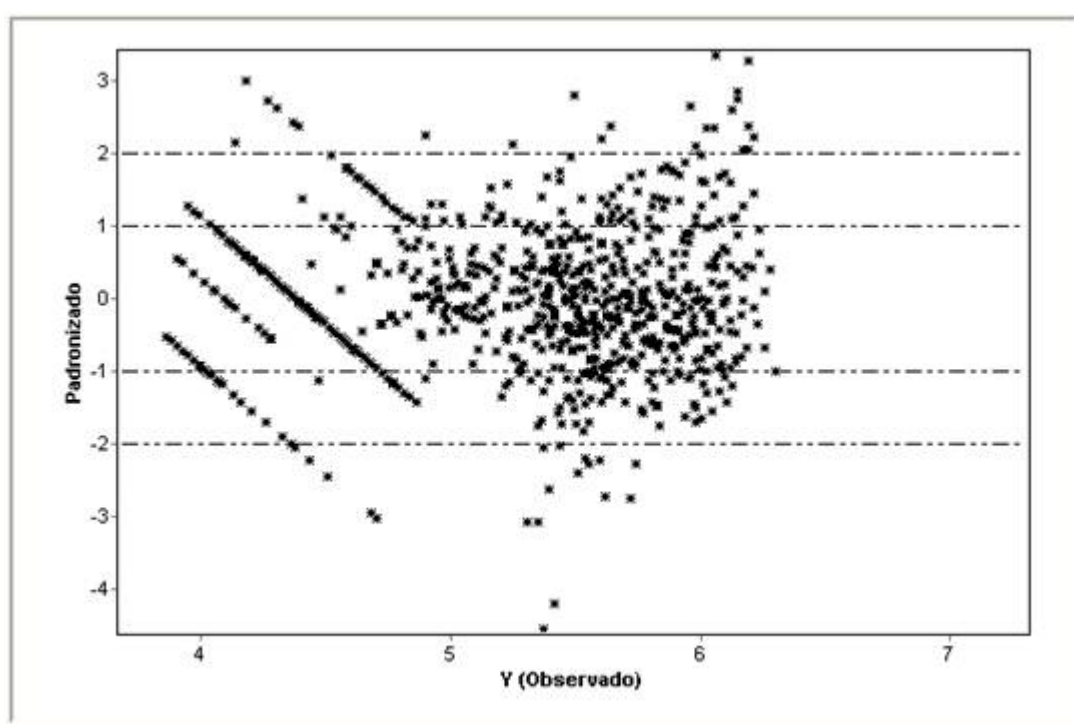


Figura 13: Relação entre os valores observados e o resíduo padronizado (Equação 2).

