

## Avaliação dos teores de dióxido de enxofre e da qualidade microbiológica de cogumelos em conserva

### Evaluation of sulphur dioxide and microbiological quality of conserved mushrooms

Neura BRAGAGNOLO<sup>1\*</sup>  
Cláudia A. SILVA<sup>2</sup>  
Marta H. TANIWAKI<sup>2</sup>

RIALA6/899

Bragagnolo, N.; Silva C.A.; Taniwaki, M.H. Avaliação dos teores de dióxido de enxofre e da qualidade microbiológica de cogumelos em conserva. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 60(2):103-107, 2001.

**RESUMO.** Cogumelos são alimentos bem apreciados e seu consumo tem aumentado substancialmente. Para estender a vida de prateleira a adição de dióxido de enxofre ou sais de sulfitos que o produzam é usada por atuar como branqueador e conservador. A Resolução nº 04/88 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), do Ministério da Saúde permite a adição de no máximo 50 mg/kg de dióxido de enxofre. A ausência de *Salmonella* em 25 gramas de amostra e um máximo de 200 bactérias coliformes fecais por g são requeridos na Resolução 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde. Com o propósito de avaliar os teores de sulfito, pH, e a qualidade microbiológica de cogumelos em conserva foram analisadas 108 amostras sendo 25 industrializadas, 36 provenientes de produtores da região de Mogi das Cruzes e 47 lotes importados da China. O método utilizado para análise de dióxido de enxofre foi de Monier-Williams, cujo limite de detecção foi de 0,15 mg/kg e a recuperação de 91%. Os teores de dióxido de enxofre variaram de não detectado a 1052 mg/kg sendo que 68% das amostras industrializadas, 61% das provenientes de produtores e 23% dos lotes importados encontraram-se acima do limite permitido. O valor de pH variou de 2,60 a 5,35. Todas as amostras de cogumelos encontraram-se em acordo com padrões microbiológicos. Os altos níveis de dióxido de enxofre encontrados evidenciam uma preocupação de saúde pública. Os resultados microbiológicos sugerem que níveis baixos de dióxido de enxofre são suficientes na conservação do produto, não justificando as doses encontradas.

**PALAVRAS-CHAVE.** Cogumelos, dióxido de enxofre, análise microbiológica.

#### INTRODUÇÃO

Os cogumelos comestíveis utilizados em conserva são fungos pertencentes à classe dos basidiomicetes, sendo que a espécie cultivada mais comum é o *Agaricus campestris*. O

consumo de cogumelos em conserva no Brasil tem crescido nos últimos anos, principalmente, após a abertura do mercado externo. Para serem comercializados em conserva, estes sofrem a adição direta de dióxido de enxofre, ou indiretamente de sais de sulfitos que o produzam (sulfito de sódio, bissulfito de

<sup>1\*</sup> Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

<sup>2</sup> Instituto de Tecnologia de Alimentos, Av. Brasil, 2880, CEP 13073-001, Campinas/SP, Brasil, e-mail: mtaniwak@ital.org.br

\* Endereço para correspondência: C.P. 6121, 13083-970, Campinas/SP. e-mail: neura@fea.unicamp.br

sódio, bissulfito de potássio, metabissulfito de sódio e metabissulfito de potássio). O dióxido de enxofre ( $\text{SO}_2$ ) atua como branqueador e conservador sendo o mais utilizado e eficaz em alimentos e reconhecido como GRAS (geralmente reconhecidos como seguros) pelo Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup>. Os compostos de enxofre são considerados seguros quando usados de acordo com as boas práticas de manufatura e dentro dos níveis recomendados para cada alimento<sup>6</sup>. A resolução 04/88 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) do Ministério da Saúde<sup>4</sup> permite a adição de no máximo 50 mg/kg de dióxido de enxofre em conservas de cogumelos. Estudos sobre os níveis de dióxido de enxofre em cogumelos são escassos e existem evidências de haver um abuso na adição deste conservador, além dos limites permitidos pela legislação brasileira. Por outro lado, o preparo incorreto dos cogumelos em conserva pode aumentar a carga microbiana, levando o produto à deterioração em poucos dias. De acordo com a Resolução 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA)<sup>4</sup> do Ministério da Saúde, ausência de *Salmonella* em 25 gramas e o máximo de 200 bactérias do grupo coliforme de origem fecal por grama de amostra é exigido para se considerar dentro dos padrões microbiológicos. Mais recentemente, a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001<sup>4</sup> estabeleceu os limites de ausência de *Salmonella* em 25 g, máximo de 100 bactérias do grupo coliformes que crescem à temperatura de 45 °C por grama e máximo de 1000 bactérias *Staphylococcus coagulase* positiva por grama para cogumelos em conserva. Contudo, esta resolução ainda não estava vigente na época em que este trabalho foi desenvolvido.

