

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DOUTORADO EM HIGIENE E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE
PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

MARJORIE TOLEDO DUARTE

**AVALIAÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO EM LINGUIÇAS DO TIPO
FRESAL E COZIDA COMERCIALIZADAS
NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

**NITERÓI - RJ
2010**

MARJORIE TOLEDO DUARTE

AVALIAÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO EM LINGUIÇAS DO TIPO
FRESAL E COZIDA COMERCIALIZADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO,
BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária da Universidade Federal
Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau
de Doutor. Área de concentração: Higiene Veterinária e
Processamento Tecnológico de Produtos de Origem
Animal.

Orientador: Prof. Dr. ZANDER BARRETO MIRANDA

NITERÓI – RJ

2010

MARJORIE TOLEDO DUARTE

AVALIAÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO EM LINGUIÇAS DO TIPO
FRESCAL E COZIDA COMERCIALIZADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO,
BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária da Universidade Federal
Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau
de Doutor. Área de concentração: Higiene Veterinária e
Processamento Tecnológico de Produtos de Origem
Animal.

Aprovada em 30 de agosto de 2010

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. ZANDER BARRETO MIRANDA
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal Fluminense

Prof^ª. Dr^ª. ANA BEATRIZ MONTEIRO FONSECA
Instituto de Matemática - Universidade Federal Fluminense

Prof^ª. Dr^ª. ELIANA DE FÁTIMA MARQUES DE MESQUITA
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. FERNANDO JOAQUIM XAVIER ALVES
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. ROBSON LOPES DE ABREU
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. WAGNER LUIZ MOREIRA DOS SANTOS
Universidade Federal de Minas Gerais

NITERÓI - RJ
2010

DEDICATÓRIA

Meu tão querido e amado pai João Napoleão Neiva Duarte, expressão da bondade de Deus: Sei que é apenas temporária a nossa separação e que, por mais longa que me possa parecer, a sua duração nada é em face da ditosa eternidade que Deus promete aos seus escolhidos. Quão doce e consoladora é a certeza de que não há entre nós mais do que um véu material que te oculta às minhas vistas! De que podes estar aqui, ao meu lado, a me ver e ouvir como outrora, senão ainda melhor do que outrora; de que não me esqueces, do mesmo modo que eu não te esqueço; de que os nossos pensamentos constantemente se entrecruzam e que o teu sempre me acompanha e ampara.

AGRADECIMENTOS

Quero externar meus profundos agradecimentos:

Em primeiro lugar a DEUS, pela presença constante em minha vida.

A minha família, que me apoiou de todas as maneiras e concepções, em todas as etapas da minha vida.

A minha mãe Maria das Graças Toledo Duarte pelo carinho, amor, dedicação, por me apoiar e incentivar, por perdoar os meus momentos de ausência, e por não poupar sacrifícios pelo meu sucesso. Amo você!

Ao meu namorado Fernando Vieira Pires, meu amor, pelo carinho, apoio, compreensão e por me fazer acreditar que eu era capaz. Era inevitável me apaixonar por você. Te amo, meu melhor amigo e futuro marido. Obrigada por me fazer querer ser uma pessoa melhor.

Ao Professor Zander Barreto Miranda, modelo de integridade, pela valiosa colaboração, competência, determinação, amizade, convivência, por sua dedicação, pelos ensinamentos, pela paciência e confiança e amor ao trabalho, cujo exemplo seguirei sempre. Por ser hoje mais que um orientador, um amigo.

Ao Professor Elmo Rampini de Souza, o qual tenho o privilégio de conviver, pelos ensinamentos adquiridos, pelo carinho e por ter sempre acreditado em mim. Espero ainda te dar muito orgulho. Fica expresso o meu mais profundo agradecimento e admiração por sua confiança e, principalmente, por sua amizade.

À Professora Eliana de Fátima Marques de Mesquita, pela confiança em vários momentos, pelo carinho, amizade, competência e amor ao trabalho.

Ao Prof. Dra. Ana Beatriz Monteiro pela simpatia, presteza e pela colaboração inestimável nas análises estatísticas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Robson Lopes de Abreu por sua participação em minha qualificação, o que foi de grande importância no meu preparo para a finalização deste trabalho.

À Kênia de Fátima Carrijo, pela valiosa amizade, carinho, pelos momentos compartilhados, por ser sempre tão atenciosa, prestativa, e por ser essa pessoa maravilhosa que eu espero ter sempre ao meu lado.

Ao Alberto Felipe Valle da Silva, técnico do Laboratório de Controle Físico-químico da Universidade Severino Sombra pelos momentos de convivência e presença constante na parte experimental deste estudo.

À amiga e aluna Sheila de Figueiredo Ventura pelo auxílio em todas as etapas do meu experimento, pela amizade e pela alegria que certamente fizeram “tudo dar certo”.

Ao colega Pedro Antônio Muniz Malafaia, prestativo e imprescindível em vários momentos.

A Universidade Severino Sombra pelo fornecimento do Laboratório de Controle Físico-químico utilizado na pesquisa e pelo incentivo, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

Aos senhores membros desta Douta Banca Examinadora por ter contribuído, sobretudo, no enriquecimento deste trabalho.

Ao corpo administrativo do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

A todos que de alguma forma acreditaram, contribuíram e estiveram presentes durante todo esse meu trabalho, o meu **muito obrigada!!!**

BIOGRAFIA

Marjorie Toledo Duarte, filha de João Napoleão Neiva Duarte e Maria das Graças Toledo Duarte, nascida na cidade de Juiz de Fora, Estado de Minas Gerais, em 24 de abril de 1980, cursou o primeiro e o segundo grau na Escola Estadual Professora Francisca Pereira Rodrigues, na cidade de Piraúba, Estado de Minas Gerais.

Em agosto de 1998, ingressou na Faculdade de Veterinária da Fundação Educacional Dom André Arcoverde, na cidade de Valença, Estado do Rio de Janeiro, obtendo o grau de Médica Veterinária em dezembro de 2002.

Especializou-se em Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado na Universidade Federal de Lavras, UFLA, localizada no Estado de Minas Gerais no ano de 2004.

No mesmo ano, iniciou suas atividades como docente na Faculdade de Veterinária da Fundação Educacional Serra dos Órgãos, na cidade de Teresópolis, no Estado do Rio de Janeiro.

Em 2005, obteve o título de Especialista na área de Inspeção Higiênica Sanitária e Tecnológica de Carnes e Derivados pelo Colégio Brasileiro de Médicos Veterinários Higienistas de Alimentos.

Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária em nível de mestrado em 2005.

Em 2006, foi contratada como professora Regente pela Universidade Severino Sombra, na cidade de Vassouras e pela Fundação Educacional Dom André Arcoverde, ambas situadas no Estado do Rio de Janeiro.

Em 2007 obteve o título de Mestre em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal pela Universidade Federal Fluminense.

De tudo ficam três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando...
A certeza de que precisamos continuar...
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...
Portanto, devemos:
Fazer da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro...”

Fernando Pessoa

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, f. 10

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS e SÍMBOLOS, f. 11

RESUMO, p. 12

ABSTRACT, p. 13

1 INTRODUÇÃO, p.14

2 REVISÃO DE LITERATURA, p. 17

2.1 LINGUIÇA, p. 17

2.1.1 Processamento tecnológico para produção de Linguiça, p.17

2.1.1.1 Obtenção e Preparo da matéria-prima, p.17

2.1.1.2 Moagem, p.17

2.1.1.3 Condimentação, p.18

2.1.1.4 Cura/Embutimento, p.18

2.1.1.5 Envoltório (tripa), p.19

2.1.1.5.1 *Preparo da tripa natural*, p.19

2.1.1.5.2 *Preparo da tripa artificial*, p.20

2.1.1.6 “Amarrio”, p.21

2.1.1.7 Defumação, p.21

2.1.1.8 Pesagem/Embalagem, p.21

2.1.1.9 Expedição, p.22

2.1.1.10	Comercialização,	p.22
2.1.1.11	Controle de qualidade,	p.22
2.1.1.12	Fluxograma da elaboração do produto cárneo Linguiça,	p.23
2.1.2	Importância econômica,	p.25
2.2	CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS SAIS DE NITRATO, NITRITO E DE NITROSAMINAS,	p.26
2.2.1	Sais de nitrito,	p.26
2.2.2	N-Nitrosaminas,	p.27
2.3	OCORRÊNCIA DE NITRATO, NITRITO E NITROSAMINAS EM ALIMENTOS,	p.28
2.4	UTILIZAÇÃO DO NITRATO E NITRITO COMO ADITIVO EM PRODUTOS CÁRNEOS - HISTÓRICO,	p.29
2.5	IMPLICAÇÕES TOXICOLÓGICAS PARA A SAÚDE HUMANA,	p.31
2.6	EXPOSIÇÃO HUMANA AOS SAIS DE NITRATO, NITRITO E NITROSAMINAS,	p.34
2.6.1	Sais de nitrito,	p.34
2.6.2	N-Nitrosaminas,	p.35
2.7	ASPECTOS DA LEGISLAÇÃO,	p.35
2.7.1	Nitrato e nitrito,	p.35
2.8	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRITO E NITRATO,	p.37
2.8.1	Métodos de preparo da amostra para avaliação dos sais de nitrato e nitrito,	p.38
2.8.2	Avaliação de nitrito,	p.38
2.9	MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE NITRITO EM PRODUTOS CÁRNEOS,	p.41
3	ARTIGOS CIENTÍFICOS,	p.43
3.1	AVALIAÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO EM LINGUIÇAS DO TIPO FRESCAL COMERCIALIZADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL,	p.44
3.2	QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO EM LINGUIÇAS COZIDAS COMERCIALIZADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL,	p.53
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	p.66
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS,	p.67

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1** Fluxograma para elaboração do produto cárneo linguiça cozida, f 24
- Fig. 2** Fluxograma para elaboração do produto cárneo linguiça tipo frescal, f 25
- Fig. 3** Equilíbrios químicos envolvidos na formação de espécies nitrosantes, f 27
- Fig. 4** Formação de metahemoglobina pelo nitrito e sua conversão à hemoglobina, f 32
- Quadro 1** Técnicas analíticas empregadas na avaliação de nitrato e nitrito, f. 39
- Quadro 2** Métodos publicados para avaliação de nitrato e nitrito, f. 41

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

g	Gramma
kg	Quilograma
mg	Miligrama
L	Litro
mL	Mililitro
NaNO₂	Nitrito de sódio
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos Origem Animal
Aa	Atividade de água
%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes Industrializadas
N₂O₃	Anidrido nitroso
NO₂/N₂O₄	Tetróxido de dinitrogênio
H₂NO₂	Ácido nitroso protonado
NO	Óxido nítrico
HNO₂	Ácido nitroso
H₃O	Íon hidrônio
pKa	Constante de dissociação
a.C.	Antes de Cristo
MetHb	Metahemoglobina
PA	Para análise
qsp	Quantidade suficiente para
NH₄⁺	Amônia
OH⁻	Grupo hidroxila
O₂	Gás oxigênio
NO₂⁻	Íon nitrito
NO₃⁻	Íon nitrato
H₂O	Molécula de água
NADH	“Nicotinamide Adenine Dinucleotide”
Fe⁺⁺	Íon ferroso
Fe⁺⁺⁺	Íon férrico
IDA	Ingestão Diária Aceitável
FAO	“Food and Agriculture Organization”
WHO	“World Health Organization”
JECFA	“Joint Expert Committee on Food Additives”
NPIR	Nitrosopirrolidina
NHPIR	Nitrosoidroxipirrolidina
USDA	“United State Department of Agriculture”
UV	Ultra Violeta
AOAC	“Association of Official Analytical Chemists”
FIA	“Flow injection analysis”
HPLC	“High-performance liquid chromatography”

RESUMO

Nitrito de sódio é um aditivo intencional utilizado em produtos cárneos com a finalidade de fixar a cor, conferir sabor e aroma característicos, além de retardar a oxidação lipídica. Embora ofereça benefícios na conservação de alimentos, o uso deste aditivo preocupa a comunidade científica mundial, pois é fator de riscos toxicológicos à saúde humana, como a metahemoglobinemia, teratogênese e carcinogênese, dependendo da quantidade ingerida e susceptibilidade do organismo. Visando controlar o nível deste aditivo em produtos cárneos, a legislação brasileira estabeleceu limites de teor residual de nitrito. O objetivo deste estudo foi avaliar por espectrofotometria a concentração de nitrito em linguiças tipo frescal e cozida produzidas em estabelecimentos sob Inspeção Sanitária em nível Federal, Estadual e Municipal assim como amostras não inspecionadas, após sua elaboração, em condições normais de comercialização, confrontando os resultados obtidos com os valores preconizados pela legislação vigente para o produto acabado. No presente estudo, das 60 amostras de linguiças analisadas, 13 (21,7%) apresentaram teor médio de nitrito residual acima do permitido pela legislação vigente que estabelece um limite máximo de 150 ppm de nitrito para o produto acabado. Destas, oito (13,4%) eram amostras de linguiça tipo frescal não inspecionada, três (5%), de linguiça cozida não inspecionada e duas (3,4%) de linguiça cozida inspecionada. Os teores médio de nitrito residual encontrados nas amostras anteriormente citadas variaram de 170 ppm a 466 ppm no produto acabado. Os teores de nitrito residual acima do permitido pela legislação podem causar danos à saúde do consumidor. As amostras analisadas inspecionadas com teor de nitrito acima do permitido pela legislação indicam falhas nos Serviços de Inspeção Sanitária, sendo necessária uma adequada aplicação dos procedimentos de controle nas indústrias. É necessário que a Vigilância Sanitária tenha ação mais efetiva, retirando do comércio produtos embutidos cárneos sem inspeção veterinária.

Palavras-chave: linguiça tipo frescal, linguiça cozida, comercialização

ABSTRACT

Sodium nitrite is an intentional additive used in meat products in order to maintain the color, to enhance flavor and aroma and to delay lipid oxidation. While offering benefits in food preservation, the use of this additive is a concern in the global scientific community, representing a factor for toxicological risks to human health, which could lead to methemoglobinemia, teratogenesis and carcinogenesis, depending on the amount ingested and the susceptibility of the organism. Aiming to control the level of this additive in meat products, the Brazilian legislation has set limits on allowed residual nitrite in these products. The objective of this study was to evaluate spectrophotometrically the concentration of nitrite in cooked and fresh sausages produced by industries subjected to sanitary inspection at the Federal, State and Municipal level as well as in samples produced under normal conditions of commercialization but not subjected to inspection. The obtained results were compared with the values advocated by the current legislation for the finished product. The results showed that in a total of 60 analyzed sausage samples, 13 (21.7%) presented an average content of residual nitrite above the permitted concentration by the current law which is a maximum of 150 ppm nitrite in the finished product. Of these, eight (13.4%) samples were not inspected fresh sausages, three (5%) samples were not inspected cooked sausages and two (3.4%) samples were inspected cooked sausages. The average residual nitrite levels found in the analyzed samples ranged from 170 ppm to 466 ppm in the finished product. These levels of nitrite residues were above the permitted by legislation and can harm the health of consumers. The inspected samples showing nitrite levels above the level permitted by the legislation indicate failed inspection by the Health Inspection Service suggesting that an improved application of control procedures in the Industries is needed. Hence it is imperative that the Health Surveillance reinforce the removal of sausage products without veterinary inspection from commercialization.

Keywords: fresh sausage, cooked sausage, commercialization.

1 INTRODUÇÃO

Nitratos e nitritos são aditivos intencionais utilizados como conservantes em vários alimentos. Em produtos cárneos têm como finalidade inibir o crescimento de microrganismos patogênicos, como o *Clostridium botulinum*, conferir aspectos sensoriais característicos às carnes curadas, além de retardar a oxidação lipídica.

O nitrito pode ser formado a partir do nitrato, por redução tanto enzimática quanto microbiana e existe, residualmente, em maior ou menor quantidade, nos produtos cárneos curados, onde é adicionado isolado ou conjuntamente com o nitrato.

O uso de nitrito preocupa a comunidade científica mundial em função dos riscos toxicológicos à saúde humana, que estão inteiramente ligados à quantidade ingerida e à susceptibilidade do organismo. Ao combinar-se com a hemoglobina, transforma-a em metahemoglobina, reduzindo a eficiência no transporte de oxigênio, principalmente em crianças, e levando ao aparecimento de sintomas como cianose, fadiga, dispnéia, cefaléia e morte (OKAFOR ; OGBONNA, 2003).

Nos alimentos e *in vivo*, nitritos podem reagir com aminas secundárias e terciárias, formando N-nitrosaminas, algumas das quais apresentam atividade carcinogênica, mutagênica, teratogênica e embriopática.

A toxicidade pode, desta forma, estar ligada à presença de excessiva quantidade de nitratos e nitritos nos alimentos ou à insuficiente concentração e elevada freqüência de consumo.

As carnes são matérias-primas de origem animal, perecíveis, sendo a manutenção de sua qualidade variável em função das condições de armazenamento. Desde a antiguidade, o humano sempre buscou preservar suas características qualitativas para manter a provisão de alimentos, o desenvolvimento e a conservação da espécie, originando, assim, processos e tecnologias de transformação, inicialmente rudimentares e atualmente controláveis por padrões tecnológicos para manter a qualidade dos produtos (OLIVEIRA et al., 1995).

A fabricação de embutidos propicia o aumento da validade das carnes, bem como diversifica a oferta de derivados. Embutidos cárneos são definidos como “produtos elaborados com carnes ou outros tecidos animais comestíveis, curados ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório natural tripas, bexigas ou outras membranas animais ou envoltório artificial apropriado” (LEITE, 1989).

A linguiça tipo frescal destaca-se dentre os produtos cárneos embutidos por sua aceitação e comercialização. O processo de produção utiliza carnes de animais de açougue, adicionadas ou não de tecidos adiposos, e o processamento pode ocorrer em estabelecimento de micro, pequeno, médio e grande porte. Ao processo, agregam-se aditivos utilizados para melhorar as características sensoriais do produto e aumentar o prazo de vida comercial.

De acordo com a legislação brasileira para embutidos não submetidos ao cozimento, como é o caso da linguiça tipo frescal, é permitida adição de água ou gelo até o máximo de 3% na formulação, calculada sobre o total dos componentes e com a finalidade de facilitar a trituração e homogeneização da massa (POPPER et al., 2000). A linguiça do tipo frescal apresenta como características físico-químicas: umidade máxima de 70%, gordura máxima de 30%, proteína mínima de 12% e cálcio no máximo 0,1% em base seca (BRASIL, 2000). O processo requer adição de sais de cura, recurso que permitirá ao alimento produzido em escala industrial atingir os parâmetros característicos de qualidade sensorial – sabor, cor, aroma e textura e a preservação do produto.

Visando controlar o nível desse aditivo em produtos cárneos, a legislação brasileira estabeleceu o limite do teor residual de nitrito no produto cárneo a ser consumido. De acordo com o RIISPOA (BRASIL, 2008), é fixado um limite de 200 mg . kg⁻¹ de nitrito no produto acabado. O Ministério da Saúde (BRASIL, 1999), em sua Portaria nº 1.004, preconiza para produtos cárneos excetuando o charque, um limite de 150 mg . kg⁻¹ de nitrito.

Desde 1968 a agência norteamericana – “Food and Drug Administration” (FDA) se preocupa com a presença de nitrosaminas nos alimentos e, juntamente com a indústria norteamericana de alimentos, despense grandes esforços para reduzir os níveis de nitrosaminas e encontrar substituto para o nitrito (HAVERY ; FAZIO, 1985).

As linguiças são produtos cárneos comercializados em grande escala em função do seu baixo valor comercial, acessível a todos os setores da sociedade, sendo facilmente encontrados em vários segmentos do mercado varejista. Nas feiras livres, o comércio de alimentos de origem animal reside basicamente em produtos sem inspeção processados sem

critérios higienico-sanitários e sem controle pelos Órgãos de Saúde Coletiva, representando risco potencial para a saúde do consumidor.

A avaliação desse aditivo em linguiça do tipo frescal e cozida é de fundamental importância na apreciação da tecnologia empregada, bem como na preservação da Saúde Coletiva.

Neste contexto, o presente estudo visa avaliar por espectrofotometria o teor de nitrito em linguiças tipo frescal e cozida produzidas em estabelecimentos sob Inspeção Veterinária em nível Federal, Estadual e Municipal, assim como amostras não inspecionadas oficialmente, após sua elaboração, em condições normais de comercialização, confrontando os resultados obtidos com os valores constantes da legislação vigente para o produto acabado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LINGUIÇA

Entende-se por Linguiça, segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2000), o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionado ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido ao processo tecnológico adequado.

