

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRATO E NITRITO EM SALSICHAS COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE LAVRAS - MG

Hebe Mariane Freire FERREIRA¹

Edimar Agnaldo MOREIRA²

Daniela Fernanda FREITAS^{3,4}

¹Discente, Centro Universitário de Lavras, Curso de Graduação em Farmácia Generalista; hebe.freire@yahoo.com.br;

²Discente, Universidade Federal de Alfenas, Pós Graduação em Ecologia e Tecnologia Ambiental; edi.scarab@gmail.com

³Docente, Centro Universitário de Lavras, Curso de Graduação em Farmácia Generalista; danielaffreitas@bol.com.br

⁴Docente, Faculdade de Ciências e Tecnologias de Campos gerais, Curso de Graduação em Farmácia Generalista.

Recebido em: 21/10/2013 - Aprovado em: 20/12/2013 - Disponibilizado em: 15/01/2014

RESUMO: O nitrito possui um impacto nocivo sobre a saúde humana, devido à sua reação com aminas secundárias. Deste modo, é essencial a determinação de nitrato e nitrito em amostras de alimentos, como embutidos de carne, que são amplamente consumidos pela população em geral, principalmente pelas crianças. Assim, o objetivo deste trabalho foi o de verificar a presença dessas substâncias em salsichas comercializadas em Lavras-MG por método descrito pela AOAC (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists). Foram coletados três tipos de amostras de salsichas (A, B e C). As amostras foram analisadas no espectrofotômetro (λ 474 nm). Para o cálculo do teor de nitrato e nitrito utilizou-se a equação ($Y = 0,1734X + 0,0097$), com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9999. Foram encontrados valores entre 1,6725 - 2,6011 mg/Kg e 1,5876 - 3,1332 mg/Kg de nitrato e nitrito respectivamente na amostra A; 0,0922 - 0,2044 mg/Kg e 0,6845 - 1,5761 mg/Kg na amostra B e 0,0638 - 3,2842 mg/Kg e 1,1839 - 1,6683 mg/Kg na amostra C. Este estudo sugerem que, as amostras estão em concordância com as exigências legais quando se compara com o limite máximo de resíduo permitido para salsicha 0 - 3,7 mg/Kg de nitrato, porém para os valores de nitrito percebe-se que os dados obtidos ultrapassaram o limite permitido pela legislação, que é de 0 - 0,07 mg/Kg de nitrito.

PALAVRAS CHAVE. Nitrato. Nitrito. Alimentos.

ABSTRACT: Nitrite has a harmful impact on human health due to its reaction with secondary amines, which are naturally present in foods, forming N-nitrosamines, compounds with carcinogenic potential. Thus, it is essential the determination of nitrate and nitrite in food samples, such as built-in meat products which are widely consumed by the general population, especially by children. The objective this work was to verify the presence of these substances in sausages sold in Lavras-MG by the method described by AOAC (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists). Were collected three types of sausage samples (A, B and C). The samples were analyzed in a spectrophotometer (λ 474 nm). For the calculation of the nitrate and nitrite levels it was used the equation ($Y = 0.1734 + 0.0097 X$) with a coefficient of determination (R^2) 0.9999. It was found values between 1.6725 to 2.6011 mg / kg and 1.5876 to 3.1332 mg/kg of nitrate and nitrite respectively at sample A; 0.0922 to 0.2044 mg/kg and 0.6845 to 1,5761 mg/kg in sample B and 0.0638 to 3.2842 mg/kg and 1.1839 to 1.6683 mg / kg in the sample C. This study suggest that the samples are consistent with legal requirements when compared with the maximum residue limit allowed for sausage from 0 to 3.7 mg/kg of nitrate, but for nitrite values it was realized that data obtained exceeded the limit allowed by law, which is 0 - 0.07 mg/kg nitrite.

KEYWORDS. Nitrate. Nitrite. food.

