



## DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE NITRITOS EM AMOSTRAS DE QUEIJOS TIPO PRATO COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE VITÓRIA DA CONQUISTA - BAHIA

Robson da Silva França<sup>1</sup>, Roberta Pereira Matos<sup>2</sup>, Ednilton Moreira Gama<sup>3</sup>, Daniela Souza Brito<sup>4</sup>, Bruno Araujo Borba Brito<sup>5</sup>.

1. Pesquisador do Instituto Multidisciplinar em Saúde  
Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia - Brasil  
([rs\\_franca@hotmail.com](mailto:rs_franca@hotmail.com))
2. Professora do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais- Campus Almenara  
Almenara, Minas Gerais- Brasil
3. Professor da Faculdade Independente do Nordeste  
Vitória da Conquista, Bahia – Brasil
4. Graduanda em Nutrição no Instituto Multidisciplinar em Saúde na Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia – Brasil
5. Graduando em Biotecnologia no Instituto Multidisciplinar em Saúde na Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia - Brasil

Recebido em: 04/05/2012 – Aprovado em: 15/06/2012 – Publicado em: 30/06/2012

### RESUMO

Foram determinados os níveis de nitritos em queijos comercializados na cidade de Vitória da Conquista, Bahia. No Brasil, a adição deste aditivo é permitida no limite máximo permitido (LMP) de 50 mg kg<sup>-1</sup>. O método analítico fundamenta-se na quantificação espectrofotométrica por reação de diazoconjugação com ácido sulfanílico/a-naftol. Todas as seis amostras analisadas apresentaram concentração de nitrito em níveis que variaram de 62,8 a 74,8 mg Kg<sup>-1</sup>, portanto acima do LMP. Sugere-se então um melhor monitoramento dos níveis deste aditivo em queijos, uma vez que, combinados com aminas podem formar compostos altamente tóxicos representando risco potencial à saúde.

**Palavras chaves:** Nitritos, queijos, espectrofotométrico

**Determination of the levels of nitrite in samples of cheese plate type sold in the city of Vitoria da Conquista, Bahia.**

### ABSTRACT

We determined the levels of nitrites in cheese commercialized in the city of Vitoria da Conquista, Bahia. In Brazil, the addition of this additive is permitted to the extent possible (LMP) of 50 mg kg<sup>-1</sup>. The analytical method is based on spectrophotometric quantification diazoconjugation reaction with sulphanic acid / a-naphthol. All six samples showed nitrite concentration of which ranged from 62.8 to 74.8 mg kg<sup>-1</sup>, therefore above the LMP. It is then suggested to better monitor the levels of the

additive in cheese, as combined with amines can form highly toxic represent potential health hazard.

**Keywords:** Nitrite, cheeses, spectrophotometric

## INTRODUÇÃO

O queijo é um dos derivados do leite com maior valor agregado e destaque no campo econômico. O mesmo é considerado uma das formas mais antigas de conservação do leite, sendo altamente nutritivo devido aos seus teores de proteínas, gorduras, cálcio, fósforo e vitaminas. Além de suas características dietéticas, destaca-se também pelas suas qualidades sensoriais como aroma, sabor, textura e digestibilidade (GOLLO et al., 2003).

Existem em todo o mundo mais de 1000 tipos de queijos, feitos a partir de diferentes leites e diferentes processos de produção, conferindo assim diferentes formas, texturas, sabores, odores, cores, agradando a todos os paladares (LACTEABRASIL, 2006).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ, 2002), o queijo do tipo prato está entre aqueles de maior produção e consumo no País. É macio, de coloração amarelo-clara e sabor leve. Muito consumido puro, em sanduíches, saladas e aperitivos, por isso, sua produção deverá atender a todos os padrões de qualidade.

A maior parte dos defeitos do queijo que levam à perda de sua qualidade industrial provém da atividade bioquímica indesejável ou descontrolada de bactérias lácticas, bactérias formadoras de gás e outros microrganismos (FRAZIER et al., 1993) que comprometem a qualidade do alimento, em face das inúmeras alterações indesejáveis no gosto, aroma e aspecto do produto.