Os sulfitos têm diversas funções nos alimentos e bebidas, atuando como agentes sanitizantes, antioxidantes, antifermentativos, antifúngicos, inibidores do escurecimento e da deterioração bacteriana. Perda de sulfito ocorre durante o processamento, na estocagem, e na preparação doméstica. Os sulfitos podem reagir com vários ingredientes e isto pode diminuir a quantidade de sulfito disponível no alimento. A lavagem com água não remove o sulfito e o cozimento irá reduzir, mas não eliminá-lo totalmente<sup>3</sup>.

Os efeitos biológicos dos agentes sulfitantes não estão completamente elucidados. Segundo a Federação das Sociedades Americanas para Experimentos Biológicos<sup>8</sup>, os sulfitos não são prejudiciais à maioria das pessoas, senão aos asmáticos, hipersensíveis aos sulfitos e aos alérgicos do tipo agudo. Os sintomas ou reações relacionadas com a ingestão de sulfitos podem ser vermelhidão, urticária, pressão sanguínea baixa, problemas respiratórios, distúrbio gastrointestinal, dermatite, náusea, diarreia, choque anafilático, ataque asmático agudo e perda de consciência. No entanto, o FDA tem registrado algumas mortes (27 mortes até abril de 1988) atribuídas ao consumo de alimentos contendo sulfitos<sup>6</sup> e determinou que alimentos contendo mais de 10 ppm de agentes sulfitantes sejam declarados no rótulo<sup>7</sup>. A ingestão diária aceitável de dióxido de enxofre, para o homem é de 0,7 mg/kg de peso corpóreo<sup>10</sup> e

estima-se que a ingestão diária de sulfitos esteja em torno de 180 mg<sup>3</sup>.

Os métodos para a determinação de sulfitos em alimentos variam desde análises diretas muito simples até alguns métodos indiretos muito sofisticados. O método de Monier-Williams<sup>1</sup> tem sido o método oficial para monitorar o uso de sulfito<sup>7</sup>. Muitos dos métodos empregados são, essencialmente, oriundos de modificações do primeiro procedimento de Monier-Williams, desenvolvido em 1927 e otimizado em 1986 para obtenção de níveis  $\geq 10$  ppm<sup>7,14</sup>. Fazio e Warner<sup>6</sup> revisando vários métodos analíticos para determinação de sulfitos em alimentos concluíram que o método de Monier-Williams é ainda o mais adequado.

Assim, os objetivos deste trabalho foram: (1) determinar os níveis de dióxido de enxofre nos cogumelos em conserva encontrados no mercado, a fim de verificar o nível de exposição dos consumidores; (2) verificar a qualidade microbiológica dos cogumelos em conserva comercializados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras de cogumelos

Foram analisadas 25 amostras de cogumelos em conservas industrializados adquiridos no mercado de Campinas, 36 provenientes de produtores da região de Mogi das Cruzes e 47 importados da China.

### Determinação de dióxido de enxofre

Para análise de dióxido de enxofre e de pH os cogumelos drenados (em torno de 600 g) foram homogeneizados em liquidificador até a obtenção de uma pasta. Foi utilizado o método de Monier-Williams modificado por Shipton<sup>12</sup> o qual consiste, basicamente, em acidificar 200 g de cogumelos com HCl (10 N) e destilar por 2 horas em corrente de  $\text{N}_2$  ajustando a vazão em 20 bolhas por minuto. O  $\text{N}_2$  arrasta o  $\text{SO}_2$  produzido para o peróxido de hidrogênio 3% neutro e frio. O  $\text{SO}_2$  reage com peróxido de hidrogênio formando  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , o qual é titulado com NaOH 0,1 N ou 0,01 N até atingir o ponto de viragem de vermelho para amarelo (indicador vermelho de metila 0,25%).

Para verificar a eficiência do método determinou-se o limite de detecção, recuperação, tempo de destilação necessário e a influência do pH da solução contendo cogumelos. A recuperação foi realizada em duplicata adicionando-se 50 mg de metabissulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) em 1 kg de cogumelos. O limite de detecção foi realizado com diluição sucessiva de uma solução padrão de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  adicionada a amostra, destilada e titulada. A concentração de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  entre a que pode ser titulada (volume usado  $\geq 0,5$  ml) e a que não respondeu a titulação foi calculado como limite de detecção.

### Determinação de pH

Seguiu-se o método potenciométrico do Instituto Adolfo Lutz<sup>9</sup>, utilizando-se um potenciômetro marca Orion (330).

