

VERIFICAÇÃO DO ESTADO DE CONSERVAÇÃO E DA UTILIZAÇÃO DE SAIS DE PROPIONATO EM PÃES DE FORMA*

Gisélia CAMPOS**
Maria de Fátima GOMIDES**
Kleber Eduardo Silva BAPTISTA**
Heloiza Maria de Oliveira Horta FRANKLIN**
Rita Maria Lopes Portocarrero NAVEIRA**
David Lee NELSON***
Tânia Mara Amâncio Guerra PEIXOTO**
Mariem Rodrigues RIBEIRO-CUNHA**
Maria Berenice Cardoso Martins VIEIRA**

RIALA 06/864

CAMPOS, G. *et al.* — Verificação do estado de conservação e utilização de sais de propionato em pães de forma. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 58(2): 45-52, 1999.

RESUMO: o ácido propiônico é usado sob a forma de sais de cálcio e sódio como conservador de produtos como chocolate, picles, massas e produtos de confeitaria e panificação, devido à sua propriedade fungicida. Foi feita uma amostragem estatística a partir dos Supermercados e Padarias das 9 (nove) regionais de Belo Horizonte: Oeste, Norte, Nordeste, Leste, Venda Nova, Pampulha, Barreiro, Noroeste e Centro Sul. Foram analisadas 191 amostras de pão de forma coletadas pelo Serviço de fiscalização da Prefeitura Municipal, num total de 24 marcas diferentes. O teor médio encontrado de propionato, expresso em ácido propiônico, foi de 0,13% com um percentual de reprovação de 12,56%. O método de análise utilizado foi a extração do ácido propiônico com éter e a cromatografia gasosa para a quantificação. Quanto à contagem de bolores e leveduras 12,70% das 189 amostras analisadas apresentaram resultado acima do limite máximo permitido. A determinação de umidade foi feita em 56 amostras, sendo que 37 (66,07%) apresentaram teor acima do permitido pela legislação. As amostras foram analisadas dentro do prazo de validade e foi observada uma variação muito grande deste prazo, até mesmo para uma mesma marca.

DESCRITORES: conservadores, ácido propiônico, fungicida, pão de forma, bolores e leveduras

INTRODUÇÃO

O conceito de deterioração fúngica dos alimentos, está normalmente associado à presença de crescimento visível de colônias na sua superfície.

No entanto, um produto pode mostrar-se alterado por bolores, independente da visualização das colônias, alteração esta devida principalmente, à atividade hidrolítica apresentada por muitas espécies. Isto, torna extremamente importante o adequado controle da proliferação de

* Realizado no laboratório de Química Bromatológica da Fundação Ezequiel Dias com apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais.

**Da Fundação Ezequiel Dias

***Da Faculdade de Farmácia da UFMG

bolores nos alimentos (ROITMAN, 1988). Os tipos de alteração microbiana mais abundantes no pão são o amolecimento e a viscosidade excessiva, chamados geralmente de pão florecido e pão filamentosos. Os fungos constituem a causa mais frequente e, portanto a mais importante alteração do pão e dos produtos de panificação (FRAZIER, 1972).

O ácido propiônico e seus sais são usados como inibidores de fungos e bactérias bacilares em pães. A maioria dos fungos é destruída quando o pão é assado, mas a recontaminação da superfície pode ocorrer sob a embalagem durante o armazenamento do pão. Este efeito antimicrobiano é limitado para a maioria das leveduras e bactérias. Propionatos podem ser adicionados à massa do pão sem interferir no processo de fermentação, uma vez que eles têm pouco ou nenhum efeito sobre as leveduras (DOORES, 1983). No Brasil, este aditivo é conhecido como “anti-mofo” pelos panificadores e é comercializado sem a descrição no rótulo do princípio ativo e sua concentração. Há apenas indicação da dose a ser adicionada por kg de farinha.

A toxicidade do ácido propiônico para fungos e bactérias está relacionada com a incapacidade desses microorganismos de metabolizá-lo (LINDSAY, 1976; BRASIL, 1988). Juntamente com seus sais, tende a ser altamente específico frente aos fungos, sendo sua ação inibitória mais fungostática que fungicida. Alguns ácidos graxos afetam a permeabilidade celular ao atacar a membrana celular dos microorganismos. Ainda não está claro até que ponto a atividade fungostática do ácido propiônico se deve a este fenômeno (JAY, 1973).