Entre os defeitos do queijo, o mais temido é o estufamento tardio, sendo na maioria das vezes causado pelo *Clostridium tyrobutyricum* (MORAES et al., 1981) cuja presença causa fermentação do lactato (LIPPARINI et al., 1983), produzindo na massa ácido butírico, gás carbônico e hidrogênio (DEVOYOD, 1976). O acúmulo destes gases causa estufamento interno, com número variável de olhaduras grandes e irregulares. Pode apresentar trincas na casca, odor de ranço desagradável e sabor estranho, devido ao ácido butírico. Os queijos duros, com casca, ou os embalados em película plástica possuem facilidade a retenção de gases e aos estufamentos. Portanto, quando ocorre esse tipo de defeito, os queijos são profundamente alterados do ponto de vista estético, físico-químico e organoléptico, de maneira que dificilmente podem ser vendidos no mercado regular (FURTADO, 1985).

O método mais utilizado para evitar o crescimento destes microrganismos é a adição de nitrato de sódio ou de potássio que tem a função de inibir a ação de contaminantes, especialmente bactérias do gênero *Clostridium*. No Brasil, esta adição é permitida em queijos, com exceção de queijos frescos, no limite de 50 mg/100g quantificado como íon nitrito, no produto a ser consumido (BRASIL,

1988).O nitrato adicionado é reduzido a nitrito, pela ação da xantina oxidase, durante a maturação (DEVOYOD,1976).

Apesar dos benefícios dos nitratos e nitritos, eles podem causar efeito tóxico em indivíduos expostos através de alimentos, dependendo da quantidade ingerida e da susceptibilidade do organismo. Os nitritos convertem a hemoglobina a metemoglobinemia, o que afeta o transporte de oxigênio. Existe também a possibilidade de reação desses íons com aminas secundárias e terciárias tanto "in vivo" como no próprio alimento, originando compostos N-nitrosos de elevado potencial carcinogênico, teratogênico e mutagênico (ARAÚJO et al., 1990). Os valores de ingestão diária recomendada (IDR) de nitritos preconizados no Brasil e em todo MERCOSUL, são os mesmos da FAO/OMS, ou seja, de 0,06 mg/kg/ dia de nitrito (como íon). Alimentos destinados às crianças com menos de 6 meses de idade não podem conter nitrito como aditivo (WHO, 1996).

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi determinar a concentração de íons nitrito em amostras de queijo, tipo prato, comercializadas na cidade de Vitória da Conquista - BA. Para tal, a metodologia escolhida foi submetida ao processo de otimização a fim de garantir a qualidade e agilidade dos dados gerados.

## METODOLOGIA

A pesagem das amostras foi realizada na balança analítica Marte modelo BL320 H. Banho-maria Nova técnica, Modelo Nt268 foi utilizado para aquecimento, e as leituras foram feitas no espectrofotômetro Spectrum SP – 2000 UV.

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico. Água deionizada foi utilizada para o preparo de todas as soluções. Foram utilizadas as seguintes soluções: solução de Tetraborato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ); solução de Ferrocianeto de Potássio ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ); solução de Acetato de Zinco [ $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ]; solução de Ácido Acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ); solução Tampão acetato pH=5,6; solução -naftol ( $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}$ , reagente cromogênico) e solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 N.

Foram analisadas seis amostras de queijo tipo prato adquiridas em supermercados e mercado municipal na cidade de Vitória da Conquista - BA, sendo submetidas aos ensaios analíticos, em quadruplicatas.

Para otimização do método estudou-se a linearidade através da construção da curva padrão de nitrito de sódio, a varredura do espectro, o pH do tampão, a temperatura e o tempo de complexação e a estabilidade do reagente cromogênico.