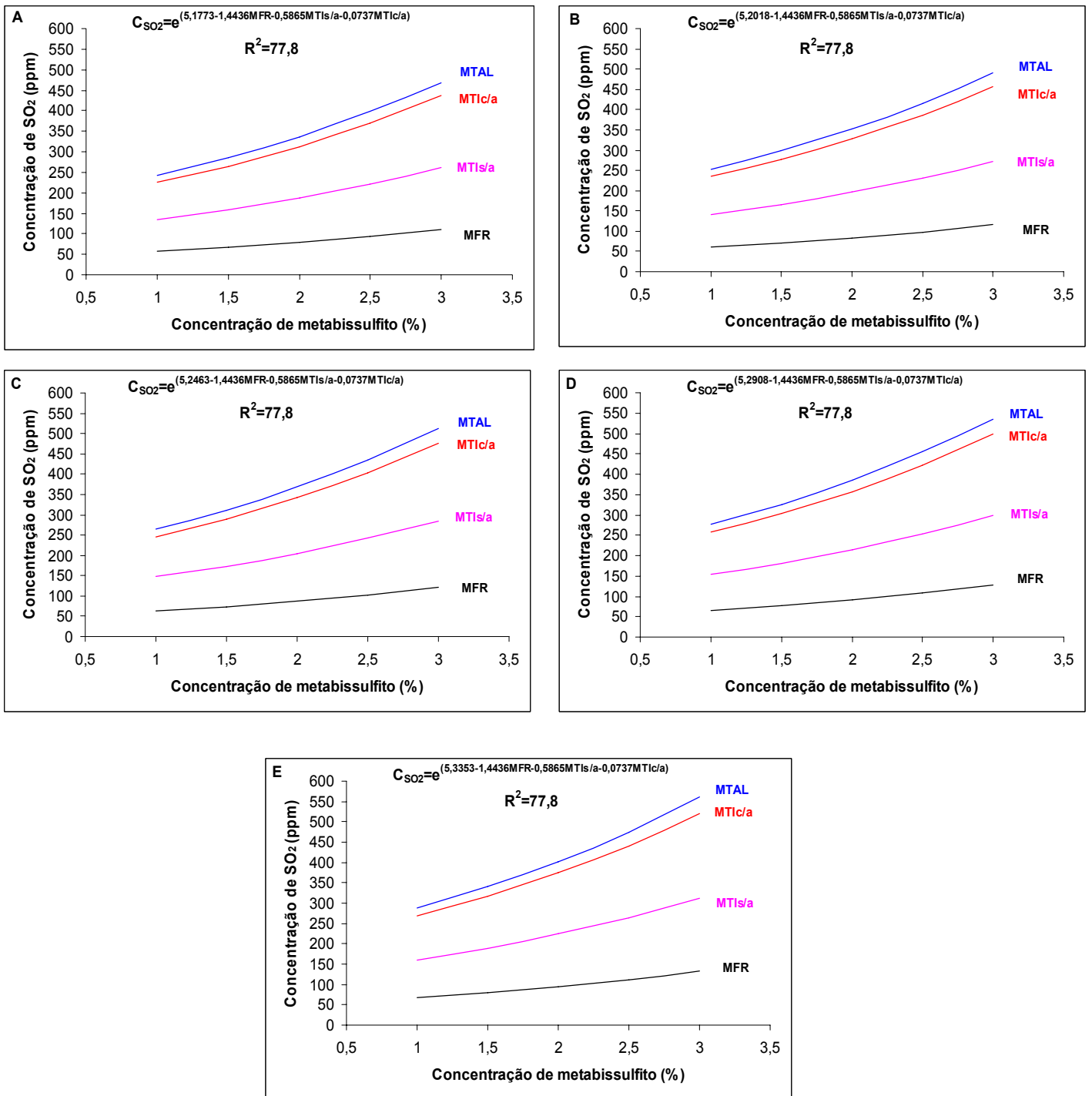


Figura 14: Relação entre a concentração de SO₂ residual e as concentrações 1, 1.5, 2, 2.5 e 3% de metabissulfito de sódio nos tempos exposição de 10 minutos (A); 15 minutos (B); 20 minutos (C); 25 minutos (D) e 30 minutos (E) durante os 56 dias de congelamento.

Observando os resultados obtidos nas a concentrações 1, 1.5, 2, 2.5 e 3%, os menores níveis de SO₂ residual encontrados variaram de 46,79 a 281,14 ppm para sulfitos livre e combinado (MTAL) e de 99,76 a 276 ppm para sulfitos livre (MTIs/a) na concentração de 1% e tempo de imersão de 10 e 15 minutos sendo os que se situaram os mais próximos do desejado. Estes resultados revalidam a indicação da concentração de 1.25% de metabissulfito de sódio por 10 minutos na solução de imersão dos camarões, preconizada pelo *Food and Drug Administration* (FDA).

Nas demais concentrações testadas o teor residual de SO₂ permaneceu elevado. Quando se utilizou o método MTAL, variou entre 156,18 a 297,36 ppm com média de 210,79 ppm na concentração 1.5%; 276,51 a 331,81 ppm com média de 343,94 ppm na concentração 2%; 205,60 a 655,03 ppm com média de 494 ppm na concentração 2.5% e de 351,27 a 687,30 ppm com média de 396 ppm na concentração 3%, quando considerado o menor tempo de imersão (10 min).

Ao se considerar as médias de SO₂ residual de cada concentração testada de todos os tempos de imersão (10, 15, 20, 25 e 30 minutos), observam-se os seguintes resultados: 182,51 ppm na concentração 1%; 287,64 ppm na concentração 1.5%; 351,20 ppm na concentração 2%; 492,72 ppm na concentração 2.5% e 646,53 ppm na concentração 3%. De acordo com os resultados, recomenda-se a utilização das concentrações 1, 1.5 e 2% de metabissulfito de sódio em todos os tempos de imersão, como eficiente na prevenção da melanose em camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* quando submetidos ao choque térmico concomitante com o metabissulfito de sódio.