De acordo com o “Code of Federal Regulation” o ácido propiônico e seus sais de sódio e cálcio podem ser utilizados em farinhas e pães na proporção de até 0,32% (DOORES, 1983). A legislação brasileira estabelece para produtos de panificação um limite máximo de 0,200% (p/p) expresso em ácido propiônico e $5,0 \times 10^3$ UFC/g de bolores e leveduras (BRASIL, 1988; BRASIL, 1997).

Como o pão de forma é um produto bastante consumido tanto na alimentação caseira como em lanchonetes, é importante um levantamento de dados à respeito da utilização do ácido propiônico, necessário para aumentar a vida de prateleira deste produto. O ácido propiônico é um aditivo considerado GRAS (generally recognized as safe) para uso em soluções antissépticas para superfícies que entram em contato com alimentos e como aditivo para grãos antes da silagem (FDA). Quando aplicado diretamente no alimento há os limites estabelecidos para o seu uso com segurança. Portanto deve ser feito um controle rigoroso das quantidades utilizadas de ácido propiônico, nos produtos consumidos pela população.

MATERIAL E MÉTODOS

O tamanho da amostra foi definido estatisticamente a partir de listagens dos estabelecimentos comerciais classificados como trailers e padarias, enviadas pelo Serviço de Vigilância Sanitária das nove administrações regionais da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte (Barreiro, Centro Sul, Leste, Nordeste, Noroeste, Norte, Oeste, Pampulha e Venda Nova) e de supermercados enviada pela Associação Mineira de Supermercados.

A escolha dos estabelecimentos foi feita através de tabelas de números aleatórios (GOMES, 1987). De cada um deles foi coletada 1 amostra de cada tipo de produto e de cada marca comercial (total de 24 marcas denominadas de A a Z) e os que não existiam na ocasião da coleta foram substituídos por outros. O número total de amostras de pães de forma analisadas foi 191 (Tabela 1).

Tabela 1. Número de estabelecimentos e de amostras coletadas por Regional de Belo Horizonte.

| REGIONAL | Nº ESTABELECIMENTOS | TOTAL DE AMOSTRAS COLETADAS |
|------------|---------------------|-----------------------------|
| Barreiro | 13 | 13 |
| Centro-Sul | 12 | 41 |
| Leste | 15 | 28 |
| Nordeste | 15 | 32 |
| Noroeste | 15 | 28 |
| Norte | 05 | 05 |
| Oeste | 09 | 12 |
| Pampulha | 07 | 08 |
| Venda Nova | 16 | 24 |
| Total | 107 | 191 |

1 — Determinação de ácido propiônico em pães de forma

Extração: Juntamente com 1g de pão de forma foi colocado em um tubo de vidro 4ml de solução de ácido fórmico 3% em éter e 1 ml de ácido butírico 1% em éter usado como padrão interno. A extração foi feita agitando esta mistura com um bastão de vidro por 5 minutos em banho de gelo.

Quantificação: após decantação, 1 microlitro do extrato foi injetado em cromatógrafo à gás CG Advanced 500 com detetor de ionização de chama, acoplado a integrador CG 300 sob as seguintes condições:

— coluna DEGS 10% + ácido ortofosfórico sobre Chromossorb W, aço inox, diâmetro 1,8" x 6 pés.

— programação de temperatura da coluna: T_i : 90 °C/3 min.

rampa: 1 °C/ min.

T_f : 100 °C

— fluxo do gás de arraste (N_2): 30 ml/min

— Temperatura do detector: 250 °C

— fluxo dos gases no detector = ar = 300 ml/min.

H_2 = 30 ml/min.

— Temperatura do vaporizador = 200 °C (Campos e col., 1997)

2 — Determinação de umidade

Foi feita à 105 °C até obtenção de peso constante (São Paulo, 1985).