O método utilizado foi baseado no descrito por XIMENES et al. (1998). Primeiramente as amostras foram desproteinizadas pesando-se 10g de cada amostra de queijo ralado e homogeneizado. Adicionou-se 5,0 mL da solução de tetraborato de sódio (Bórax)  $0,130 \text{ mol L}^{-1}$  e 40,0 mL de água destilada, em cada uma das amostras, que foram deixadas em banho-maria a  $70^\circ\text{C}$  por 15 minutos, agitando freqüentemente. Após serem resfriadas à temperatura ambiente, adicionou-se 2,0 mL de solução de ferrocianeto de potássio ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )  $0,270 \text{ mol.L}^{-1}$ , 2,0 mL de solução de acetato de zinco [ $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ]  $1,00 \text{ mol.L}^{-1}$ , então as amostras foram submetidas ao agitador durante 5 minutos. Em seguida, foram

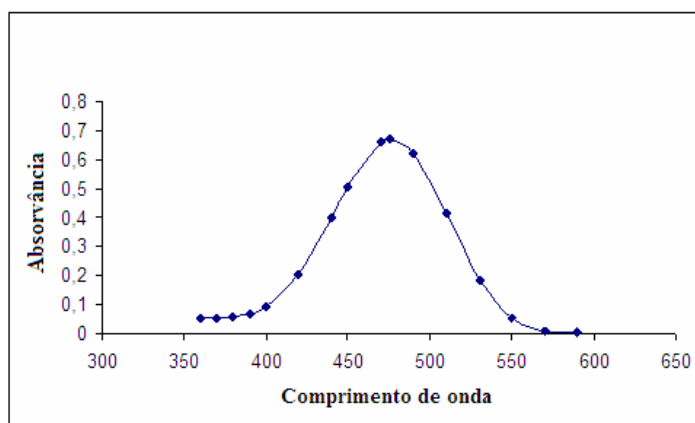
transferidas para um balão volumétrico de 100 mL e deixadas em repouso durante 30 minutos. Cada amostra foi completada com água destilada até o volume de 100,0 mL, depois novamente agitadas até a precipitação de um sólido laranja e posteriormente foram filtradas.

Após esse processo determinou-se a concentração de nitrito presente em cada amostra. Foram retirados 10,0 mL de cada amostra de queijo desproteínizado, e adicionou-se 5,0 mL de solução tampão acetato pH=5,6 e 10,0 mL de  $\alpha$ -naftol (reagente cromogênico). A solução foi colocada em banho-maria durante 30 minutos a 70°C. Após o resfriamento à temperatura ambiente, foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 475 nm. O cálculo do valor de nitrito presente nas amostras foi realizado através da utilização da curva padrão previamente estabelecida. Os dados foram tabulados no Microsoft Excel 12.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

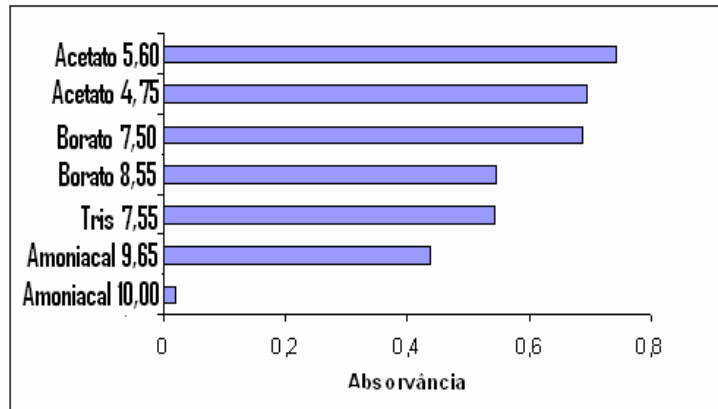
Na otimização do método avaliou-se algumas variáveis, tais como; Comprimento de onda, pH de vários tipos de soluções tampão, temperatura e tempo de complexação.

Para identificação do comprimento de onda ( $\lambda$ ) de melhor absorção foi realizada uma varredura espectrofotométrica no intervalo de 360 a 590 nm. O comprimento de onda que demonstrou maior absorção foi de 475 nm, de acordo com a Figura 1 abaixo.