Para a eleição da concentração e tempo de imersão adequado Góes (2005), recomendou que o produtor e/ou a empresa de beneficiamento defina anteriormente qual será o tamanho do camarão e sua condição de muda, assim como o tipo de produto final (camarão inteiro ou descascado) e o período de armazenamento proposto.

Salienta-se que durante todo o período de armazenamento (56 dias) não foram observadas alterações no aspecto geral dos camarões, no que diz respeito à coloração do hepatopâncreas, firmeza da carapaça, integridade da junção cefalotórax/abdômen, bem como alterações significativas de melanose em todas as concentrações e tempos de imersão testados.

Ao final da oitava semana de armazenamento dos camarões sob congelamento (56 dias), verificou-se discreto início de melanose nos pereópodos de alguns camarões isoladamente, submetidos à todas as concentrações, não sendo considerado como um grande defeito ao nível de depreciar a qualidade do produto (Figura 15).

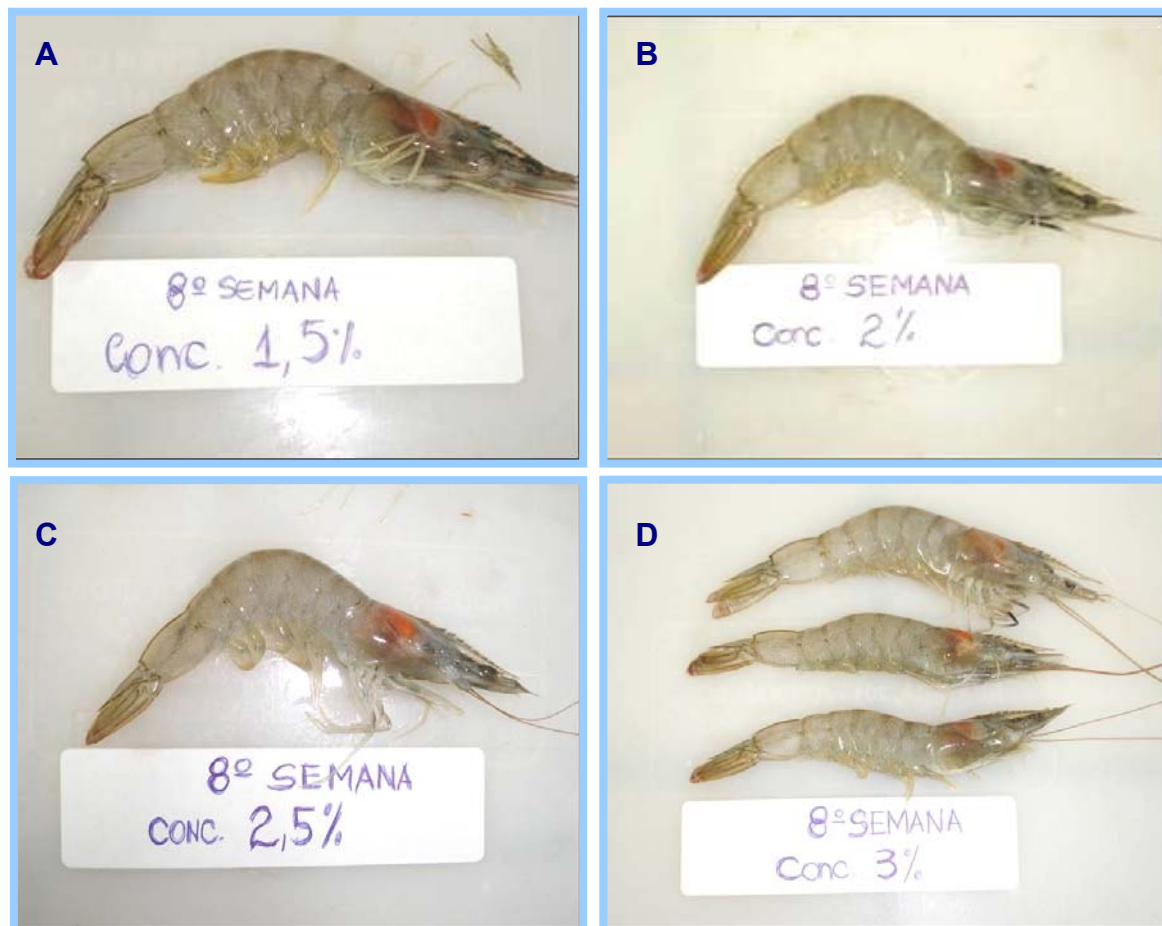


Figura 15: Visualização do início de melanose em camarões na 8ª semana de armazenamento (56 dias): A – Concentração 1.5%; B – Concentração 2%; C – Concentração 2.5%; D – Concentração 3%.