INTRODUÇÃO

Os alimentos são essenciais à saúde do indivíduo, porém o consumo de alimentos contendo agentes químicos, que não sejam

nutrientes, pode levar ao aparecimento de diversos efeitos classificados como: efeitos tóxico, nocivo, danoso, adverso ou não esperado (MIDIO; MARTINS, 2000).

Estes efeitos, não podem ser classificados, uma vez que adquirem características próprias sujeita ao organismo atingido. Os efeitos são, tipicamente, doses – dependentes (concentração – dependentes), ou seja, quanto maior a concentração do agente químico no alimento maior a magnitude ou possibilidade de ocorrência do efeito tóxico ou reação tóxica. Os efeitos tóxicos produzidos por substâncias não-nutricionais, presentes em alimentos se classificam quanto à gravidade dos sinais e sintomas como: leves, moderados ou severos, e quanto à velocidade em que ocorrem se classificam como: agudo, subagudo, subcrônico ou crônico (MIDIO; MARTINS, 2000).

Acredita-se que a maior fonte de contaminação de alimentos por agentes químicos seja aquela oriunda da necessidade de aumento da atividade agropecuária, como a aplicação de fertilizantes, praguicidas, promotores do crescimento animal e vegetal e quimioterápico de importância veterinária (MIDIO; MARTINS, 2000).

A análise de resíduos inclui a segurança alimentar e esta determina se o

alimento é seguro ou não ao consumo humano. Testes são denominados para garantir que os resíduos estejam a níveis que respeitem os limites máximos permitidos e de acordo com as legislações (BRASIL, 1999; O'KEEFE, 2000).

A toxicologia de alimentos estuda os efeitos nocivos provocados por substâncias químicas visando definir os limites e condições de exposição seguras na ingestão de alimentos que apresentam certo grau de contaminação. Para a avaliação da toxicidade de um agente tóxico presente em um alimento devem-se observar as condições de exposição, como a concentração do agente tóxico presente, a frequência o tempo em que é ingerida, a via de introdução no organismo e a suscetibilidade do organismo (MIDIO; MARTINS, 2000).

A exposição a essas substâncias tóxicas através do consumo de alimentos envolve riscos a saúde do consumidor, este fato justifica a necessidade de divulgar informações à população sobre os níveis de resíduos instituírem os riscos que essas substâncias oferecem. A partir destas

informações, medidas de vigilância sanitária, poderão ser definidas e adotadas pelas agências governamentais que lidam com a saúde pública.

Entre as diversas substâncias químicas capazes de provocar problemas pela ingestão de alimentos estão os nitratos e nitritos. Sais de nitrato e nitrito estão naturalmente presentes no ambiente, na água e em alimentos de origem vegetal, ou são adicionados intencionalmente durante o processamento de alimentos de origem animal (ARAÚJO; MIDIO, 1990; DUARTE; MIDIO, 1996).

A utilização destes sais tem por finalidade conferir cor e sabor aos produtos embutidos, além de funcionar como agente bacteriológico. Alguns artigos relatam que o nitrito de sódio possui capacidade de inibir o crescimento e a produção de toxinas da espécie de *Clostridium*, porém há indícios que o calor é mais eficiente ao combate destes microrganismos que o próprio nitrito. A importância do nitrato para a saúde humana está relacionada devido ao fato do nitrato ser facilmente convertido a nitrito. Os efeitos

tóxicos mais importantes decorrentes da ingestão de nitrato e de nitrito são a metemoglobinemia, em neonatos e em indivíduos com deficiência congênita de metemoglobina-redutase ou deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Também pode ocorrer a formação in vivo de N-nitrosaminas, que podem estar associadas com um alto risco de câncer gástrico, hepático e de esôfago (GANGOLLI et al., 1994).