2.1.1. Processamento tecnológico para elaboração de Linguiça

2.1.1.1 Obtenção e Preparo da matéria-prima

Segundo Bressan e Perez (2001) a carne a ser utilizada no preparo da linguiça deve estar livre de aponeuroses (nervos), tecidos com hematomas, linfonodos, pequenos pedaços de ossos e objetos estranhos. A matéria-prima utilizada é a carne suína, congelada ou resfriada, e gordura suína (preparada ou toucinho). O sabor, a textura e a cor do produto estão diretamente relacionados com a quantidade de gordura.

2.1.1.2 Moagem/ Trituração

A matéria-prima (carne, toucinho ou papada) deve ser reduzida a pedaços menores para facilitar o processo de moagem. Dessa matéria-prima, as carnes duras devem ser finamente moídas, enquanto as carnes mais macias e as gorduras devem ser moídas em discos

de maior calibre. A temperatura da carne a ser moída deve ser de 0 a 4°C, pois a moagem provoca um aquecimento indesejável da carne (PARDI et al., 1996).

2.1.1.3 Condimentação

Os temperos utilizados na formulação devem ser previamente separados, pesados e dissolvidos em água gelada. Após a moagem, os componentes da formulação (carne, toucinho, outros ingredientes e os temperos, diluídos ou não em água) devem ser transferidos para um recipiente apropriado e misturados de forma homogênea para que essa massa obtenha boa liga. O uso da água gelada, além de facilitar a diluição dos condimentos e a homogeneização do tempero à massa, contribui para a redução de sua temperatura. A seguir, a massa é submetida ao processo de cura por algumas horas em câmara de resfriamento a temperatura de 0° C.

A quantidade dos condimentos utilizados bem como da matéria-prima varia conforme a formulação do produto (ibid).

2.1.1.4 Cura/Embutimento

A cura de carnes era originalmente usada com a finalidade de preservar a carne por longos períodos durante a escassez. Apesar dos avanços nos meios de frigorificação e a viabilidade desses meios em casa, a cura continua sendo utilizada também como um meio de preservação (PEARSON ; GILLET, 1996).

Na concepção atual, entende-se por cura o processo de desenvolvimento de cor, sabor e textura característica para cada tipo de produto cárneo, por meio de diferentes tratamentos por sal, aditivos químicos, especiarias, fermentação bacteriana, defumação, etc., tornando-o mais atrativo para o consumidor (TAKAHASHI, 1979).

Sem dúvida, o efeito mais marcante do processo de cura, do ponto de vista industrial, é o desenvolvimento da cor vermelha que resulta da reação do óxido nítrico (NO) com o pigmento mioglobina da carne (ibid).

A mioglobina, pigmento responsável pela cor vermelho-púrpura da carne, no seu estado natural, apresenta-se na superfície exposta à baixa concentração de oxigênio (cortes recentes sobrepostos, embalados a vácuo). Se a carne recém-cortada for exposta ao ar, o

oxigênio deste, através do processo de oxigenação da mioglobina, causa a formação na superfície do pigmento oximioglobina de cor vermelho-brilhante em aproximadamente 30 minutos (ibid).

Bressan e Perez (2001) mencionaram que a mistura (carne, toucinho e condimentos previamente misturados) deve ser embutida sem presença de ar. As bolhas de ar podem causar oxidação (ranço) e escurecimento das regiões circunvizinhas a elas, comprometendo a apresentação do produto final. Nessa operação pode ser utilizada embutideira a vácuo.

2.1.1.5 Envoltório (tripa)

A maioria dos envoltórios artificiais utilizados para a produção de embutidos cárneos não é fabricada no Brasil sendo assim importada dos EUA e Europa. Por esse fato, poucas pesquisas existem no país relacionando propriedades destes envoltórios com a qualidade do produto acondicionado nestas embalagens (VANNUCCI, 1999).

2.1.1.5.1 *Preparo da Tripa Natural*

Conforme EFFENBERGER apud VANNUCCI (1999), os intestinos mais usados são os de bovinos, suínos e ovinos. Entretanto, ocasionalmente, usam-se também os de cavalo, vitelo e cabra. O aproveitamento dos intestinos e outros órgãos como a bexiga, esôfago e estômago é diferenciado, variando conforme a espécie animal (ibid).

Como envoltório para se embutir linguiças do tipo frescal e cozida podem ser usadas tripas artificiais ou naturais de suínos, bovinos ou ovinos, com calibre médio de (28-32 mm) previamente umedecidas. Simultaneamente ao enchimento da tripa, são realizadas as torções para posterior amarrão. Normalmente, as torções são feitas a cada 10 cm. No caso de envoltório natural, a pressão da massa não deve ser excessiva, pois esse tipo de envoltório pode encolher após o processo, rompendo-o.

As tripas naturais são os envoltórios tradicionais e apresentam algumas vantagens em relação aos artificiais, tais como a proteção ao sabor puro da linguiça, pois mantém a suculência e permite o sabor característico da defumação na porção interna desse produto.

O preparo da tripa natural envolve as fases de: desorelhamento, esvaziamento do intestino, viragem da tripa, exposição da mucosa, raspagem, insuflação, medição, calibração e salga seca. Deve ser iniciada imediatamente após ser recepcionada na triparia (área suja) por

compressão da mesma entre os dedos, num único sentido em toda a sua extensão. Após, procede-se a lavagem interna e externa das tripas com água corrente e a raspagem da mucosa. Uma vez terminado esse processo, as tripas devem ser lavadas com vinagre para eliminar o cheiro desagradável.

Depois de inspecionada a tripa, quanto às condições de limpeza, cor, odor, presença de parasitas ou manchas de sangue, ulcerações ou cortes, ela é levada para a mensuração e a calibragem feita após a insuflação.

As tripas, assim beneficiadas, são levadas para a salgação ou para dessecação.

A salga a seco é realizada esfregando-se o sal diretamente nas tripas. Essas peças devem ser colocadas sobre uma superfície inclinada por 24 horas com a finalidade de intensificar os sabores e aroma, além da preservação do produto. O sal atua como um agente desidratante e bacteriostático. Após esse período, as tripas são esfregadas com sal refinado e podem então ser armazenadas até o momento do uso.

Existem no mercado tripas naturais processadas. Entretanto, para o emprego dessas tripas, são necessários cuidados, tais como: retirada do excesso de sal fino com água corrente, e reidratação das tripas por imersão em água fresca por 1 hora (tendo o cuidado de massagear e separar as mesmas para evitar possíveis manchas).

No momento de embutir, as tripas devem ser colocadas em água aquecida, pois este procedimento facilitará o embutimento e amoldamento da massa ao envoltório.

2.1.1.5.2 *Preparo da tripa artificial*

Outra opção disponível no mercado é a utilização de tripas artificiais fabricadas com colágeno ou celulose. As tripas de colágeno estão prontas para o embutimento após imersão em salmoura por cinco minutos. Por outro lado, as tripas de celulose, dependendo do tipo podem dispensar a molhadura ou ser colocada por 30 minutos em água a temperatura de 30°C. Em ambos os casos, o manipulador deve seguir as recomendações do fabricante.

As tripas artificiais são classificadas em três grupos: colágeno reconstituído, celulose (tripa de hidrato de celulose e tripas fibrosas de hidrato de celulose) e sintéticas (poliamida, poliésteres e cloreto de polivinilideno). As tripas de colágeno, tanto comestível quanto não comestível são elaboradas a partir do colágeno extraído da pele. As tripas de celulose possuem tamanhos que variam de 1,5 a 15cm de diâmetro. As vantagens são: uniformidade de diâmetro, pouca carga microbiana, emprego fácil e variedade de tamanho.

Os envoltórios de plástico (polietileno ou copolímero de polivinilideno e P.V.C.) são utilizados para produtos cozidos em água. São impermeáveis à fumaça e umidade. As vantagens da utilização de tripas artificiais são: condições higiênicas favoráveis, facilidade de mecanização e a possibilidade de elegir a permeabilidade ao vapor e à fumaça. Tem como desvantagens: a imagem artificial para alguns consumidores e geralmente não é comestível.

2.1.1.6 Amarrio

Pardi et al., (2006) escreveram que as extremidades dos envoltórios e regiões de torção devem ser amarradas com fio de algodão (barbante). A pressão dos nós não deve ser excessiva para não causar corte na tripa e extravasamento da massa. Entretanto, em alguns tipos de linguiça, os gomos podem ficar soltos sem amarrio (ibid).

2.1.1.7 Pesagem /Embalagem

As linguiças são pesadas (peso líquido de 1 kg, 5 kg, 10 kg, 20 kg ou 30 kg) e embaladas em máquinas a vácuo (filme de polietileno). Faz-se a termossoldagem e depois são submersas rapidamente em tanques contendo água quente para promover a retração da embalagem. São acondicionadas em caixas de papelão, previamente identificadas para o tipo de linguiça, e transferidas para câmaras de estocagem para produtos resfriados (1°C) até a sua expedição (BRESSAN; PEREZ, 2001).

2.1.1.8 Expedição

As caixas são novamente pesadas e transferidas para veículo apropriado por meio do qual serão transportadas (ibid).

2.1.1.9 Comercialização

A linguiça tipo frescal é comercializada embalada a vácuo ou em bandejas com filme plástico. O prazo de validade da linguiça tipo frescal é de sete dias mantida sob resfriamento (7°C) (PARDI et al., 1996).

2.1.1.10 Controle de Qualidade

A boa higienização dos alimentos é necessária para garantir sua segurança em todos os estágios de sua elaboração até o produto final. Com o intuito de proteger a Saúde Coletiva são estabelecidos limites de microrganismos em alimentos, visando sua qualidade higiênico-sanitária (CHAVES et al., 2000).

No acondicionamento do produto final retiram-se as amostras para as análises dos controles microbiológicos e físico-químico. A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 (BRASIL, 2001) e (Brasil, 2000) que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, estabelece os seguintes limites para linguiça frescal:

✓ Tolerância para amostra indicativa:

*Coliformes a 45° C: 5×10^3 ufc/g

*Estafilococos coagulase positiva: 5×10^3 ufc/g

*Clostridio sulfíto redutor a 46° C: 3×10^3 ufc/g

*Salmonella sp. ausência em 25g

✓ Características Físico-Químicas:

*Umidade (máx.) – 70%

*Gordura (máx.) – 30%

*Proteína (min.) – 12%

*Cálcio (base seca) (máx.) – 0,1%

Os embutidos são produtos cárneos que apresenta grande variedade de ingredientes. Devido a tal característica, é importante um processamento tecnológico adequado, principalmente em relação aos cuidados higiênicos que são um problema de destaque em qualquer indústria de produtos alimentícios (SILVA et al., 2003).

A fiscalização higiênico-sanitária dos ingredientes é um fator importante para garantir a sua qualidade, ou seja, evitar alterações microbianas do produto que levam a sua deterioração, diminuindo o seu período de validade, acarretando prejuízos aos fabricantes. Além disso, os microrganismos podem sobreviver no alimento, sem que ocorram alterações visíveis nos mesmos. (CHAVES et al., 2000).

O consumo de embutidos é elevado, uma vez que tais produtos apresentam diversas características que agradam ao consumidor. Por tais motivos, as medidas preventivas não devem ser ignoradas pelos produtores, de forma que se ofereça sempre ao consumidor um produto de qualidade e que não coloque em risco sua saúde (SILVA, 2002).

2.1.1.12 Fluxograma para elaboração do produto cárneo Linguiça

Para se ter uma idéia global das operações tecnológicas básicas do processamento de linguiças, será seguido o esquema a seguir, que, em linhas gerais, se adapta ao processamento destinado ao fabrico de lingüiça tipo frescal

- a) Obtenção e preparo da matéria-prima
- b) Moagem
- c) Condimentação
- d) Cura/Embutimento
- e) Envoltório
- f) “Amarrio”
- g) Cozimento
- h) Pesagem/Embalagem
- i) Expedição
- j) Comercialização
- l) Controle de Qualidade.

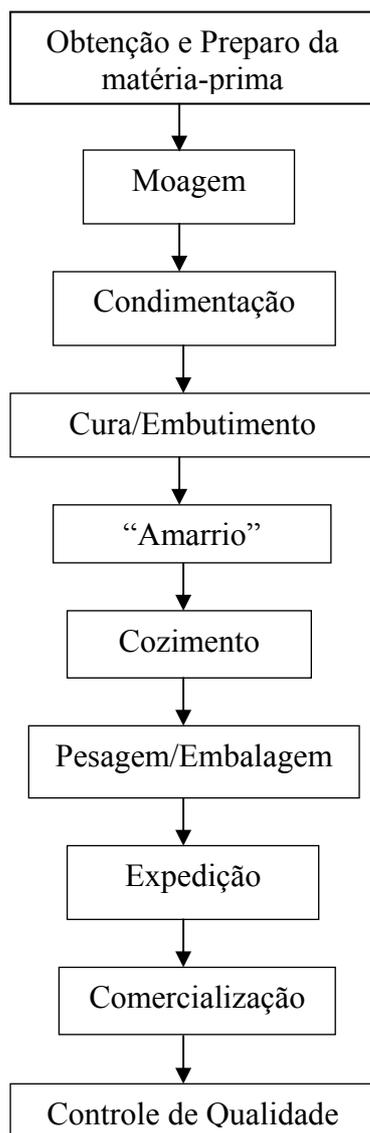


Figura 1. - Fluxograma para elaboração do produto cárneo linguiça cozida.
Fonte: Bressan ; Perez (2001).

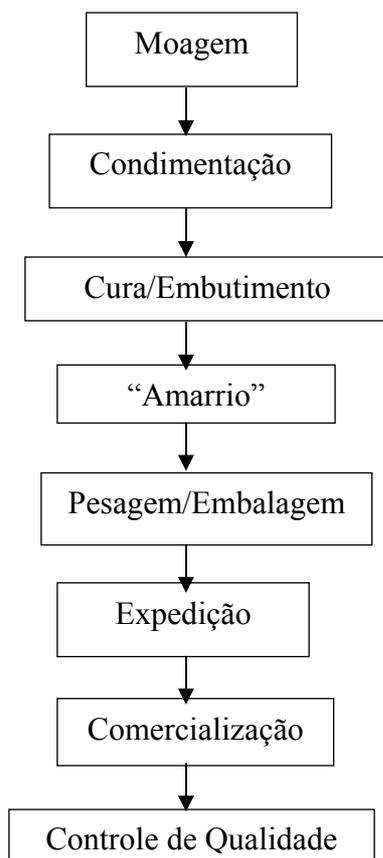


Figura 2. - Fluxograma para a elaboração do produto cárneo linguiçatipo fresco
Fonte: Bressan ; Perez (2001).

2.1.2 Importância econômica

A pecuária tem posição de destaque na economia nacional, dessa forma o Brasil classifica-se, mundialmente, como o segundo país em tamanho de rebanho bovino (207,2 milhões de cabeças no ano de 2007) e em produção de carne, sendo que a Índia possui o maior rebanho e os Estados Unidos é o maior produtor de carne (ABIEC, 2008).

O clima, extensão territorial e disponibilidade de fatores de produção geram condições de competitividade na produção e industrialização, inclusive quanto à qualidade dos produtos. O fato de prevalecer à criação sob regime extensivo tem sido, adicionalmente um fator de valorização da carne bovina no mercado internacional (MIRANDA; MOTTA, 2001), aliado ao fato de que o Brasil é o país de menor custo de produção entre os principais exportadores de carne bovina, segundo a ABIEC (2008).

O Brasil foi classificado em 2007 como o maior exportador mundial de carne bovina segundo dados da ABIEC (2008), destacando-se tanto no comércio de carnes frescas como no de carnes industrializadas. No ano de 2007 o Brasil exportou 903.547 toneladas de carne, gerando uma receita de US\$ 3.380.565

Dados apresentados em 1998 indicam que aproximadamente mil estabelecimentos industriais brasileiros estão registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ou nas Secretarias Estaduais da Agricultura e são responsáveis por um volume de produção equivalente a 1 milhão e 200 mil toneladas de embutidos. Deste volume, a produção de linguiça do tipo frescal ocupa o primeiro lugar e são consumidas ora como fonte protéica quantitativamente mais importante na refeição, ora como ingrediente de preparações (VIEIRA, 1999).

2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS SAIS DE NITRATO E NITRITO E DE NITROSAMINAS

2.2.1 Sais de nitrato e nitrito

Nitratos e nitritos estão presentes na natureza no solo, na água e nos vegetais e, portanto, distribuídos naturalmente em alimentos de origem vegetal e animal (ANDRADE, 2004).

São formados através de um processo de oxidação biológica (nitrificação), a partir do íon amônio, de acordo com as reações (1) e (2):



Estas reações são mediadas por microrganismos do solo como as nitrosomonas, que oxidam o íon amônio a nitrito, realizando a primeira etapa da reação (1), e as nitrobactérias, que oxidam o nitrito a nitrato (2), tornando este último mais abundante no ambiente (PURVES et al., 2001).

2.2.2 N-Nitrosaminas

Os compostos N-nitrosos são produzidos através da reação química entre compostos orgânicos nitrogenados e um agente nitrosante (ANDRADE, 2004).

As espécies nitrosantes mais importantes são: N_2O_3 (anidrido nitroso), NO_2/N_2O_4 (tetróxido de dinitrogênio), H_2ONO^+ (ácido nitroso protonado) e NO (óxido nítrico). O ácido nitroso (HNO_2) e o íon nitrito (NO_2^-), apesar de serem inativos, podem formar espécies nitrosantes ativas através de diversos equilíbrios químicos, como pode ser demonstrado na figura 3.

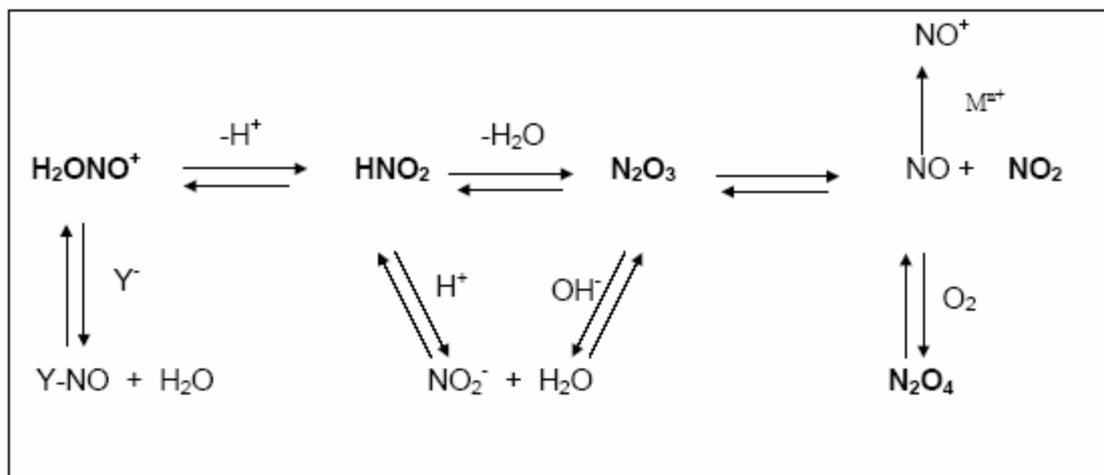
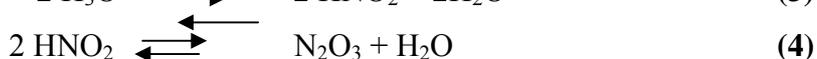


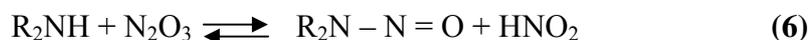
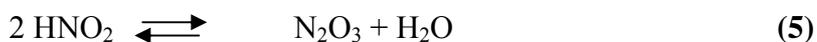
Figura 3. - Equilíbrios químicos envolvidos na formação de espécies nitrosantes.

Fonte: Douglass et al., (1978).

O agente nitrosante mais importante que participa na formação de N-nitrosaminas em sistemas alimentícios é o anidrido nitroso (N_2O_3), produzido a partir de 2 moles de HNO_2 ou NO_2^- em solução aquosa ácida (FRIDMAN; MUKHAMETSHIN ; NOVIKOV, 1971).



O anidrido nitroso, uma vez formado, reage com a amina secundária através do par de elétrons não compartilhados do nitrogênio, para formar a N-nitrosamina correspondente. Em solução aquosa, essa reação segue uma cinética de segunda ordem em termos de nitrito e de primeira ordem em relação à amina (ibid).