Slattery; Williams; Nottingham (1991), analisaram os níveis de SO_2 residual 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 escoamento do excesso da solução por cinco minutos. Observaram que mesmo utilizando tempo de exposição e concentração de metabissulfito de sódio relativamente pequenos, foram obtidos altos níveis de sulfito residual.

Concluíram que o tempo de drenagem da solução (5 minutos) foi insuficiente, apesar de exceder 20 vezes o preconizado pelo FDA (15 segundos).

Ainda de acordo com Slattery; Williams; Nottingham (1991), os camarões submetidos ao choque térmico concomitante à aplicação do conservante apresentaram maiores teores de SO₂ residual, dispensando a reaplicação do produto posteriormente. Quanto à comparação entre as espécies, os autores não observaram diferença significativa nos níveis de SO₂ residual, mesmo quando os camarões apresentavam diferença de tamanho. Neste experimento foi verificado que os níveis de SO₂ residual em camarões submetidos às mesmas situações supracitadas também foram elevados e não foi necessária a reaplicação do conservante, uma vez que os camarões permaneceram com aspecto normal durante todo o período de armazenamento.

Em se tratando de variação dos teores de SO₂ residual quando comparado a diferentes classificações de tamanho nos camarões pitu, Silva (1986), afirmou que nos camarões de pequeno porte há um maior depósito de SO₂, discordando dos resultados de Slattery; Williams; Nottingham (1991).

Góes (2005), ao avaliar diferentes concentrações de metabissulfito de sódio (1, 2, 3 e 4%) em diferentes tempos de imersão (10 a 30 minutos) e correlacionando com o tempo de armazenamento (20 dias), obteve valores máximos entre 110 e 248,19 ppm de SO₂ livre e combinado na concentração de 1% nos tempos de exposição de 25 e 30 minutos. Entretanto, constatou discreto escurecimento do hepatopâncreas nas últimas semanas (a partir do 20º dia de armazenamento) nos camarões provenientes dessa concentração, desaconselhando o uso para a prevenção da melanose. Durante o armazenamento, foram observados resultados de SO₂ livre e combinados acima de 480 e 150 ppm, em todos os tempos de exposição na concentração 4% de metabissulfito de sódio. Recomendando-se a utilização das concentrações 2% e 3% em todos os tempos de exposição, como segura para prevenção da melanose.

Otwell e Marshall (1986), submeteram camarões rosa (*P. duorarum*) ao tratamento com metabissulfito de sódio, na concentração 0.25, 0.50, 1.25 e 2.5% durante 1 minuto. Os camarões foram mantidos sob refrigeração durante duas semanas, com o objetivo de acompanhar desenvolvimento da melanose.

A concentração mais efetiva foi a de 2,5%, não sendo observado melanose até o 12º dia de armazenamento.

Camarões da espécie *Litopenaeus vannamei*, provenientes do México, Brasil e Equador foram avaliados no CEPVPM (2001), quanto à variação do teor residual de sulfitos nas etapas de fabricação (descongelamento, cocção e resfriamento) e durante o armazenamento. Concluíram que não houve nenhuma redução significativa das taxas de sulfitos residuais na musculatura dos camarões após o descongelamento, cocção ou resfriamento. Entretanto, observou-se um ligeiro aumento na taxa média de sulfitos residuais na musculatura durante a cocção por imersão em água quente, por meio de estufa, microondas e vapor, provavelmente devido à difusão dos sulfitos da cutícula e cefalotórax em direção a musculatura e a desidratação do produto.

Na avaliação realizada no CEPVPM em camarões cozidos após 14 dias de estocagem a 3°C, não foram observadas redução nas taxas de SO₂ residual. Destaca-se a importância das concentrações de SO₂ residual na matéria-prima, para a obtenção de um produto final conforme o exigido na legislação.