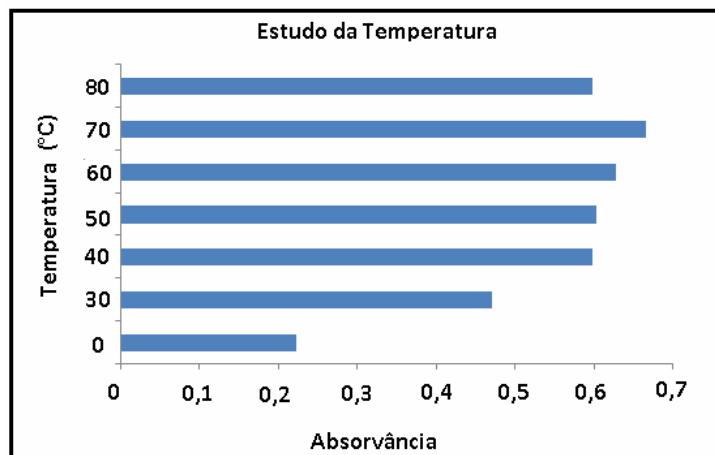
**Figura 1.** Gráfico da varredura do espectro de absorção do complexo.

No estudo da solução tampão foram analisados sete tipos de tampões com faixas de pH diferentes. A Figura 2, demonstra que o tampão Acetato com pH de 5,6 obteve maior valor de absorbância.



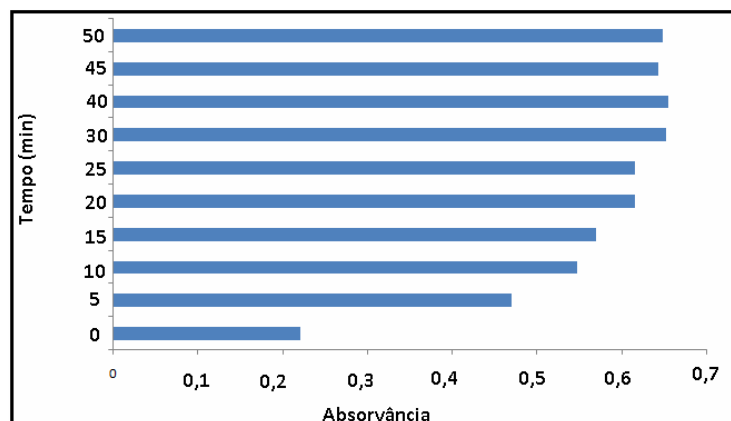
**Figura2.** Gráfico do estudo do pH da solução tampão.

No estudo da temperatura foram testadas seis medidas, obtendo o resultado de melhor absorvância a temperatura de 70°C.



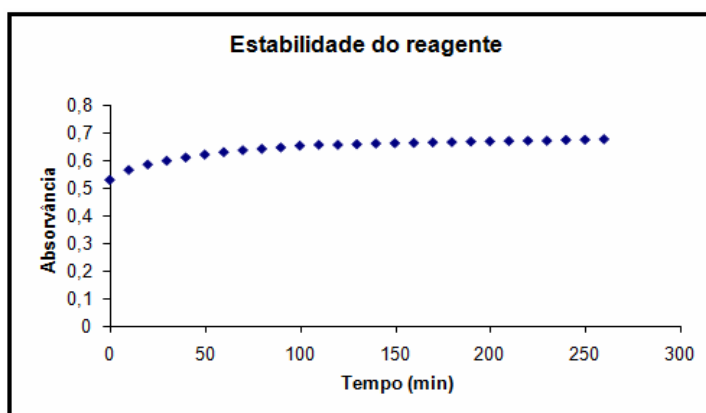
**Figura 3.** Gráfico do estudo da temperatura.

Foram analisadas soluções de concentrações iguais variando o tempo de complexação: 0; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 40 e 45 minutos para complexação. O tempo que obteve melhor resultado foi 30 minutos.