3 — Contagem de bolores e leveduras

A contagem em placas de bolores foi realizada em duplicata utilizando-se o meio ágar batata-dextrose, acidificado com ácido tartárico a 10% e incubando-se a 23 ± 2 °C, por 3-5 dias (APHA, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras 1 e 2 mostram os cromatogramas da solução padrão contendo ácido propiônico (Tr' 2,465) e ácido butírico como padrão interno (Tr' 3,775) e do extrato de uma amostra de pão de forma. A tabela 2 mostra os teores médios de propionato (em ácido propiônico) e da contagem de bolores e leveduras encontrados nas amostras nas diversas regionais de Belo Horizonte. O ácido propiônico variou de zero a 0,41% (tabela 4) e os bolores e leveduras de zero a incontáveis UFC/g (tabela 5). Os resultados mostram que de maneira geral os valores encontrados para propionato estão na mesma proporção em todas as regionais. Os teores mais altos de ácido propiônico foram encontrados na regional Oeste. A regional Nordeste apresentou maior variação nos resultados, ou seja, alguns estabelecimentos comercializam pão de forma com teor elevado de propionato (0,41%) e outros com teores menores ou até mesmo nenhum. O teor médio para propionato considerando as 191 amostras foi de $0,13 \pm 0,07$, havendo uma variação grande nos resultados das amostras agrupadas como sem marca (Z) e nas de uma mesma marca principalmente na designada de T. 12,56% das amostras apresentaram teor acima de 0,20% de propionato que é o máximo permitido pela legislação (BRASIL, 1988).

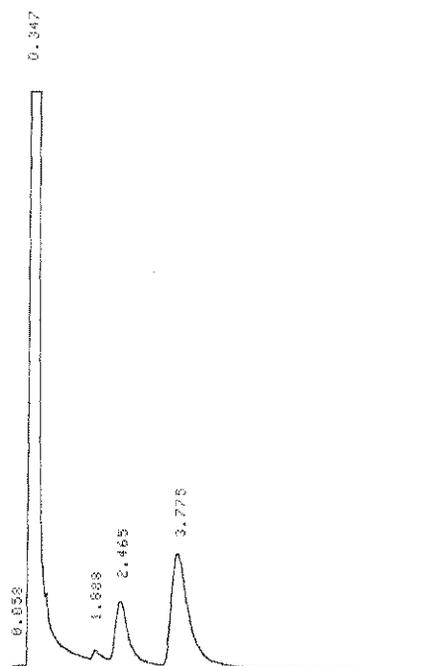


Figura 1 — Cromatograma da solução padrão de ácido propiônico (Tr' = 2,465) e ácido butírico (Tr' = 3,775), coluna DEGS.

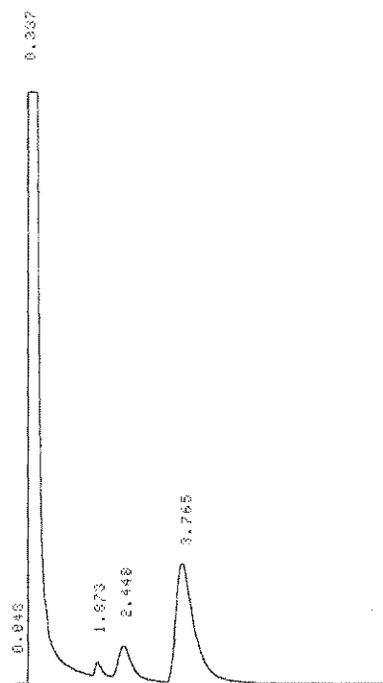


Figura 2 — Cromatograma da extração de uma amostra de pão de forma. Ácido butírico: Tr' = 3,765 — ácido propiônico: Tr' = 2,448, coluna DEGS.

Tabela 2. Teor de propionato e contagem de bolores e leveduras em amostras de pão de forma comercializados em Belo Horizonte

| REGIONAIS | PROPIONATO (em ácido propiônico) | | BOLORES E LEVEDURAS | |
|------------|-------------------------------------|--------------|---------------------|-----------------------|
| | Nº DE AMOSTRAS | MÉDIA (%) DP | Nº DE AMOSTRAS | MÉDIA (UFC/g)* |
| Barreiro | 13 | 0,12 ± 0,05 | 13 | 1,5 x 10 ³ |
| Centro Sul | 41 | 0,13 ± 0,07 | 40 | 2,0 x 10 ³ |
| Leste | 28 | 0,13 ± 0,05 | 28 | 1,2 x 10 ³ |
| Nordeste | 32 | 0,15 ± 0,08 | 31 | 1,2 x 10 ³ |
| Noroeste | 28 | 0,11 ± 0,05 | 28 | 2,8 x 10 ³ |
| Norte | 05 | 0,13 ± 0,07 | 05 | 6,2 x 10 ³ |
| Oeste | 12 | 0,20 ± 0,10 | 12 | 2,4 x 10 ³ |
| Pampulha | 08 | 0,12 ± 0,06 | 08 | 2,1 x 10 ³ |
| Venda Nova | 24 | 0,12 ± 0,05 | 24 | 4,4 x 10 ³ |
| Total | 191 | | 189 | |

*As amostras mofadas não foram consideradas para o cálculo da média (uma da regional Leste, Nordeste e Venda Nova).