Dado esta importância, o objetivo do presente trabalho foi de verificar qualitativamente a presença de nitrato e nitrito em amostras de salsichas comercializadas na região de Lavras/MG. Os valores obtidos foram comparados com os valores permitidos pela Legislação Brasileira.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa fundamentou-se em verificar a presença de nitrato e nitrito em salsichas comercializadas na cidade de Lavras/MG. Todos os testes foram realizados no campus do UNILAVRAS com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Os

setores onde foram realizados os testes foram o Laboratório de Pesquisa I e Laboratório de Química e Ciências Farmacêuticas.

Para o presente estudo, foram adquiridas três marcas de salsichas comercializadas a granel no comércio de Lavras/MG. Após a coleta, as amostras foram submetidas à refrigeração a 4°C até o momento da análise.

O método utilizado foi descrito pela AOAC (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists), que fundamenta-se na redução convencional do nitrato a nitrito em coluna de cádmio, com posterior análise espectrofotométrica. Conforme Dennis et al. (1990), foram realizadas as etapas de desproteíntização das amostras utilizando uma solução de bórax e a de clarificação feita através do ferrocianeto de potássio e acetato de zinco. O nitrito foi determinado espectrofotometricamente a 474 nm após diazotação. Para a reação de diazoconjugação, na formação do cromógeno, pode ser utilizado o reativo de ácido sulfanílico ou alfa naftol com solução tampão

de pH 9,6 - 9,7 conforme as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Assim, o nitrato foi determinado após redução quantitativa a nitrito, utilizando-se grânulos de cádmio revestidos com cobre (CORTAS; WAKID, 1990).

Foram montadas colunas de cádmio utilizando barras de zinco (cerca de seis barras) estas foram colocadas em um béquer de 1000 mL, e imersas em uma solução 2,7% de sulfato de cádmio. Depois de aproximadamente 20 horas, é observado completa a reação de troca entre o zinco e o cádmio da solução. Esta é cessada a partir do momento em que a solução se torna saturada. $Zn + CdSO_4 \rightarrow ZnSO_4 + Cd$: Reação de formação de cádmio. Fonte: SWANN, 1995 apud ANDRADE, 2004.

Desta maneira o cádmio, depositado sobre as barras, foi raspado e coletado com uma pequena porção da solução do béquer, para uma melhor conservação. O cádmio em grânulos foi triturado no liquidificador por 3 segundos, logo após foi transferido para uma coluna que é composta por uma bureta de 50 mL, grumos de cádmio e um disco em

micropore para sustentar os grumos de cádmio dentro da bureta. A coluna foi preenchida com o cádmio, e este lavado com 100 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹, solução esta utilizada para conservação do cádmio. Importante que o armazenamento da coluna seja sob abrigo da luz para evitar processos de oxidação.

A técnica de desproteinização foi utilizada para tratar as amostras antes da passagem pela coluna. Esta técnica consistiu em pesar cuidadosamente 10 g de salsicha e adicionar a este 40 mL de água e 5 mL de solução I, aquecer à 80°C, agitando ocasionalmente por 15 minutos a solução. Resfriar a amostra até que chegue à temperatura ambiente, adicionando 2 mL da solução II e 2 mL da solução III, agitando vigorosamente após cada adição durante 5 minutos. Transferir a amostra para um balão de fundo chato de 100 mL e deixar em repouso durante 30 minutos.

Após repouso, o volume foi completado para 100 mL com água deionizada, agitando vigorosamente e filtrando em papel livre de nitrito e nitrato,

para então se determinar a concentração de nitrito presente nesta solução.

Logo após, o processo de ativação da coluna foi iniciado a análise com a passagem de 40 mL de solução básica concentrada, 40 mL de solução padrão estoque de nitrato e 40 mL de solução básica diluída. Após esse processo, a coluna foi carregada com 20 mL da solução desproteinizada (amostra) com 5 mL da solução tampão. A velocidade de passagem foi de 5 mL/min, desprezando os primeiros 10 mL da solução. O filtrado restante foi recolhido em um balão volumétrico de 100 mL, completando o volume com água deionizada, que também passa pela coluna.