Marshall; Otwell; Martin (1986), testaram diferentes soluções para lavagem dos camarões com o intuito de reduzir os níveis de SO₂ residual. Os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou água mineral e soda. Ao utilizar a água ozonizada verificou-se uma redução de 16% nos níveis de SO₂ residual apenas nos camarões que foram submetidos à concentração 2% de metabissulfito de sódio. O peróxido de hidrogênio (H₂O₂) também reduziu os teores de SO₂ residual, porém propiciou o desenvolvimento de melanose.

Embora não haja uma padronização com relação à concentração e o tempo de exposição ideal para garantir o não desenvolvimento da melanose, Ogawa e Ferreira (2003), citaram que na prática, as concentrações de metabissulfito de sódio utilizadas nas despescas são acima de 6% e o tempo de imersão de 25 a 30 minutos. É relevante destacar que experimentos utilizando concentrações menores do que as empregadas atualmente obtiveram teores de SO₂ residual próximo do desejado, com efetiva prevenção da melanose (GÓES, 2005).

Estudos objetivando a redução ou substituição dos sais de sulfitos na prevenção da melanose em camarões estão sendo realizados. Otwell e

Marshall (1986), utilizaram diferentes substâncias conservadoras e combinações de dois ou mais conservantes, perfazendo um total de 17 tratamentos em camarões rosa (*P. duorarum*). Segundo os autores, o metabissulfito de sódio foi o conservante que apresentou os melhores resultados na inibição da melanose, quando comparado aos demais conservantes testados. Misturas de ácido cítrico, eritrobato e/ou EDTA são válidas na prevenção moderada da melanose, tornando-se mais efetivas quando são adicionadas concentrações de metabissulfito de sódio.

Corroborando com os resultados de Otwell e Marshall (1986), Wagner e Finne (1986), relataram que é praticamente impossível um conservante reunir todas as propriedades dos sulfitos, não depreciando as alternativas encontradas para prevenção da melanose. Os autores testaram concentração de 1,25% de metabissulfito de sódio frente a concentrações de 1, 2 e 5% de ácido cítrico, concentrações de 1 e 2,5% de ácido bórico e concentrações de EDTA de 1 e 2,5%, durante 1 minuto de imersão em camarões *Penaeus setiferus* mantidos em gelo por no máximo 12 dias. O tratamento com o metabissulfito de sódio obteve os menores índices de desenvolvimento de melanose quando comparado a todos os compostos testados.

Segundo Taylor; Higley; Bush (1986), bons resultados têm sido obtidos com substitutos para sais de sulfito em alimentos. Guandalini et al. (1998) e Otwell e McEvily (1990), obtiveram resultados satisfatórios utilizando 4-hexylsorcinol e a formulação everfreshTM, respectivamente, em nível experimental em camarões. No entanto, segundo os autores, maiores pesquisas são requeridas para resultados conclusivos.

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:

- A concentração 1, 1.5 e 2% de metabissulfito de sódio foi eficiente na inibição da melanose em camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* nos 56 dias de armazenamento sob congelamento;
- O método da titulação do Instituto Adolfo Lutz adaptado foi mais eficiente na detecção dos sulfitos livres e combinados, quando comparado aos métodos da titulação iodométrica com e sem aquecimento e da fita reativa com e sem aquecimento;
- O método da titulação iodométrica com aquecimento apresentou maior sensibilidade na detecção do SO₂ residual do que o método da titulação iodométrica sem aquecimento e o método da fita reativa com e sem aquecimento;
- O método da fita reativa com e sem aquecimento apresentou baixa sensibilidade na detecção do SO₂ residual nas diferentes concentrações de metabissulfito de sódio testadas;
- Os tempos de exposição (10, 15, 20, 25 e 30 minutos) ao conservante influenciaram significativamente nos níveis de SO₂ residual durante o período de armazenamento e devem ser determinados em concordância com o tempo de estocagem previsto para o produto;
- As concentrações de metabissulfito de sódio superiores a 2.5% foram consideradas inadequadas para utilização em camarões, por acarretarem níveis de sulfitos residual acima do permitido por lei.