**Figura 4.** Gráfico do estudo do tempo.

Segundo o estudo da estabilidade do reagente cromogênico,  $\alpha$ -naftol, este se demonstrou bastante estável no decorrer do tempo conforme mostra a Figura 5.



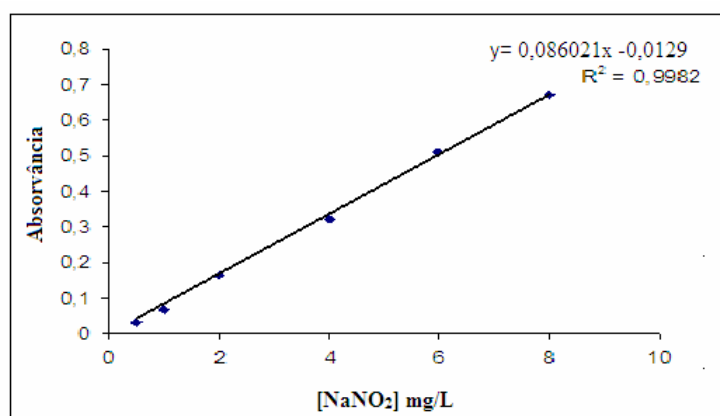
**Figura 5.** Estabilidade do reagente  $\alpha$ -naftol

O resultado variáveis otimizadas para o método proposto é apresentado no Quadro 1.

**Quadro 1 - Variáveis otimizadas.**

Variáveis	Resultados
Comprimento de onda (nm)	475
Solução Tampão (pH)	Acetato 5,6
Temperatura (°C)	70
Tempo (min)	30

A linearidade do método foi testada utilizando-se duplicatas de cinco alíquotas de 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; e 1,6 mL da solução padrão de nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ), como os dados obtidos foi confeccionado um gráfico de absorvância em função da concentração de  $\text{NaNO}_2$ , conforme mostra a Figura 6.



**Figura 6.** Gráfico de Absorvância em função da concentração de  $\text{NaNO}_2$

Analisando o gráfico da Figura 6, verificou-se uma boa linearidade entre os pontos. Para tanto, calculou-se o coeficiente de correlação ( $R^2$ ), o coeficiente angular (a) e a intersecção da reta no eixo y (b). Esses resultados se encontram no Quadro 2.

**Quadro 2** - Resultados obtidos por meio da regressão linear dos pontos de absorvância em função da concentração de  $\text{NaNO}_2$ (mg/L).

Parâmetro	Resultado
Coeficiente de correlação ( $R^2$ )	0,9982
Coeficiente angular (a)	0,086021
Intersecção da reta no eixo y (b)	- 0,0129

Os dados demonstram que o método é satisfatório, pois o coeficiente de correlação obtido foi 0,9982 e quanto mais o valor de  $R^2$  estiver perto da unidade, maior a linearidade da curva. A análise das diferenças entre os resultados encontrados e as concentrações esperadas foi suficiente para estabelecer a linearidade do método.

Os valores médios de nitrito de sódio encontrados nos queijos tipo prato comercializados na cidade de Vitória da Conquista estão apresentados no Quadro 3, que se encontra logo abaixo:

**Quadro 3** - Nitrito de sódio (mg/Kg) em amostras de queijos tipo prato comercializados na cidade de Vitória da Conquista - BA.

Amostras	Absorvância	[ $\text{NaNO}_2$ ] mg/100g
1	0,032 ± 0,0036	74,83
2	0,031 ± 0,0030	71,96
3	0,016 ± 0,0017	62,80
4	0,028 ± 0,0040	71,75
5	0,027 ± 0,0021	71,25
6	0,021 ± 0,0026	66,47

Os resultados demonstram que houve pouca variação na concentração de nitrito de sódio (mg/100g) nas amostras de queijo comercializadas em Vitória da Conquista. Porém todas as seis amostras mostraram uma concentração de nitrito de sódio presente, ultrapassando a quantidade permitida pela legislação que é de 50 mg/kg.