Após a passagem da amostra, a coluna de cádmio foi regenerada, com as seguintes soluções: 20 mL de solução básica concentrada, 20 mL da solução padrão estoque de nitrato 100 mg L⁻¹, 30 mL de água, 30 mL de solução básica concentrada, 20 mL de água e por último 20 mL de solução básica diluída. Para reiniciar o processo, logo após a sua regeneração, foram eluídos 25 mL da solução de HCl 0,1 mol L⁻¹, 50 mL de água e 25 mL de uma solução de tampão

diluído 1:9. Para determinação da presença de nitrato e nitrito em salsichas, foi preciso preparar uma solução desproteïnizada e posteriormente obter o eluato, para que se fosse possível fazer a leitura em espectrofotômetro.

O eluato só foi obtido a partir da solução desproteïnizada que foi passada pela coluna de cádmio para redução do nitrato presente na amostra em nitrito e o nitrato que fortificou a amostra se reduza a nitrito. Somente o nitrito é capaz de reagir com a solução de alfa naftol (reagente cromogênico), é esta a razão de se montar novas colunas de cádmio para obtenção de nitrito a partir do nitrato que esteja presente na amostra.

O alfa naftol na presença de nitrito torna a solução alaranjada, quando isto ocorre é fato que a amostra tenha nitrito presente.

□ Determinação de nitrito:

Aos 10 mL da solução desproteïnizada foram adicionados 5 mL de tampão e 10 mL de alfa-naftol. Deixando em estufa por 30 minutos a 30°C e esfriado a temperatura ambiente. Após esfriar, foi realizada a leitura a 474 nm e

calculado o valor de nitrito presente na amostra, usando a curva analítica previamente estabelecida.

□ Determinação de nitrato:

Aos 10 mL do eluato da coluna de cádmio foram adicionados 5 mL de tampão e 10 mL de alfa-naftol. Deixando em estufa por 30 min a 30°C e, após esse tempo foi esfriada à temperatura ambiente e realizada a leitura a 474 nm, seguido do cálculo do valor de nitrato através da equação:

O nitrato presente na amostra foi calculado a partir da equação:

$$\text{Nitrato amostra} = (A - B) \times 1,231$$

Onde:

A= somatória de nitrato e nitrito, lido no eluato da coluna, sob a forma de nitrito;

B= teor de nitrito, lido diretamente no desproteïnizado, sem passar pela coluna;

1,231= fator de correção para a diferença de massa molecular entre nitrito e nitrato.

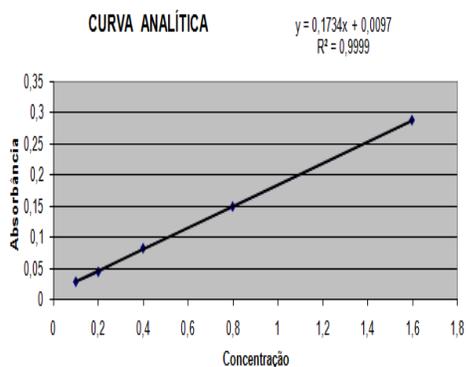
Para avaliação dos resultados obtidos pela pesquisa realizada, foi necessário

preparar uma Curva Analítica, onde diluiu-se a solução de nitrato padrão em água deionizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 ilustra a Curva Analítica utilizada para calcular os resultados da pesquisa. Cada ponto corresponde à média dos valores obtidos na análise de cinco replicatas, sendo cada replicata com 0,2mL, 0,4mL, 0,8mL e 1,6mL de solução padrão de nitrato. Os dados apresentados evidenciam linearidade satisfatória no intervalo selecionado, com coeficiente de determinação de 0,9999.

Figura 1 - Curva Analítica para alíquotas de Solução de nitrato de sódio padrão. Fonte – Ferreira (2011).



O Quadro 1 mostra os resultados obtidos a partir da solução desproteïnizada e

eluato obtido após a passagem das amostras pela coluna de cádmio.