Uma vez que é a amina não protonada que participa na formação de nitrosaminas, tanto o pH como o pKa da amina influenciam a reação de nitrosação. Em geral, o pH ótimo de

reação situa-se entre 2,5 e 3,5, o que se deve ao efeito inverso entre a formação do anidrido nitroso, favorecido em pH ácido, e da amina livre, favorecido em pH básico (WALTERS; SMITH ; REED, 1984).

2.3 OCORRÊNCIA DE NITRATO, NITRITO E DE NITROSAMINAS EM ALIMENTOS

Os nitratos estão amplamente distribuídos no solo, água e vegetais. Sua presença no solo é imprescindível para que as plantas possam efetuar a síntese de suas proteínas celulares. Nitrato e nitrito são também utilizados como aditivos na forma de seus sais de sódio ou potássio em produtos cárneos e em queijos. A presença de nitrato nas águas ocorre devido a sua elevada hidrosolubilidade, que aumenta consideravelmente sua concentração nas águas subterrâneas, rios e poços (ANDRADE, 2004).

A maioria dos compostos nitrogenados em águas naturais tende a conversão para nitrato; então todas as fontes de nitrogênio, particularmente nitrogênio orgânico e amônia, devem ser consideradas como fontes potenciais de nitrato. As fontes primárias de nitratos orgânicos incluem esgotos domésticos e rurais; para os nitratos inorgânicos que podem contaminar a água potável, destacam-se o nitrato de potássio e o nitrato de amônio, ambos largamente usados como fertilizantes. Os nitratos ocorrem naturalmente na água, em baixas concentrações, como produtos de estabilização aeróbia de matéria orgânica nitrogenada. Concentrações mais elevadas ocorrem por estabilização de esgotos, drenagem de áreas fertilizadas ou, ainda, oxidação de amônia de origem industrial (BRANCO ; ROCHA, 1977). O nível de nitrato pode variar amplamente, chegando até a $450 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ em regiões agrícolas onde são utilizados fertilizantes nitrogenados (CORNÉE et al., 1992).

Nos vegetais, o nitrato se encontra naturalmente presente, visto que a planta absorve nitrato como fonte de nitrogênio para seu crescimento (WALKER, 1975).

Em vegetais danificados ou em condições de armazenamento inadequadas, incluindo temperatura e tempo, há uma tendência de redução no teor de nitrato, com conseqüente aumento da concentração de nitrito. A conversão de nitrato a nitrito pode ser decorrente da ação da nitrato-redutase endógena ou da presença exógena de bactérias redutoras. A frigidificação é capaz de retardar o processo, sem, contudo, preveni-lo. Durante o processo de cozimento do alimento também pode ocorrer diminuição do teor de nitrato, visto que o íon tende a se difundir para a água de imersão (OLMEDO ; BOSCH, 1988).

Já o teor de nitrito em vegetais crus, diferentemente do teor de nitrato, é baixo, geralmente menor que $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ do produto, enquanto os vegetais fermentados ou em conservas podem conter teores de nitrato, superiores a $3500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ e níveis de nitrito cerca de aproximadamente $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (HOTCHKISS et al., 1992).

Em alimentos industrializados, os sais de nitrato e nitrito são adicionados no processo de cura de carnes juntamente com sal, açúcar, temperos e outros ingredientes, objetivando a preservação do produto, desenvolvimento e fixação de cor, sabor, aroma, melhoria de rendimento e contribuindo para inibição de bactérias anaeróbicas como, por exemplo, o *Clostridium botulinum*. A adição de nitrato é empregada somente em processos de cura longa (JUDGE; ABERLE ; FORREST, 1989).

2.4 UTILIZAÇÃO DO NITRATO E NITRITO COMO ADITIVO EM PRODUTOS CÁRNEOS - HISTÓRICO

O nitrito de sódio é reconhecido como um aditivo alimentar multifuncional, especialmente útil na preservação de carnes. A história do uso do nitrito e do nitrato está intimamente relacionada com o uso do sal como conservante da carne e do peixe, embora a história do sal preceda claramente a do nitrato e do nitrito. Informações sobre uso do sal como agente preservante não são exatas, mas datam desde 3000 a.C. O sal do Mar Morto facilitava a preservação de alimentos no Reino Judaico já no ano 1600 a.C. Os Romanos aprenderam o uso do sal na preservação com os Gregos, e o uso tornou-se prática comum em 900 a.C. A conservação da carne e do peixe favoreceu o comércio, facilitando a exploração e criação de rotas para exportação, promovendo o intercâmbio de conhecimento e culturas entre os povos (SHEPHARD, 2000).

Foram os romanos que provaram, através de análises químicas, que o sal (NaCl) continha “nitro” ou salitre, conferindo uma distinta cor vermelha e sabor à carne. Posteriormente, químicos demonstraram que realmente o sal puro não era capaz de conferir a cor e o sabor de produtos “curados”, concluindo que o nitrato de sódio ou de potássio encontrados eram “contaminantes” do sal. Posteriormente foi demonstrado que o nitrato era reduzido a nitrito naturalmente por bactérias presentes na superfície das carnes, e de nitrito para óxido nítrico, sendo que o nitrito era o verdadeiro responsável pelas propriedades específicas de cor e sabor das carnes (PIERSON ; SMOOT, 1982).

O período compreendido entre as décadas de 20 e 40 foi quando realmente iniciaram as pesquisas relacionadas aos efeitos antibacterianos e de cura de carnes pelo nitrito e nitrato. O nitrito demonstrou ser um inibidor de bactérias anaeróbias, além de exercer bacteriostase em bactérias associadas à carne de peixes. Porém, as primeiras tentativas para determinar a quantidade de nitritos com efeitos preservativos em carnes fracassaram. Tarr (1944), referindo-se às pesquisas daquela época, afirmou que os autores chegaram a teores 10 vezes maiores de nitrito que os necessários à prática industrial. Essa quantidade foi estabelecida graças aos estudos que esclareceram o efeito do pH sobre a habilidade de inibir ou destruir bactérias, sendo que o nitrito foi mais efetivo em pH ácido. O autor atribuiu essa atividade inibitória à produção de pequenas quantidades de ácido nitroso nas misturas contendo substâncias redutoras.

Por volta de 1950, as propriedades dos sais de nitrito e nitrato como conservadores na cura de carnes ainda não estavam claras. O desaparecimento do nitrito durante o processo de estocagem tornava o seu uso uma prática não confiável. Contudo, o conceito de combinar o efeito do aquecimento com a presença de sais de cura foi proposto. Embora a destruição térmica de esporos de bactérias não tenha sido aumentada pela presença de sais de cura, houve um aumento da inibição do crescimento pelo sal e, em maior escala, pelo nitrito (EFSA, 2003).

Na mesma década, Eddy e Ingram (1956) demonstraram que o uso do nitrato não resultava na estabilidade comercial de carnes curadas enlatadas. Graças aos estudos de Silliker et al. (1958), foi esclarecido que a conservação ocorria por ação do nitrito em carnes curadas enlatadas, garantindo seu uso como inibidor da germinação e desenvolvimento de esporos de bactérias anaeróbias, especialmente o *Clostridium botulinum*.

Durante a década de 60, as pesquisas na área foram voltadas para o entendimento do papel do nitrito em carnes curadas e seus efeitos sobre esporos. Aumentou-se, então, o uso de embalagem a vácuo, promovendo novos questionamentos, considerando a segurança microbiológica de carnes curadas. As pesquisas nessa área foram estimuladas pelo aparecimento de casos de botulismo, provenientes de produtos marinhos defumados embalados a vácuo e submetidos à temperatura inadequada. Ficou reconhecido que existiam fatores que influenciavam na quantidade de esporos presentes, tais como: pH, temperatura, tempo de estocagem e, principalmente, teor residual de nitrito (EFSA, 2003).

Durante as décadas de 1970 e 1980 detectou-se a presença de N-nitrosaminas em carnes curadas, que se tornou grande preocupação. Nesse período houve pressão para que se

reduzisse a adição de nitrito e/ou nitrato em produtos cárneos, ou até que fossem eliminados completamente, mas os estudos continuaram (TOMPKIN, 2004).

Descobriu-se então que a incorporação de ácido ascórbico nos produtos cárneos diminuía o nível da formação de nitrosaminas (SCANLAN, 1983). A ação inibidora do ácido ascórbico sobre a reação de nitrosação de uma amina foi descoberta acidentalmente na formulação do analgésico aminopirina, quando foi inibida a formação de nitrosodimetilamina. Posteriormente observou-se que esta vitamina diminuía fortemente a formação de compostos N-nitrosos a partir da maioria das aminas e amidas (MIRVISH; GREENBLATT; KOMMINENI, 1972). Em consequência, a administração conjunta de ácido ascórbico ou carotenóides e aminas ou amidas em animais inibe os efeitos hepatotóxicos, carcinogênicos e teratogênicos provenientes da síntese endógena de nitrosaminas ou nitrosamidas (ATANASOVA-GORANOVA; DIMOVA e PEVICHAROVA, 1997, WALTERS, 1992;). A polêmica ainda permanece entre os autores a respeito da relação entre nitrosaminas e câncer (CASSENS, 1997; PEGG ; SHAHIDI, 1992; ARCHER 2002).

2.5 IMPLICAÇÕES TOXICOLÓGICAS PARA A SAÚDE HUMANA

Os maiores riscos toxicológicos decorrentes da ingestão de nitratos e nitritos são: ocorrência de metahemoglobinemia e a formação de composto N-nitrosos (WALTERS, 1992).

Segundo Cortas e Wakid (1991), em adultos sadios, os nitratos e nitritos são absorvidos pelo trato gastrointestinal, sendo o nitrato rapidamente excretado por via renal. Os nitritos, por sua vez, combinam-se com a hemoglobina, transformando-a em metahemoglobina, por processo de oxidação do íon ferroso a íon férrico no complexo porfirínico. A metahemoglobina (MetHb) é incapaz de transportar oxigênio, mas a enzima NADH-Metahemoglobina-redutase (NADH-diaforase) presente nos eritrócitos converte-a novamente em hemoglobina. Desta forma, quando os níveis de exposição ao nitrito são baixos, a formação de MetHb é reversível, sendo catalisada pela enzima NADH-Metahemoglobina-redutase. Entretanto, quando o nível de exposição é elevado, o sistema de redução é saturado, resultando em aumento da concentração de MetHb no sangue. Níveis de MetHb em torno de 10% podem produzir cianose assintomática e, níveis entre 20 e 30%, podem acarretar o aparecimento de cianose com sinais de hipóxia, astenia, dispnéia, cefaléia, taquicardia e inconsciência. Concentrações em níveis superiores a 50% podem ser fatais.

A Figura 4 representa a reação de formação da metahemoglobina pelo nitrito e a reação de conversão para hemoglobina. Há vários fatores que mantêm fisiologicamente o íon ferro da hemoglobina no estado ferroso. O mais importante parece ser a enzima NADH-metahemoglobina-redutase (SWANN, 1975).

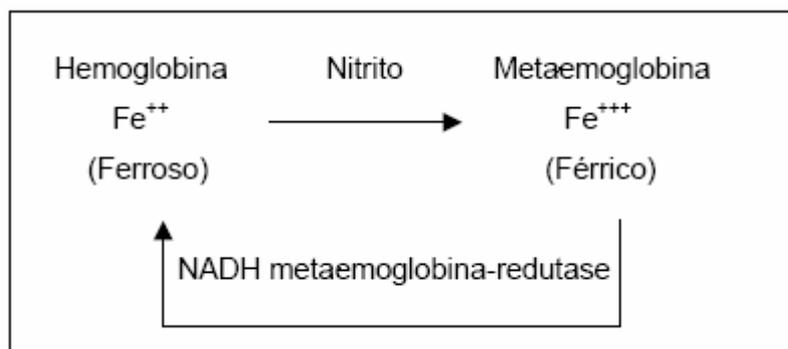


Figura 4. - Formação de metahemoglobina pelo nitrito e sua conversão à hemoglobina
Fonte: Swann, (1975).

A população infantil, em particular os lactentes com idade inferior a três meses, é a mais susceptível à metahemoglobinemia, por vários fatores: (1) possuem baixa acidez gástrica, favorecendo a redução do nitrato a nitrito; (2) levando em consideração o peso, a quantidade relativa de água ingerida pelos lactentes é, aproximadamente, dez vezes superior a dos adultos e; (3) a hemoglobina fetal consiste de 60 a 80% da hemoglobina total do sangue dos recém nascidos. Cabe destacar que a hemoglobina fetal é reduzida mais facilmente que a hemoglobina de um indivíduo adulto e em lactentes há uma imaturidade do sistema NADH-metahemoglobina redutase, que tende a desaparecer a partir dos 4 meses de idade (JAFFÉ, 1981; McKNIGHT et al., 1999, WHO, 1978;).

Embora a metahemoglobinemia seja, em princípio, o mais ameaçador efeito da exposição ao nitrato, vários estudos sobre esta exposição têm sido ligados a uma variedade de efeitos como: aumento da tireóide, hipertensão e até efeitos carcinogênicos devido à formação de composto N-nitrosos. Todos esses efeitos têm sido observados em estudos epidemiológicos em seres humanos e são, freqüentemente, sustentados por estudos de fisiologia humana e animal (BRUNING-FANN ; KANEENE, 1993).

A formação de nitrosaminas *in vivo* tornou-se um assunto de extrema importância devido ao fato destes compostos possuírem possíveis efeitos carcinogênicos (ANDRADE, 2004).

Estudos epidemiológicos sugerem que a excessiva ingestão de agentes nitrosantes e a formação intragástrica de N-nitrosaminas possam estar associadas com um alto risco de câncer gástrico, hepático e de esôfago (SIDDIQI et al., 1992; WU et al., 1993; MITACEK et al., 1999; STEFANI et al., 2001; KIM et al., 2002). Fatores protetores, tais como adição de ácido ascórbico e α -tocoferol aos alimentos são conhecidos como inibidores da formação de compostos N-nitrosos (MIRVISH, 1994; TERRY; TERRY ; WOLK, 2001).

Em 1984, na Itália, Bruning-Fann e Kaneene (1993) compararam a incidência do câncer gástrico em regiões com elevado e reduzido teor de nitrato em água potável. Os pesquisadores encontraram correlação positiva entre comunidades com elevado risco de câncer e consumo de produtos com teor de nitrato superior a $4,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ em água potável. Em comunidades que ingeriram água potável contendo excesso de nitrato, a incidência de câncer estomacal foi treze vezes maior que em outras comunidades que ingeriram a água potável com teor de nitrato inferior. Na Inglaterra, em 1985, estudos realizados em 253 áreas urbanas, mostraram relação entre o nível de nitrato em água e a taxa de câncer no estômago.

Os compostos N-nitrosos e, em particular, as N-nitrosaminas são considerados potentes carcinógenos, além de apresentarem ação teratogênica e mutagênica em animais de laboratório (BARTSCH e MONTESANO, 1984, REYES e SCANLAN, 1984 ; SCANLAN, 1983; ROCHE; MELIAN e PEREZ,1994). Segundo Bartsch e Montesano no ano de 1984, os efeitos carcinogênicos de N-nitrosaminas já foram observados em mais de 40 espécies animais, inclusive no macaco.

A indução de tumores pode ocorrer em diferentes órgãos, dependendo da estrutura química do composto N-nitroso, da dose, da via de exposição e da espécie animal. Embora não existissem evidências diretas da incidência de câncer em humanos como resultado da exposição à nitrosaminas, presumiu-se que também poderiam ser sensíveis à ação tóxica desses compostos (PREUSSMANN ; STEWART, 1984; ROCHE; MELIAN e PEREZ, 1994).

O nitrato pode ser reduzido a nitrito na cavidade bucal, que apresenta faixa ótima de pH para a formação de nitrosaminas semelhante àquela encontrada no estômago do ser humano após ingestão de alimentos (CRADDOCK, 1992; MIRVISH et al., 1995).

As nitrosaminas podem ser absorvidas principalmente no trato gastrintestinal e também através da pele, ainda que com menor velocidade e porcentagem inferior. Após a absorção, as nitrosaminas entram na corrente circulatória, desaparecendo do sangue após um período de 8 horas. Os compostos nitrosos não são bioacumulados, mas sofrem biotransformação no organismo (SWANN, 1975).

As nitrosaminas requerem ativação metabólica para exercerem sua ação carcinogênica, resultando em compostos que podem alquilar sítios nucleofílicos do DNA, RNA e proteínas (MAGEE ; BARNES, 1967).

2.6 EXPOSIÇÃO HUMANA AOS SAIS DE NITRATO, NITRITO E NITROSAMINAS

2.6.1 Sais de nitrato e nitrito

Geralmente, a exposição diária da população ao nitrato e ao nitrito é influenciada tanto pelos hábitos culturais como pelo estilo de vida e localização geográfica. Os alimentos de origem vegetal são a principal fonte da ingestão de nitrato pelo ser humano, representando aproximadamente 80% do total ingerido (KNIGHT et al., 1987).

Pesquisas devem ser freqüentemente efetuadas para avaliar a quantidade de nitratos e nitritos em alimentos a fim de que a Ingestão Diária Aceitável (IDA), relativa a esses íons, não seja ultrapassada, colocando em risco à saúde da população (ANDRADE, 2004).

O Comitê FAO/WHO (“Food and Agriculture Organization/World Health Organization”) de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA - “Joint Expert Committee on Food Additives”), em sua 59ª Reunião, reavaliou os limites de IDA para os íons nitrito e nitrato, com base nos últimos estudos toxicológicos existentes. A IDA é a quantidade de um aditivo (no caso nitrato e nitrito) que pode ser ingerido por toda a vida sem provocar um dano à saúde humana (ibid).

Para o nitrito o JECFA estabeleceu uma IDA de 0 - 0,07 mg . kg⁻¹ de peso corpóreo, expresso como íon nitrito (WHO, 2003). Para o nitrato, o Comitê manteve a IDA de 0 - 3,7 mg . kg⁻¹ de peso corpóreo, expresso como íon nitrato, a qual tinha sido estabelecida na sua 44ª reunião (WHO, 1996).

2.6.2 N-Nitrosaminas

São encontrados na literatura dados a respeito da exposição à N-nitrosaminas em alguns países como Suécia, Alemanha, França e outros. No entanto, em geral, pode-se afirmar que os dados disponíveis são escassos e/ou incompletos, sendo que para o Brasil praticamente não existem informações disponíveis a respeito da exposição às N-nitrosaminas através dos

alimentos (BIAUDET; MAVELLE e DEBRY, 1994; CORNÉE et al., 1992; MITACEK et al., 1999; LEVALLOIS et al., 2000; OLIVEIRA et al., 1995).

O número de publicações científicas relacionadas à presença de N-nitrosaminas em produtos cárneos tem sido crescente, sendo que a maioria delas relaciona-se com o teor de nitrosopirrolidina (NPIR) e nitrosoidroxipirrolidina (NHPIR) em bacon (GOUGH; GOODHEAD e WALTERS, 1976; REYES e SCANLAN, 1984; GLÓRIA; BARBOUR e SCANLAN, 1997; RYWOTYCKI, 2003).

2.7 ASPECTOS DA LEGISLAÇÃO

O uso do nitrito tem sido muito discutido toxicologicamente, pelo fato de poder reagir com as aminas presentes em carnes, levando à formação de nitrosaminas que são compostos responsáveis por efeitos carcinogênicos. Como consequência, e em proteção à Saúde Pública, o nível de nitrito tem sido reduzido em carnes curadas, diminuindo a formação de nitrosaminas (BINSTOK, 1998).

2.7.1 Nitrito e nitrato

O limite tolerado de nitrito e nitrato como aditivo alimentar depende, em particular, do produto alimentício e da legislação vigente de cada país.

Autores relatam que derivados de carne de fabricação nacional (linguiças, salsichas, mortadela, fiambre, presuntada, presunto cru, cozido, “Jerked Beef”, etc.) apresentam, na maioria das vezes, níveis de nitrito e nitrato acima do permitido pela legislação. Em países de clima tropical, em que temperatura e umidade favorecem proliferação microbiana, esses aditivos contribuem, de forma significativa, para a conservação de enlatados. Contudo, tendo em vista os riscos associados ao emprego indiscriminado desses aditivos, a sua utilização deve ser devidamente controlada (LARA; TAKAHASHI ; SILVEIRA, 1978; KOMATSU; TAKINO ; GALLI, 1977; SOUZA, 1990 a).