REFERÊNCIAS

- 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.
- AVAILLE, O.; MILLOUS, O.; VIRMAUX, J. F. Aquacultura de camarão em zona tropical. **Centro para o desenvolvimento da empresa**. Bruxelas, Bélgica, 2003. 214p.
- BARBIERI JUNIOR, R. C.; OSTRENSKY NETO, A. N. **Camarões marinhos: engorda**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2002. 372p.
- BARROS, G.C. Perda de qualidade do pescado, deteriora e putrefação. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Brasília, DF, ano IX, n.30, set a dez. 2003.
- BATISTA, F. Estatísticas da Carcinicultura Brasileira e Mundial. Disponível em [http:// www.aqualider.com.br/article](http://www.aqualider.com.br/article) Acesso em 02 de fevereiro de 2006.
- BEIRÃO, H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.M. Processamento e industrialização de moluscos. **Seminário e workshop Tecnologia para aproveitamento integral do pescado**, Campinas, p.38-84, 2000.
- 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 Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Ofício Circular nº 2031/76, de 22 de Setembro de 1976.

BRASIL: ABRACOA. **Boletim Informativo**, novembro de 2003, Disponível em [http:// www.zipmail.com.br](http://www.zipmail.com.br) . Acesso em 01 de março de 2004.

BRASIL: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Resolução – CNNPA nº 34**, de 09 de março de 2001. Aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos.

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

BROWDY, C. Biossegurança em Fazendas Brasileiras de Camarão. **Revista da Associação Brasileira de Criadores de Camarão**, ano 5, nº1, p. 81-83, março de 2003.

BUSH, R. K. et al., Prevalence of sensitivity to sulfating agents in asthmatics patients. **American Journal of Medicine**. [s.l.]: v.81, p.816, 1986.

CALIL, R.M.; AGUIAR, J. Aditivos nos alimentos. **Stampato**. São Paulo, 1999. 139 p.

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

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). Disponível em < <http://www.portaldoagronegocio.com.br>> Acesso em: 24 de janeiro de 2006.

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.

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

FRANK, N. R. et al. Effects of acute controlled exposure to SO₂ on respiratory mechanics in healthy male adults. **JOURNAL. Applied Physiology**, v.20, p. 164-167, 1965.

FRANKOS, et al. Generally Recognized as Safe (GRAS) evaluation of 4-hexylresorcinol for use as a processing aid for prevention of melanosis in shrimp. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.14, p. 202-212, 1991.

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

GLASS, R.I. et al. Death from asphyxia among fishermen. **JAMA.** v.244, p. 2193-2195, 1980.

GÓES, L. M. N. B. **Uso do metabissulfito de sódio na pós-colheita do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931).** 2005. 81f. Dissertação. (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura) – Departamento de Pesca e Aqüicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

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.

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

KAARNA, B. Camarão: um mar de oportunidades. **Revista Aqüicultura e Pesca**, São Paulo, Ed.07, Jan/Fev, 2005. <<http://www.dipemar.com.br/pesca>> Acesso em: 28 de outubro de 2005.

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.

MENDES, G.N. Cultivo do *Litopenaeus vannamei* em água doce. **Anais do CONLAEP**, Recife, vol 2. 1999.

MENDES, E.S. et al. Os víbrios na carcinicultura. **Panorama da Aqüicultura.** Rio de Janeiro, v.15, n.91, set/out. 2005.

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

MEDEIROS, S. Principais causas da rápida decomposição do pescado. **Curso de formação para os candidatos ao cargo de fiscal federal agropecuário**. Brasília, 2002. 39 p.

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 *Penaes paulensis*, com ênfase no sistema pró-fenoloxidase**. 1994. 121f. Dissertação. (Mestrado em Aqüicultura) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal 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.

RÊGO, M. J. P. **Estudo comparativo dos métodos de detecção do resíduo de metabissulfito de sódio em camarão marinho**. 2005. 36f. Monografia. (Graduação em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

RIBERA, D. et al. Absence of adverse effects of sodium metabisulphite in manufactured biscuits: results of subacute (28-days) and subchronic (85-day) 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.; 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.

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

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.

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.

TAOUKIS, P. et al. Inhibition of shrimp melanosis (black spot) by ficin. **Revista Lebensmittel- Wissenschaft & Technology**, cap.23, p. 52-54, 1990.

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.

TELES FILHO; P d'ALMEIDA,. Asma brônquica: Asma por sulfitos. <http://www.asmabronquica.com.br/medical/tipos_de_asma_asma_sulfitos.html>. Acesso em: 02 de novembro de 2005.

VALENÇA, A. R.; MENDES, G. N. O metabissulfito de sódio e seu uso na carcinicultura. **Panorama da aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.14, n.85, p.57-59, 2004.

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.