O nitrato é uma substância química que dá origem ao nitrito, seu metabólito. O nitrato é uma fonte preocupação para o mercado consumidor, mas não tão preocupante quanto à presença do nitrito como conservante em alimentos.

Quadro 1: Teor de nitrito e nitrato nas amostras analisadas. Fonte – Ferreira (2011).

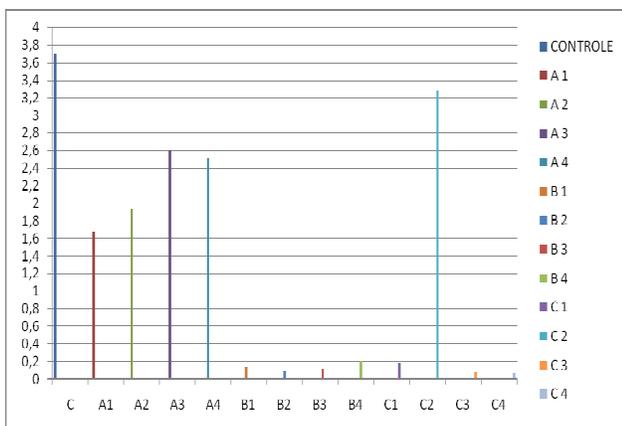
AMOSTRAS	NITRITO (mg/Kg)	NITRATO (mg/Kg)
A 1	3,1332	1,6725
A 2	3,0813	1,9367
A 3	1,5876	2,6011
A 4	1,6568	2,5159
B 1	0,6845	0,1345
B 2	1,2993	0,0922
B 3	1,1263	0,1206
B 4	1,5761	0,2044
C 1	1,1839	0,1816
C 2	1,262	3,2842
C 3	1,6528	0,0829
C4	1,6683	0,0638

O Gráfico 1 compara os valores obtidos de nitrato em 3 marcas A, B e C, sendo cada uma composta por 4 lotes diferentes.

O valor de nitrato nas amostras recomendado é de 0 – 3,7 mg/kg e observa-se que das amostras analisadas, todas possuem

nitrato dentro do valor de referência para o consumo humano. O limite recomendado para a presença de nitrato em embutidos é um valor maior quando comparado ao valor especificado para nitrito, isto pode ser justificado pelo fato de que o nitrato não é tão prejudicial ao organismo quanto o nitrito, que em pequenas quantidades consegue ser eficiente para provocar efeitos tóxicos.

Gráfico 1: Comparação do valor obtido de nitrato com o valor de referência. Fonte – Ferreira (2011).

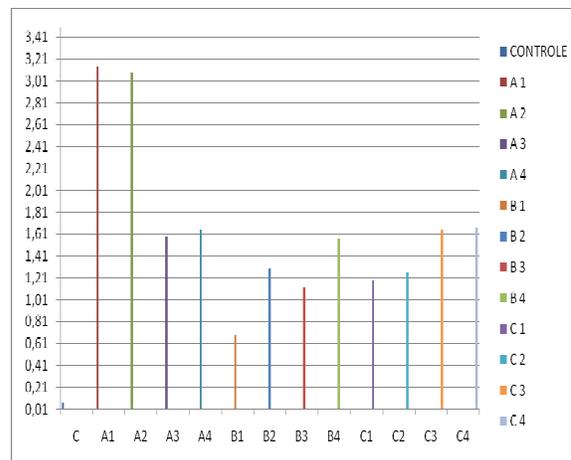


Em um estudo análogo ao presente trabalho, Melo Filho et al. (2004), avaliou a qualidade de salsichas comercializadas em Recife-PE. Os níveis de nitrito residual e nitrato foram determinados em 54 amostras de salsichas, coletadas segundo região de origem e marca, de acordo com 3 grupos e 9 sub-grupos. Foram detectados níveis de

nitrato acima do que é permitido (grupo (C) 67% das amostras apresentavam-se com nitrito residual >150mg/kg (18% do total); e os níveis de nitrato >300mg/kg em 17(A), 67(B) e 83%(C) das amostras ($p < 0,05$), acima do nível máximo permitido). Os resultados permitiram indicar que os níveis de nitrato e nitrito em salsichas representam um risco potencial à saúde do consumidor devido ao não cumprimento da legislação na produção e comercialização desse produto.