### Análises microbiológicas

As análises microbiológicas de *Salmonella* e coliformes fecais foram realizadas de acordo com a metodologia recomendada por Vanderzant e Splittstoesser<sup>13</sup>. Para determinação de *Salmonella*, uma alíquota de 25 g de cogumelos foi colocada no caldo de pré-enriquecimento, água peptonada tamponada e incubada por 35 °C/24 h. Após este período, a amostra foi passada para o enriquecimento seletivo no caldo tetracionato e caldo selenito cistina e incubada por 35 °C/24 h. Em seguida a amostra foi estriada em três meios de diferenciação ágar entérico de Hectoen, ágar xilose lisina desoxicilato e ágar bismuto sulfito, a leitura foi feita após incubação à 35 °C/24 h. As colônias suspeitas foram submetidas à série bioquímica de *Salmonella* e o resultado expresso em presença ou ausência de *Salmonella* em 25 g.

Quanto a coliformes fecais, uma amostra de 25 g foi homogeneizada com 225 ml de água peptonada e em seguida foi feita uma diluição seriada. As diluições foram inoculadas em tubos múltiplos de caldo lauril sulfato triptose e incubadas à 35 °C/48 h. Após este período os tubos positivos foram inoculados em caldo *E. coli* e incubados à 44,5 °C/24 h. A contagem seguiu a técnica do número mais provável.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O limite de detecção obtido no presente trabalho para o método Monier-Williams modificado por Shipton<sup>12</sup> foi de 0,15 mg/kg sendo bem menor que 10 mg/kg descrito na literatura<sup>7</sup>. Perfetti *et al.*<sup>11</sup> também encontraram baixos valores de SO<sub>2</sub> (0,8 mg/kg de uva) utilizando um dos métodos de Monier-Williams modificado. A recuperação do método foi de 91,1 ± 0,6% (CV = 0,7). O resultado obtido de recuperação pode ser considerado ótimo visto que Warner *et al.*<sup>14</sup> encontraram recuperação de 75% e Beelman *et al.*<sup>2</sup> entre 68,4 e 72%, ambos em cogumelos, utilizando-se o método de Monier-Williams modificado. Verificou-se que o tempo necessário para a destilação total foi de 2 horas, embora o método oficial da AOAC<sup>1</sup> indique como tempo total 2,4 horas e o método de Monier-Williams modificado por Shipton<sup>12</sup>, recomenda 30 minutos. Muitos trabalhos relatam a influência do pH no resultado de dióxido de enxofre total. No presente trabalho foi investigado o pH da solução contendo a amostra, o qual não mostrou necessidade de ser modificado. Nos vários pH testados o valor obtido de SO<sub>2</sub> foi semelhante.

Das 108 amostras analisadas, 50 (46%) apresentaram teor de dióxido de enxofre acima do limite permitido. Altos níveis de dióxido de enxofre foram encontrados em algumas amostras, verificando-se valores de até 1052 mg/kg. Das 25 amostras comerciais analisadas, 17 (68%), encontraram-se acima dos 50 mg/kg permitidos pela legislação vigente, sendo que os níveis variaram de não detectado (< 0,15 mg/kg) a 1052 mg/kg (Figura 1). Em relação às amostras provenientes dos produtores, os teores de SO<sub>2</sub> variaram de não detectado a 1007 mg/kg, sendo que 61% das amostras apresentaram valo-

res acima do permitido (Figura 2). Dos lotes importados utilizados como matéria prima para posterior processamento, os valores variaram de não detectado a 904 mg/kg, sendo que 23% das amostras ficaram acima dos níveis aceitos (Figura 3). Observou-se que nas amostras comerciais a maioria não declarava no rótulo o uso de dióxido de enxofre.

Beelman *et al.*<sup>2</sup> determinaram a quantidade de dióxido de enxofre em cogumelos frescos após lavagem com uma solução de 1000 ppm de sulfito de sódio, tendo sido encontrado níveis iniciais bem baixos, média de 48,3 ppm e com subsequente declínio a uma razão logarítmica. Após 24 horas de estocagem, os níveis reduziram para quantidades não detectadas (< 10 ppm). Daniels *et al.*<sup>5</sup> analisando sulfitos em vários alimentos, encontraram valores de 3722 ppm em frutas secas; embora, para outros alimentos como melado e batatas em lata os valores encontrados foram bem menores (4,6 ppm até não detectado). Yabiku *et al.*<sup>15</sup> analisaram 473 amostras de sucos de frutas comercializadas no Brasil, sendo que 51% apresentaram níveis de dióxido de enxofre acima do limite máximo permitido pela

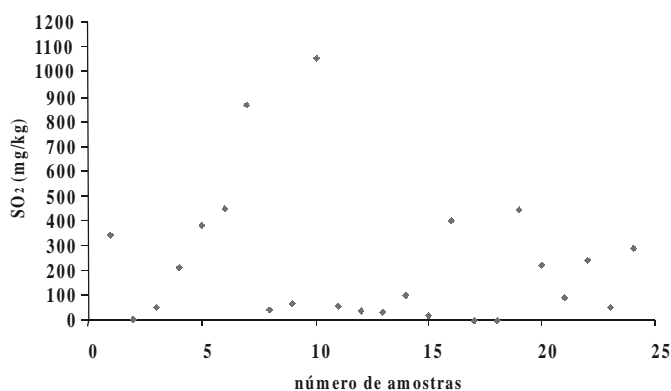


Figura 1. Níveis de SO<sub>2</sub> (mg/Kg) em cogumelos em conserva industrializados.