Quanto à contagem de bolores e leveduras, pode-se dizer que não houve diferença entre as regionais. A tabela 3 mostra o percentual de amostras que apresentaram resultados acima do permitido pela legislação. Das 191 amostras, três foram condenadas, pois estavam visivelmente mofadas (uma da regional Leste, Nordeste e Venda Nova), o que tornou desnecessária a análise microbiológica. Outras duas não tiveram resultado conclusivo porque houve crescimento de colônia invasora o que impossibilitou a contagem. Portanto o resultado médio para bolores e leveduras considerando 186 amostras foi de $1,7 \times 10^3$ UFC/g com um percentual de 12,70 de condenação. Em relação às marcas, foram analisadas um total de 23 marcas comerciais diferentes que foram denominadas de A a X e 24 amostras não possuíam marca e foram reunidas no grupo designado de Z. As tabelas 4 e 5 mostram os resultados encontrados por marca analisada.

Em relação ao teor de propionato, para uma mesma marca, houve, uma variação grande nos resultados, prin-

cipalmente naquelas amostras agrupadas como sem marca (Z) e nas de marca T.

Foram analisadas quanto ao teor de umidade, 44 amostras de pão de forma, das quais 35 (79,55%) apresentaram resultado acima do limite máximo permitido (30%p/p). Das 12 amostras de pão integral e/ou canteio, apenas uma (8,33%) apresentou resultado acima do limite (35%p/p) (BRASIL, 1978). O teor médio de umidade para as 44 amostras de pão de forma analisadas foi de 32,00%.

As análises foram feitas dentro do prazo de validade e foi observada uma grande variação nestes prazos até mesmo em produtos de uma mesma marca e tipo de pão. Em muitas das amostras nas quais foi encontrado pouco ou nenhum propionato o prazo de validade estabelecido era menor do que nas marcas de maior porte, as quais utilizam propionato em maior quantidade.

Foi realizado o teste do Quiquadrado para estabelecer a relação entre teor de umidade e crescimento de bolores e leveduras. Observou-se que nas classes pouco (< 2.500 UFC) médio (2.501 a 5.000 UFC) e muito (>

Tabela 3. Resultados de teores de Propionato e Bolores e Leveduras em relação à Legislação Brasileira

| REGIONAL | *PROPIONATO | | | | **BOLORES E LEVEDURAS | | | |
|------------|-------------|----|-------|-------|-----------------------|----|-------|-------|
| | AP | CD | %CD | TOTAL | AP | CD | %CD | TOTAL |
| Barreiro | 12 | 01 | 7,69 | 13 | 12 | 01 | 7,69 | 13 |
| Centro Sul | 35 | 06 | 14,63 | 41 | 34 | 06 | 15,00 | 40 |
| Leste | 25 | 03 | 10,71 | 28 | 25 | 03 | 10,71 | 28 |
| Nordeste | 26 | 06 | 18,75 | 32 | 27 | 04 | 12,90 | 31 |
| Noroeste | 28 | 00 | 0,00 | 28 | 23 | 05 | 17,86 | 28 |
| Norte | 04 | 01 | 20,00 | 05 | 04 | 01 | 20,00 | 05 |
| Oeste | 07 | 05 | 41,67 | 12 | 10 | 02 | 16,67 | 12 |
| Pampulha | 07 | 01 | 12,50 | 08 | 07 | 01 | 12,50 | 08 |
| Venda Nova | 23 | 01 | 4,17 | 24 | 23 | 01 | 4,17 | 24 |
| TOTAL | 167 | 24 | | 191 | 165 | 24 | | 189 |