O Gráfico 2 compara os valores obtidos de nitrito nas marcas A, B e C, sendo cada uma composta por 4 lotes diferentes.

Gráfico 2: Comparação do valor obtido de nitrito com o valor controle. Fonte – Ferreira (2011).



O valor de nitrito nas amostras recomendado é de 0 – 0,07 mg/kg e observa-se que das amostras analisadas, todas

ultrapassaram o limite de nitrito que é permitido.

Este fato pode ser justificado pela grande facilidade em que o nitrato é convertido a nitrito. Comparando-se os valores de referência de nitrato/nitrito, observa-se que o valor de referência para nitrato é maior e isto influencia na quantidade final obtida de nitrito. O preocupante neste fato é que o valor de referência para a presença de nitrito é muito baixo e se o nitrato for eficientemente reduzido a nitrito, os valores obtidos de nitrito não estarão dentro do valor de referência e isto aumenta a possibilidade de aparecimento de efeitos tóxicos.

Os efeitos tóxicos produzidos por estes conservantes são consequências da presença de nitrito no organismo, já que a concentração de nitrito, quando alta, é influenciadora na formação de MeHb, que posteriormente poderá provocar cianose até efeitos fatais. A presença de nitrito, também influencia a formação de compostos N-nitrosos, fatores estimulante para o surgimento do câncer, principalmente câncer gástrico, hepático e de esôfago.

Ainda foram realizados testes, para verificar a eficiência da coluna de cádmio quanto à redução de nitrato a nitrito, já que o nitrito é a substância capaz de ser identificada pelo alfa-naftol, responsável pela coloração da solução.

CONCLUSÃO

De acordo com os dados deste trabalho amostras encontram-se dentro dos valores estabelecidos pela IDA no Brasil e Mercosul para nitratos, porém para nitritos, os valores ultrapassam os valores de referência estabelecidos e recomendados pela FAO/OMS.

A análise periódica dos teores de nitratos e nitritos constituiu-se ferramenta importante para o controle de qualidade dos alimentos ingeridos pela população, pois podem causar efeito tóxico em indivíduos expostos através de alimentos, dependendo da quantidade ingerida e da susceptibilidade do organismo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, A.C.P.; MÍDIO, A.F. Nitratos y nitritos em alimentos infantiles industrializados y caseros. **Alimentaria**, 1990. v.27, n.209, p.69-75.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa**

número 42 de 20 de dezembro de 1999,
disponível em:<
<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16717> >Acesso em 15/11/2012.

CORTAS, N. K.; WAKID, N. W.,
Determination of inorganic nitrate in serum
and urine by a kinetic cadmium reduction
method. **Clinical Chemistry**, 1990. v.36, n.8,
p.1440-1443.

DUARTE, M.; MÍDIO, A.F. Nitratos e nitritos
em Alimentos. **Cadernos de Nutrição**, 1996.
v.12, p.19-30.

GANGOLLI, S.D.; VAN DEN BRANDT,
P.A.; FERON, V.J.; JANZOWSKY, C.;
KOEMAN, JH et al. Nitrate, nitrite and N-
nitroso compounds. **European Journal of
Pharmacology**, 1994. 292 p..

MELO FILHO, A. B. de; BISCONTINI, T.M.
B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e
nitrito em salsichas comercializadas na região
metropolitana do Recife. **Ciência e
tecnologia de alimentos**. Campinas, 2004.
v.24, n. 3, p. 390-392.

MÍDIO, A.F.; MARTINS, D.I. **Toxicologia de
Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000.
295p.

O'KEEFE, M. **Residue Analysis in Food.
Principles and Applications**, Harwood
Academic Publishers, Amsterdam, The
Netherlands, 2000.