A utilização de sais de nitrato e nitrito de sódio e/ou potássio no processo de cura de carnes levou o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, “United State Department of Agriculture”) às extensivas pesquisas por volta de 1920, regulamentando sua utilização já em 1925. A regulamentação permitia o uso de nitrato e/ou nitrito, com nível

residual máximo de $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, calculado como nitrito de sódio no produto final. Em 1975, um grupo de peritos criado pelo USDA, recomendou alterações nos níveis de nitrato e nitrito que foram adotadas em 1978, quando a regulamentação para bacon foi alterada de maneira a permitir a adição de nitrito de sódio ($120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ou nitrito de potássio ($148 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), acompanhado da adição de ascorbato ou eritorbato de sódio ($550 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) como inibidor de N-nitrosaminas. Ao mesmo tempo, o uso de nitrato em bacon foi proibido e exigido uma monitoração do nível de N-nitrosaminas no local de produção (IFT, 1987).

Em 1986, por orientação do USDA, a utilização de nitrato foi permitida somente em certos produtos fermentados ou de cura longa (ANDRADE, 2004).

A adição de nitrito em alimento é oficialmente regulamentada na maioria dos países. No Brasil, o RIISPOA (BRASIL, 2008) regulamenta o emprego de nitratos e nitritos:

Artigo 372 – O emprego de nitratos e nitritos, de sódio ou de potássio ou de qualquer combinação entre eles, só pode ser feito em quantidades tais que, no produto pronto para consumo, o teor de nitrito não ultrapasse duzentas partes por milhão:

Artigo 373 – Os nitritos de sódio ou de potássio só podem ser empregados, isoladamente ou combinadamente, nas seguintes proporções máximas:

- a) 240g (duzentas e quarenta gramas) para cada 100L (cem litros) de salmoura;
- b) 60g (sessenta gramas) para cada 100 kg (cem quilogramas) de carne, cura e seco, de mistura com o sal (cloreto de sódio);
- c) 15g (quinze gramas) para cada 100 kg (cem quilogramas) de carne picada ou triturada, de mistura com sal (cloreto de sódio).

Parágrafo 1º - Os estoques de nitritos, bem como de misturas que os contenham, ficarão sob a guarda e responsabilidade da administração do estabelecimento.

Parágrafo 2º - A Inspeção Federal fará verificar, sempre que julgar necessário, o teor de nitrito de produtos ou misturas prontas, bem como das produzidas no próprio estabelecimento.

Parágrafo 3º - É permitido o emprego de produtos ou misturas prontas para cura, desde que aprovado pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem animal.

Já o Ministério da Saúde, até dezembro de 1998, permitia um limite máximo de 200 e $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, de nitrito e nitrato respectivamente, reduzindo, a partir daquela data, para valores de 150 e $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (BRASIL, 1999). Estes valores anteriores foram considerados elevados por alguns autores, uma vez que em outros países, a legislação estabelece valores inferiores. Apesar da ampliação e surgimento de novos produtos cárneos lançados no mercado, nesses últimos anos, há escassez de informações sobre os teores de nitrito residual, principalmente em produtos enlatados (ANDRADE, 2004). Dessa maneira, tanto do ponto de vista tecnológico, quanto de saúde pública, é muito importante a detecção do teor residual de nitrito em produtos cárneos prontos, para confrontar com o preconizado pela legislação vigente.

2.8 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETECÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRITO E NITRATO

São vários os métodos analíticos desenvolvidos para a detecção e monitoramento de nitrato e/ou nitrito em alimentos, água, material biológico, plantas e solos.

O íon nitrato é considerado de baixa toxicidade, mas quando reduzido a nitrito pode representar risco à saúde, portanto há interesse na avaliação de ambos, segundo descreve Andrade (2004).

A quantificação de nitrato, através das diversas técnicas apresentadas na literatura, se diferencia quanto à determinação que pode ocorrer de forma simultânea ou seqüencial. Como exemplo de técnicas que realizam a determinação de nitrato e nitrito simultaneamente pode citar as técnicas voltamétricas e a eletroforese capilar, embora a detecção dos analitos seja independentemente um do outro em uma única medida (MOORCROFT; DAVIS; COMPTON, 2001). A avaliação seqüencial se baseia na detecção do íon nitrito inicialmente, seguido da redução do íon nitrato ao íon nitrito para sua posterior quantificação. Os valores dos teores de nitrato são obtidos por diferença. A estratégia de análise na determinação de nitrato e nitrito é dependente da metodologia a ser usada.

Existe uma variedade de agentes redutores que foram avaliados quanto à eficiência na redução do nitrato a nitrito, entre estes redutores a base de zinco (KOUPPARIS; WALCZAK e MALMSTADT, 1982; SU et al., 1998) e cádmio cuperizado (VAN STANDEN, 1982) e cobre-hidrazina (HILTON e RIGG, 1983). Uma nova técnica para reduzir nitrato a nitrito por foto-indução foi avaliada por Takeda e Fujiwara (1993), que reportaram o uso da radiação UV entre 200 e 300 nm, resultando na formação de nitrito e oxigênio. Esta técnica se mostrou atrativa uma vez que não há utilização de substâncias tóxicas como o cádmio, porém, às vezes este agente redutor pode provocar uma redução incompleta do nitrato ou levar à formação de amônia.

2.8.1 Métodos de preparo da amostra para Avaliação dos Sais de nitrito e nitrato

A extração de nitrato e nitrito da matriz tem sido frequentemente realizada em meio aquoso devido ao fato que a maioria dos sais de nitrato e nitrito é solúvel em água. Segundo Usher e Telling (1975), a extração deve ser realizada em pH neutro, ou levemente alcalino, uma vez que o nitrito é instável em pH menor que 5,0. O método mais utilizado na extração

de nitrato e nitrito para produtos cárneos é o recomendado pela “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC, 1997) que envolve extração com água à 80°C.

Dependendo da matriz (carne, leite, vegetal, entre outros), após a obtenção do extrato contendo nitrato e nitrito há necessidade de que este extrato passe por um processo de clarificação. O processo de clarificação do extrato contendo nitrato e/ou nitrito é fundamental uma vez que, para alguns métodos analíticos, como a espectrofotometria, são necessários extratos límpidos. Para tanto, vários reagentes já foram avaliados como sulfato de alumínio e potássio (FOLLET ; RATCLIFF, 1963), cloreto de cádmio + cloreto de bário (LARA; TAKAHASHI e SILVEIRA, 1978), acetato de zinco + hexacianoferrato de potássio em meio básico e creme de alumina (ELLIOTT ; PORTER, 1971). Pelos dados apresentados na literatura, o acetato de zinco + hexacianoferrato de potássio (Reagente de Carrez) tem sido o mais utilizado (VELASCO-ARJONA et al., 1998; ENSAFI ; KAZEMZADEH, 1999; KAZEMZADEH ; ENSAFI, 2001; HAGHIGHI ; TAVASSOLI, 2002).

2.8.2 Avaliação de nitrito e nitrato

A técnica analítica mais amplamente empregada na avaliação de nitrito, por sua simplicidade, é a espectrofotometria. Porém, várias outras técnicas têm sido empregadas na determinação destes íons em diversas matrizes (Quadro1).

Quadro 1. Técnicas analíticas empregadas na avaliação de nitrito e nitrato.

Técnica	Espécie	Referência
Espectrofotometria	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	ZATAR et al., 1999; OLIVEIRA et al., 1995
Quimiluminescência/FIA	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	MIKUSKA e VECERA, 2003
Espectrofotometria/FIA	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	AHMED, et al., 1996; ZHI-QI et al., 1998; PINHO et al., 1998; GABRIEL et al., 1998; MONSER et al., 2002; KAZEMZADEH e ENSAFI, 2001; HAGHIGHI e TAVASSOLI, 2002; YUE et al., 2004
HPLC-UV	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	MERINO et al., 2000; BUTT et al., 2001; CONNOLLY PAULL, 2001.
HPLC-Quimiluminescência	NO_2^-	SEN et al., 1994; DUNHAM et al., 1995; HE et al., 2000
HPLC-Fluorescência	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	STALIKAS et al., 2003
HPLC-detecção condutimétrica	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	NOZAL et al., 2000
HPLC-detecção eletroquímica	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	DI MATTEO e ESPOSITO, 1997; DAVIS et al., 2000.
Potenciometria	NO_3^-	PÉREZ-OLMOS et al., 2001; MOURZINA et al., 2003
Polarografia	NO_3^-	ZHAO e CAI, 1988; XIMENES et al., 2000
Eletroforese capilar	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	OZTEKIN et al., 2002; MIYADO et al., 2003
Fluorescência	NO_2^-	HUANG et al., 2000; BULDT e KARST, 1999; WANG et al., 2000
Espectroscopia de absorção atômica	$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	SILVA et al., 1986

FIA: análise por injeção em fluxo, HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência.

Fonte: ANDRADE, 2004.

Atualmente, muitos sistemas utilizados na avaliação de nitrito foram mecanizados dando origem aos sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA, do inglês “Flow Injection Analysis”).

Segundo Andrade (2004), a mecanização e/ou automação de procedimentos, visando à avaliação quantitativa de espécies químicas, tem sido proposta como alternativa aos procedimentos convencionais quando se pretende:

- Analisar um grande número de amostras por unidade de tempo;
- Minimizar o consumo de amostras e de reagentes;
- Diminuir problemas de contaminação;
- Melhorar a precisão dos resultados analíticos.

Muitas técnicas de detecção podem ser acopladas a estes sistemas como detetores eletroquímicos (SEN; BADDOO; SEAMAN, 1994), espectrofotométricos (CHEN et al., 1999; HAGHIGHI e TAVASSOLI, 2002; KAZEMZADEH e ENSAFI, 2001), entre outros.

O método recomendado pela AOAC (1997) para a avaliação de nitrito, baseia-se na reação do nitrito com amina primária aromática em meio ácido para formar um sal de diazônio, que por sua vez reage com um composto aromático formando um azo-composto (Reação de Griess), que absorve na região do visível do espectro eletromagnético. O íon nitrato é determinado, geralmente, como íon nitrito, após redução em coluna de cádmio esponjoso (ELLIOT ; PORTER, 1971; AOAC, 1997). Esta reação foi avaliada por sistema de injeção em fluxo por Ferreira et al., (1996), apresentando-se como uma metodologia simples, rápida e precisa na determinação simultânea de nitrato e nitrito. O nitrato foi reduzido a nitrito por intermédio de uma mini coluna de cádmio cuperizado (3 mm de diâmetro interno).

Outras reações foram avaliadas em sistemas de injeção em fluxo acoplados a um espectrofotômetro na avaliação de nitrito em diversas matrizes (Quadro 2). Em todos os trabalhos apresentados a frequência de amostragem foi na faixa de 20-30 determinações/hora.

Quadro 2. Métodos publicados para avaliação de nitrato e nitrito.

Sistema Reacional^a	Limite de detecção ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Matrizes	Referência
VNB – KBrO ₃	NO ₂ ⁻ (0,5) NO ₃ ⁻ (2,5)	Água	ZHI-QI et al., 1998
VPR – NaBrO ₃	NO ₂ ⁻ (1,0) NO ₃ ⁻ (10,0)	Carnes e água	KAZEMZADEH e ENSAFI, 2001
GLC — NaBrO ₃	NO ₂ ⁻ (1,0) NO ₃ ⁻ (2,0)	Carnes e água	ENSAFI e KAZEMZADEH, 1999
NA+NED	NO ₂ ⁻ (1,0) NO ₃ ⁻ (10,0)	Linguiças, Queijos e farinha de trigo	AHMED et al., 1996
SFA + HCl + KCl	NO ₂ ⁻ (1,0)	Linguiças	MOUSAVI et al., 1998
CPMB	NO ₂ ⁻ (2,0) NO ₃ ⁻ (2,0)	Água, carne e vegetais	ZATAR et al., 1999

^a VNB - Verde de naftol B, VPR - Vermelho de pirogalol, KBrO₃ - Bromato de potássio, NaBrO₃ - Bromato de sódio, GLC - Galocianina, NA - 3- Nitroanilina e NED - 1-Naftil etileno diamina, SFN - Safranina, HCl - Ácido clorídrico, KCl - Cloreto de potássio, CPMB - Complexo fosfomolibdico.

Fonte: Andrade, (2004).

2.9 MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE NITRITO EM PRODUTOS CÁRNEOS

O nitrito quando adicionado em produtos cárneos, com o propósito de promover a cura, pode ser recuperado parcialmente no produto acabado, sendo denominado de nitrito residual. Uma quantidade do nitrito adicionada inicialmente combina-se com pigmentos e outra resiste às reações. O valor detectável diminui rapidamente. O nitrito residual é reduzido em grande escala através do aquecimento e continua a declinar durante a estocagem subsequente dos produtos cárneos curados, sobretudo, os enlatados (PÉREZ-RODRIGUEZ et al., 1996).

No entanto, a perda do nitrito no produto é dependente de uma série de fatores além do processo de aquecimento usado. Entre esses fatores, pode-se citar: o pH do produto, a temperatura de estocagem e a adição de ácido ascórbico ou outros agentes redutores. Conseqüentemente, a detecção de baixos níveis de nitrito não dá indícios se o produto foi ou não manufaturado recentemente com baixo nível inicial de nitrito ou se o produto foi estocado

por muitos meses a baixas temperaturas com modesto nível de nitrito, ou ainda, se o produto continha adição de ascorbato. Portanto, do ponto de vista da regulação, o monitoramento do valor residual do nitrito é de valor limitado (EFSA, 2003).

Cassens et al. (1978) afirmam que, em geral, 50-70% do nitrito podem ser detectados no produto imediatamente após seu processamento, visto que há uma perda de 20-80% deste aditivo em decorrência dos processos térmicos.

Estudos têm demonstrado que o valor de nitrito adicionado reduz-se rapidamente em produtos cárneos. Hill et al. (1973) demonstraram que, em salsichas Frankfurter, somente 20-25% do nitrito adicionado são detectados no produto pronto, depois de estocado por uma semana a 2-5°C. Gry et al. (1983) reportaram que em muitos casos a redução dos níveis de nitrito é menor que 50% nos primeiros dias após a produção, e pode ser reduzida para menos de 10% da concentração original, no prazo de estocagem de algumas semanas.

3 ARTIGOS CIENTÍFICOS

Os trabalhos a seguir estão formatados de acordo com as normas das revistas nas quais serão publicados.

3.1 Avaliação do teor de nitrito de sódio em linguiças do tipo frescal comercializadas no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. (REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA VETERINÁRIA)

3.2 Quantificação do teor de nitrito de sódio em linguiças cozidas comercializadas no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.(ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA)

**AVALIAÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO EM LINGUIÇAS DO TIPO
FRESAL COMERCIALIZADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

**EVALUATION OF THE SODIUM NITRITE CONTENT IN FRESH SAUSAGE
MARKETED IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL**

Marjorie Toledo Duarte¹; Kênia de Fátima Carrijo¹; Zander Barreto Miranda²; Elmo Rampini de Souza³; Alberto Felipe Valle da Silva⁴; Sheila de Figueiredo Ventura⁵; Ana Beatriz Monteiro Fonseca⁶.

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Fluminense (UFF). E-mail: marjorievet@yahoo.com.br

²Docente do Departamento de Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

³Ex docente do Departamento de Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

⁴Técnico em Química do Laboratório de Química da Universidade Severino Sombra - RJ.

⁵Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Severino Sombra - RJ.

⁶Docente do Instituto de Matemática da Universidade Federal Fluminense.

Resumo: As linguiças são comercializadas em grande escala por se tratar de um produto de valor acessível a todos os setores da sociedade sendo facilmente encontradas em supermercados, açougues, mercearias e feiras-livres. O nitrito é uma substância utilizada como aditivo intencional, tendo como funções a inibição de crescimento de microrganismos e fixação da cor e sabor dos produtos cárneos. O limite de adição em alguns produtos cárneos não deve ultrapassar 150 ppm do teor residual, como em linguiças industrializadas por exemplo. Embora ofereça benefícios na conservação de alimentos, o nitrito vem se tornando fonte de preocupação pelos riscos que pode oferecer a saúde humana, como a metahemoglobinemia, teratogênese e carcinogênese. Assim, este trabalho teve como objetivo verificar o teor de nitritos em 30 amostras de linguiças do tipo frescal, sendo 15 inspecionadas e 15 sem inspeção sanitária comercializadas no Estado do Rio de Janeiro. Aplicou-se teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Os resultados demonstraram que 26,7% do total de amostras continham teores de nitritos acima do permitido pela legislação vigente. Concluiu-se

que apesar de 73,3% das amostras possuírem teores de nitrito dentro dos limites previstos pela legislação, 53,4% das linguiças não inspecionadas comercializadas nestes locais foram consideradas impróprias para o consumo por possuírem origem desconhecida, representando riscos à saúde dos consumidores.

Palavras – chaves: linguiça tipo frescal, comercialização, nitrito

Abstract Sausages are sold on a large scale because it is a valuable commodity accessible to all sectors of society being easily found in supermarkets, butcher shops, grocery stores and open-air markets. Nitrite is a substance used as an intentional additive with the specific functions of inhibiting the growth of microorganisms and helping in the maintenance of the color and flavor of meat products. The nitrite concentration must not exceed 150 ppm above the residual content in some meat products such as in industrialized sausages. While offering benefits in food conservation, nitrite has become a source of concern considering the threats to human health when exposed to excessive doses, such as the development of methemoglobinemia, teratogenesis and carcinogenesis. This study aimed to verify the nitrite contents in 30 samples of fresh sausages commercialized with and without inspection in the Rio de Janeiro State. The Mann-Whitney non-parametric test was used in the data analyzes. The results showed that 26.7% of the samples contained nitrite levels above the maximum limits established by the Brazilian legislation. It was concluded that although 73.3% of the samples presented nitrite concentrations within the allowed limits by the legislation, the sausages sold without inspection were considered unfit for human consumption due to their unknown production sites and bad merchantability conditions representing risks for the consumer's health.

Key words: fresh sausage, marketed, nitrite

Introdução

Nitratos e nitritos são aditivos intencionais utilizados como conservantes em vários alimentos. Em produtos cárneos têm como finalidade inibir o crescimento de microrganismos patogênicos como o *Clostridium botulinum* e conferir aspectos sensoriais característicos às carnes curadas, além de retardar a oxidação lipídica.

As carnes são alimentos perecíveis e apresentam vida de prateleira variável em função das condições de armazenamento. Desde a antiguidade, o homem sempre buscou preservar suas características de qualidade para manter a provisão de alimentos, o desenvolvimento e a conservação da espécie, originando, assim, processos e tecnologias de transformação,

inicialmente rudimentares e atualmente controláveis por padrões tecnológicos para manter a qualidade dos produtos (OLIVEIRA et al., 1995).

A fabricação de embutidos propicia o aumento da vida de prateleira das carnes, bem como diversifica a oferta de derivados. Embutidos cárneos são definidos como “produtos elaborados com carnes ou outros tecidos animais comestíveis, curados ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório natural tripas, bexigas ou outras membranas animais ou envoltório plástico apropriado” (LEITE, 1989).

Segundo a legislação, lingüiça “é o produto cárneo industrializado obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial e submetido ao processo tecnológico adequado” (BRASIL, 2000).

A lingüiça do tipo frescal destaca-se dentre os produtos cárneos embutidos por sua aceitação e comercialização. O processo de produção utiliza carnes de animais de açougue, adicionadas ou não de tecidos adiposos e o processamento pode decorrer em estabelecimento de micro, pequeno, médio e grande porte. Ao processo, agregam-se aditivos utilizados para melhorar as características sensoriais do produto e aumentar o prazo de vida comercial.

Visando controlar o nível desse aditivo em produtos cárneos, a legislação brasileira estabeleceu o limite do teor residual de nitrito no produto cárneo a ser consumido. De acordo com o RIISPOA (BRASIL, 2008), é fixado um limite de $200 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de nitrito no produto acabado. O Ministério da Saúde (BRASIL, 1999), em sua Portaria nº 1.004, preconiza para produtos cárneos excetuando o charque, um limite de $150 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de nitrito.

Desde 1968 a agência norte americana – “Food and Drug Administration” (FDA) se preocupa com a presença de nitrosaminas nos alimentos e, juntamente com a indústria norte-americana de alimentos, despande grandes esforços para reduzir os níveis de nitrosaminas e encontrar substituto para o nitrito (HAVERY ; FAZIO, 1985).