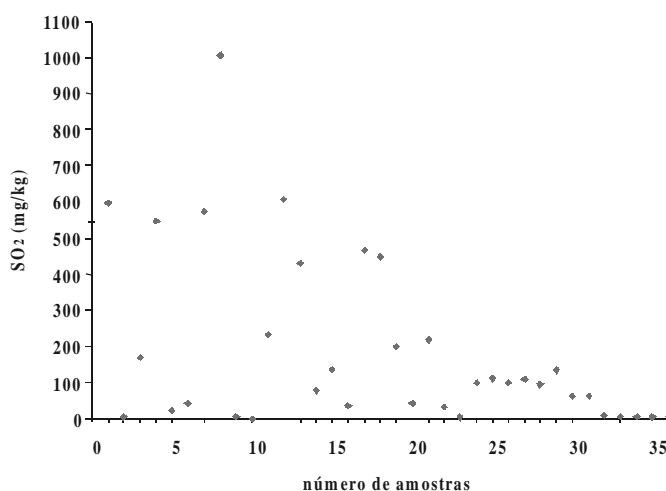
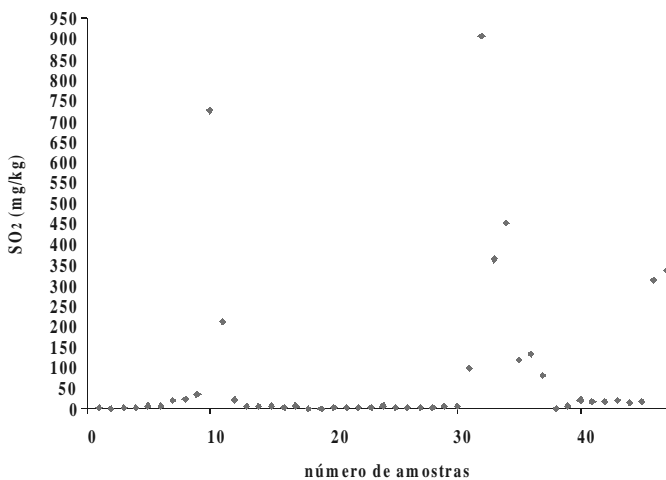


Figura 2. Níveis de SO<sub>2</sub> (mg/Kg) em cogumelos em conserva provenientes de produtores da região de Mogi das Cruzes.



- Brasília, 24 de julho de 1978. Seção I, p.11499-11527. Resolução RDC 12/01 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Diário Oficial da União, Brasília, 02 de janeiro de 2001. Seção 1, p.45-53.
- Daniels, *et al.* Survey of sulphites determined in a variety of foods by the optimized Monier-Williams method. **Food Addit. Contam.**, 9(3):283-9, 1992.
  - Fazio, T.; Warner, C.R. A review of sulphites in foods: analytical methodology and reported findings. **Food Addit. Contam.**, 7(4):433-54, 1990.
  - FDA. Food and Drug Administration. **Food labeling; declaration of sulfiting agents, final rule. Federal Register**, 51, 25012-25020, 1986.
  - FASEB. The reexamination of GRAS status of sulfiting agents, Report prepared for Center for Food Safety and Applied Nutrition, FDA. Federation of American Societies for Experimental Biology, 1985.
  - Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3ed. São Paulo, 1985, 533p.
  - JECFA. Joint Fao/Who Expert Committee On Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. **27<sup>th</sup> Report. Geneva, WHO**, 1983, p.20-21. (Technical Report Series 696).
  - Perfetti, G.A.; Joe Jr., F.L.; Diachenko, G.W. Liquid chromatographic determination of sulfite in grapes and selected grape products. **J. Assoc. Of. Anal. Chem.**, 72(6):903-906, 1989.
  - Shipton, J. Estimation of sulphur dioxide in dried foods. **Food Preservation Quarterly**, 14:54-6, 1954.
  - Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 3ed. Washington: American Public Health Association, 1992, 1219p.
  - Warner, C.R. *et al.* T. Reevaluation of Monier-Williams method for determining sulfite in food. **J. Assoc. Of. Anal. Chem.**, 69(1):3-5, 1986.
  - Yabiku, H.Y. *et al.* O. Níveis de conservadores intencionais em sucos naturais de frutas comercializadas no Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 47(1/2):64-75, 1987.

Recebido em 15/12/2000; Aprovado em 04/10/2001