*Limite máximo = 0,200 % P/P

** Limite máximo = 5×10^3 (UFC/g)

AP = Aprovado

CD = Condenado

Tabela 4. Teores de propionato por marca analisada

| MARCA | N. AMOSTRAS ANALISADAS | FAIXA (%) | MÉDIA (%) | % CONDENADAS |
|-------|------------------------|--------------|-----------|--------------|
| A | 01 | - | 0,27 | 100,00 |
| B | 01 | - | 0,00 | 0,00 |
| C | 01 | - | 0,26 | 100,00 |
| D | 01 | - | 0,35 | 100,00 |
| E | 01 | - | 0,00 | 0,00 |
| F | 01 | - | 0,16 | 0,00 |
| G | 02 | 0,20 — 0,21 | 0,21 | 50,00 |
| H | 01 | - | 0,15 | 0,00 |
| I | 02 | 0,00 — 0,058 | 0,03 | 0,00 |
| J | 03 | 0,13 — 0,18 | 0,15 | 0,00 |
| K | 01 | - | 0,04 | 0,00 |
| L | 01 | - | 0,15 | 0,00 |
| M | 01 | - | 0,00 | 0,00 |
| N | 63 | 0,00 — 0,20 | 0,11 | 1,59 |
| O | 02 | 0,11 — 0,16 | 0,13 | 0,00 |
| P | 03 | 0,19 — 0,24 | 0,21 | 33,33 |
| Q | 01 | - | 0,00 | 0,00 |
| R | 06 | 0,02 — 0,18 | 0,14 | 0,00 |
| S | 33 | 0,06 — 0,20 | 0,12 | 0,00 |
| T | 34 | 0,00 — 0,32 | 0,19 | 52,94 |
| U | 01 | - | 0,00 | 0,00 |
| V | 07 | 0,12 — 0,27 | 0,18 | 28,57 |
| X | 01 | - | 0,00 | 0,00 |
| Z | 23 | 0,00 — 0,41 | 0,10 | 4,35 |

Tabela 5. Contagem de bolores e leveduras (UFC) por marca analisada

| MARCA | N. AMOSTRA ANALISADA | FAIXA UFC/g | MÉDIA UFC/g* | % CONDENADOS |
|-------|----------------------|--------------------------|-------------------|--------------|
| A | 01 | - | 9,0 | 0,00 |
| B | 01 | - | incontáveis | 100,00 |
| C | 01 | - | $1,2 \times 10^4$ | 100,00 |
| D | 01 | - | $1,1 \times 10^4$ | 0,00 |
| E | 01 | - | $1,5 \times 10^4$ | 100,00 |
| F | 01 | - | $5,3 \times 10^2$ | 0,00 |
| G | 02 | 20,0 — $4,0 \times 10^2$ | $2,1 \times 10^2$ | 0,00 |
| H | 01 | - | $4,0 \times 10^4$ | 0,00 |
| I | 02 | - | 9,0 | 0,00 |
| J | 03 | 9,0 — $1,5 \times 10^4$ | $6,0 \times 10^3$ | 33,33 |
| K | 01 | - | $3,1 \times 10^4$ | 100,00 |
| L | 01 | - | $2,0 \times 10^4$ | 0,00 |
| M | 01 | - | $4,7 \times 10^3$ | 0,00 |
| N | 63 | 9,0 — $1,5 \times 10^4$ | $8,9 \times 10^2$ | 6,35 |
| O | 02 | 9,0 — $1,0 \times 10^2$ | $5,4 \times 10^2$ | 0,00 |
| P | 02 | 9,0 — $2,0 \times 10^2$ | $1,0 \times 10^2$ | 0,00 |
| Q | 01 | - | $1,5 \times 10^4$ | 100,00 |
| R | 06 | 10,0 — incontáveis | $1,7 \times 10^2$ | 16,67 |
| S | 33 | 2,0 — $1,5 \times 10^4$ | $8,5 \times 10^2$ | 6,06 |
| T | 33 | 1,0 — $7,2 \times 10^3$ | $9,3 \times 10^2$ | 0,00 |
| U | 01 | - | $1,5 \times 10^4$ | 100,00 |
| V | 07 | 0,0 — $8,0 \times 10^2$ | $1,3 \times 10^2$ | 0,00 |
| X | 01 | - | $8,5 \times 10^3$ | 100,00 |
| Z | 23 | 9,0 — incontáveis | $5,2 \times 10^3$ | 39,13 |

*As amostras mofadas não foram consideradas para o cálculo da média (uma da regional Leste, Nordeste e Venda Nova).