As lingüiças são produtos cárneos comercializados em grande escala em função do seu baixo valor comercial, acessível a todos os setores da sociedade, sendo facilmente encontrados em vários segmentos do mercado varejista. Nas feiras livres, o comércio de alimentos de origem animal reside basicamente em produtos sem inspeção processados sem critérios higiênico-sanitários e sem controle pelos órgãos de Saúde Coletiva, representando risco potencial para a saúde do consumidor.

A determinação desse aditivo em lingüiças do tipo frescal e cozida são de fundamental importância na avaliação da tecnologia empregada, bem como na preservação da Saúde Coletiva. Face a esta problemática, o presente trabalho teve como objetivo verificar o teor de

nitritos em 30 amostras de linguiças do tipo frescal, sendo 15 inspecionadas e 15 sem inspeção sanitária comercializadas no Estado do Rio de Janeiro.

Material e Método

Material

Foram utilizadas 30 amostras de linguiças do tipo frescal de diferentes marcas comerciais, originadas de lotes diferentes, adquiridas aleatoriamente em épocas diferentes, sendo 15 inspecionadas e 15 sem inspeção sanitária, comercializadas em estabelecimentos e feiras-livres no Estado do Rio de Janeiro. As amostras foram identificadas e transportadas em recipientes apropriados, e encaminhadas ao Laboratório de Controle Físico-químico da Universidade Severino Sombra do curso de Medicina Veterinária em Vassouras - RJ, onde foram realizadas as análises. Aplicou-se teste não-paramétrico de Mann-Whitney para obtenção dos dados estatísticos.

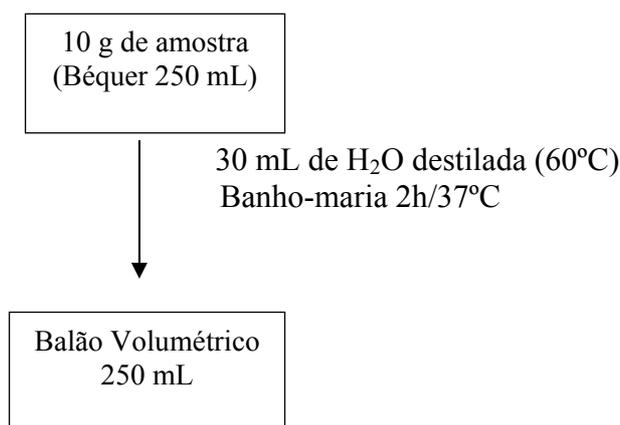
Método

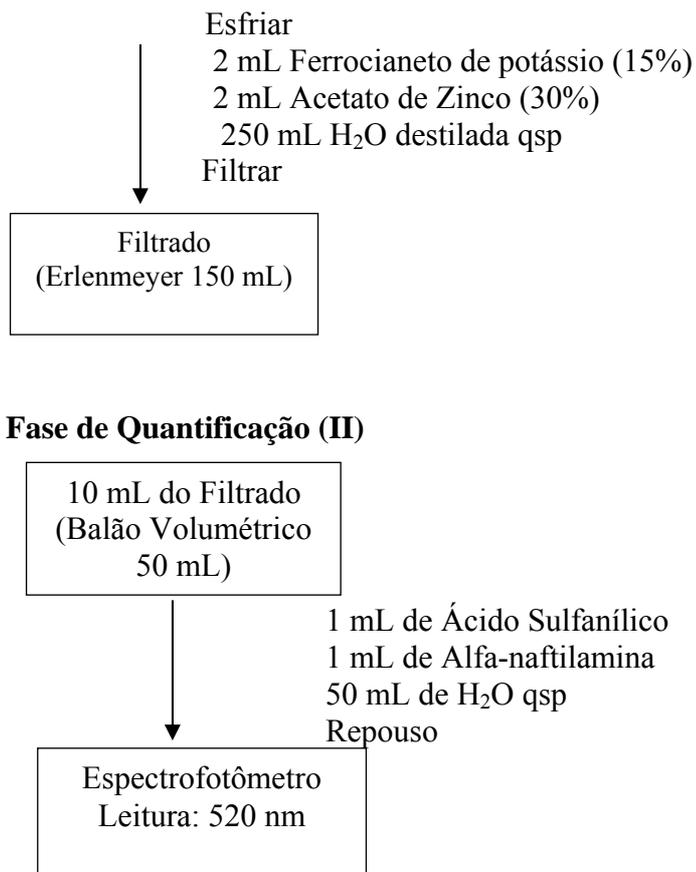
Realizou-se a análise de nitrito residual, através do método de Griess Ilosvay, preconizado pela AOAC (1997) cujo princípio é descrito a seguir:

Reação colorimétrica de diazotação dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato e alfa-naftilamina em meio ácido (pH entre 2,5 e 5,0), formando o ácido alfa-naftilamino-*p*-azobenzeno-*p*-sulfônico de coloração rósea, cuja intensidade é proporcional à concentração de nitritos na amostra.

A técnica de análise do nitrito residual descrita acima envolve duas fases: a primeira visando extrair o nitrito da amostra e a segunda de quantificação do nitrito, como esquematizado a seguir:

Fase de Extração (I)





O método preconiza a construção de uma curva de calibração, absorbância x concentração de nitrito, a ser utilizada nas análises, que foi construída com 05 pontos com solução de nitrito padrão com concentrações diferentes. A figura 1 ilustra os pontos e a equação da reta utilizada nesta pesquisa.

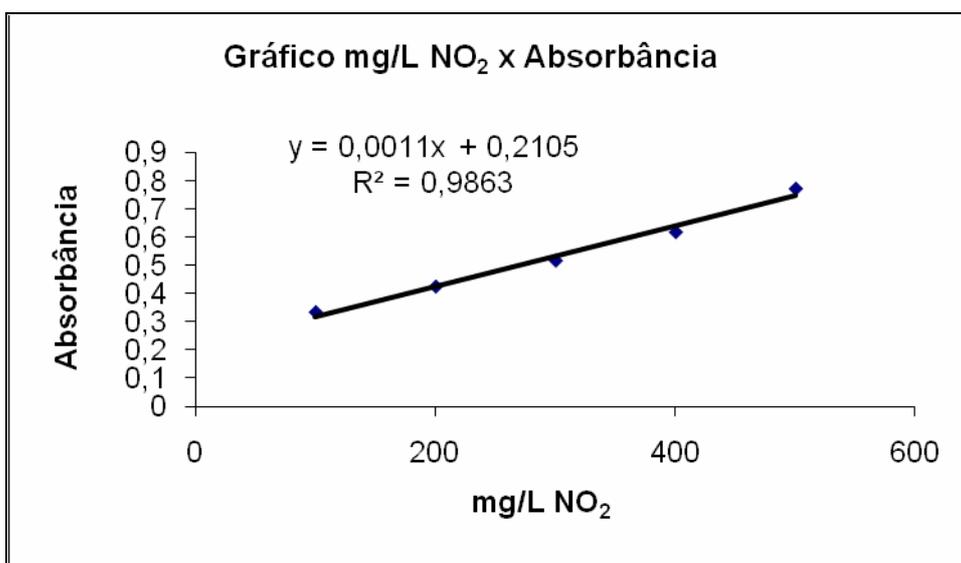


Figura 1 : Curva Padrão de nitrito de sódio

Na expressão dos resultados em ppm, em primeiro lugar, faz a conversão do resultado da leitura da absorbância em mg/ L, com o auxílio da curva de calibração. Em seguida calcula-se a massa de nitrito em relação à concentração final da análise.

Resultados e Discussão

Baseado nas análises das amostras coletadas em estabelecimentos e feiras-livres pode-se verificar que dentre as amostras de linguiças frescas não inspecionadas, 8 (53,4%) obtiveram níveis de nitritos acima do permitido pela legislação e apenas 7 (46,6%) apresentaram níveis aceitáveis de nitritos. Já as amostras de linguiça tipo frescal inspecionadas, todas (100%) obtiveram níveis de nitritos dentro dos padrões legais (≤ 150 ppm), havendo diferença significativa ($p=0,001$) entre esses dois grupos (frescal inspecionada *versus* frescal não inspecionada), segundo o Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Pinto (1998) avaliou os teores de nitrito em 19 amostras de linguiças “caseiras” comercializadas no município de Araçatuba – SP. Destas amostras, somente uma apresentou teor de nitrito acima do estabelecido pela legislação vigente na época (200 ppm). O autor justifica este achado em função da falta de orientação por parte dos fabricantes e da necessidade de uma fiscalização mais efetiva por parte das autoridades desse tipo de atividade “artesanal”.

Analisando linguiças clandestinas comercializadas em Marília – SP, Manhoso e Rudge (1999) constataram que apenas 10% das amostras excederam o limite de nitrito permitido pela legislação.

Komatsu, Takino e Galli (1977) analisaram 510 marcas de embutidos diversos, coletados em supermercados e frigoríficos de São Paulo e não encontraram nenhum valor excedendo a 200 ppm, fato este que denota uma eficiência tecnológica e atuação eficaz dos órgãos fiscalizadores em nível de indústria.

Souza, Faleiros e Souza (1990) avaliaram 110 amostras de embutidos cárneos, pesquisando teores de nitratos e nitritos. Os produtos apresentavam diferentes procedências, sendo constatado que apenas 6 produtos analisados encontravam-se com índices superiores aos permitidos, sendo que estes foram considerados impróprios para o consumo.

Trabalhando com amostras de linguiças oriundas de estabelecimentos com SIF, Leite (1989) não verificou níveis superiores aos permitidos oficialmente. Este autor observou ainda que a média encontrada nas amostras analisadas foi de 59,50 ppm.

Silva, Santos e Brito (2003) pesquisaram nitrito em 6 amostras de linguiças caseiras e 4 amostras industrializadas, comercializadas na cidade de Natal - RN. Estes autores

observaram que nas amostras industrializadas, todas apresentaram valores no limite especificado pelo Ministério da Saúde. Nas linguiças caseiras evidenciaram ausência de nitrito residual. Os autores justificaram que nas linguiças caseiras não foi detectado nitrito residual, possivelmente devido há duas hipóteses. Na primeira, não teria sido realizada a adição do nitrito, o que pode permitir o desenvolvimento do *Clostridium botulinum*, provavelmente tendo sido utilizado sistema de salga e/ou resfriamento como métodos de conservação. Na segunda hipótese, teria sido realizada a adição, e o nitrito teria sido “degradado” não sendo detectado.

Tavares et al. (1987), em um estudo para determinação de nitritos e nitratos em linguiças e outros produtos cárneos, comercializados na região metropolitana de São Paulo, encontraram 27% das linguiças analisadas com concentrações de nitritos e nitratos superiores a 200 ppm.

Oliveira et al. (1995), em um estudo para quantificar os sais de nitrato e nitrito em linguiças do tipo frescal, verificaram que a maioria dos valores obtidos estavam dentro do limite oficial, porém 7,1% das linguiças do tipo frescal de frango e de pernil ultrapassaram os padrões oficiais para nitrato (300 ppm) e nitrito (150 ppm) estabelecidos pela legislação. Estes autores sugerem a necessidade de um controle mais rigoroso por parte dos órgãos oficiais de inspeção a fim de evitar riscos à Saúde Pública.

Ximenes et al. (1998), estudando teores de nitrito residuais em produtos comercializados no Distrito Federal, encontraram valores bem superiores ao permitido pelas normas em amostras de linguiças suína (530 ppm) e de frango (220 ppm).

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos 26,7% das amostras apresentaram quantidades excessivas de nitrito, podendo ocasionar problemas de saúde aos consumidores. A violação do teor de nitritos foi maior nas linguiças tipo frescal não inspecionadas do que nas amostras tipo frescal inspecionadas. Entretanto, todas as amostras seriam consideradas impróprias para consumo devido ao não cumprimento da legislação na produção e comercialização desse produto.

Tornam-se necessárias medidas de controle e educação sanitária por parte dos órgãos governamentais para minimizar este problema de Saúde Coletiva.

Referências Bibliográficas

AOAC *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, Method 982.22 (16th ed.), Gaithersburg, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)*. Aprovado pelo decreto n.30.691, 29/03/52, alterados pelos decretos n.1255 de 25/06/62, 1236 de 01/09/94, 1812 de 08/02/96, 2244 de 04/06/97. Brasília, 2008. 241p.

_____. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos, e seus Limites Máximos de Uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos Cárneos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 22 mar. 1999.

_____. Instrução Normativa nº 4, de 05 de abril de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de lingüiça.

FERRÃO, S.P.B.; SANTOS, W.L.M; VERSIANI, C.V. Determinação de nitritos em lingüiças frescas comercializadas em Belo Horizonte – M.G. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 13, n. 61, abril/maio 1999.

HAVERY, D. C.; FAZIO, T. Human exposure to nitrosamines from foods. *Food Technology*, v. 39, p. 80-83, 1985.

KOMATSU, I.; TAKINO, M.; GALLI, F. O teor de nitrito e nitrato nos produtos cárneos fabricados no estado de São Paulo. *Ciência Cultural*, v. 29, p. 124-126, 1977.

LEITE, O.A. *Aspectos físico-químicos de interesse higiênico-sanitário e tecnológico de lingüiças frescas*. Niterói, 1989. 67 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de POA) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1989.

MANHOSO, F.F.R.; RUDGE, A.C. Aspectos microbiológicos, físico-químicos e histológicos das lingüiças tipo frescal comercializadas no município de Marília/SP. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 13, n. 61, p. 44, 1999.

OLIVEIRA, C.P.; GLÓRIA, M.B.A.; BARBOUR, J.F.; SCALAN, R.A. Nitrate, nitrite, and volatile nitrosamines in whey-containing food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.43, p.967-969, 1995.

PINTO M.F. Teores de nitrito em lingüiça “caseira” comercializada no município de Araçatuba-SP. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 1998, v. 01, 1998, p. 392-395

POPPER, I.; CARLOS, M. A.; FIGUEIREDO, B.; GARCIA, S.; PINTO, M. P.; SILVA, A. C.; SOUSA, I. F.; PRIMO, C. B. B.; BORGES, R. Avaliação da formulação de lingüiças tipo frescal coletadas no Município de Londrina, quanto aos teores de gordura, proteína e água. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2000, Fortaleza. *Anais...* Ceará, 2000.

SILVA, D. G. K; SANTOS, M. E. T.; BRITO, G. Q. Determinação de nitrito residual em lingüiças caseiras e industrializadas comercializadas na cidade do Natal. *Revista Saúde Natal*, v.17, n.2, p. 13-17, 2003.

SOUZA, P.A.; FALEIROS, R.R.S.; SOUZA, H.B. A Dosagem de nitrito e nitrato em produtos embutidos de carne. *Alimentos e Nutrição*, v. 2, p. 21-26, 1990.

TAVARES, M.; ZANELATTO, A. M.; CARVALHO, J. B.; BACETTI, L. B.; TAKAHASHI, M. Y.; AUED, S. Determinação de nitritos e nitratos em lingüiça e outras conservas de carne comercializadas na região metropolitanas de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, v.47, n. 1/2, p. 5-10, 1987.

TOLEDO, M. C. F. Aditivos para alimentos: aspectos toxicológicos. *Revista Nacional da Carne*, n. 239, ano XXI, p. 42-43, 1997.

XIMENES, M.I.N.; RODRIGUES, G.M.; MARQUES, S.R.M.N. Teor residual de nitrato e nitrito em produtos cárneos curados, comercializados no Distrito Federal. In: *Revista de Saúde do Distrito Federal*, v. 9, n. 2, abr./jun. 1998.

1 **QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE NITRITO DE SÓDIO EM LINGUIÇAS**
2 **COZIDAS COMERCIALIZADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

3
4 **QUANTIFICATION OF THE SODIUM NITRITE CONTENT IN COOKED**
5 **SAUSAGE MARKETED IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL**

6
7 Marjorie Toledo Duarte¹; Kênia de Fátima Carrijo¹; Zander Barreto Miranda²; Elmo Rampini
8 de Souza³; Alberto Felipe Valle da Silva⁴; Sheila de Figueiredo Ventura⁵; Ana Beatriz
9 Monteiro Fonseca⁶.

10
11 ¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Higiene Veterinária e
12 Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal
13 Fluminense (UFF). E-mail: marjorievet@yahoo.com.br. Avenida Pena 37 Centro. Piraúba –
14 MG. Cep: 36.170-000

15 ²Docente do Departamento de Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Veterinária da
16 Universidade Federal Fluminense.

17 ³Ex docente do Departamento de Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Veterinária da
18 Universidade Federal Fluminense.

19 ⁴Técnico em Química do Laboratório de Química da Universidade Severino Sombra - RJ.

20 ⁵Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Severino Sombra - RJ.

21 ⁶Docente do Instituto de Matemática da Universidade Federal Fluminense.

22
23 **Resumo:** O Nitrito de sódio é um aditivo intencional utilizado em produtos cárneos com a
24 finalidade de fixar a cor, conferir sabor e aroma característicos, além de retardar a oxidação
25 lipídica. Embora ofereça benefícios na conservação de alimentos, o uso deste aditivo
26 preocupa a comunidade científica mundial, pois é fator de riscos toxicológicos à saúde
27 humana, dependendo da quantidade ingerida e susceptibilidade do organismo. Visando
28 controlar o nível deste aditivo em produtos cárneos, a legislação brasileira estabeleceu limites
29 de teores residuais de nitrito. O objetivo deste estudo foi avaliar por espectrofotometria a
30 concentração de nitrito de sódio em 30 amostras de linguiças cozidas, sendo 15 delas
31 inspecionadas e 15 amostras não inspecionadas, após sua elaboração, em condições normais
32 de comercialização, confrontando os resultados obtidos com os valores preconizados pela
33 legislação vigente para o produto acabado. Aplicou-se o teste não paramétrico de Mann-
34 Whitney. Os resultados demonstraram que 16,7% do total de amostras continham teores de

35 nitritos acima do permitido pela legislação vigente, sendo que foi encontrada maior incidência
36 nas amostras não inspecionadas, com 3 (20%) do que nas amostras inspecionadas, com 2
37 (13,4%). Conclui-se que apesar de 83,3% das amostras possuírem teores de nitrito dentro dos
38 padrões previstos pela legislação, o consumo de tais produtos representa risco aos
39 consumidores.

40 Palavras chave: linguiças cozidas, comercialização, nitrito

41

42 **Abstract:** Sodium nitrite is an intentional additive used in meat products in order to maintain
43 the color, to enhance flavor and aroma and to delay lipid oxidation. While offering benefits in
44 food preservation, the use of this additive is a concern in the global scientific community.
45 Thus depending on the amount ingested and the susceptibility of the organism it is considered
46 a factor for toxicological risks to human health. The Brazilian legislation has set limits on
47 residual concentrations of nitrite in order to control the level of this additive used in meat
48 products. The aim of this study was to evaluate spectrophotometrically the concentration of
49 sodium nitrite in 30 samples of cooked sausages where 15 had been inspected and 15 have not
50 been inspected after its production in normal marketing conditions. The Mann-Whitney non-
51 parametric test was used in the data analyzes. The results were compared with the values
52 advocated by the current legislation for the finished product and showed that 16.7% of the
53 samples contained nitrite levels above the maximum limits established by the Brazilian
54 legislation. The uninspected group presented a higher incidence of excessive nitrite levels
55 than the inspected group, 3 samples (20%) and 2 samples (13.4%) respectively. We concluded
56 that although 83.3% of the samples presented nitrite concentrations within the standard limit
57 provided by the law, the consumption of these products represent risk to consumers.

58 Key words: cooked sausage, commercialization, nitrite.

59

60 **Introdução:**

61 Os produtos curados são alimentos habituais em todas as partes do mundo e, suas
62 características peculiares somente são obtidas pelo uso do nitrito. O nitrito de sódio é um
63 aditivo intencional utilizado em produtos cárneos com o objetivo de fixar a cor, conferir sabor
64 e aroma característicos, além de retardar a oxidação lipídica e inibir o crescimento do
65 *Clostridium botulinum*, cuja toxina causa o botulismo.

66 Pode-se afirmar com certeza que a introdução de nitrato na cura de carnes foi feita
67 puramente ao acaso, como consequência da sua presença como contaminante do cloreto de
68 sódio, empregado no processo de salga. A utilização direta do nitrito na cura de carnes foi

69 desenvolvida somente em 1926, quando se verificou que esse procedimento diminuía
70 consideravelmente o tempo de cura (LIRA et al., 2003).