ARRUDA et al. (2010) pesquisaram a concentração de nitrato e nitrito em queijos minas frescal e padrão comercializados em feiras livres de Goiânia- GO e não observaram a presença destes nas amostras analisadas.

No estudo realizado por SERAPHIM et al. (2000) na região Sul de Minas verificou-se que das 43 amostras analisadas, 38 (88,37%) não apresentaram nitrato e nitrito em níveis detectáveis; em apenas 5 (11,63%) foi encontrado nitrato, sendo

que em 4, acima do LMP. Do total, somente 1 (2,33%) apresentou nitrito, porém abaixo do LMP.

PIMENTEI et al. (2002) observaram a presença de nitrito de sódio em 94,4% das amostras, em teores que variaram de 4,15 a 129,2 mg/100g. Maiores teores médios de nitrito foram detectados em queijo tipo parmesão (39,87 mg/100g), seguido do queijo parmesão ralado (23,89 mg/Kg) e do queijo ralado (20,46 mg/100g).

DIRAMAN (1993) analisando 82 amostras de queijo na Turquia, onde nitrato e nitrito foram usados como agentes antimicrobianos, encontraram nitrato em concentrações variando de 0,19 a 191,64 mg/100g, sendo que 27 amostras continham menos que 1 mg/kg.

A adição de nitrato ao leite utilizado na preparação de queijo na Polônia é permitido num limite máximo de 50 mg/100g [18]. Na Bulgária, nitrato de potássio é adicionado de 10 a 20 g/100 L para queijo duro e semi-duro. Esse valor de 20g/ 100L deve ser aderido à produção de queijo e tal regulamentação não resulta num risco de acumular nitrato, nitrito e N-nitrosaminas no consumidor [19]. Na Holanda, é permitida a adição de 15 g de nitrato /100 L de leite e no Canadá, 20g/100 L de leite. Já na França, Turquia, Grécia e Itália, o uso de tais conservantes não é permitido (GLAESSER, 1989).

O uso de aditivos tais como sais de nitrato e nitrito nos queijos tem sido considerada uma alternativa eficiente e viável para a inibição do crescimento de clostrídios e para o controle do estufamento tardio (GRAY et al., 1979). Entretanto, uma vez que este aditivo pode causar efeitos tóxicos ao homem (ROVIRA et al., 1987), um controle cuidadoso da quantidade adicionada deve ser feito uma vez que a adição desses conservantes em alimentos pode levar à formação de nitrosaminas que são compostos carcinogênicos.

## CONCLUSÃO

Apesar de o nitrito ser utilizado há muito tempo, e de seus aspectos serem conhecidos por vários estudos realizados durante as últimas décadas, ainda existem falhas quanto ao seu uso e fiscalização, o que pode ser verificado nos resultados obtidos. Dentre as amostras analisadas, nenhuma atendeu a legislação vigente quanto à concentração de conservantes em queijos. Todas as amostras apresentaram concentrações superiores às permitidas.

Quanto aos procedimentos de eliminar, reduzir e/ou prevenir riscos à saúde, cabe à vigilância sanitária disseminar orientações sobre tais procedimentos a quem produz além de realizar controle permanente do uso conservantes gêneros alimentícios.

Sugere-se um melhor monitoramento dos níveis deste aditivo em queijos, uma vez que, combinados com aminas podem formar compostos altamente tóxicos representando risco potencial à saúde.



## AGRADECIMENTOS

A equipe executora deste trabalho agradece ao Instituto Multidisciplinar em Saúde e à Faculdade Independente do Nordeste.

## REFERÊNCIAS

ABIQ. **Tipos de queijo: Queijo tipo prato**. Disponível em <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em: 20 de abril de 2012.

ARAÚJO, A. C. P.; MIDIO, A. F. Nitratos e nitritos em alimentos infantis industrializados y caseros. **Alimentaria**, 27(209):69-75, 1990.

ARRUDA, M.L.T.et al. Determinação de cloreto de sódio, nitrato e nitrito em queijos minas frescal e padrão comercializados em feiras livres de Goiânia – GO. **PUBVEST**, Londrina, v.4, N.18, Ed.123, Art. 835, 2010.