Tabela 6. Teores médios de propionato, umidade e contagem de bolores e leveduras em amostras de pão de forma comercializados em Belo Horizonte

| PROPIONATO | | BOLORES E LEVEDURAS | | UMIDADE | |
|-----------------|---------------|---------------------|---------------|------------------|---------------|
| MÉDIA | TOTAL AMOSTRA | MÉDIA | TOTAL AMOSTRA | MÉDIA | TOTAL AMOSTRA |
| $0,13 \pm 0,07$ | 191 | $1,7 \times 10^3$ | 186 | $32,68 \pm 2,82$ | 56 |

5.001UFC) o crescimento de fungos entre os limites de umidade > 30 e ≤ 30 se distribuiu igualmente independente da umidade, fornecendo um resultado não significativo ao nível de 5%. Entre o teor de propionato e crescimento de bolores e leveduras o resultado também não foi significativo porque usando ou não propionato 86% das amostras apresentaram baixo crescimento. Isto era esperado pelo fato de as amostras terem sido analisadas dentro do prazo de validade dado pelo fabricante (GOMES, 1987).

CONCLUSÃO

Em relação ao propionato, o resultado médio de 0,13% indica que ele tem sido utilizado de maneira correta. Porém, a grande variação dos resultados em uma mesma marca mostra a necessidade de uma padronização na adição deste aditivo pelos fabricantes. Esta padronização também se aplica ao prazo de validade que se apresentou desuniforme em relação às várias marcas.

RIALA 06/864

CAMPOS, G. *et al.* — Checking the state of conservation and use of propionic in loaf bread — Rev. Instituto Adolfo Lutz 58(2): 45-52, 1999

ABSTRACT: the use of propionic acid as a preservative in products such as chocolate, pickles, pastries and bakery goods is widespread because of its fungicidal properties. This acid is normally employed in form of its salts. A total of 191 samples of loaf bread were analyzed. The samples were collected from supermarkets and bakeries of the nine regions of Belo Horizonte. The propionic acid was extracted with ethyl ether in acid medium with quantification by gas chromatography using a flame ionization detector. Concurrently, the moisture and the counting of fungi and yeast was done. The analyses were executed during the period of validity of the products; a large variation in these periods was observed even among products of the same brand and type of bread. The mean propionate content encountered was 0,13%, expressed as propionic acid. The degree of condemnation was 12,56%, based on the brazilian legislation. A total of 12,70% of the samples presented fungi and yeast counts over the maximum limit. In the samples analyzed for moisture, 66% presented levels above the maximum limit of 35% w/w for whole wheat or rye bread or 30% w/w for others breads.

KEY WORDS: bread, propionate, preservatives.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, D. C. Speck, M. L., APHA, 1984. 914pp.
2. BRASIL, Leis, Decretos, etc, Resolução nº 04 de 24 de novembro de 1988 do Conselho Nacional De Saúde, M.S, Diário Oficial, Brasília, p. 24716 — 24723, 24 de novembro 1988.
3. BRASIL, Leis, Decretos, etc — Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, Diário Oficial, Brasília, Seção 1 — parte 1 — 24 de julho de 1978
4. BRASIL, Leis, Decretos, etc. — Portaria 451 de 19 de setembro de 1997 da Vigilância Sanitária — Diário Oficial, nº 182— Seção 1, p. 21005-21012, de 22 de setembro de 1997.
5. CAMPOS, G. NELSON, D.; RIBEIRO-CUNHA, M. R.; FRANKLIN, H. O. H.; GOMIDES, M. F.; NAVEIRA, R. M. P.; PEIXOTO, T. M. G. Padronização de Metodologia para determinação de ácido propiônico em pães de forma. *Ciênc. Tec. Alim.*, 17 (2): 196-200, mai-ago, 1997.
6. DOORES, S. Organic Acids — antimicrobial in foods. In: *Food Science — A series of Monographs*. New York, Marcel Dekker Inc., 1983, cap. 4, p. 75-108.
7. FDA. Food and Drug Administration (21 cfr 184 — 1095) (Sec. 687.500 silage ingredients — CPG 7126.21).
8. FRAZIER, W. C. Microbiologia de los alimentos Acribia, Zaragoza, 1972, 512p.
9. GOMES, F. P. Curso de Estatística Experimental. Nob ed., 12 ed., Piracicaba, São Paulo, 1987, 467 p.
10. LYND SAY, R. C. Other desirable constituents of food. In: *principles of Food Science Part I. food Chemistry*, Fennema, O. R. ed. Marcel Dekker, New York, 1976.

11. SÃO PAULO — Instituto Adolfo Lutz — *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz — Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos*, 3 ed. São Paulo, p. 189-197, 1985.
12. JAY, J. M. *Microbiologia moderna de los Alimentos*. Acirbia, Zaragoza, 1973, 319 p.
- 13., ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. *Tratado de Microbiologia*. Manole, São Paulo, 1988, 186 p.

Recebido para publicação em 23/11/1998