71 O nitrito pode ser formado a partir do nitrato, por redução tanto enzimática quanto
72 microbiana e existe, residualmente, em maior ou menor quantidade, nos produtos cárneos
73 curados, onde é adicionado isolado ou conjuntamente com o nitrato. O uso de nitrito preocupa
74 a comunidade científica mundial em função dos riscos toxicológicos à saúde humana, que
75 estão inteiramente ligados à quantidade ingerida e à susceptibilidade do organismo. Ao
76 combinar-se com a hemoglobina, transforma-a em metahemoglobina, reduzindo a eficiência
77 no transporte de oxigênio, principalmente em crianças, e levando ao aparecimento de
78 sintomas como cianose, fadiga, dispnéia, cefaléia e morte (OKAFOR ; OGBONNA, 2003).

79 Nos alimentos e *in vivo*, nitritos podem reagir com aminas secundárias e terciárias,
80 formando N-nitrosaminas, algumas das quais apresentam atividade carcinogênica,
81 mutagênica, teratogênica e embriopática (OLIVEIRA et al., 1995).

82 A toxicidade pode, desta forma, estar ligada a presença de excessiva quantidade de
83 nitratos e nitritos nos alimentos ou insuficiente concentração e elevada freqüência de
84 consumo.

85 O mercado de embutidos tem apresentado significativa expansão e alta
86 competitividade na última década, uma vez que o consumo de produtos cárneos como
87 salsichas, linguiças, mortadelas, hambúrgueres e outros, tornou-se parte do hábito alimentar
88 de uma parcela considerável de consumidores brasileiros. A fabricação de embutidos
89 representa um importante segmento da industrialização de carnes.

90 As linguiças, em geral, são produtos comestíveis elaborados com diferentes carnes de
91 animais de açougue, adicionados de ingredientes de cura ou não, submetidos a diferentes
92 processamentos tecnológicos e embutidos com tripas naturais ou artificiais. São
93 comercializados em grande escala por se tratar de um produto de valor comercial acessível a
94 todos os setores da sociedade, logo são facilmente encontrados em supermercados, açougues,
95 mercearias e feiras-livres. Neste último local em particular a comercialização de alimentos de
96 origem animal é realizada com o mínimo ou nenhum controle por parte dos órgãos de Saúde
97 Coletiva, fato que proporcione o aumento da comercialização de embutidos produzidos
98 irregularmente, sem autorização dos órgãos competentes (MELO FILHO e BISCONTINI,
99 2002).

100 Visando controlar o nível deste aditivo em produtos cárneos, a legislação brasileira
101 estabeleceu o limite de teor residual de nitrito, no produto cárneo a ser consumido. Na medida
102 em que a avaliação deste componente é de fundamental importância na avaliação da

103 tecnologia empregada, bem como a preservação da Saúde Coletiva, no presente trabalho
104 objetivou-se quantificar o teor de nitrito residual em linguças cozidas provenientes de
105 estabelecimentos e feiras-livres do Estado do Rio de Janeiro e comparar com os limites de
106 alimento seguro.

107

108 **Material e Método**

109

110 Foram coletadas aleatoriamente, 30 amostras de linguças cozidas de diferentes
111 marcas comerciais, originadas de lotes diferentes, adquiridas em épocas distintas, sendo 15
112 amostras com inspeção, 15 amostras sem inspeção, comercializadas em estabelecimentos e
113 feiras-livres no Estado do Rio de Janeiro. As amostras foram identificadas e transportadas em
114 recipientes apropriados, e encaminhadas ao Laboratório de Controle Físico-químico do Curso
115 de Medicina Veterinária da Universidade Severino Sombra em Vassouras - RJ, onde foram
116 realizadas as análises. Aplicou-se teste não-paramétrico de Mann-Whitney para obtenção dos
117 dados estatísticos.

118 O método utilizado para a análise de nitrito residual nas amostras foi o de Griess
119 Ilosvay, preconizado pela AOAC (1997) cujo princípio é descrito a seguir:

120 Reação colorimétrica de diazotação dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com
121 cloridrato e alfa-naftilamina em meio ácido (pH entre 2,5 e 5,0), formando o ácido alfa-
122 naftilamino-*p*-azobenzeno-*p*-sulfônico de coloração rósea, cuja intensidade é proporcional à
123 concentração de nitritos na amostra.

124 **Preparo das amostras analíticas**

125 Pesou-se em balança analítica cerca de 10g da amostra em um béquer de 250 mL.
126 Posteriormente adicionou-se 30 mL de água destilada quente. A solução formada foi então
127 submetida ao banho-maria por 2 horas, sendo frequentemente agitada com um bastão de
128 vidro. Com auxílio de um funil, o conteúdo do béquer foi transferido para um balão
129 volumétrico de 250 mL. Tanto o funil quanto o béquer utilizados, foram em seguida lavados
130 com mais 70 mL de água destilada quente para remoção de qualquer resíduo remanescente. A
131 solução sofreu resfriamento sob temperatura ambiente, e em seguida foi desproteïnizada pela
132 adição de 2 mL de ferrocianeto de potássio e 2 mL de sulfato de zinco. A mistura foi agitada
133 por rotação após a adição de cada reagente. Após este processo, o volume do balão foi
134 completado com água destilada até 250 mL. Seu conteúdo foi então filtrado em papel de filtro
135 Whatmann e o líquido obtido, de aspecto límpido, serviu para pesquisa de nitrito residual.

136 **Preparo da Curva Padrão**

137 Para que os resultados obtidos com as amostras se encaixem na curva padrão, foi
 138 realizada uma nova curva com teores menores da solução padrão, tomando alíquotas dessa
 139 solução de nitrito contendo 0,01mg/mL sendo transferidas para tubos de Nessler ou balões
 140 volumétricos de 50 mL e posteriormente foram adicionado 1 mL de ácido sulfanílico e 1 mL
 141 de alfa-naftilamina, agitando depois de cada adição. Os volumes dos balões foram
 142 completados até 50 mL cada um com água destilada. Estes permaneceram em repouso por
 143 cerca de 10-30 minutos. Logo após foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 520 nm, em
 144 seguida foi estabelecida a curva padrão.

145 A solução controle (tubo em branco) foi preparada com água destilada e os reagentes,
 146 submetidos à agitação.

147 Durante as análise foi construída uma curva de calibração, absorbância x concentração
 148 de nitrito, a qual foi utilizada nas análises, construída com cinco pontos com solução padrão
 149 em concentrações diferentes. As figuras abaixo ilustram os pontos e a equação da reta
 150 utilizada neste estudo.

151 Para que fosse obtida a concentração desejada de nitrito na curva padrão foram
 152 pipetados 0,5 – 1 – 2,5 – 3 - 5 mL da solução padrão de nitrito contendo 0,01mg/mL.

153 **Tabela 1. Leitura da curva padrão no espectrofotômetro**

154

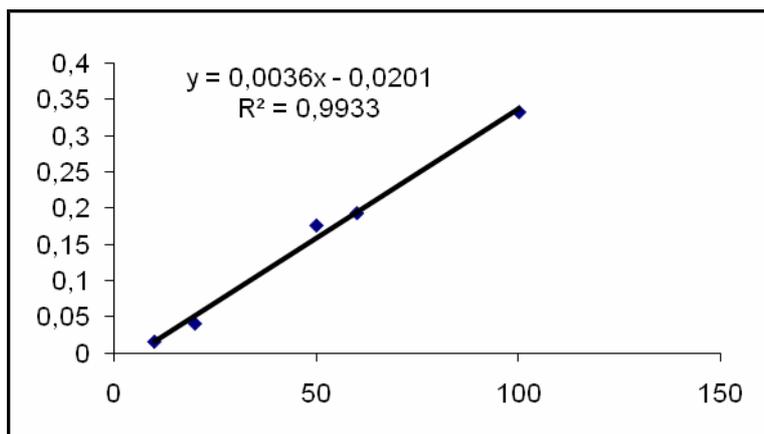
Leitura da Curva	Concentração (ppm)
0,016	10
0,041	20
0,176	50
0,193	60
0,332	100

155

156 A equação que definiu a reta padrão utilizada para determinar o teor residual de nitrito
 157 foi: $y = 0,0036x - 0,0201$, onde:

158 **X = concentração de nitrito em ppm;**

159 **Y = absorbância a 520 nm**



160

161

Para que fosse obtida a concentração desejada de nitrito na curva padrão foram pipetados 5 - 10 - 15 - 20 - 25 mL da solução padrão de nitrito contendo 0,01 mg/mL.

162

163

Tabela 2. Leitura da curva padrão no espectrofotômetro

Leitura da Curva	Concentração (ppm)
0,332	100
0,423	200
0,515	300
0,616	400
0,777	500

164

165

A equação que definiu a reta padrão utilizada para determinar o teor residual de nitrito

166

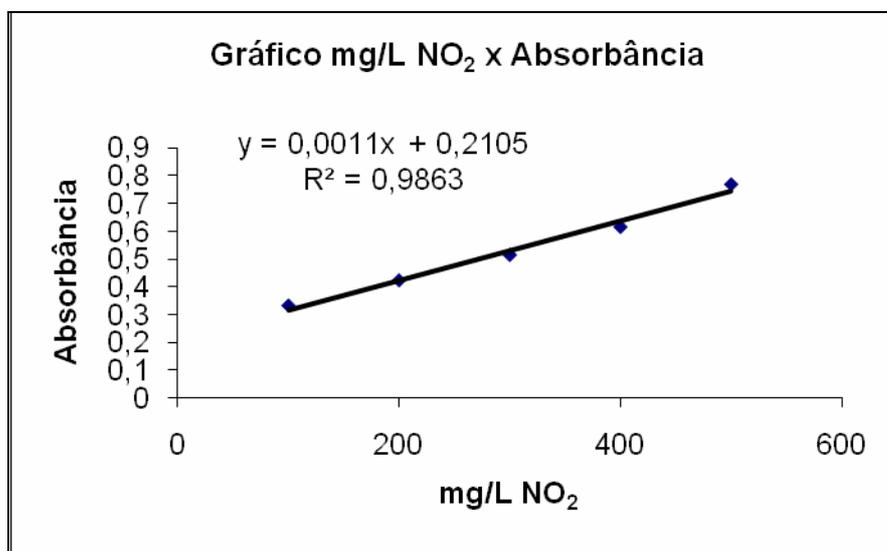
foi: $y = 0,0011x + 0,2105$, onde:

167

X = concentração de nitrito em ppm;

168

Y = absorbância a 520 nm.



169

170

Figura1: Curva Padrão de nitrito de sódio

171 **Resultados e Discussão:**

172 Baseado nas análises das amostras coletadas em Estabelecimentos e feiras-livres pode-
 173 se verificar (conforme quadro 1) que 12 amostras de linguiças cozidas sem inspeção (80%)
 174 obtiveram níveis de nitritos dentro dos padrões legais (≤ 150 ppm) e 3 de linguiças cozidas
 175 sem inspeção (20%) excederam esse limiar (amostras nº1, 3 e 5). No tocante as amostras
 176 provenientes de estabelecimentos com inspeção, pode-se constatar que 13 amostras de
 177 linguiças com inspeção (86,6%) apresentaram níveis aceitáveis de nitritos; entretanto, 2
 178 amostras de linguiças com inspeção (13,4%) superaram o limite legal de 150 ppm. A partir do
 179 teste não paramétrico de Mann-Whitney, pode-se verificar que não há diferença significativa
 180 entre os dois grupos Cozida inspecionada e Cozida não inspecionada ($p = 0,345$).

181 **Quadro 1:** Resultados das análises do teor residual de nitrito de sódio em linguiças cozidas
 182 colhidas em Estabelecimentos e feiras-livres do Estado do Rio de Janeiro

AMOSTRAS (N°)	INSPECIONADAS (ppm)	SEM INSPEÇÃO (ppm)
01	13,36	242,72
02	26,41	17,25
03	214,5	173,63
04	170,0	41,13
05	39,47	200,9
06	65,30	96,13
07	60,86	83,63
08	50,86	48,91
09	91,97	63,91
10	46,41	46,97
11	17,08	37,80
12	22,52	45,58
13	20,02	38,91
14	49,19	59,75
15	118,12	132,16

183

184 A literatura científica traz uma vasta informação a respeito tanto da pesquisa de nitrito
 185 residual em amostras biológicas, como da questão polêmica relacionada à formação de
 186 compostos n-nitrosos em função de seu potencial carcinogênico.

187 O limite preconizado pela legislação para utilização de sais de nitrato e nitrito em
188 alimentos como aditivo alimentar depende, em particular, do produto alimentício e da
189 legislação vigente de cada país.

190 No Brasil, o RIISPOA (BRASIL, 2008) estabelece que no produto pronto para
191 consumo, o teor de nitratos e nitritos, de sódio ou de potássio ou de qualquer combinação
192 entre eles, só pode ser feito em quantidades tais que, no produto pronto para o consumo, o
193 teor em nitrito não ultrapasse duzentas partes por milhão. Entretanto, o Ministério da Saúde,
194 até dezembro de 1998 permitia um limite máximo de 200 e 500 mg . Kg⁻¹ de nitrito e nitrato
195 respectivamente, reduzindo, a partir daquela data, para valores de 150 e 300 mg . Kg⁻¹
196 (BRASIL, 1999), respectivamente para nitrito e nitrato.

197 Lira et al. (2003) estudaram 81 amostras de produtos cárneos de diferentes marcas
198 comerciais, originadas de lotes diferentes, comercializados em Maceió – AL. Para o produto
199 “Jerked beef” encontraram valores de nitrito residual entre 0,3 a 0,5 ppm; para presunto,
200 teores de nitrito entre 1,7 a 3,5 ppm; em amostras de linguiça toscana valores de 0,5 a 1,6
201 ppm; em linguiças calabresas defumadas, um teor de 1,6 ppm e para amostras de mortadela
202 teores entre 0,3 a 1,7 ppm, todos abaixo do limite máximo residual de nitrito permitido pela
203 legislação brasileira.

204 Pinto (1998) avaliou os teores de nitrito em 19 amostras de linguiças “caseiras”
205 comercializadas no município de Araçatuba – SP. Destas amostras, somente uma apresentou
206 teor de nitrito acima do estabelecido pela legislação vigente na época (200 ppm). O autor
207 justifica este achado em função da falta de orientação por parte dos fabricantes e da
208 necessidade de uma fiscalização mais efetiva por parte das autoridades desse tipo de atividade
209 “artesanal”.

210 Em amostras de charque provenientes de estabelecimentos comerciais do estado do
211 Rio de Janeiro, classificados como A (grandes redes de supermercados) e B (pequenos
212 comerciantes), Mársico et al. (2002) evidenciaram que 41,67% das amostras provenientes de
213 estabelecimentos “A” apresentaram teor de nitrito acima de 50 ppm. Das amostras obtidas em
214 pequenos estabelecimentos varejistas, 33,3% apresentaram teor de nitrito acima de 50 ppm,
215 ambas contrariando a legislação que proíbe o uso de nitrito no processamento do charque.

216 Em 1990, Souza, Faleiros e Souza avaliaram teores de nitrito em 20 marcas de
217 salsichas e 19 marcas de mortadela, comercializadas na cidade de Jaboticabal – SP. Cerca de
218 20% das salsichas e 16% das mortadelas apresentaram teores superiores ao limite
219 estabelecido, na época, de 200 ppm, indicando que os fabricantes não estavam atentos às

220 recomendações dos órgãos governamentais quanto ao uso destes sais na formulação destes
221 produtos.

222 Melo Filho e Biscontini (2002) analisaram nitrito residual em salsichas
223 comercializadas na região metropolitana do Recife – PE, elaboradas por indústrias oriundas
224 do sul do país, da região Nordeste e em amostras de salsichas sem procedência, identificadas
225 como comercializadas em feiras livres. Os autores concluíram que 67% das salsichas obtidas
226 em feiras livres apresentavam teor acima do limite máximo permitido, de 150 ppm de nitrito
227 de sódio, indicando uma possível fraude no processamento tecnológico, com uso excessivo
228 deste produto.

229 Analisando linguiças clandestinas comercializadas em Marília – SP, Manhoso e Rudge
230 (1999) constataram que apenas 10% das amostras excederam o limite de nitrito permitido pela
231 legislação.

232 Komatsu, Takino e Galli (1977) analisaram 510 marcas de embutidos diversos,
233 coletados em supermercados e frigoríficos de São Paulo e não encontraram nenhum valor
234 excedendo a 200 ppm, fato este que denota uma eficiência tecnológica e atuação eficaz dos
235 órgãos fiscalizadores em nível de indústria.

236 Souza, Faleiros e Souza (1990) avaliaram 110 amostras de embutidos cárneos,
237 pesquisando teores de nitratos e nitritos. Os produtos apresentavam diferentes procedências,
238 sendo constatado que apenas 6 produtos analisados encontravam-se com índices superiores
239 aos permitidos, sendo que estes foram considerados impróprios para o consumo.

240 Trabalhando com amostras de linguiças oriundas de estabelecimentos com SIF, Leite
241 (1989) não verificou níveis superiores aos permitidos oficialmente. Este autor observou ainda
242 que a média encontrada nas amostras analisadas foi de 59,50 ppm.

243 Silva, Santos e Brito (2003) pesquisaram nitrito em 6 amostras de linguiças caseiras e
244 4 amostras industrializadas, comercializadas na cidade de Natal - RN. Estes autores
245 observaram que nas amostras industrializadas, todas apresentaram valores no limite
246 especificado pelo Ministério da Saúde. Nas linguiças caseiras evidenciaram ausência de
247 nitrito residual. Os autores justificaram que nas linguiças caseiras não foi detectado nitrito
248 residual, possivelmente devido há duas hipóteses. Na primeira, não teria sido realizada a
249 adição do nitrito, o que pode permitir o desenvolvimento do *Clostridium botulinum*,
250 provavelmente tendo sido utilizado sistema de salga e/ou resfriamento como métodos de
251 conservação. Na segunda hipótese, teria sido realizada a adição, e o nitrito teria sido
252 “degradado” não sendo detectado.

253 Nitriini et al. (2000) realizaram uma pesquisa com a finalidade de verificar as
254 concentrações de nitritos e nitratos em alimentos curados, especificamente linguiças do tipo
255 calabresa, comercializadas em açougues localizados na região urbana de Bragança Paulista.
256 Os resultados obtidos mostraram que 60% das amostras apresentaram níveis de nitritos
257 superiores a 200 ppm. Os autores salientam que seria importante para a saúde do consumidor
258 que se estabelecesse um programa de orientação ao fabricante de linguiças, sobre o risco do
259 uso inadequado de nitritos e nitratos como conservantes em alimentos. Isto levaria a um
260 controle de qualidade natural de seus produtos e as normas legais vigentes seriam atendidas.

261 Tavares et al. (1987), em um estudo para determinação de nitritos e nitratos em
262 linguiças e outros produtos cárneos, comercializados na região metropolitana de São Paulo,
263 encontraram 27% das linguiças analisadas com concentrações de nitritos e nitratos superiores
264 a 200 ppm.

265 Souza, Faleiros e Souza (1985), ao analisarem 50 amostras de embutidos diversos,
266 comercializados em Jaboticabal – SP, os produtos mostraram níveis de nitrito de sódio
267 superiores a 200 ppm em 60% das salsichas, 50% das linguiças frescas, 30% das mortadelas,
268 20% dos presuntos e 10% dos salames.

269 Analisando 60 amostras de linguiça tipo frescal suína comercializadas em Belo
270 Horizonte – MG, Ferrão, Santos e Versiani (1999) verificaram que o limite oficial foi
271 ultrapassado em 13,33% nos produtos com inspeção; em 3,23% nas linguiças suínas sem
272 inspeção; em 23,33% nas linguiças mistas com inspeção e em 6,67% nas linguiças mistas sem
273 inspeção, caracterizando uma necessidade de um maior rigor tanto no processo tecnológico
274 como na inspeção.

275 Oliveira et al. (1995), em um estudo para quantificar os sais de nitrato e nitrito em
276 linguiças do tipo frescal, verificaram que a maioria dos valores obtidos estavam dentro do
277 limite oficial, porém 7,1% das linguiças do tipo frescal de frango e de pernil ultrapassaram os
278 padrões oficiais para nitrato (300 ppm) e nitrito (150 ppm) estabelecidos pela legislação. Estes
279 autores sugerem a necessidade de um controle mais rigoroso por parte dos órgãos oficiais de
280 inspeção a fim de evitar riscos à Saúde Pública.

281 Ximenes et al. (1998), estudando teores de nitrito residuais em produtos
282 comercializados no Distrito Federal, encontraram valores bem superiores ao permitido pelas
283 normas em amostras de linguiças suína (530 ppm) e de frango (220 ppm).