Brasil, Leis, Decretos, etc. **Resolução no 4/1988 do Conselho Nacional de Saúde**. Diário Oficial, Brasília, 19 dez. 1988, Seç. I, p.24718. Aprova a revisão das tabelas I, III, IV e V, referentes a aditivos intencionais e anexos I, II, III, IV, V, VI e VII, todos do Decreto 55.871 de 26/03/65.

DEVOYOD, J.J. L' emploi des nitrates dans la fabrication des fromages. Annales de la nutrition et de l'alimentation **Ann Nutr Aliment.**;30(5/6):789-92, 1976.

DIRAMAN, H. - **A research on nitrite determination of cheese produced in Thrace region**. Gida, 18(5):293-295. 1993.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los Alimentos**. 4º ed. Espanha: Acríbia, 1993.

FURTADO, M. M. O estufamento tardio dos queijos: características e prevenção - uma revisão. **Rev Inst Latic Candido Tostes**;40(242):3-39, 1985.

GLAESSER, H. Use of nitrite in cheese production. **Dairy Industries Internacional**, 54(11),19,21-23, 1989.

GOLLO, R.; CANSIAN, R. L.; VALDUGA, E. Identificação de Alguns Pontos Críticos de Controle no Processamento dos Queijos Prato e Mussarela. **Braz. J. Food Technol.**, v.6, n.1, p.43-51, jan./jun., 2003.

GRAY, J.I.; IRVINE, D. M.; KAKUDA, Y. Nitrates and N-nitrosamines in cheese. **J. Food Protect.**, v. 42, n,3,p.263-267, 1979.

KOZHEV, S.; KOZHEV, A. Potassium nitrate residues in hard and semihard cheeses. **Khranitelna Promishlenost**, 43(3): 18- 19, 1994.

Láctea Brasil. **Queijo: alimento nobre e saudável**, julho de 2006. Disponível em <[http://www.caprilvirtual.com.br/Artigos/lactea\\_brasil\\_queijos.pdf](http://www.caprilvirtual.com.br/Artigos/lactea_brasil_queijos.pdf)>. Acesso em: 20 de abril de 2012.

LIPPARINI, L.; RAMPA, A. Note sulla presenza di residui di nitrati e nitriti e di N-nitrosoamine nei prodotti lattiero - caseari del commercio. **Rass Chim**;35(2):73-78, 1983.

MORAES, J. M. Influência de diferentes concentrações de nitratos e nitritos na inibição de esporulados anaeróbicos gasógenos do leite. **Rev Inst Latic. Cândido Tostes**; 36(215):21-23, 1981.

NABRZYSKI, M., GAJEWSKA, R. The content of nitrate and nitrite in some other foodstuffs. **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, 45(3):167-180,1994.

PIMENTEL, E. F.; DIAS, R. S.; CUNHA, M. R.; GLÓRIA, M. B. A. Avaliação da rotulagem e da qualidade físico-química e microbiológica de queijo ralado. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, 22(3): 289-294, set.-dez.2002.

ROVIRA, R. F.; CÁNOVES, A.F. Nitratos: aspectos bromatológicos, toxicológicos y analíticos. **Alimentaria**, v.179, p.15-21, 1987.

SERAPHIM, K. R.; SIQUEIRA, M.E.P.B. Nitratos e nitritos em queijos caseiros e industrializados comercializados na região sul de Minas Gerais, Brasil. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. Caracas, v.50, n1, 2000.

VITTOZZI, L. **Toxicology of nitrates and nitrites**. Food Addit. Contam., 9:579-585. 1992.

XIMENES, M. I. N.; RODRIGUES, G. M.; MARQUES, S. R. M. N. Teor Residual de Nitratos e Nitritos em produtos Carneos Curados Comercializados no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública do Distrito Federal**, v. 9, n. 2, Abr/Jun, 1998.

World Health Organization. Technical Report Series 859 - **Evaluation of certain food additives and contaminants**. 44th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 1996.