284
285
286

287 Conclusões:

288 De acordo com os resultados obtidos 16,7% das amostras apresentaram quantidades
289 excessivas de nitrito, podendo ocasionar problemas de saúde aos consumidores. A violação do
290 teor de nitritos foi maior nas linguiças cozidas não inspecionadas do que nas amostras
291 inspecionadas. Entretanto, todas as amostras seriam consideradas impróprias para consumo
292 devido ao não cumprimento da legislação na produção e comercialização desse produto.

293 Tornam-se necessárias medidas de controle e educação sanitária por parte dos órgãos
294 governamentais para minimizar este problema de Saúde Coletiva.

295

296 Referências Bibliográficas

297 AOAC *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*,
298 Method 982.22 (16th ed.), Gaithersburg, 1997.

299

300 BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária.
301 Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Regulamento da Inspeção*
302 *Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)*. Aprovado pelo decreto
303 n.30.691, 29/03/52, alterados pelos decretos n.1255 de 25/06/62, 1236 de 01/09/94, 1812 de
304 08/02/96, 2244 de 04/06/97. Brasília, 2008. 241p.

305

306 _____. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Regulamento Técnico de Atribuição
307 de Função de Aditivos, e seus Limites Máximos de Uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos
308 Cárneos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 22 mar. 1999.

309

310 FERRÃO, S.P.B.; SANTOS, W.L.M; VERSIANI, C.V. Determinação de nitritos em
311 linguiças frescas comercializadas em Belo Horizonte – M.G. *Higiene Alimentar*, São Paulo,
312 v. 13, n. 61, abril/maio 1999.

313

314 KOMATSU, I.; TAKINO, M.; GALLI, F. O teor de nitrito e nitrato nos produtos cárneos
315 fabricados no estado de São Paulo. *Ciência Cultural*, v. 29, p. 124-126, 1977.

316

317 LEITE, O.A. *Aspectos físico-químicos de interesse higiênico-sanitário e tecnológico de*
318 *linguiças frescas*. Niterói, 1989. 67 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e
319 Processamento Tecnológico de POA) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal
320 Fluminense, Niterói, 1989.

321

322 LIRA, G.M.; NETA, M.L.S.; SOUZA, J.B.; BARROS, E.S. Teores de nitrito de sódio em
323 produtos cárneos comercializados em Maceió – AL. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 62, n. 3,
324 p. 165-170, 2003.

325

326 MANHOSO, F.F.R.; RUDGE, A.C. Aspectos microbiológicos, físico-químicos e histológicos
327 das lingüiças tipo frescal comercializadas no município de Marília/SP. *Higiene Alimentar*,
328 São Paulo, v. 13, n. 61, p. 44, 1999.

329

330 MÁRSICO, E.T.; MANO, S.B.; SOUZA, E.R.; LIBANIO, K.R.; GARRIDO, V.S.
331 Determinação do teor de umidade e presença de nitrito em amostras de charque. *Revista*
332 *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.16, n.94, p. 45-49, 2002.

333

334 MELO FILHO, A.B.; BISCONTINI, T.M.B. Nitrito residual em salsichas comercializadas na
335 região metropolitana do Recife. In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E
336 TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2002. *Anais...*, 2002. p. 59-62.

337

338 NITRINI, S. M. O. O., TOLEDO, F. C. P., FREIRE, J. J. B., RODRIGUES, A. P. O.,
339 NOGUEIRA, H. R., MONTI, E. J. Determinação de nitritos e nitratos em lingüiças
340 comercializadas na região de Bragança Paulista. *Lecta: Bragança Paulista*, v.18, n.1, p.91-96,
341 jan./jun.2000.

342

343 OKAFOR, P. N.; OGBONNA, V. I. Nitrate and nitrite contamination of water sources and
344 fruit juices marketed in south-eastern Nigeria. *Journal of Food Composition and Analysis*, v.
345 16, p. 213-218, 2003.

346

347 OLIVEIRA, C.P.; GLÓRIA, M.B.A.; BARBOUR, J.F.; SCALAN, R.A. Nitrate, nitrite, and
348 volatile nitrosamines in whey-containing food products. *Journal of Agricultural and Food*
349 *Chemistry*, v.43, p.967-969, 1995.

350

351 PINTO M.F. Teores de nitrito em lingüiça “caseira” comercializada no município de
352 Araçatuba-SP. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
353 ALIMENTOS, 1998, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 1998, v. 01, 1998, p. 392-395

354

- 355 SILVA, D. G. K; SANTOS, M. E. T.; BRITO, G. Q. Determinação de nitrito residual em
356 lingüiças caseiras e industrializadas comercializadas na cidade do Natal. *Revista Saúde Natal*,
357 v.17, n.2, p. 13-17, 2003.
- 358
- 359 SOUZA, P.A.; FALEIROS, R.R.S.; SOUZA, H.B.A Dosagem de nitrito e nitrato em produtos
360 embutidos de carne. *Alimentos e Nutrição*, v. 2, p. 21-26, 1985.
- 361
- 362 _____. Dosagem de nitrito e nitrato em produtos embutidos de carne. *Alimentação e*
363 *Nutrição*, São Paulo, v. 2, p. 27-34, 1990a.
- 364
- 365 TAVARES, M.; ZANELATTO, A. M.; CARVALHO, J. B.; BACETTI, L. B. ;
366 TAKAHASHI, M. Y.; AUED, S. Determinação de nitritos e nitratos em lingüiça e outras
367 conservas de carne comercializadas na região metropolitanas de São Paulo. *Revista Instituto*
368 *Adolfo Lutz*, São Paulo, v.47, n. 1/2, p. 5-10, 1987.
- 369
- 370 XIMENES, M.I.N.; RODRIGUES, G.M.; MARQUES, S.R.M.N. Teor residual de nitrato e
371 nitrito em produtos cárneos curados, comercializados no Distrito Federal. In: *Revista de*
372 *Saúde do Distrito Federal*, v. 9, n. 2, abr./jun. 1998.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que 22% das amostras analisadas estavam em desacordo com a legislação vigente, ultrapassando o limite de 150 ppm de nitrito para o produto acabado.
- ✓ Teor de nitrito residual acima do permitido pela legislação pode causar danos à saúde do consumidor.
- ✓ As amostras analisadas inspecionadas com teor de nitrito acima do permitido pela legislação indicam falhas no Serviço de Inspeção Sanitária, sendo necessária aplicação dos procedimentos de controle nas Indústrias.
- ✓ É necessário que a Vigilância Sanitária tenha ação efetiva, retirando do comércio produtos cárneos embutidos sem inspeção veterinária.
- ✓ Promover o monitoramento através coleta de amostras no comércio varejista, implantando Programa de Monitoramento de Aditivos Intencionais em Lingüiça, uma vez que, entre os demais produtos cárneos embutidos, representa o de maior produção no País.
- ✓ Instar as autoridades sanitárias, responsáveis pela elaboração e publicação do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Lingüiça, a descrição em seus itens estabelecendo a permissão ou não do uso do nitrito, uma vez que, a redação contida na legislação não estabelece de forma explícita o seu uso.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes Industrializadas. Balanço da Pecuária Bovídea de Corte (1994-2007), 2008. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br>>. Acesso em 24 novembro2008.

ANDRADE, R. *Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato, nitrito e N-nitrosaminas em produtos cárneos*. Campinas, 2004. 201f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ARCHER, D.L. Evidence that ingested Nitrate and Nitrite are beneficial to health. *Journal of Food Protection*, v. 65, n. 5, p. 872-875, 2002.

AOAC *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, Method 982.22 (16th ed.), Gaithersburg, 1997.

ATANASOVA-GORANOVA, V.K.; DIMOVA, P.L.; PEVICHAROVA, G.T. Effect of food products on endogenous generation of N-nitrosamines in rats. *British Journal of Nutrition*, v.78, p.335-345, 1997.

BARTSCH, H.; MONTESANO, R. Relevance of nitrosamines to human cancer. *Carcinogenesis*, v.5, p.1381-1393, 1984.

BIAUDET, H.; MAVELLE, T.; DEBRY, G. Mean daily intake of nitrosodimethylamine from food and beverages in France in 1987-1992. *Food and Chemical Toxicology*, v.32, n.5, p.417-421, 1994.

BINSTOK, G. Sorbate-nitrite reactions in meat products. *Food Research International*, v.31, n.8, p.581-585, 1998.

BRANCO, S. M., ROCHA, A. A. *Poluição, proteção e usos múltiplos de represas*. São Paulo: CETESB, 1977. 185p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Regulamento da Inspeção*

Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Aprovado pelo decreto n.30.691, 29/03/52, alterados pelos decretos n.1255 de 25/06/62, 1236 de 01/09/94, 1812 de 08/02/96, 2244 de 04/06/97. Brasília, 2008. 241p.

_____. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos, e seus Limites Máximos de Uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos Cárneos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 22 mar. 1999.

_____. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de lingüiça. Anexo III - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Lingüiça. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 05 abr. 2000.

BRESSAN, M.C.; PEREZ, J. R. O. *Tecnologia de Carnes e Pescado*. Lavras: UFLA/FAEPE, Textos acadêmicos, 2001. 240 p.

BRUNING-FANN, C.S., KANEENE, J.B. The effects of nitrate, nitrite, and n-nitroso compounds on human health: a review. *Veterinary and Human Toxicology*, v.35, p.521-538, 1993.

CASSENS, R.G.; WOOLFORD, G.; LEE, S. H. You tefongea, R. Proc. 2nd Int. Symp. *Nitrate Meat Prod*. Zeist, Produc, Wagenigen, The Netherlands, 1978.

CASSENS, R.G. Composition and safety of cured meats in the USA. *Food Chemistry*, v.59, n.4, p.561-566, 1997.

CHEN, H.; FANG, Y.; NA, T.; JIN, X. Flow-injection catalytic spectrophotometric determination of trace amounts of nitrite. *Analytical Letters*, v.32, n.14, p.2887-2897, 1999.

CORNÉE, J.; LAIRON, D.; VELEMA, J.; GUYADER, M.; BERTHEZENE, P. An estimate of nitrate, nitrite and N-nitrosodimethylamine concentrations in French food products of food groups. *Sciences Des Aliments*, v.12, v.155-197, 1992.

CORTAS, N.K.; WAKID, N.W. Pharmacokinetics aspects of inorganic nitrate ingestion in man. *Pharmacology and Toxicology*, v.68, p.192-193, 1991.

CRADDOCK, V.M. Aetiology of oesophageal cancer: some operative factors. *Europeun Journal of Cancer Prevention*, v.1, p. 89-103, 1992.

DOUGLASS, M.L.; KABACOFF, B.L.; ANDERSON, G.A.; GHENG, M.C. The chemistry of nitrosamine formation, inhibition and destruction. *Journal of Society of cosmetic chemists*, v.29, p581-606, 1978.

EDDY, B.P.; INGRAM, M. A salt-tolerant denitrifying Bacillus strain which “blows” canned bacon. *J. Appl. Bacteriol.*, v.19, p.62-70, 1956.

EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the commission related to the effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products. *The EFSA Journal*, v. 14, p. 1-34, 2003.

ELLIOTT, R.J.; PORTER, A.G. A rapid cadmium reduction method for the determination of nitrate in bacon and curing brines. *Analyst*, v.96, p.522-527, 1971.

ENSAFI, A.A.; KAZEMZADEH, A. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in various samples using flow injection with spectrophotometric detection. *Analytica Chimica Acta*, v.382, p.15-21, 1999.

FERRÃO, S.P.B.; SANTOS, W.L.M.; VERSIANI, C.V. Determinação de nitritos em lingüiças frescas comercializadas em Belo Horizonte – M.G. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 13, n. 61, abril/maio 1999.

FERREIRA, I.M.P.L.V.O.; LIMA, J.L.F.C.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M.; OLMOS, R.P.; RIOS, A. Simultaneous assay of nitrite, nitrate and chloride in meat products by FIA. *Analyst*, v. 121, n. 10, p. 1393-1396, 1996.

FOLLET, M.J.; RATCLIFF, P.W. Determination of nitrite and nitrate in meat products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.14, p.138-144, 1963.

FRIDMAN, A.L.; MUKHAMETSHIN F.M.; NOVIKOV, S.S. Advances in the chemistry of aliphatic N-nitrosamines. *Russian Chemical Reviews*, v.40, p.30, 1971.

GLÓRIA, M.B.A., BARBOUR, J.F., SCANLAN, R.A. Volatile nitrosamines in fried bacon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.45, p.1816-1818, 1997.

GOUGH, T.A.; GOODHEAD, K.; WALTERS, G.L. Distribution of some volatile nitrosamines in cooked bacon. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.27, p.181-185, 1976.

GRY, J.; DAMM RASMUSSEN, N.J.; KLINTH JENSEN, W.; BRANDT, I.G.; FABECH, B. *Investigations on effects of nitrite in commercially prepared Danish cured meat products. A report of The Federation of Danish Pig Producers and Slaughterhouses and the National Food Agency of Denmark.* 1983.

HAGHIGHI, B.; TAVASSOLI, A. Flow injection analysis of nitrite by gas phase molecular absorption UV spectrophotometry. *Talanta*, v.56, n.1, p. 137-144, 2002.

HAVERY, D. C.; FAZIO, T. Human exposure to nitrosamines from foods. *Food Technology*, v. 39, p. 80-83, 1985.

HILL, L.H.; WEBB, N.B.; MONGOL, L.D.; ADAMS, A.T. Changes in residual nitrite in sausages and luncheon meat products during storage. *J. Milk Food Technol.*, v.36, p. 515-519, 1973.

HILTON, J.; RIGG, E. Determination of nitrate in lake water by the adaptation of the hydrazine-copper reduction method for use on a discrete analyser: performance statistics and an instrument-induced difference from segmented flow conditions, *Analyst*, v.108, n.1289, p.1026-1028, 1983.

HOTCHKISS, J.H.; HELSER, M.A.; MARAGOS, C.M.; WENG, Y.M. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *Food Safety and Biological Implications*. ASC Symposium Series 484, Washington, DC, American Chemical Society, 1992.

IFT- Institute of Food Technologists – Scientific status summary - Nitrate, nitrite, and nitroso compounds in Foods. *Food Technology*, v.41, n.4, p.127-134, 1987.

JAFFÉ, E.E. Methaemoglobinaemia. *Clinics Haematology*, v.10, p. 99-122, 1981.

JUDGE, M.D.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C. *Principles of Meat Science*. 3 ed. Published by Kendall/Hunt Publishing Co., 1989, 351 p.

KAZEMZADEH, A.; ENSAFI, A. A. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in various samples using flow-injection spectrophotometric detection. *Microchemical Journal*, v.69, p.159-166, 2001.

KIM, H.J.; CHANG, W.K.; KIM, M.K.; LEE, S.S.; CHOI, B.Y. Dietary Factors and Gastric Cancer in Korea: A Case-Control Study. *International Journal of Cancer*, v.97, p.531-535, 2002.

KNIGHT, T.M.; FORMAN, D.; AL-DABBAGH, S.A; DOLL, R. Estimation of dietary intake of nitrate and nitrite in Great Britain. *Food and Chemical Toxicology*, v.25, n.4, p.227-235, 1987.

KOMATSU, I.; TAKINO, M.; GALLI, F. O teor de nitrito e nitrato nos produtos cárneos fabricados no estado de São Paulo. *Ciência Cultural*, v. 29, p. 124-126, 1977.

KOUPPARIS, M.A., WALCZAK, K.M.; MALMSTADT, H.V. Kinetic determination of nitrite in water by using a stopped-flow analyzer. *Analyst*, v.107, p.1309-1315, 1982.

LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y.; SILVEIRA, N. Determinação de nitritos e nitratos em conservas de carne. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 38, n. 2., p. 161-166, 1978.

LEITE, O.A. *Aspectos físico-químicos de interesse higiênico-sanitário e tecnológico de lingüiças frescas*. Niterói, 1989. 67 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de POA) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1989.

LEVALLOIS, P.; AYOTTE, P.; VAN MAANEN, J.M.S; DESROSIERS, T.; GINGRAS, S.; DALLINGA, J.W.; VERMEER, I.T.M.; ZEE, J.; POIRIER, G. Excretion of volatile nitrosamines in a rural population in relation to food and drinking water consumption. *Food and Chemical Toxicology*, v.38, p.1013-1019, 2000.

LIRA, G.M.; NETA, M.L.S.; SOUZA, J.B.; BARROS, E.S. Teores de nitrito de sódio em produtos cárneos comercializados em Maceió – AL. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 62, n. 3, p. 165-170, 2003.

MAGEE, P.N.; BARNES, J.M. Carcinogenic N-nitroso compounds. *Advances in Cancer Research*, v.10, p.164-246, 1967.

MANHOSO, F.F.R.; RUDGE, A.C. Aspectos microbiológicos, físico-químicos e histológicos das lingüiças tipo frescal comercializadas no município de Marília/SP. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 13, n. 61, p. 44, 1999.

MÁRSICO, E.T.; MANO, S.B.; SOUZA, E.R.; LIBANIO, K.R.; GARRIDO, V.S. Determinação do teor de umidade e presença de nitrito em amostras de charque. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.16, n.94, p. 45-49, 2002.

McKNIGHT, G.M; DUNCAN, C.W.; LEIFERT, C.; GOLDEN, M.H. Dietary nitrate in man: friend or foe? *British Journal of Nutrition*, v.81, p.349-358, 1999.

MELO FILHO, A.B.; BISCONTINI, T.M.B. Nitrito residual em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2002. *Anais...*, 2002. p. 59-62.

MIRANDA, S. H. G.; MOTTA, M. A. S. B. *Exportação de carne bovina brasileira: evolução por tipo e destino*. 2001. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/>>. Acesso em: 02 março 2006.

MIRVISH, S.S. Experimental evidence for inhibition of N-Nitroso compound formation as a factor in the negative correlation between vitamin C consumption and the incidence of certain cancers. *Cancer Research (Supp.)*, v.54, p. 1948-1951, 1994.

MIRVISH, S.S, GREENBLATT, M., KOMMINENI, V.R.C., Nitrosamine formation in vivo: Induction of lung adenomas in Swiss mice by concurrent feeding of nitrite and methylurea or ethylurea. *Journal of the National Cancer Institute*, v.48, p.1311-1315, 1972.

MITACEK, E.J.; BRUNNEMANN, K.D.; SUTTAJIT, M.; MARTIN, N.; LIMSILA, T.; OHSHIMA, H.; CAPLAN, L.S. Exposure to N-nitroso compounds in a population of high liver cancer regions in Thailand: Volatile nitrosamine (VNA) levels in Thai food. *Food and Chemical Toxicology*, v.37, p.297-305, 1999.

MOORCROFT, M.J.; DAVIS, J.; COMPTON, R.G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. *Talanta*, v.54, p.785-803, 2001.

NITRINI, S. M. O. O., TOLEDO, F. C. P., FREIRE, J. J. B., RODRIGUES, A. P. O., NOGUEIRA, H. R., MONTI, E. J. Determinação de nitritos e nitratos em lingüiças comercializadas na região de Bragança Paulista. *Lecta: Bragança Paulista*, v.18, n.1, p.91-96, jan./jun.2000.

OKAFOR, P. N.; OGBONNA, V. I. Nitrate and nitrite contamination of water sources and fruit juices marketed in south-eastern Nigeria. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 16, p. 213-218, 2003.

OLIVEIRA, C.P.; GLÓRIA, M.B.A.; BARBOUR, J.F.; SCALAN, R.A. Nitrate, nitrite, and volatile nitrosamines in whey-containing food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.43, p.967-969, 1995.

- OLMEDO, R.G.; BOSCH, N.B. Aspectos Toxicologicos de la presencia de nitratos y nitritos en los productos hortícolas cocidos y en su agua de cocción. *Alimentaria*, v.25, n.191, p.71-75, 1988.
- PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. *Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne*. Niterói, RJ: EDUFF, 1996, 1110p.
- PEARSON, A. M.; GILLET, T. A. *Processed meats*. New York: Chapman & Hall, 1996. 448p.
- PEGG, R.B.; SHAHIDI, F. *Nitrite curing of meat*. Food e Nutrition Press. Inc. Trumbell, Connecticut 0611 USA. 2000.
- PÉREZ-RODRIGUEZ, M.L.; BOSCH-BOSCH, N.; GARCÍA-MATA, M. Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage. *Meat Science*, v. 44, n. 1, p. 65-73, 1996.
- PIERSON, M.D.; SMOOT, L.A. Nitrite, nitrite alternatives, and the control of *Clostridium botulinum* in cured meats. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 17, p.141-187, 1982.
- PINTO M.F. Teores de nitrito em lingüiça “caseira” comercializada no município de Araçatuba-SP. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 1998, v. 01, 1998, p. 392-395.
- POPPER, I.; CARLOS, M. A.; FIGUEIREDO, B.; GARCIA, S.; PINTO, M. P.; SILVA, A.C.; SOUSA, I.F.; PRIMO, C. B. B.; BORGES, R. Avaliação da formulação de linguiças tipo frescal coletadas no Município de Londrina, quanto aos teores de gordura, proteína e água. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2000, Fortaleza. *Anais...* Ceará, 2000.
- PREUSSMANN, R., STEWART, B.W., N-nitrosocarcinogens. *ACS Monographs*, v.182, p.643-828, 1984.
- PURVES, W.K.; SADAVA, D.; ORIAN, G.H.; HELLER, H.C. Life, *The Science of Biology*, 6 ed. Sinauer e Freeman, Massachusetts, USA, 2001. 1044 p.
- REYES, F.G.R.; SCANLAN, R.A. N-nitrosaminas: Formação e ocorrência em alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v.18, n.4, p.299-309, 1984.
- ROCHE, M.O.G.; MELIAN, M.G.; PEREZ, R.C. *Nitratos, nitritos y compuestos de N-nitroso*. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, OPS, OMS, Metepec, Estado de México, México, Serie Vigilancia, 13, 1994.
- RYWOTYCKI, R. Meat nitrosamine contamination level depending on animal breeding factors. *Meat Science*, v. 65, n.1, p.669-676, 2003.
- SCANLAN, R.A. Formation and occurrence of nitrosamines in food. *Cancer Research*, v.43, p.2435-2439, 1983.

SEN, N.P.; BADDOO, P.A.; SEAMAN, S.W. Rapid and sensitive determination of nitrite in food and biological material by flow injection or high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Journal of chromatography A*, v.673, p.73-74, 1994.

SHEPHARD, S. *Pickled, potted and canned*. *Headline Book*. Publishing, London. 2000.

SIDDIQI, M.; KUMAR, R.; FAZILI, Z.; SPIEGELHALDER, B.; PREUSSMANN, R. Increased exposure to dietary amines and nitrate in a population at high risk of oesophageal and gastric cancer in Kashmir (India). *Carcinogenesis*, v.13, p.1331-1335, 1992.

SILLIKER, J.H.; GREENBERG, R.A.; SCHACK, W.R. Effect of individual curing ingredients on the shelf stability of canned comminuted meats. *Food Technol.*, v.12, p. 551-554, 1958.

SILVA, D. G. K; SANTOS, M. E. T.; BRITO, G. Q. Determinação de nitrito residual em lingüiças caseiras e industrializadas comercializadas na cidade do Natal. *Revista Saúde Natal*, v.17, n.2, p. 13-17, 2003.

SOUZA, P.A.; FALEIROS, R.R.S.; SOUZA, H.B.A Dosagem de nitrito e nitrato em produtos embutidos de carne. *Alimentos e Nutrição*, v. 2, p. 21-26, 1985.

_____. Dosagem de nitrito e nitrato em produtos embutidos de carne. *Alimentação e Nutrição*, São Paulo, v. 2, p. 27-34, 1990 a.

_____. Avaliação química de algumas marcas de salsichas e mortadelas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.10, n. 1, p.109-119, 1990b.

STEFANI, E.; RONCO, A.; BRENNAN, P.; BOFFETTA, P. Meat Consumption and Risk of Stomach Cancer in Uruguay: A Case-Control Study. *Nutrition and Cancer*, v.40, n.2, p. 103-107, 2001.

SU, XIAO-LI; CHEN, P.; QU, XIAO-GE; WEI, WAN-ZHI; YAO, SHOU-ZHUO. A Novel Flow-Injection System for Simultaneous Determination of Nitrate and Nitrite Based on the Use of a Zinc Reductor and a Bulk Acoustic Wave Impedance Detetor. *Microchemical Journal*, v.59, n.3, p. 341-350, 1998.

SWANN, P.F. The Toxicology of Nitrate, Nitrite and N-nitroso Compounds. *Journal of Science of Food and Agriculture*, v.26, p. 1761-1770, 1975.

TAKAHASHI, G. Ingredientes e suas funções em produtos cárneos. In: CURSO INTERNACIONAL SOBRE TECNOLOGIA DA CARNE, 1979, Campinas: ITAL. 517p.

TAKEDA, K.; FUJIWARA, K. Determination of nitrate in natural waters with the photo-induced conversion of nitrate to nitrite. *Analytica Chimica Acta*, v.276, n.1, p. 25-32, 1993.

TARR, H.L.A. Action of nitrates and nitrites on bacteria. *J. Fish. Res. Board Can.*, v.6, p. 233-240, 1944.

TAVARES, M.; ZANELATTO, A. M.; CARVALHO, J. B.; BACETTI, L. B.; TAKAHASHI, M. Y.; AUED, S. Determinação de nitritos e nitratos em lingüiça e outras

conservas de carne comercializadas na região metropolitanas de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, v.47, n. 1/2, p. 5-10, 1987.

TERRY, P.; TERRY, J.B.; WOLK, A. Fruit and vegetable consumption in the prevention of cancer: an update. *Journal of International Medicine*, v.250, p.280-290, 2001.

TOLEDO, M. C. F. Aditivos para alimentos: aspectos toxicológicos. *Revista Nacional da Carne*, n. 239, ano XXI, p. 42-43, 1997.

TOMPKIN, R.B. Nitrite chapter in *Antimicrobials in Foods*. 3 ed. New York: P.M. Davidson and A.L. Branen. Marcel Dekker, 2004.

USHER, C.D., TELLING, G.M. Analysis of nitrate and nitrite in foodstuffs: A critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.26, p.1793-1805, 1975.

VANNUCCI, R. H. M. *Influência dos tipos de envoltórios, embalagens e temperatura de estocagem na estabilidade da mortadela*. 1999. 104f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

VAN STADEN, J.F. Automated simultaneous determination of nitrate and nitrite by pre-valve reduction of nitrate in a flow-injection system. *Analytica Chimica Acta*, v.138, p.403-408, 1982.

VELASCO-ARJONA, A.; GARCÍA-GARRIDO, J.A.; QUILES-ZAFRA, M.D.; LUQUE DE CASTRO, M.D. Full automated robotic method for the determination of chloride, nitrite and nitrate in cured meat products. *Talanta*, v.46, p. 969-976, 1998.

VIEIRA, P. Pesquisa e desenvolvimento driblam os defeitos mais comuns em embutidos. *Revista Nacional da Carne*, n.273, ano 35, p.80-84, 1999.

WALKER, R. Naturally occurring nitrate/nitrite in foods. *Journal of Science of Food and Agriculture*, v.26, p.1735-1742, 1975.

_____. Nitrates, nitrites and N-nitroso compounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Additives and Contaminants*, v.7, p. 717-768, 1990.

WALTERS, C.L.; SMITH, P.L.; REED, P.I. *Pitfalls to avoid in determining N-nitroso compounds as a group*. In: O'Neill, I.K.; Von Borstel, R.C.; Miller, C.T.; Long, J. and Bartsch, H., eds. *N-nitroso Compounds: Occurrence, Biological Effects and Relevance to Human Cancer* (IARC Scientific Publications No.57), Lyon, International Agency for Research on Cancer, p. 113-119, 1984.

WALTERS, C.L. Reactions of nitrate and nitrite in foods with special reference to the determination of N-nitroso compounds. *Food Additives and Contaminants*, v.9, n.5, p.441-447, 1992.

WHO. Food Additives Series No 5. *Nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds*. Forty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 1978.

_____. Food Additives Series No 35. *Toxicological Evaluation of Certain Food Additives*. Forty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 1996.

_____. Food Additives Series No 50. *Safety Evaluation of Certain Food Additives*. Fifty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 2003.

WU, Y.; CHEN, J.; OHSHIMA, H.; PIGNATELLI, B.; BOREHAM, J.; L.I., J.; CAMPBELL, T.C.; PETO, R.; BARTSCH, H. Geographic Association between urinary Excretion of N-Nitroso Compounds and Oesophageal Cancer mortality in China. *International Journal of Cancer*, v. 54, p. 713-719, 1993.

XIMENES, M.I.N.; RODRIGUES, G.M.; MARQUES, S.R.M.N. Teor residual de nitrato e nitrito em produtos cárneos curados, comercializados no Distrito Federal. In: *Revista de Saúde do Distrito Federal*, v. 9, n. 2, abr./jun. 1998.

ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA VETERINÁRIA

A Revista Brasileira de Ciência Veterinária é um periódico destinado a publicações de artigos originais, comunicações científicas, notas prévias e de pesquisa, e editoriais.

A submissão de um manuscrito à Revista Brasileira de Ciência Veterinária requer que este não tenha sido publicado anteriormente (exceto na forma de resumo) e que não esteja sendo considerado para publicação por outra revista. A veracidade das informações e das citações bibliográficas é de responsabilidade exclusiva dos autores.

Todo o material deve ser enviado para a Produção Editorial, Faculdade de Veterinária, Rua Vital Brazil Filho, 64. Vital Brazil. Niterói/RJ. 24.230-340. Brasil.

Os manuscritos (modelo) que não estiverem de acordo com estas instruções serão imediatamente devolvidos.

Os manuscritos serão analisados por pelo menos dois pareceristas. A aprovação dos trabalhos será baseada no conteúdo científico e na apresentação.

Os trabalhos devem ser redigidos em português, espanhol ou inglês, apresentados em três vias, em página tamanho A4, com margens superior, inferior, direita e esquerda de 3,0 cm, paginadas no canto superior direito, em espaço duplo e letra arial tamanho 12. O material eletrônico (disquete 3,5 ou CD) deve ser enviado junto com os trabalhos impressos. Concomitantemente ao envio pelo correio, uma cópia do manuscrito deverá ser encaminhada para o e-mail: rbcv@vm.uff.br.

Os artigos científicos devem conter: Título, Nome do autores, Título em inglês, "Resumo", "Palavras-chave", "Abstract", "Keywords", "Introdução", "Material e métodos", "Resultados",

"Discussão", "Conclusão" e "Referências". As seções "Resultado" e "Discussão" e "Discussão" e "Conclusão" podem ser apresentadas em conjunto.

Título: preferencialmente de no máximo três linhas impressas (250 letras e caracteres, incluindo espaços). Negrito e em caixa baixa.

Nome dos autores devem vir abaixo do título do trabalho, por extenso, caixa baixa e com indicações numéricas sobrescritas para a identificação da instituição a que pertence. Esta identificação, que deverá ser feita no rodapé da primeira página, deve conter apenas a filiação institucional e o endereço completo com e-mail dos autores. Os títulos profissionais não devem ser incluídos. Deve ser inserido, também, um asterisco ao lado da indicação numérica, e inserir no rodapé: "A quem enviar a correspondência".

Título em inglês: idem ao Título, porém em caixa baixa.

"Resumo": Com até 200 palavras (100 palavras no caso de notas prévias), o resumo deve apresentar os objetivos do estudo ou pesquisa, seus procedimentos básicos, principais descobertas ou resultados (oferecendo dados específicos e seu significado estatístico, se possível), e as principais conclusões. Deve enfatizar novos e importantes aspectos do estudo ou observações.

"Palavras-chave": Devem ser fornecidos de 3 a 6 termos, de acordo com a lista Medical Subject Headings (Mesh) do Index Medicus (<http://decs.bvs.br>).

"Abstract": Não necessariamente deverá ser uma tradução fidedigna do "Resumo", podendo ser mais detalhado, uma vez que será o texto objeto de divulgação internacional.

"Keywords": Idem "Palavras-chave"

"Introdução": Deve determinar o propósito do estudo, oferecer um breve resumo (e não uma revisão de literatura) dos trabalhos anteriores relevantes, e especificar quais novos avanços foram alcançados através da pesquisa. A introdução não deve incluir dados ou conclusões do trabalho em referência.

"Material e métodos": Deve oferecer, de forma breve e clara, informações suficientes para permitir que o estudo seja repetido por outros pesquisadores. Técnicas padronizadas bastam ser referenciadas.

"Resultados": Devem oferecer uma descrição concisa das novas informações descobertas, com o mínimo julgamento pessoal. Não repetir no texto todos os dados contidos em tabelas e ilustrações.

"Discussão": Deve limitar-se ao significado de novas informações e relacionar as novas descobertas ao conhecimento existente. Somente as citações indispensáveis devem ser incluídas.

"Agradecimentos": Devem ser breves e concisos e se restringir ao absolutamente necessário.

"Referências": Todas as referências citadas no trabalho, com exceção do Capítulo "Referências" devem vir em caixa baixa. Devem ser precisas. Somente as citações que aparecem no texto devem ser referenciadas. Trabalhos não publicados, a não ser os já aceitos para publicação, não devem ser citados. As referências ao final do manuscrito devem ser organizadas em ordem alfabética de acordo com o sobrenome do primeiro autor, devendo conter os nomes de todos os autores.

- No texto, usar o sobrenome dos autores e a data: Lutz (1910) ou (Lutz, 1910).

Com dois autores, a forma é: (Lutz e Neiva, 1912) ou Lutz e Neiva (1912).

Quando há mais que dois autores, somente o primeiro é mencionado: Lutz et al. (1910) ou (Lutz et al., 1910).

- No final do trabalho, usar os seguintes estilos:

Artigo:

THOMPSON, P.H.; TRANQUILLI, W.J.; DUNCANSSON, G.A.; REIS, J.C. Ticks as vectors of equine piroplasmiasis. J. Am Vet Med Assoc., v.155, n.2, p.454-457, 1969.

Livro:

THOMPSON, J.C.; TRANQUILLI, W.J.; BENSON, G.J. (ed.). Lumb & Jones Veterinary Anesthesia. 3. ed. Baltimore: Lea & Febiger, 1996.

Capítulo:

STEFY, E.P. Inhalation anesthetics. In: THOMPSON, J.C.; TRANQUILLI, W.J.; BENSON, G.J. (Ed.). Lumb & Jones Veterinary Anesthesia. 3. ed. Baltimore: Lea & Febiger, 1996. p.297-329.

Tese:

REIS, J.C. Estudo genético-econômico do desempenho reprodutivo e produtivo de um rebanho da raça Pitangueira. 1993. 191 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, 1993.

Congressos:

DUNCANSSON, G.A. A four years study on a hundred and twenty cows dairy units. INTERNATIONAL CONGRESS ON DISEASES OF CATTLE, 11., 1980, Tel-Aviv. Proceedings..., 1980. p. 981-985.

Ilustrações (Figuras, Tabelas e Quadros): As ilustrações devem ser limitadas ao mínimo necessário para exemplificar estruturas ou condições particulares, para sintetizar dados ou para registrar resultados quantitativos. Detalhes de resultados apresentados nessa forma não devem ser repetidos no texto. As Ilustrações não devem ultrapassar as margens da página e não devem estar em modo “paisagem”. Devem ser compreensíveis sem a necessidade de referência ao texto. As fotografias devem ser em preto e branco. Impressões coloridas serão pagas pelo autor. As Tabelas, Figuras, Quadros e demais apresentações gráficas devem vir contidas no final do trabalho escrito.

Comunicações, Notas Científicas ou Notas de Pesquisa são também publicadas. O objetivo de uma Comunicação, Nota Científica ou Nota de Pesquisa é veicular uma observação ou resultado singular que não terá seguimento através de uma publicação mais longa) não devem conter as seções Introdução, Material e métodos, Resultados e Discussão. Devem ser apresentadas em texto único, objetivo e claro e que não ultrapasse duas páginas impressas. As citações bibliográficas são colocadas no texto, logo após o autor citado.

Para maiores informações sobre o formato e o estilo da revista, favor consultar um número recente da Revista ou entrar em contato com a Editoria Científica pelo telefone/fax (+55-21-2629-9549) ou e-mail (rbcv@vm.uff.br).

Taxas: A revista cobra uma taxa de R\$ 20,00, por página diagramada, para publicação.

= O material eletrônico (disquete 3,5 ou CD) deverá ser reenviado juntamente com uma cópia do trabalho impresso, corrigido, após o parecer final dos revisores.

CHECKLIST PARA OS MANUSCRITOS (modelo)

Os autores devem verificar cada um dos itens abaixo antes de enviar seus manuscritos a Revista Brasileira de Ciência Veterinária.

- Incluir uma carta de apresentação assinada por todos os autores, junto com o manuscrito, especificando o nome do autor que será responsável pela correspondência, assim como endereço, números de telefone e fax, e e-mail.
- Enviar três cópias do manuscrito (original mais duas cópias).

- Todo o manuscrito (incluindo tabelas e referências) deve ser digitado em espaço duplo, usando fonte arial tamanho 12, e impresso em folhas de papel de tamanho A4. Margens esquerdas e direitas devem ser de 3 cm.
- As páginas devem ser numeradas a partir da primeira página.
- A página de rosto deve incluir um cabeçalho com no máximo 40 letras e espaços, um título de no máximo três linhas impressas (250 letras e espaços), nomes dos autores (não citar títulos ou graus), afiliações institucionais, endereço completo do autor responsável pela correspondência.
- A ordem de apresentação do material em todos os manuscritos deve ser a seguinte: título, autores, afiliações institucionais, resumo, palavras-chave, notas de rodapé, introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, agradecimentos, referências, tabelas, legendas para as figuras, e figuras.
- As referências devem ser citadas no texto entre parênteses, por exemplo, (Chagas 1909). As referências não citadas no texto não podem aparecer na seção de referências. As referências bibliográficas devem seguir o formato estabelecido (veja exemplos em "Referências").
- Se dados não publicados pertencentes a outros pesquisadores forem citados pelo manuscrito, será necessário incluir uma carta de autorização dos respectivos autores dos referidos dados.
- As Ilustrações, Figuras, Tabelas etc. com seus respectivos títulos devem ser apresentadas em folhas separadas ao final do manuscrito.
- Enviar a cópia eletrônica do manuscrito via E-mail.

ANEXO 2 NORMAS DA REVISTA ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (*Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences*)

Política Editorial

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* (*Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*), ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de trabalhos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal e áreas afins. Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os trabalhos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva à Revista.

Reprodução de artigos publicados: A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados. A submissão dos trabalhos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>.

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo científico. É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Seções do texto: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão e Conclusões. O número total de páginas não deve exceder a 15.

Relato de caso. Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Seções do texto: Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes). O número total de páginas não deve exceder a 10.

Comunicação. É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. Levantamentos de dados (ocorrência, diagnósticos, etc.) também se enquadram aqui. Deve ser compacto, com no máximo seis páginas impressas, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem. Quando a comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

Preparação dos manuscritos para publicação

Os trabalhos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras. Os trabalhos submetidos em inglês deverão conter resumo em português e vice-versa. Os trabalhos e ilustrações deverão ser apresentados em Microsoft Word, folha no formato A4, fonte Times New Roman tamanho 12, espaço entre linhas 1,5, margens de 3cm, com páginas e linhas numeradas (numeração contínua).

Seções de um trabalho

Título. Em português e em inglês. Deve ser o resumo do resumo e não ultrapassar 100 dígitos.

Autores. Os nomes dos autores virão abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. Deve estar indicado o autor para correspondência com endereço completo, telefone, fax e e-mail.

Resumo e Abstract. Devem conter no máximo 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase é uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords. No máximo cinco.

Introdução. Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência, relevância e os objetivos do trabalho.

Material e Métodos. Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Não usar subtítulos.

Nos trabalhos que envolvam animais ou organismos geneticamente modificados deverá constar o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança.

Resultados. Apresentar clara e objetivamente os principais resultados encontrados.

Discussão. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto.

Conclusões. As conclusões devem estar apoiadas nos dados da pesquisa executada.

Ilustrações. São tabelas e figuras. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) e a correspondente referência deve figurar na lista bibliográfica final.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação do cabeçalho e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas.

Figura. Qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. As figuras devem ser enviadas em arquivo separado, extensão.jpg.

Agradecimentos. Devem ser concisamente expressados.

Referências bibliográficas. As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética.

Citações bibliográficas

Citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT/NBR 10520 de 2002. A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- mais de um trabalho citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para trabalhos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Na listagem de referência, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não fazem parte da lista de referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

Referências bibliográficas

São adotadas as normas ABNT/NBR-6023 de 2002, simplificadas conforme exemplos:

Periódicos

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987- 88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

Publicação avulsa

DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Documentos eletrônicos

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. *Miami Herald*, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Taxas de publicação

Taxa de submissão. A taxa de submissão de R\$30,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal. Somente trabalhos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Taxa de publicação. A taxa de publicação de R\$55,00, por página impressa, será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta dos autores. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal