



**INSTITUTO FEDERAL DE  
EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA**  
**GOIÁS**  
*Câmpus Inhumas*

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS  
CÂMPUS INHUMAS.  
LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**MARÍLIA SOARES DE SOUZA**

**ESTUDO DE PARÂMETROS ANALÍTICOS PARA DETECÇÃO DE NITRITO**

**INHUMAS  
2020**

MARÍLIA SOARES DE SOUZA

## **ESTUDO DE PARÂMETROS ANALÍTICOS PARA DETECÇÃO DE NITRITO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Goiás (IFG)/campus Inhumas, como requisito necessário para obtenção do título de Graduada em Licenciatura em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Elisangela Cardoso de Lima Borges  
Co-Orientador: Prof. Dr. Fernando Pereira de Sá

INHUMAS  
2020

## FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S729 Souza, Marília Soares de  
Estudo de parâmetros analíticos para detecção de nitrito [Manuscrito].  
/ Marília Soares de Souza. -- Inhumas: IFG, 2020.  
48 f. : figs.  
Bibliografia.

Orientador: Profª Dra. Elizângela Cardoso de Lima Borges

Trabalho de conclusão de curso de graduação em Licenciatura em  
Química – IFG/Câmpus Inhumas, 2020.

1. Espectrofotômetro. 2. Método visual analítico 3. Nitrito. 4. Salsicha  
5. Borges, Elizângela Cardoso de Lima (orientadora). I. Título.

CDD 543.24

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Rodrigues de Souza CRB/1-  
1497

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Câmpus Inhumas – Biblioteca Atena



INSTITUTO FEDERAL  
GOIÁS

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

### TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAÇÃO NO REPOSITÓRIO DIGITAL DO IFG - ReDi IFG

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Digital (ReDi IFG), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IFG.

#### Identificação da Produção Técnico-Científica

- |                                                                      |                                                         |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Tese                                        | <input type="checkbox"/> Artigo Científico              |
| <input type="checkbox"/> Dissertação                                 | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização                 | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC - Graduação                  | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ |                                                         |

Nome Completo do Autor: Márcia Soares de Souza

Matrícula: 20181030020168

Título do Trabalho: Estudo de Parâmetros Analíticos para detecção

de nitrato

#### Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: ☒ Não ☐ Sim, justifique: \_\_\_\_\_

Informe a data que poderá ser disponibilizado no ReDi/IFG: 27/02/20

O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim

☒ Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim

☒ Não

#### DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- i. o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- ii. obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- iii. cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Assinatura 27/02/20  
Local Data

Márcia Soares de Souza

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

**MARÍLIA SOARES DE SOUZA**

Monografia apresentada à banca examinadora da Coordenação de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás – Câmpus Inhumas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciada em Química.

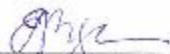
**COMISSÃO EXAMINADORA**



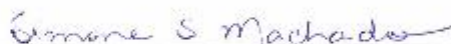
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Elisângela Cardoso de Lima Borges (Orientadora)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás/Câmpus Inhumas



Prof. Dr. Fernando Pereira de Sá (Coorientador)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás/Câmpus Inhumas



Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Elaine Alves de Faria Braga (Examinadora)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás/Câmpus Inhumas



Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Simone Silva Machado (Examinadora)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás/Câmpus Inhumas

Inhumas, 17 de fevereiro de 2020

## RESUMO

Este trabalho teve por objetivo realizar a aprendizagem de estudos analíticos espectrofotométricos e visuais para a detecção de nitrito e, aplicá-los na caracterização em salsicha. A química analítica é, uma ciência, digna de ser ensinada no mais alto nível, as técnicas de análise química instrumental podem ser agrupadas em três grandes áreas principais: Cromatografia, Eletroquímica e Espectroscopia, com cada uma delas caracterizando-se por suas particularidades e pelas espécies químicas de interesse possíveis de detecção e/ou quantificação. A espectrofotometria é uma técnica instrumental de baixo custo, de fácil aprendizagem, porém honorosa na questão do consumo de grandes quantidades de reagentes, por exemplo, para a detecção de nitrito em salsicha há o gasto desde o preparo da amostra até o desenvolvimento da cor de nitrito para detecção na região espectral do visível. O nitrito de sódio ou potássio é um aditivo utilizado em produtos cárneos como componente microbiano, preservando o aroma e a cor avermelhada, característica de produtos curados, porém, em doses elevadas pode trazer danos à saúde. Neste trabalho, a amostra de salsicha utilizada para análise passou pela etapa de defecação, em seguida realizou-se teste para desenvolvimento da cor da amostra e calibração do equipamento, estudos analíticos também foram feitos para verificar o teor de nitrito por detecção visual e pigmentos por espectrofotometria. O método de diazotação para espectrofotometria permitiu a determinação e quantificação de nitrito na amostra de salsicha com limites de detecção e quantificação confiáveis, porém não houve caracterização visual na mesma amostra defecada. De acordo com as recomendações internacionais, JECFA e EPA, uma pessoa de 55 kg pode consumir diariamente meia salsicha a quatro salsichas por, respectivamente e, de acordo com a RDC Nº 272/2019, a salsicha encontra-se dentro das normas estipuladas pela legislação brasileira consumo.

**Palavras chaves:** espectrofotômetro, método visual analítico, nitrito, salsicha

## ABSTRACT

This work aimed to learn spectrophotometric and visual analytical studies for the detection of nitrite and apply them to sausage characterization. Analytical chemistry is, a science, worthy of being taught at the highest level, the techniques of instrumental chemical analysis can be grouped into three main main areas: Chromatography, Electrochemistry and Spectroscopy, with each of them being characterized by its particularities and chemical species of interest possible for detection and / or quantification. Spectrophotometry is a low-cost instrumental technique, easy to learn, but honorable when it comes to the consumption of large quantities of reagents, for example, for the detection of nitrite in sausages, there is the expense from sample preparation to the development of the color of nitrite for detection in the spectral region of the visible. Sodium or potassium nitrite is an additive used in meat products as a microbial component, preserving the aroma and reddish color, characteristic of cured products, however, in high doses it can cause damage to health. In this work, the sausage sample used for analysis went through the defecation stage, then a test was carried out to develop the sample color and calibrate the equipment, analytical studies were also carried out to verify the nitrite content by visual detection and pigments by spectrophotometry. The diazotation method for spectrophotometry allowed the determination and quantification of nitrite in the sausage sample with reliable detection and quantification limits, however there was no visual characterization in the same defecated sample. According to international recommendations, JECFA and EPA, a person of 55 kg can consume half a sausage to four sausages per day, respectively, and, according to RDC No. 272/2019, the sausage is within the norms stipulated by the legislation Brazilian consumption.

.

**Key words:** spectrophotometer, visual analytical method, nitrite, sausage.

## SUMÁRIO

|                                                                        |           |
|------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                             | <b>10</b> |
| 1.1 A DETECÇÃO NA QUÍMICA ANALÍTICA.....                               | 11        |
| 1.1.1 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS .....                                  | 12        |
| 1.1.2 TESTES QUALITATIVOS.....                                         | 14        |
| 1.2 NITRITO COMO ADITIVO ALIMENTAR .....                               | 15        |
| 1.3 NITRITO E A SAÚDE .....                                            | 17        |
| <b>2 OBJETIVOS .....</b>                                               | <b>20</b> |
| 2.1 OBJETIVO GERAL.....                                                | 20        |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                                         | 20        |
| <b>3. METODOLOGIA .....</b>                                            | <b>21</b> |
| 3.1 REAGENTES E MATERIAIS.....                                         | 21        |
| 3.1.1 DEFECÇÃO DA AMOSTRA.....                                         | 21        |
| 3.1.2 DESENVOLVIMENTO DA COLORAÇÃO PARA NITRITO .....                  | 21        |
| 3.1.3 DESENVOLVIMENTO DA COLORAÇÃO PARA PIGMENTOS .....                | 21        |
| 3.1.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA NITRITO .....                           | 21        |
| 3.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES .....                                         | 21        |
| 3.2.1 DEFECÇÃO DA AMOSTRA.....                                         | 21        |
| A.1 Solução de Bórax 5% m/v .....                                      | 21        |
| A.2 Solução de Hexacianoferrato de potássio 0,4% m/v .....             | 22        |
| A.3 Solução de Acetato de Zinco acidificada 4,4% m/v .....             | 22        |
| 3.2.2 DESENVOLVIMENTO DA COLORAÇÃO PARA NITRITO .....                  | 22        |
| A.1 Solução ácido sulfanílico 0,2% m/v .....                           | 22        |
| A.2 Solução Dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina 0,1% m/v ..... | 22        |
| A.3 Solução de Ácido Clorídrico 45% v/v.....                           | 22        |
| A.4 Solução de sulfato ferroso 25% m/v .....                           | 22        |
| A.5 Solução de nitrato de prata 5% m/v .....                           | 23        |
| A.6 Solução de permanganato de potássio 1,6% m/v .....                 | 23        |
| A.7 Solução de ácido sulfúrico 16% v/v .....                           | 23        |
| 3.2.3 CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA NITRITO .....                           | 23        |
| A.1 Solução-mãe de nitrito de sódio 10 g/L .....                       | 23        |
| 3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....                                    | 23        |
| 3.3.1 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA .....                                      | 23        |
| A.1 Defecção .....                                                     | 24        |
| 3.3.2 NITRITO POR ESPECTROFOTOMETRIA.....                              | 24        |
| A.1 Desenvolvimento da coloração .....                                 | 24        |
| A.2 Calibração do equipamento .....                                    | 25        |
| 3.3.3 NITRITO POR DETECÇÃO VISUAL .....                                | 25        |
| A.1 Método com sulfato ferroso .....                                   | 25        |

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| A.2 Método com nitrato de prata.....                                           | 26        |
| A.3 Método com permanganato de potássio acidulada .....                        | 26        |
| 3.3.4 PIGMENTOS POR ESPECTROFOTOMETRIA.....                                    | 26        |
| A.1 Método para Nitroso-Pigmentos.....                                         | 26        |
| A.2 Método para Pigmentos Totais .....                                         | 26        |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                         | <b>28</b> |
| <b>4.1 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA .....</b>                                         | <b>28</b> |
| 4.1.1 DEFECAÇÃO.....                                                           | 28        |
| <b>4.2 NITRITO POR ESPECTROFOTOMETRIA.....</b>                                 | <b>28</b> |
| 4.2.1 DESENVOLVIMENTO DA COR DA AMOSTRA .....                                  | 28        |
| 4.2.2 CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO.....                                           | 30        |
| A.1 Relação entre a curva analítica e a amostra.....                           | 36        |
| A.1.1 Correção da absorbância da amostra versus fator de diluição .....        | 36        |
| A.1.2 Absorbância da amostra versus curva analítica .....                      | 37        |
| A.1.3 Conversão de unidades de massa da amostra .....                          | 37        |
| A.2 Relação entre a $C_{NO_2}$ versus padrões de referência para consumo ..... | 38        |
| A.2.1 Comparação com a legislação brasileira .....                             | 38        |
| A.2.2 Comparação com o valor recomendado pela JECFA.....                       | 38        |
| A.2.3 Comparação com o valor recomendado pela EPA.....                         | 39        |
| <b>4.3 NITRITO POR DETECÇÃO VISUAL .....</b>                                   | <b>40</b> |
| 4.3.1 MÉTODO COM SULFATO FERROSO .....                                         | 40        |
| 4.3.2 MÉTODO COM NITRATO DE PRATA.....                                         | 41        |
| 4.3.3 MÉTODO COM PERMANGANATO DE POTÁSSIO ACIDULADA.....                       | 42        |
| <b>4.3 PIGMENTOS POR ESPECTROFOTOMETRIA .....</b>                              | <b>43</b> |
| 4.3.1 MÉTODO PARA NITROSO-PIGMENTOS.....                                       | 43        |
| 4.3.2 MÉTODO PARA PIGMENTOS TOTAIS.....                                        | 44        |
| <b>5 CONCLUSÃO .....</b>                                                       | <b>46</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                        | <b>47</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A palavra educação aparece em diversos seguimentos com o significado de capacitar pessoas para que as mesmas desenvolvam determinadas atividades, cujo fim esteja ligado à geração de algum produto e, este, possa gerar lucro (ALVES, 2018).

Segundo Delors (2010 *apud* ALVES, 2018), a educação direciona pessoas por meio de informações adaptadas à realidade na qual estão inseridas, mas, não bastam que os indivíduos puramente as acumulem, é necessário que haja uma atualização contínua dos conhecimentos obtidos inicialmente, para que o conteúdo apreendido pelo sujeito tenha significado para ele próprio e para a sociedade. Sua proposta é a de superação da distinção tradicional entre educação formal inicial e educação permanente, sugerindo o conceito de educação ao longo da vida, em que se deve tirar proveito de todas as oportunidades oferecidas pela sociedade.

Pensando em uma educação global, que permita que os alunos possam aplicar os conhecimentos obtidos em aula no seu dia a dia, Alves e Anastasiou (2007 *apud* ALVES, 2018) questionaram como se deve trabalhar os conceitos teóricos de maneira que sejam estabelecidos os nexos necessários para que os currículos descritos pelas instituições de ensino sejam cumpridos. E esses questionamentos se aplicam em todas as etapas do ensino, quer seja a educação básica, a secundária ou o ensino superior.

No tocante ao ensino superior, este se apresenta como uma saída para a busca por uma inserção diferenciada no mundo do trabalho, num momento em que o desemprego atingiu 11,8% dos brasileiros em 2019 [atualizado pela autora], segundo dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (ALVES, 2018).

Integrando um largo espectro de cursos oferecidos na área da química encontra-se o de químico analítico, sabendo que a formação de recursos humanos é formar um indivíduo multidisciplinar, com sólido conhecimento em química fundamental, que lhe propicie as condições para atuar nas mais diversas áreas do conhecimento (CASS; BARREIRO, 2011).

Mas, o que é um químico analítico? Senise (1993) cita as considerações de C. J. Van Nieuwenburg, (Haia, 1889 - 1985) um renomado engenheiro químico holandês e professor de química analítica na Universidade de Tecnologia de Delft a respeito deste conceito:

Após ensinar química analítica durante mais de trinta e cinco anos, parece-me oportuno perguntar de que se cuida, na verdade, nessa disciplina, quais são os seus fundamentos, quais as características peculiares a esse ramo da química. A química analítica é, indiscutivelmente, um ramo da química, e, por conseguinte, uma ciência, digna de ser ensinada no mais alto nível, na qual estuda um conjunto de técnicas que constituem a análise química, ou seja, persegue o objetivo de resolver problemas de composição com operações de rotina (análise)."

Trata-se, portanto, de um profissional que busca através do conhecimento dos fenômenos químicos, físicos e biológicos aprofundá-los em técnicas instrumentais ou visuais para detecção de analitos de forma precisa, exata e cada vez mais, com limites de detecção mais baixo (menor que 1 µg) e limites de diluição cada vez mais altos (1:1.000.000) (SENISE, 1993).

Neste sentido e, instigada em aprofundar o conhecimento químico e por novas oportunidades de crescimento em instrumentação química, este trabalho apresenta uma aplicação da química analítica para a detecção de nitrito em salsicha.

### **1.1 A detecção na Química Analítica**

As técnicas analíticas instrumentais têm-se destacado sobremaneira nos últimos anos pelos avanços tecnológicos, tanto na montagem de sistemas analíticos mais robustos e de menor tamanho, quanto no desenvolvimento de softwares de operação e tratamento de dados que otimizam o tempo de análise e de interpretação dos resultados obtidos, o que têm levado, em associação a outros fatores de mercado, a uma redução nos preços dos equipamentos de laboratório (VAZ JÚNIOR, 2010).

Partindo-se do pressuposto de que a Química Analítica é uma ciência fundamental para garantir a qualidade de um amplo conjunto de produtos industriais, não necessariamente químicos, e de que sem sua aplicação também não seria possível a determinação de compostos químicos de importância ambiental, farmacológica, industrial, etc., é pertinente ter um conhecimento introdutório que auxilie àqueles que possam vir a fazer uso de análises químicas em sua atuação profissional. As técnicas de análise química instrumental podem ser agrupadas em três grandes áreas principais: Cromatografia, Eletroquímica e Espectroscopia, com cada uma delas caracterizando-se por suas particularidades e pelas espécies

químicas de interesse (analitos) possíveis de detecção e/ou quantificação (VAZ JÚNIOR, 2010).

É importante ressaltar que para a devida aplicação de cada uma delas em certos casos é necessário que antes a matriz analítica passe por um processo de extração (ou separação) do analito, o que envolve a utilização de técnicas de separação líquido-líquido, sólido-líquido, micro-extração em fase sólida, digestão ácida, digestão em micro-ondas, destilação, headspace, fluido supercrítico, dentre outras, de maneira que se tenha o analito em uma forma fisicamente detectável pela técnica de análise instrumental adequada, sendo também necessária, em muitos casos, a realização de pré-concentração e *clean up* do analito (VAZ JÚNIOR, 2010).

### **1.1.1 Técnicas Espectroscópicas**

Nas técnicas espectroscópicas tem-se a resposta analítica vinda da interação do analito, orgânico ou inorgânico, com a radiação eletromagnética em diferentes comprimentos de onda. Estão divididas em técnicas espectroscópicas atômicas e técnicas espectroscópicas moleculares, onde as primeiras observam o efeito da absorção da radiação por um determinado átomo e as segundas observam o efeito da absorção da radiação por uma determinada molécula ou grupamento químico (VAZ JÚNIOR, 2010).

Atualmente existe um grande número de técnicas espectroscópicas, destacando-se aquelas que têm uma maior aplicação, como: Espectrofotometria de Absorção na Região do UV-Visível, Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho Médio com Transformada de Fourier, Espectroscopia de Absorção Atômica, Espectroscopia de Emissão Atômica, Espectroscopia de Fluorescência e Ressonância Magnética Nuclear (VAZ JÚNIOR, 2010). As características das técnicas espectroscópicas mais relevantes são apresentadas no Quadro 1.

**QUADRO 1** - Características operacionais das técnicas espectroscópicas

| <b>Técnica Espectroscópica</b>                                                                                                | <b>Tipo de uso</b>                                      | <b>Aplicações</b>                                                                                                               | <b>Matrizes Analíticas</b> | <b>Preparação</b>                                                  | <b>Tempo de Análise*</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Espectrofotometria de Absorção na Região do UV-Visível (molecular: transição de elétrons de valência)                         | Determinação quantitativa e estudo de cinética química. | Análise qualitativa de compostos moleculares e iônicos orgânicos e inorgânicos para fins ambientais e de controle de qualidade. | Sólida, líquida e gasosa.  | Diluição, dissolução, filtração, complexação, ajuste de pH.        | 2 min – 30 min.          |
| Espectroscopia na de Absorção na Região do Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (molecular: vibrações moleculares) | Determinação qualitativa.                               | Análise estrutural de compostos orgânicos e organometálicos para controle de produtos e processos.                              | Sólida, líquida e gasosa.  | Pastilha sólida de KBr. Dissolução em solvente líquido não-polar.  | 1 min – 10 min.          |
| Absorção Atômica (atômica: transições eletrônicas)                                                                            | Determinação quantitativa.                              | Análise quantitativa de elementos metálicos para fins ambientais e de controle de qualidade.                                    | Sólida, líquida e gasosa.  | Diluição, dissolução, filtração e digestão ácida ou em microondas. | 10 seg – 2 min.          |
| Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (atômica: transições eletrônicas)                                           | Determinação quantitativa.                              | Análise quantitativa de elementos químicos para fins ambientais e de controle de qualidade.                                     | Líquida.                   | Diluição, dissolução, filtração e ajuste de pH.                    | 30 min – 60 min.         |
| Espectrometria de Massas (molecular/atômica: fragmentação)                                                                    | Determinação qualitativa e quantitativa.                | Análise estrutural e quantitativa de compostos orgânicos e elementos químicos.                                                  | Líquida.                   | Diluição, dissolução, filtração e ajuste de pH.                    | 5 min – 10 min.          |
| Fluorescência Atômica (atômica: transições eletrônicas)                                                                       | Determinação quantitativa.                              | Análise de metais e semimetais para fins ambientais e de controle de produto. Análise elementar.                                | Sólida, líquida e gasosa.  | Compactação, dissolução, adsorção.                                 | Minutos – 24 h.          |
| Ressonância Magnética Nuclear (atômica: transições de spin nuclear)                                                           | Determinação qualitativa.                               | Análise estrutural de compostos orgânicos.                                                                                      | Sólida e líquida.          | Compactação, dissolução em solvente líquido deuterado.             | 5 min – 48 h.            |
| Difração de Raios X (atômica: transições eletrônicas)                                                                         | Determinação qualitativa.                               | Análise estrutural de compostos orgânicos e inorgânicos.                                                                        | Sólida.                    | Pulverização.                                                      | Minutos – dias.          |

Fonte: Vaz Júnior (2010)

### 1.1.2 Testes qualitativos

Nesse sentido, é muito importante assinalar a contribuição de Feigl (Fritz Feigl, austríaco, 1891 - 1971), para o progresso da química de coordenação, principalmente na identificação de grupos reativos em moléculas orgânicas cujo conhecimento lhe permitiu, muitas vezes, introduzir modificações estruturais para tornar tais moléculas mais adequadas para provas de toque sem afetar as suas características de reatividade. É por isso que o título de sua obra sobre reações específicas, seletivas e sensíveis deve ser entendido válida para as condições em que efetivamente a reação química de interesse se realiza (SENISE, 1993). Segundo Espinola (2004):

O livro de Jungreis cobre aplicações de reações qualitativas, úteis para triagem, e quantitativos, ou ambos, de técnicas de Feigl a análises clínicas (diversos compostos químicos na urina, sangue, fezes, cálculos e semen), forenses (detecção de resíduos de descarga de armas de fogo, explosivos e resíduos de explosivos, drogas e venenos); geoquímica e prospecção geoquímica; controle da poluição do ar; triagem da qualidade da água; solos e tecidos de plantas; controle da qualidade de alimentos, para a identificação da composição e de adulterações.

É importante ter-se em mente que as reações básicas de Feigl e seus colaboradores são essencialmente testes exploratórios; não visam à competição com métodos de quantificação. Contrariamente, para a monitoração de processos industriais, tais como o cianeto em soluções provenientes de processos metalúrgicos do ouro, existem métodos instrumentais - eletrométricos, potenciométricos com eletrodos íon-seletivos (ISE), FIA com eletrodo ISE, e assim por diante. A tendência é para o emprego dos auto-analisadores, dos quais já existem diversos instrumentos comerciais (ESPINOLA, 2004):

Merece destaque na produção de Feigl definições e conceitos pioneiros em química, tais como (ESPINOLA, 2004):

- *Mascaramento e desmascaramento em química - Seletividade em química*
- *Funcionalização seletiva para o desenvolvimento de novas reações*
- *Definição precisa de "Limite de Identificação" e de "Limite de Diluição", ou sua recíproca, o "Limite de Concentração"*
- *Diferenciação entre reações (e reagentes) "específicos" e "seletivos"*

- *O efeito capilar do papel de filtro na identificação dos componentes por reações de gota*

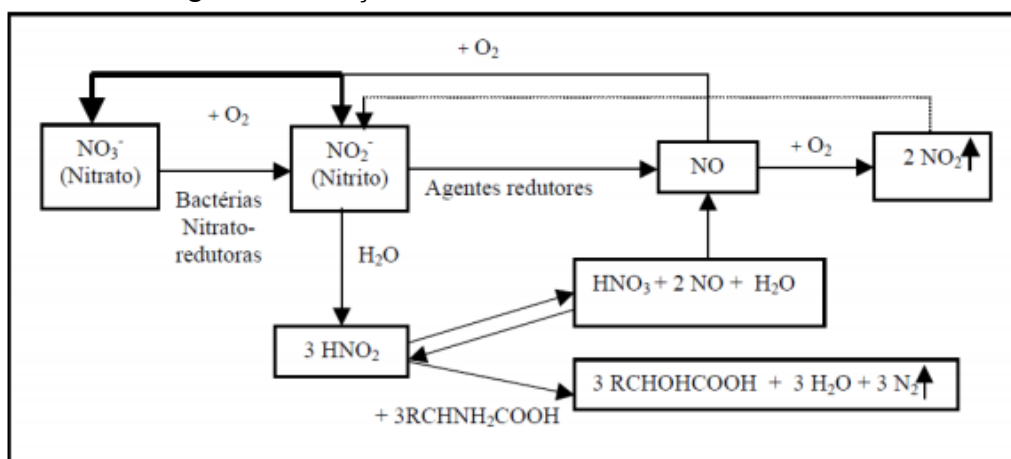
É notável por demonstrar que, mais de trinta anos após a interrupção do trabalho de Feigl em 1969, ocorre uma contínua expansão, com geração de novos processos baseados nas reações que ele desenvolveu; adicionalmente, estudos de implementação do limite de detecção, a fim de atender à tendência, em nossos dias, à aplicação em ultra-micro e nanoescalas. Merece destaque quão notáveis são estas citações, nos aspectos qualitativo e quantitativo, porque se aplicam a campos de pesquisa de grande interesse atual e mundial, que se tornaram estratégicos, por se relacionarem à ciência ambiental e da saúde, do alimento agrícola e sua tecnologia, sua produção, e à toxicologia, determinando a sua qualidade (ESPINOLA, 2004).

## **1.2 Nitrito como aditivo alimentar**

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salsicha (BRASIL, 2000), a salsicha é um produto cárneo industrializado que se obtém da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, com a adição de ingredientes como miúdos, gordura (toucinho), água em forma de gelo, sais de cura como conservantes, estabilizantes e emulsificantes, ligadores e extensores não cárneos, antioxidantes, flavorizantes e aromatizantes, corantes, sal, açúcar e especiarias. Todos estes ingredientes são embutidos em envoltório natural, artificial ou por processo de extrusão e, posteriormente, submetido a um processo térmico adequado, constituindo os embutidos cozidos (VOGEL *et al.*, 2011).

Os sais de cura são adicionados para prolongar a vida útil e evitar o crescimento de micro-organismos prejudiciais à saúde. No caso específico dos alimentos cárneos processados os aditivos adicionados para tal finalidade são os nitratos e nitritos, que vêm desempenhando um papel importante na conservação, fornecimento de coloração, sabor e textura a tais produtos (MACEDO *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Pode-se adicionar o nitrito diretamente ao alimento ou ele pode ser obtido a partir da reação de redução do nitrato através da ação de bactérias redutoras (FIGURA 1).

**Figura 1** - Reações envolvendo os íons nitrato e nitrito

Fonte: Adami (2015)

Os nitritos na carne formam óxido nítrico que reage com o grupo heme da mioglobina (oximioglobina ou metamioglobina) e com o aquecimento forma o nitrosohemocromo de coloração rosada. Os nitratos são menos utilizados por não terem ação bacteriostática e podem ser transformados em nitritos pela ação bacteriana (MACEDO *et al.*, 2005).

De acordo com Shibamoto e Bjeldanes (2009), um aditivo alimentar é uma substância ou mistura de substâncias que não fazem parte dos componentes básicos dos alimentos e que são adicionados em quantidades cientificamente controladas e, sua utilização está sujeita a controles rigorosos, apoiada por estudos científicos para demonstrar sua segurança à saúde humana (HONORATO *et al.*, 2013).

O JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) propôs uma IDA (*Ingestion* diária admissível) para nitrito de 0-0,07 mg de íon nitrito / kg de peso corporal. A EPA (*Environmental Protection Agency*) estabeleceu um RfD (*Reference Dose*) de 0,31 mg de nitrito de nitrito / kg de peso corporal por dia (equivalente a 0,33 mg de íon nitrito / kg de peso corporal por dia) (ABADIN *et al.*, 1998; EPA 2002; MENSINGA *et al.*, 2003; APE 2012].

No Brasil, o teor máximo de nitrito em alimentos cárneos processados está legislado pela Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 272, de 14 de março de 2019 na quantidade de 0,015 g/100 g do produto (BRASIL, 2019).

Com a avaliação da importância industrial e dos possíveis aspectos toxicológicos oriundos desses aditivos, faz-se necessária a execução do

monitoramento de suas concentrações por meio de determinações quantitativas desses compostos, evitando maiores riscos à saúde dos consumidores (HENTGES *et al.*, 2016).

### 1.3 Nitrito e a saúde

O mercado de embutidos tem apresentado grande expansão e alta competitividade na última década, uma vez que o consumo de produtos cárneos como salsichas, linguiças e mortadelas tem se tornado cada vez mais presente no hábito alimentar da população brasileira (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

A industrialização e o processamento de embutidos surgiram como forma de transformação da carne em produtos cárneos, possuindo origens diversas como de bovinos, suínos e aves preferencialmente utilizadas como matérias-primas pelos produtores. Linguiças, mortadelas, salsichas, presuntos, hambúrgueres, charques e salames estão hoje entre os diversos produtos obtidos pela industrialização da carne (CARTAXO, 2015).

A salsicha é um embutido de fácil preparo e de baixo custo. Suas matérias primas são as carcaças, vísceras e sobras da fabricação de outros produtos de carnes bovinas, suínas e de frango. No processamento de produção da salsicha, as carnes e a gordura são moídas até formarem uma massa bem fina, à qual depois são adicionados doses de sal, amido de milho, temperos e conservantes como nitrito de sódio (LÍRIO; BRITO; ANTUNES, 2015).

Os nitritos estão entre os conservantes mais eficazes por ter ação antimicrobiana inibindo as bactérias anaeróbias, como, por exemplo, o *Clostridium botulinum* (botulismo) (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

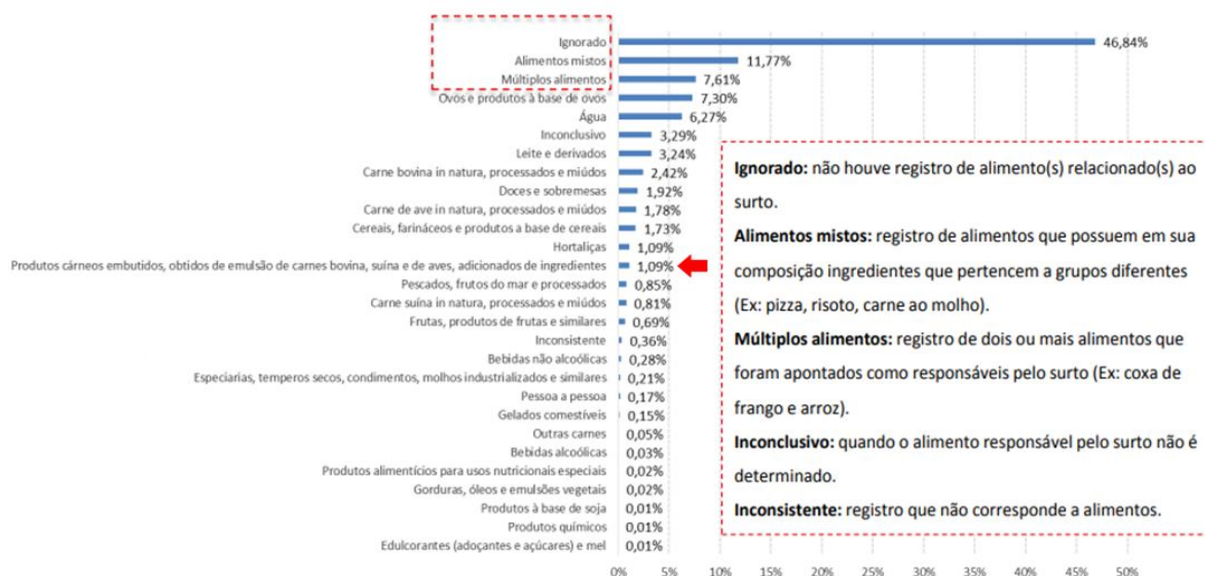
*Clostridium Botulinum* é um microrganismo, e agente etiológico produtor da toxina botulínica, comum no ambiente, e no trato intestinal de animais, produz vários metabolitos tóxicos de ação farmacológica similar. O termo botulismo vem de *botulus* que significa salsicha em latim, devido ao envolvimento do *C. botulinum* com esse alimento nos primeiros casos notificados na Alemanha no séc. XVIII. Relacionando a afecções alimentares, o botulismo se manifesta pela ingestão da toxina pré formada produzida pelo microrganismo no alimento, é relativamente raro, mais pode matar de forma rápida, e contaminar muitos ao mesmo tempo, através de uma fonte comum alimentar. Causando o desenvolvimento de um quadro neuromuscular, severo, agudo, afebril e não contagioso (QUADRO 2) (FONSECA *et al.*, 2018).

**Quadro 2 - Banco de dados do MS para a bactéria *Clostridium Botulinum***

| UF de notificação | Data da notificação | Alimento causador do surto                   | Local de ocorrência do surto | Nº total de casos expostos | Nº total de doentes | Nº de óbitos |
|-------------------|---------------------|----------------------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------|--------------|
| SP                | 10/12/2009          | Ignorado                                     | Residência                   | 3                          | 4                   | 2            |
| MT                | 23/11/2010          | Carne bovina in natura, processados e miúdos | Residência                   | 1                          | 1                   | 0            |
| PE                | 05/01/2016          | Alimentos mistos                             | Residência                   | 3                          | 2                   |              |

Fonte: Brasil (2018)

Em 2018, o ministério da saúde (BRASIL 2018) publicou informações a respeito da situação do quadro brasileiro das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (FIGURA 2) na qual temos destacado o percentual de 1,09% para os alimentos cárneos embutidos.

**Figura 2 – Discriminação dos alimentos incriminados em surtos DTA. Brasil 2000 a 2017**

Fonte: Brasil (2018)

Apesar dos benefícios na conservação de alimentos, o uso e consumo excessivo desse sal pode trazer danos à saúde da população. A principal preocupação do uso de nitritos em alimentos é decorrente dos efeitos tóxicos por excesso na dieta e pela formação endógena de composto n-nitrosos como a nitrosodimetilamina e monometilnitrosamina, que apresentam efeitos carcinógenos, teratogênicos e mutagênicos (CARTAXO, 2015; IAMARINO *et al.*, 2015).

Os nitritos dos embutidos interagem com alguns substratos da alimentação, como as aminas e amidas, produzindo nitrosamina no trato gastrointestinal. Tais características conferem aos embutidos um potencial cancerígeno, que pode ser potencializado por sua associação com alimentação desequilibrada, sedentarismo, consumo excessivo de álcool, tabagismo e estresse (BRASIL, 2016).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), cerca de 30 a 35% das causas de câncer estão relacionadas à dieta desequilibrada (excesso ou déficit nutricional, exposição a compostos tóxicos e ingestão de álcool). Portanto, é de fundamental importância entender de que forma os compostos tóxicos contaminam ou são formados no processamento dos alimentos, saber quais são os possíveis efeitos tóxicos para humanos, bem como em quais alimentos estão presentes em maiores concentrações (FELDMAN, 2017).

O nitrito interage com a hemoglobina (Hb) oxidando-a a metahemoglobina (MeHb). Nessa reação, ao alcançar a corrente sanguínea, o nitrito oxida o ferro da hemoglobina de seu estado ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) para sua forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ), dando origem a MeHb, a qual é incapaz de transportar oxigênio para as células, pois não se liga de forma reversível ao oxigênio, como acontece com Hb (IAMARINO *et al.*, 2015).

Segundo Santos e Lourival (2019) quando se tem a utilização de vitaminas antioxidantes, como a vitamina C, as concentrações de nitrito nos alimentos são menores, porque as vitaminas antioxidantes potencializam a sua ação antimicrobiana, fazendo a redução do nitrito a óxido nítrico, criando proteção contra reações de nitrosação, minimizando a exposição às nitrosaminas, consideradas carcinogênicas.

Os nitritos não são de todo ruim. Há cada vez mais evidências de que eles podem proporcionar benefícios à saúde, graças a uma molécula chamada óxido nítrico, subproduto de redução do nitrito, como apresentado na Figura 1. Em 1998, três cientistas americanos receberam o prêmio Nobel por suas descobertas a respeito do papel do óxido nítrico (NO) - um gás - no sistema cardiovascular (WELCH, 2019).

Anos antes, em 1992, a revista Science, em editorial, já tinha nomeado o NO a molécula do ano. Atualmente, ele é considerado a “molécula milagrosa”, devido a suas inúmeras ações fisiológicas imprescindíveis para a homeostase (OLIVO; RIBEIRO, 2018).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Aplicar conhecimentos químicos para discutir a prática da química analítica utilizando técnicas qualitativa e quantitativa na determinação de nitrito e pigmentos em salsicha.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Realizar levantamento bibliográfico, principalmente recente (últimos 5 anos), a respeito do desenvolvimento da química analítica e, também para nitrito em embutidos;
- Selecionar os métodos de ensaio para detecção qualitativa de nitrito;
- Interpretar as reações químicas para a detecção de nitrito;
- Aprender a manusear o espectrofotômetro molecular para detecção de nitrito;
- Explicar os gráficos de absorção molecular e de calibração simples;
- Realizar estatística descritiva para avaliar a precisão de medidas.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Reagentes e Materiais

##### 3.1.1 Defecação da amostra

- tetraborato de sódio decahidratado ou bórax ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  - PROQUÍMIOS, 99,5 – 105%). Hexacianoferrato de potássio trihidratado ( $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  - NEON, 99,62%). Acetato de zinco dihidratado ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - DINÂMICA, 98 – 101%). Nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$  - Dinâmica, 99%), ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  - Impex, 99,8%).
- Centrífuga de bancada sem rotor 0-4000 rpm (KASVI)
- Papel filtro quantitativo, faixa preta, poros 28  $\mu\text{m}$  (Quanty).

##### 3.1.2 Desenvolvimento da coloração para nitrito

- ácido sulfanílico ( $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$  - NEON, 99,03%). Ácido clorídrico ( $\text{HCl}$  - NEON, 37%). Cloreto n-(1-naftil)etileno-diamina dihidratado ( $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$  - NEON, 97%). Sulfato ferroso P.A – ACS ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – Dinâmica, 99%), nitrato de prata P.A – ACS ( $\text{AgNO}_3$  - Dinâmica, 99,8%), permanganato de potássio P.A ( $\text{KMnO}_4$  - Impex, 99%), ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  – NEON, 98%).

##### 3.1.3 Desenvolvimento da coloração para pigmentos

- acetona P.A ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$  - NEON, 99,5%).
- Filtro para seringa com poros 0,45  $\mu\text{m}$  (Chromafil RC-45/25)

##### 3.1.4 Curva de calibração para nitrito

- Nitrito de Sódio P.A ( $\text{NaNO}_2$  – NEON, 97%).
- Espectrofotômetro Digital: Bel Photonics, UV-VIS Spectrophotometer UV – M51, com cubetas de quartzo 10 mm, feixe simples, faixa espectral Uv-V.

#### 3.2 Preparo das soluções

##### 3.2.1 Defecação da amostra

###### A.1 Solução de Bórax 5% m/v

Em balão volumétrico de 25 mL, dissolveu-se 1,25 g de Bórax em 10 mL de água previamente aquecida a 70 °C. Deixou-se esfriar a temperatura ambiente para ajustar o volume.

**A.2 Solução de Hexacianoferrato de potássio 0,4% m/v**

Em balão volumétrico de 25 mL, dissolveu-se 0,1 g de Hexacianoferrato de Potássio em 5 mL de água. Completou-se o volume com água.

**A.3 Solução de Acetato de Zinco acidificada 4,4% m/v**

Em balão volumétrico de 25 mL, dissolveu-se 1,1 g de Acetato de Zinco em 3 mL de água, adicionou-se 0,2 mL de Ácido Acético Glacial concentrado, completou-se o volume com água.

**3.2.2 Desenvolvimento da coloração para nitrito****A.1 Solução ácido sulfanílico 0,2% m/v**

Em balão volumétrico de 25 mL dissolveu-se, por aquecimento em banho-maria, 0,05 g de ácido sulfanílico em 20 mL de água. Deixou-se esfriar (filtrar se for necessário) e adicionou-se, agitando, 2,5 mL de Ácido Clorídrico concentrado 37% v/v. Completou-se o volume com água.

**A.2 Solução Dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina 0,1% m/v**

Em balão volumétrico de 50 mL dissolveu-se 0,05 g de cloreto de N-naftil-etilenodiamina em água. Completou-se o volume com água. A conservação desta solução foi em frasco de vidro de cor âmbar ou embalado em papel alumínio, mantida no freezer, no máximo, durante uma semana.

**A.3 Solução de Ácido Clorídrico 45% v/v**

Em balão volumétrico de 25 mL, diluiu-se 11,3 mL de Ácido Clorídrico concentrado em 10 mL de água. Completou-se o volume com água.

**A.4 Solução de sulfato ferroso 25% m/v**

Em um béquer 10 mL, pesou-se 1,25 g de sulfato ferroso, adicionou-se 2 mL de água, acidulou-se com gotas de solução de ácido acético 0,3 mol/L e, completou-se o volume para 5 mL.

**A.5 Solução de nitrato de prata 5% m/v**

Em um béquer 10 mL, pesou-se 0,25 g de nitrato de prata e, completou-se o volume para 5 mL. Manteve-se o béquer embrulhado em papel alumínio.

**A.6 Solução de permanganato de potássio 1,6% m/v**

Em um béquer 10 mL, pesou-se 0,08 g de permanganato de potássio e, completou-se o volume para 5 mL. Manteve-se o béquer embrulhado em papel alumínio.

**A.7 Solução de ácido sulfúrico 16% v/v**

Em balão volumétrico de 25 mL, diluiu-se 4 mL de Ácido sulfúrico concentrado em 10 mL de água. Completou-se o volume com água.

**3.2.3 Curva de calibração para nitrito****A.1 Solução-mãe de nitrito de sódio 10 g/L**

Em balão volumétrico de 100 mL dissolveu-se em água 1,0 g de nitrito de sódio, previamente seco em estufa a 105 °C, completou-se o volume com água.

**3.3 Procedimento Experimental**

Todas as vidrarias utilizadas foram lavadas com detergente comercial, enxaguadas com água destilada, deixadas de molho *overnight* em uma solução de ácido clorídrico 20% v/v e, novamente enxaguadas com água destilada. Todas as análises foram realizadas em triplicata de preparo e de medida.

**3.3.1 Preparação da Amostra**

As amostras de salsichas foram adquiridas num comércio local da cidade de Inhumas/GO, a partir de uma marca conhecida, estavam lacradas e embaladas à vácuo, com data de embalagem em 17/01/2020 e validade até 17/03/2020. Foram compradas no dia 07/02/2020 (21 dias de prateleira) em um supermercado da cidade de Inhumas/GO.

Os procedimentos de “Defecação”, “Nitrito por espectrofotometria” e “Pigmentos por espectrofotometria” foram realizados conforme GANHÃO (2010). Os procedimentos “Nitrito por detecção visual” foram realizados conforme VOGEL (1981).

### **A.1 Defecação**

Primeiramente, duas salsichas foram picadas e maceradas em um almofariz e pistilo até que formasse uma massa homogênea. Em um vidro relógio foram pesados cerca de 10 g de amostra triturada e, transferida para um erlenmeyer de 125 mL. Adicionou-se 5 mL da solução de bórax 5% m/v, acrescentou-se 100 mL de H<sub>2</sub>O destilada (previamente aquecida a uma temperatura superior a 70 °C) e, levou-se a mistura ao banho-maria a 80 °C por 15 minutos, agitando-a a cada 5 minutos.

Após o resfriamento da amostra, adicionou-se ao erlenmeyer 2 mL da solução de hexacianoferrato de potássio 0,4% m/v e mais 2 mL da solução de Acetato de Zinco 4,4% m/v para defecação da amostra.

Após o passo anterior, com o auxílio de um bastão de vidro e de um funil, todo o conteúdo do erlenmeyer foi transferido para um balão volumétrico de 200 mL completando seu volume com H<sub>2</sub>O destilada e homogeneizado. A amostra foi deixada em repouso durante 30 minutos e, em seguida, centrifugou-se por 2 minutos à 4000 rpm e, depois, filtrou-se em papel filtro quantitativo (Faixa Preta) para um béquer.

Todo este procedimento foi repetido para o preparo do “*branco da amostra*” sem a utilização da salsicha.

### **3.3.2 Nitrito por espectrofotometria**

#### **A.1 Desenvolvimento da coloração**

Este procedimento foi realizado em vidrarias embaladas em papel alumínio. Pipetou-se 10 mL da amostra defecada e filtrada em balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se no mesmo 50 mL de H<sub>2</sub>O destilada, 10 mL da solução ácido sulfanílico 0,2% m/v e, 6 mL da solução de ácido clorídrico 45% v/v. A solução foi homogeneizada e, mantida em repouso, no escuro, durante 5 minutos.

Após o repouso foram adicionados 2 mL da solução de dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina 0,1% m/v e, mais uma vez deixado em repouso durante 10 minutos, no escuro.

Após o tempo de repouso e formação de uma coloração rósea, completou-se o volume do balão e homogeneizou-se. A leitura da absorbância foi realizada na faixa espectral da região do visível ( $\lambda$  = 300-700 nm), esperando um pico característico na linha 538 nm (previamente fez-se a “*calibração do equipamento*”).

## A.2 Calibração do equipamento

A partir da solução-mãe de nitrito de sódio 10 g/L preparou-se soluções intermediárias e as de trabalho utilizando-se a fórmula de diluição química, conforme o Quadro 3:

**Quadro 3 - Soluções preparadas a partir da solução-mãe e intermediária**

| Solução         | Volume retirado (mL) | Volume Preparado (mL) | Concentração Final (g/L) |
|-----------------|----------------------|-----------------------|--------------------------|
| Intermediária 1 | 2,5 <sup>1</sup>     | 10                    | 2,5                      |
| Intermediária 2 | 0,5 <sup>2</sup>     | 50                    | 0,05                     |
| Trabalho 1      | 0                    | 25                    | 0                        |
| Trabalho 2      | 0,5 <sup>3</sup>     | 25                    | 0,001                    |
| Trabalho 3      | 2,5 <sup>3</sup>     | 25                    | 0,005                    |
| Trabalho 4      | 5 <sup>3</sup>       | 25                    | 0,010                    |
| Trabalho 5      | 10 <sup>3</sup>      | 25                    | 0,020                    |

<sup>1</sup>A partir da solução-mãe ( $C_{\text{solução-mãe}} \times V_{\text{solução-mãe}} = C_{\text{intermediária}} \times V_{\text{intermediária}}$ ); <sup>2</sup>Apartir da intermediária 1 ( $C_{\text{intermediária1}} \times V_{\text{intermediária1}} = C_{\text{intermediária2}} \times V_{\text{intermediária2}}$ ); <sup>3</sup>A partir da intermediária 2 ( $C_{\text{intermediária2}} \times V_{\text{intermediária2}} = C_{\text{trabalho}} \times V_{\text{trabalho}}$ )

As soluções-trabalho foram utilizadas para a construção da curva analítica (absorbância vs concentração) utilizando-se a aplicação de software disponível.

A preparação das soluções-trabalho consistiu nas mesmas condições de “desenvolvimento da cor da amostra”, porém, no lugar da adição da alíquota da amostra adicionou-se alíquotas da solução padrão de nitrito de sódio.

A solução-trabalho 1 corresponde ao “*branco do padrão*”, ou seja, preparou-se um balão volumétrico com tudo o que foi adicionado para preparar as soluções-trabalho, porém, não se adicionou alíquotas da solução padrão, no lugar, pode-se adicionar água destilada/deionizada.

### 3.3.3 Nitrito por detecção visual

#### A.1 Método com sulfato ferroso

Em um tubo de ensaio, adicionou-se, cuidadosamente, 1 mL solução-amostra (após a defecação) sobre 1 mL da solução de sulfato ferroso 25% m/v. A identificação visual se dá pela formação de um anel marrom na junção dos dois líquidos (VOGEL, 1981). O “*branco da amostra*” foi preparado sem a adição da amostra. Uma solução de nitrito de sódio foi realizada para referência.

### **A.2 Método com nitrato de prata**

Em um tubo de ensaio adicionou-se 1 mL da solução-amostra (após a defecação), em seguida adicionou-se mais 1 mL da solução de nitrato de prata 5% m/v. A identificação visual se dá pela formação de um precipitado branco. O “*branco da amostra*” foi preparado sem a adição da amostra. Uma solução de nitrito de sódio foi realizada para referência.

### **A.3 Método com permanganato de potássio acidulada**

Em um tubo de ensaio foi adicionado 1 mL da solução-amostra (após a defecação), logo após adicionou-se 1 mL solução de permanganato de potássio 1,6% m/v e, aos poucos, adicionou-se 1 mL da solução de ácido sulfúrico 15% v/v. A identificação visual se dá pela mudança de cor violeta para incolor. O “*branco da amostra*” foi preparado sem a adição da amostra. Uma solução de nitrito de sódio foi realizada para referência.

## **3.3.4 Pigmentos por espectrofotometria**

### **A.1 Método para Nitroso-Pigmentos**

Este procedimento foi realizado em vidrarias embaladas em papel alumínio e também, na amostra de salsicha apenas macerada (ou seja, não defecada). Foram pesados 1 g da amostra em um vidro relógio, em seguida a amostra foi transferida para um almofariz. Adicionou-se 4 mL de acetona e, mais 0,3 mL de H<sub>2</sub>O destilada, macerou-se durante 5 minutos no escuro. Filtrou-se com filtro 0,45 µm para uma varredura espectral do filtrado na região do visível. Espera-se um pico no comprimento de onda de 540 nm. O “*branco da amostra*” foi preparado sem a adição da amostra.

OBS. O pico ultrapassou a sensibilidade do equipamento, portanto, realizou uma diluição de 5X: pipetou-se 2 mL da amostra, acrescentou-se mais 8 mL de água e, novamente fez-se a varredura espectral. Em outro software de tabelas e gráficos faz-se a multiplicação dos resultados por 5.

### **A.2 Método para Pigmentos Totais**

Este procedimento foi realizado em vidrarias embaladas em papel alumínio. Foram pesados 2 g da amostra (não-defecada) em um vidro relógio, em seguida a

amostra foi transferida para um almofariz e macerada. Adicionou-se 8 mL de acetona, mais 0,4 mL de H<sub>2</sub>O destilada e 0,2 mL de ácido clorídrico concentrado e macerou-se, a amostra manteve-se em repouso por 1 hora, também, no escuro. Filtrou-se com filtro 0,45 µm para uma varredura espectral na região do visível. Espera-se um pico no comprimento de onda de 640 nm. O “*branco da amostra*” foi preparado sem a adição da amostra.

OBS. O pico ultrapassou a sensibilidade do equipamento, portanto, realizou uma diluição de 25X: pipetou-se 1 mL da amostra, acrescentou-se mais 24 mL de água e, novamente fez-se a varredura espectral. Em outro software de tabelas e gráficos faz-se a multiplicação dos resultados por 25.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Preparação da Amostra

#### 4.1.1 Defecação

As salsichas ao serem pesadas, maceradas e homogeneizadas passaram por duas etapas, a etapa de desproteção na qual foi utilizado um tratamento térmico com a solução de bórax. Em seguida foi realizada a etapa de clarificação ocasionando a purificação do líquido presente no erlenmeyer, onde foram utilizadas as soluções de Carrez I e II (hexacianoferrato de potássio e de acetato de zinco) (LARA; TAKAHASHI; SILVEIRA, 1978).

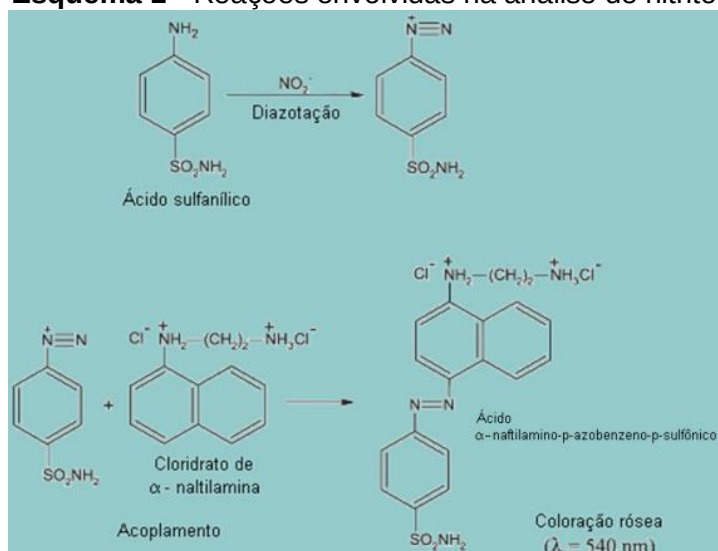
Os brancos indicam a interferência de outras espécies na amostra e os traços de analito encontrados nos reagentes usados na preservação, preparação e análise. Medidas frequentes de brancos também permitem detectar se o analito proveniente de amostras previamente analisadas estão contaminando as novas análises, por estarem aderidos aos recipientes ou aos instrumentos.

### 4.2 Nitrito por espectrofotometria

#### 4.2.1 Desenvolvimento da cor da amostra

Segundo a norma NP 1846:2006 (DUARTE, 2010; GANHÃO, 2010), a determinação espectrofotométrica de nitritos em produtos cárneos, baseia-se em reações de diazotação do nitrito com ácido sulfanílico (ESQUEMA 1) e ligação com cloreto de N-(1-Naftil)etileno-diamina para obtenção de uma coloração rósea (FIGURA 3) seguida de medição espectrofotométrica (GRÁFICO 1).

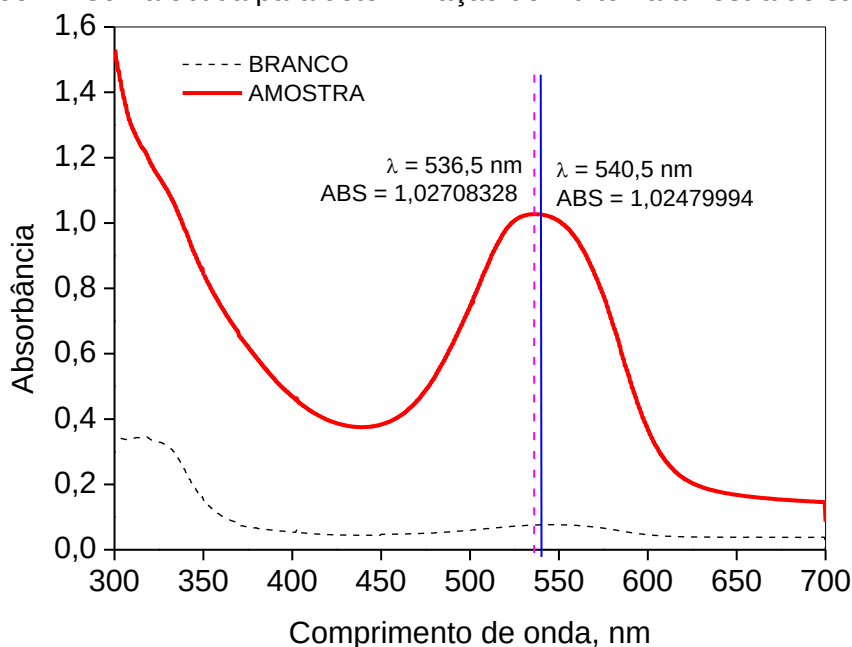
**Esquema 1** - Reações envolvidas na análise de nitrito



Fonte: Ferracioli, 2012

**Figura 3** - Branco da amostra e amostras após reação de diazotação

Fonte: Própria

**Gráfico 1** - Curva obtida para determinação de nitrito na amostra de salsicha

Fonte: Própria

A diazotação é uma reação química caracterizada pelo tratamento de uma amina aromática primária com um ácido forte, formando um sal diazônio. Este sal é capaz de reagir com compostos aromáticos muito reativos, como fenóis e arilaminas, para produzir azocompostos.

A concentração de nitrito é determinada através da formação do grupo cromóforo azo, (-N=N-), púrpura avermelhado, por diazotação da sulfanilamida em meio ácido e posterior reação com N-(1-Naftil)etileno-diamina. A reação do nitrito de sódio com a amina aromática e o ácido clorídrico forma um cloreto de diazônio, cloreto de sódio e água, por exemplo:  $C_6H_5.NH_2 + NaNO_2 + 2 HCl \rightarrow C_6H_5-N=N-Cl + NaCl + 2H_2O$ .

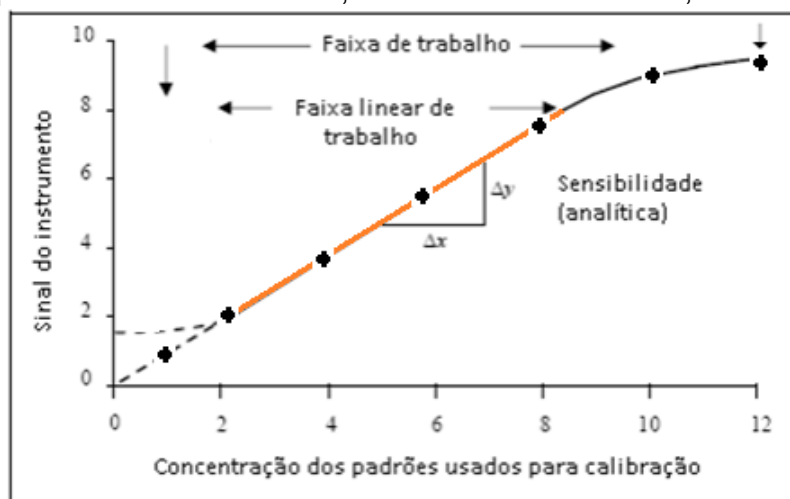
No Gráfico 1, observa-se que o pico máximo para nitrito na amostra de salsicha foi na linha 536,5 nm sendo que na literatura o especifica em 540 nm. Por isso, a varredura deve ser feita previamente com soluções padrões (da curva de calibração) para se descobrir qual melhor comprimento de onda a ser empregado na análise das amostras, sendo que o melhor comprimento de onda deve ser definido pelo pico de maior absorbância, dos padrões, próximo ao valor de referência. Neste sentido e, baseando-se na curva de calibração, adotou-se para leitura das amostras o comprimento de onda 540,5 nm.

#### 4.2.2 Calibração do equipamento

De acordo com GONÇALVES *et al.* (2010) uma compreensão adequada de qualquer desvio da linearidade da escala fotométrica é essencial para a calibração do espectrofotômetro como uma ferramenta analítica para a medição da concentração dos analitos de interesse. A calibração é realizada medindo a absorção de amostras em equipamentos que foram calibrados para absorbância ou transmitância em comprimentos de onda especificados.

A linearidade fotométrica ou faixa linear de trabalho, em cor laranja destacado na Figura 4, determina a precisão dos instrumentos na medição de absorção a partir do aumento da concentração. Esta linearidade é obtida a partir do ajuste de reta traçado com ajuda de programas gráficos como o “Origin”, “Statistica” ou “Excel”, entre os pontos experimentais da curva de calibração ou a faixa de trabalho, pontos pretos na Figura 4.

**Figura 4** - Exemplo típico de uma curva analítica com a identificação dos parâmetros de desempenho —Faixa de trabalho, —faixa linear de trabalho, —Sensibilidade



Fonte: INMETRO (2016)

Problemas na linearidade do espectrofotômetro podem produzir resultados incorretos, provocados caso as cubetas estejam sujas ou riscadas, se os comprimentos das cubetas (caminho óptico) forem diferentes do especificado, se as paredes das cubetas não forem paralelas, ou ainda se houver diferenças na espessura das paredes, ou pelo preparo incorreto dos padrões.

A linearidade pode ser expressa como um coeficiente de correlação (R) gerado a partir de equações de regressão (EQUAÇÃO 1) para descreverem satisfatoriamente o comportamento dos valores experimentais.

$$Y = A + B * X \quad \text{e } R = \text{valor entre 0 e 1} \quad (\text{EQUAÇÃO 1})$$

Onde,

Y = sinal do equipamento, no caso deste trabalho, Absorbância do padrão ou da amostra

A = coeficiente linear

B = coeficiente angular ou sensibilidade instrumental

X = concentração do padrão, no caso deste trabalho, concentração de nitrito

R = coeficiente de correlação

A calibração é realizada obtendo-se o sinal de resposta (absorbância, altura do pico, área do pico) como uma função da concentração conhecida do analito. Uma curva de calibração é preparada colocando-se os dados em forma de gráfico ou ajustando-os por meio de uma equação matemática adequada, como a relação linear utilizada no método dos mínimos quadrados demonstrada na Equação 1. Contudo, devido aos erros indeterminados envolvidos no processo de medida, nem todos os dados caem exatamente na linha reta. Portanto, o analista precisa tentar traçar “a melhor” linha reta entre os pontos, muitas vezes esta faixa linear não coincide com todos os pontos da faixa de trabalho. Também consideramos que qualquer desvio de pontos individuais da linha reta é decorrente de erros na medida.

Quando os padrões externos são usados, considera-se que quando a mesma concentração do analito estiver presente na amostra e no padrão, a mesma resposta será obtida. Assim, a relação funcional da calibração entre a resposta e a concentração do analito também deve-se aplicar à amostra. Na prática, com amostras complexas, é muito dispendioso ou impossível preparar um branco ideal e

um compromisso precisa ser estabelecido. Muito frequentemente, um branco real é tanto um branco do solvente, contendo o mesmo solvente no qual a amostra foi dissolvida, como um branco do reagente, contendo o solvente mais os reagentes usados no preparo da amostra. Mesmo com correções para o branco, vários fatores podem causar falhas nas considerações básicas do método do padrão externo. As diferenças em variáveis experimentais no momento da medida do branco, da amostra e dos padrões também podem invalidar uma calibração estabelecida (SKOOG *et al.*; 2005).

Na Figura 5 é possível observar a cor desenvolvida para nitrito no branco do padrão e para as soluções de trabalho contendo o padrão de nitrito para a calibração do equipamento.

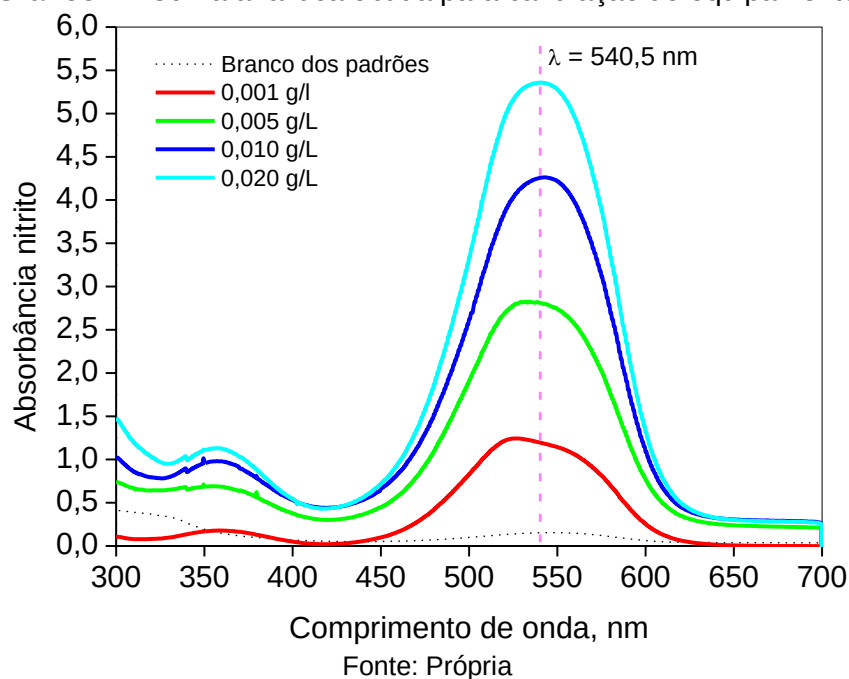
**Figura 5** - Soluções padrão de nitrito para calibração do equipamento



Fonte: Própria

Nota-se nesta Figura 5 a importância do acompanhamento do branco do padrão para a identificação da presença de nitrito nos reagentes utilizados para o preparo das soluções de trabalho, ou seja, tudo o que foi adicionado exceto o próprio padrão de nitrito. Desta forma, o valor da concentração obtida neste branco deve ser subtraída de cada valor das soluções trabalho (Obs: branco do padrão é diferente do branco do equipamento, que muitas vezes é simplesmente água deionizada).

A partir da leitura de cada solução, branco e trabalho dos padrões, no espectrofotômetro, obteve-se as curvas de absorção numa varredura espectral da região do visível (GRÁFICO 2).

**Gráfico 2** - Curva analítica obtida para calibração do equipamento

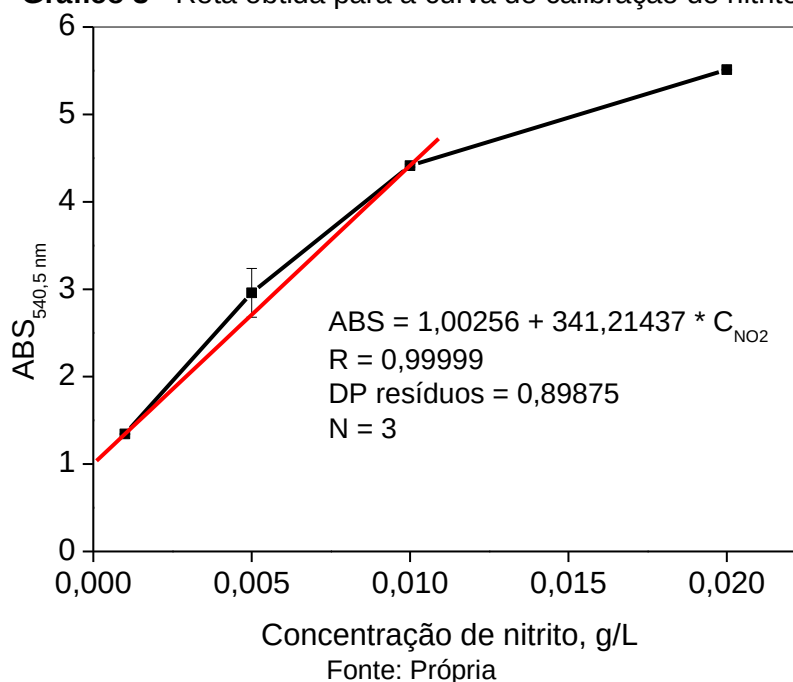
Na Tabela 1, estão descritos os valores de concentração e absorbância de nitrito, bem como a análise estatística, desvio padrão (s) e coeficiente de variação (CV), que demonstra valores aceitáveis para a confiança dos resultados, ou seja, baixo valor de s e CV abaixo de 15%.

**Tabela 1** - Valores de concentração e absorbância para nitrito

| Concentração, g/L | ABS <sub>540,5 nm</sub> | s     | CV, % |
|-------------------|-------------------------|-------|-------|
| 0                 | 0,153                   | 0,003 | 1,63  |
| 0,001             | 1,344                   | 0,002 | 0,17  |
| 0,005             | 2,959                   | 0,279 | 9,43  |
| 0,010             | 4,414                   | 0,016 | 0,37  |
| 0,020             | 5,511                   | 0,005 | 0,08  |

ABS: Absorbância; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação  
Fonte: própria autora

O Gráfico 3 mostra os diferentes níveis de concentração da solução padrão de nitrito e das respectivas absorbâncias a 540,5 nm determinadas pelo aparelho contra o branco da amostra.

**Gráfico 3 - Reta obtida para a curva de calibração de nitrito**

Essa curva de calibração corresponde à relação gráfica entre os valores de absorvância e os de concentração, sendo possível verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorvância em concentração. O valor de R quanto mais próximo de 1, irá indicar a qualidade da curva analítica, pois mais precisa será a representação pela equação da reta obtida.

A partir do desvio padrão (s) de 10 repetições de medidas de absorvância do branco dos padrões e do valor da inclinação da curva ( $B = 341,21437$ ) calculou-se o Limite de Detecção (L.D.) e o Limite de Quantificação (L.Q), conforme o Portal Action (2019).

**na unidade g/L, temos:**

$$\text{L.D.} = 3,3 * s_{\text{branco}} / B \Rightarrow \text{L.D.} = 24,18 \mu\text{g/L}$$

$$\text{L.Q.} = 10 * s_{\text{branco}} / B \Rightarrow \text{L.Q.} = 73,27 \mu\text{g/L}$$

**Convertendo para g/kg:** no preparo da defecação da salsicha gastou-se 10 g de amostra e diluiu para 200 mL:

$$\text{L.D.} = 24,18 \mu\text{g/L} * 0,2 \text{ L} / 0,010 \text{ kg} \Rightarrow \text{L.D.} = 0,484 \text{ mg/kg}$$

$$\text{L.Q.} = 73,27 \mu\text{g/L} * 0,2 \text{ L} / 0,010 \text{ kg} \Rightarrow \text{L.Q.} = 1,47 \text{ mg/kg}$$

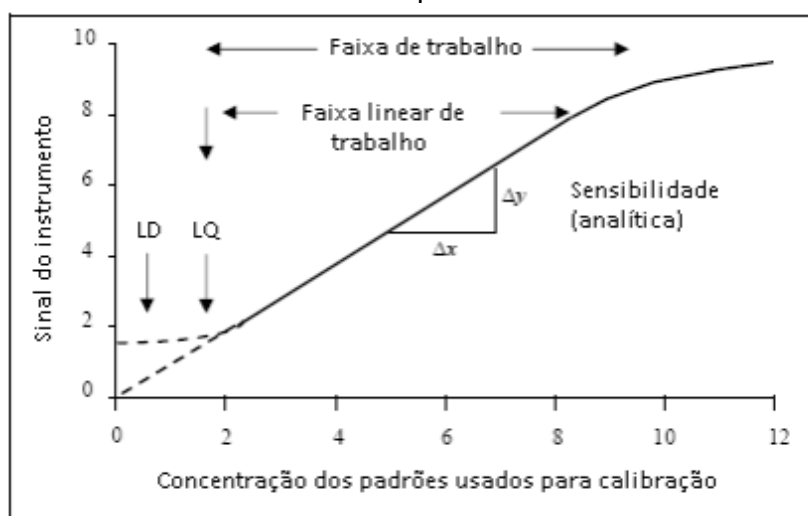
Considera-se o limite de detecção (L.D.) como sendo a menor concentração que pode ser detectada pelo equipamento e que seja distinta do sinal analítico do ruído. O L.D. neste caso é definido como a concentração mínima de uma substância que pode ser medida e informada com 99 ou 95% de confiança, ou seja, resultados de amostras abaixo de L.D. são não precisos.

Define-se limite de quantificação ou determinação como a concentração mais baixa de um analito que pode ser determinada para uma amostra com precisão aceitável (repetitividade) e exatidão, nas condições declaradas do teste, ou seja, resultados de amostras abaixo de L.Q. são não precisos (PENHA, 2017).

O L.D. corresponde ao início da zona em que é possível distinguir com confiança estatística (95%) o sinal do branco do sinal da amostra, sendo possível indicar se o analito está ou não presente, ou seja, a medida é significativamente afetada pelo ruído instrumental (baixa precisão). A faixa entre LD e LQ é considerada como sendo uma zona de detecção qualitativa. Assim sendo, o valor mínimo de concentração, usado para marcar a fronteira entre a detecção qualitativa e as medições quantitativas, é fornecido pelo LQ, por isso as medidas quantitativas, ou seja, as medidas de amostras possuem precisão aceitáveis quando feitas num nível superior ao L.D. e L.Q.

Na Figura 6, estão representados os parâmetros de desempenho descritos neste item.

**Figura 6** - Exemplo típico de uma curva analítica com a identificação dos parâmetros de desempenho



Fonte: INMETRO (2016)

### A.1 Relação entre a curva analítica e a amostra

Neste contexto, devemos decidir se o valor de nitrito encontrado na salsicha pela técnica espectrofotométrica é aceitável ou não, ou seja o valor deve ser maior que L.D. e L.Q. e, caso seja aceitável, comparar com a legislação que regulamenta o seu teor máximo em embutidos para avaliar se a quantidade está dentro dos padrões de qualidade para consumo.

#### A.1.1 Correção da absorbância da amostra versus fator de diluição

Com as curvas espectrais da amostra e do branco, obteve-se os dados estatísticos listados na Tabela 2, sendo que a média da absorbância da amostra já está subtraída da média da absorbância do seu branco ( $ABS_{\text{branco da amostra}} = 0,0764$ ).

**Tabela 2** - Absorbância média de  $NO_2^-$  encontrada na amostra

| $ABS_{541,5 \text{ nm}}$ | s       | CV, % |
|--------------------------|---------|-------|
| 1,0248                   | 0,03284 | 1,28  |

s: desvio padrão. CV: coeficiente de variação percentual

Pode-se observar no Esquema 2 que a determinação de nitrito ocorreu na amostra diluída 2,5X, ou seja, da amostra avolumada para 200 mL, retirou-se 10 mL e diluiu para 25 mL. Mas, qual será a absorbância em 200 mL?

**Esquema 2** - Sequência analítica para determinação de nitrito



Fonte: Compilação do autor<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Montagem a partir de imagens coletadas nos sites da Mercado Livre, Lojas Synth, Charcutaria, splabor, Bel Equipamentos

Para descobrir a absorbância no volume de 200 mL, basta-se multiplicar o resultado lido por 2,5, conforme a Equação 2:

$$ABS_{200\text{ mL}} = 2,5 * 1,0248 \Rightarrow ABS_{200\text{ mL}} = 2,562 \quad (\text{EQUAÇÃO 2})$$

#### A.1.2 Absorbância da amostra versus curva analítica

Para converter a absorbância de nitrito<sub>200 ml</sub> e o desvio padrão (s) na unidade de concentração (g/L), aplica-se a equação da reta (EQUAÇÃO 1) obtida com a curva analítica. O resultado final encontra-se na Tabela 3.

$$ABS_{540,5} = 1,00256 + 341,21437 * c_{NO_2} \quad (\text{EQUAÇÃO 3})$$

$ABS_{540,5}$  = absorbância da amostra

1,00256 = coeficiente linear

341,21437 = inclinação da curva

$c_{NO_2}$  = concentração de massa (unidade de concentração dos padrões, no caso deste trabalho, em g/L)

**Tabela 3** - Concentração de massa de  $NO_2^-$  encontrada na amostra

| $c_{NO_2}$ , mg/L | s, mg/L | CV, % |
|-------------------|---------|-------|
| 4,57              | 0,28    | 6,44  |

s: desvio padrão. CV: coeficiente de variação percentual

De acordo com os resultados de L.D. e L.Q. na unidade  $\mu\text{g/L}$ , ou seja, massa de nitrito, volume de diluição, podemos observar que o resultado para a amostra é confiável, pois está superior a ambos parâmetros estatísticos.

#### A.1.3 Conversão de unidades de massa da amostra

Para converter a unidade de concentração de massa (mg/L) para a unidade (mg/kg) ou seja, massa do nitrito:massa da amostra de salsicha (EQUAÇÃO 4) tem-se que considerar o volume de diluição da solução de defecação em na unidade L (0,2 L) e a massa da amostra na unidade kg (0,0100 kg) utilizada na defecação.

$$NO_2^- \text{ Salsicha} = 4,57 \text{ mg/L} * 0,2 \text{ L} / 0,010 \text{ kg} \Rightarrow NO_2^- \text{ Salsicha} = 91,4 \text{ mg/kg} \quad (\text{EQUAÇÃO 4})$$

De acordo com os resultados de L.D. e L.Q. na unidade mg/kg, podemos observar que o resultado para a amostra é confiável, pois está superior a ambos parâmetros estatísticos.

## **A.2 Relação entre a $c_{NO_2}$ versus padrões de referência para consumo**

### **A.2.1 Comparação com a legislação brasileira**

Segundo a legislação brasileira, RDC Nº 272/2019 o teor máximo de nitrito em produtos cárneos processados é de até  $NO_2^- \text{ Salsicha} = 15 \text{ mg/100 g}$ .

■ O teor de nitrito encontrado na salsicha foi de 91,4 mg/kg.

Conversão da unidade mg/kg para a unidade mg/100 g (EQUAÇÃO 5):

$$NO_2^- \text{ Salsicha} = 91,4 \text{ mg/kg} / 10 \Rightarrow NO_2^- \text{ Salsicha} = 9,14 \text{ mg/100 g } c_{NO_2} \quad (\text{EQUAÇÃO 5})$$

Portanto, a salsicha amostrada pode ser comercializada, pois o teor de nitrito está 1,6 vezes abaixo do máximo permitido pela legislação brasileira.

### **A.2.2 Comparação com o valor recomendado pela JECFA**

Segundo a recomendação internacional JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* - Comitê da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação/Organização Mundial da Saúde (FAO/OMS) de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) o teor máximo de nitrito diário é de até 0,07 mg/kg corporal. Assim, por exemplo, o consumo máximo diário de  $NO_2^-$  para uma pessoa de 55 kg, será (EQUAÇÃO 6):

$$NO_2^- \text{ diário} = 55 \text{ kg} * 0,07 \text{ mg} \Rightarrow NO_2^- \text{ diário} = 3,85 \text{ mg } NO_2^- \quad (\text{EQUAÇÃO 6})$$

Sabendo que,

■ O teor de nitrito encontrado na salsicha foi de 91,4 mg/kg

■ 1 salsicha possui 50 g

A quantidade de salsicha ( $q$ ) que esta pessoa pode consumir será (EQUAÇÃO 7):

$$q_{\text{salsicha}} = 3,85 \text{ mg} * 1000 / 50 \text{ g} * 91,4 \text{ mg/kg} \Rightarrow q_{\text{salsicha}} = 0,8 \text{ partes de 1 salsicha} \quad (\text{EQ. 7})$$

ou 82% de 1 salsicha

### A.2.3 Comparação com o valor recomendado pela EPA

Segundo outra legislação internacional EPA (*Environmental Protection Agency*) o teor máximo de nitrito diário é de até 0,31 mg/kg corporal. Assim, o consumo máximo diário de  $\text{NO}_2^-$  para uma pessoa de 55 kg, p. ex., será (EQUAÇÃO 8):

$$\text{NO}_2^- \text{ diário} = 55 \text{ kg} * 0,31 \text{ mg/kg} \Rightarrow \text{NO}_2^- \text{ diário} = 17,05 \text{ mg NO}_2^- \quad (\text{EQUAÇÃO 8})$$

Sabendo que,

- O teor de nitrito encontrado na salsicha foi de 91,4 mg/kg
- 1 salsicha possui 50 g

A quantidade de salsicha ( $q$ ) que esta pessoa pode consumir será (EQUAÇÃO 9):

$$m_{\text{salsicha}} = 17,05 \text{ mg} * 1000 / 50 \text{ g} * 91,4 \text{ mg/kg} \Rightarrow q_{\text{salsicha}} = 4 \text{ salsichas} \quad (\text{EQUAÇÃO 9})$$

De acordo com as recomendações internacionais, se uma pessoa de 55 kg não ingerir, em 1 dia, nenhuma outra fonte de nitrito (queijos, folhas verdes e tubérculos, alface, espinafre, beterraba e aipo, além de algumas frutas) esta pode consumir até 82% de 1 salsicha, segundo o JECFA e, de acordo com EPA pode-se consumir até 4 salsichas por dia para suprir suas necessidades diárias de alimentação.

Segundo Andrade e Bocca (2016) a diferenciação nas recomendações, guias e padrões de referência alimentares é proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS). De acordo com a OMS:

Cada governo pode fornecer informações à população que facilite a adoção de escolhas alimentares mais saudáveis em uma linguagem que seja compreendida por todas as pessoas e que leve em conta questões culturais, sociais, econômicas e ambientais.

Continuamente, muitos países trabalham na construção de seus próprios guias alimentares, com objetivos de aconselhamento nutricional e melhoria na qualidade de vida da população. No entanto, cada um deles possui características particulares que consideram o perfil alimentar e nutricional da população em questão, podendo conter recomendações gerais distintas entre si (BARBOSA; COLARES; SOARES, 2008).

A elaboração de guias alimentares abrange diversas etapas, sendo, portanto, um processo bastante complexo e muito distintos entre si (ANDRADE; BOCCA, 2016):

O guia português se mostra de forma mais sucinta, o que pode facilitar a leitura pela população. No entanto, não tem a riqueza de informações como o do Brasil e Estados Unidos. O americano apresenta suas recomendações de forma mais técnica, enquanto o brasileiro tem o foco no alimento e não no nutriente, como o americano, enfatizando a importância das dimensões sociais e culturais nas práticas alimentares.

### 4.3 Nitrito por detecção visual

#### 4.3.1 Método com sulfato ferroso

A identificação visual se dá pela formação de um anel marrom na junção dos dois líquidos (solução ferrosa mais a amostra), devido à formação do complexo misto  $[\text{Fe}, \text{NO}]\text{SO}_4$  (EQUAÇÃO 14).

(EQ.10)  $\text{Fe}(\text{SO}_4)(\text{aq}) + \text{CH}_3\text{COOH}(\text{aq}) \rightarrow$  não ocorrência de reação

(EQ. 11)  $\text{NaNO}_2(\text{aq}) + \text{CH}_3\text{COOH}(\text{aq}) \rightleftharpoons \text{HNO}_2(\text{aq}) + \text{CH}_3\text{COO}^-(\text{aq})$

(EQ. 12)  $3\text{HNO}_2(\text{aq}) \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}(\text{l}) + \text{HNO}_3(\text{aq}) + 2\text{NO}(\text{g})$

(EQ. 13)  $\text{HNO}_2(\text{aq}) + \text{Fe}^{2+}(\text{aq}) + \text{H}_3\text{O}^+(\text{aq}) \rightleftharpoons \text{NO}(\text{g}) + \text{Fe}^{3+}(\text{aq}) + \text{H}_2\text{O}(\text{l})$

(EQ. 14)  $\text{Fe}^{2+}(\text{aq}, \text{excesso}) + \text{SO}_4^{2-}(\text{aq}) + \text{NO}(\text{g}) \rightleftharpoons [\text{Fe}, \text{NO}]\text{SO}_4(\text{aq})$

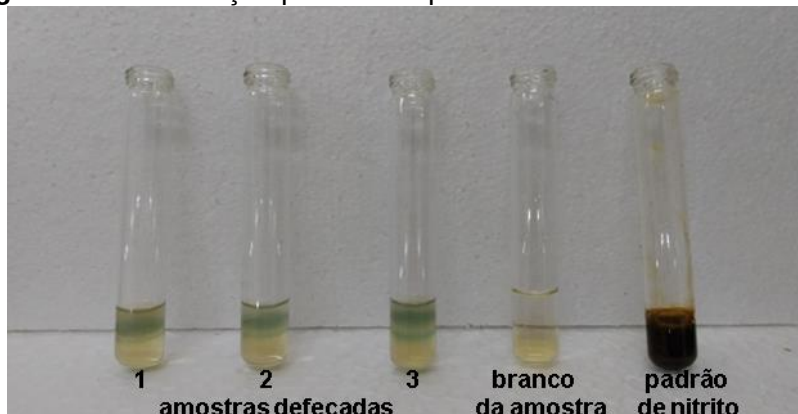
Na Equação 10 tem-se apenas a acidificação do meio. Ao adicionar a solução de  $\text{NaNO}_2$  dentro do tubo contendo a mistura da Equação 10, num primeiro momento o sal de nitrito forma ácido nitroso pela reação com ácido acético (EQUAÇÃO 11). Esse ácido nitroso pode ter duas reações concorrente. Uma, ele pode sofrer decomposição (EQUAÇÃO 12) caso o meio esteja aquecido e (b) noutra o ácido nitroso pode oxidar o íon  $\text{Fe}(\text{II})$  a  $\text{Fe}(\text{III})$  (EQUAÇÃO 13), fato este ocorrido nesse trabalho.

O gás  $\text{NO}$  formado nas Equações 12 e/ou 13 reage com o  $\text{Fe}(\text{II})$  em excesso para formar o complexo de sal duplo mononitroso sulfato de Ferro (II) (EQUAÇÃO 14) (ou complexo iônico mononitroso de Ferro(II) pentahidratado  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{NO})]^{2+}$ ).

Quando realizou a adição do reagente na amostra filtrada após a defecação percebeu-se a formação de um anel azul na junção dos dois líquidos. No branco da

amostra não ocorreu mudança e no tubo contendo uma solução de nitrito verificou-se a formação do anel marrom e a consequente solubilização (FIGURA 7).

**Figura 7** - Identificação para nitrito pelo método com sulfato ferroso

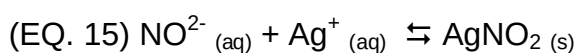


Fonte: Própria

Portanto, infere-se que este ensaio não é favorável em amostras de salsicha defecadas.

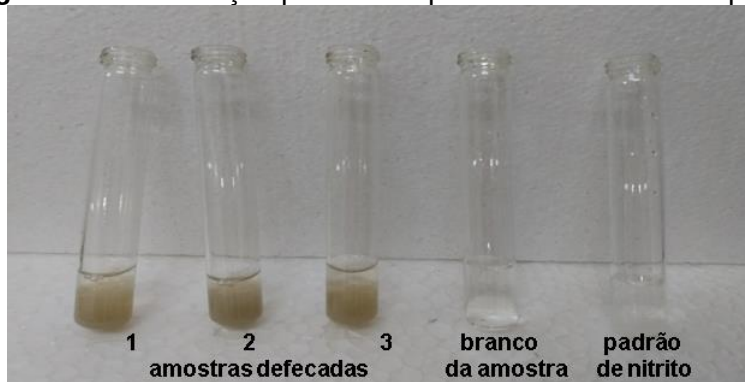
#### 4.3.2 Método com nitrato de prata

Quando a solução de nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) reagiu com nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), ocorreu a formação de um precipitado branco através de uma reação de dupla-troca. Este precipitado é o nitrito de prata (EQUAÇÃO 15) (VOGEL, 1981).



Portanto o teste atendeu ao esperado que era formar um precipitado branco, cristalino, de nitrito de prata proveniente de soluções concentradas (FIGURA 8).

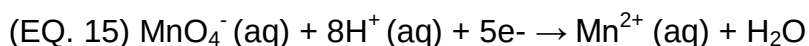
**Figura 8** - Identificação para nitrito pelo método nitrato de prata



Fonte: Própria

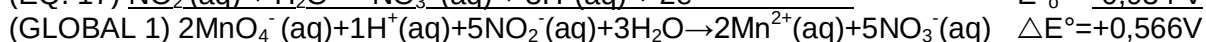
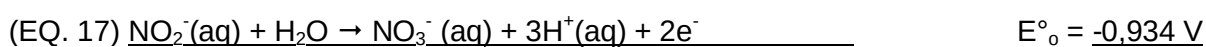
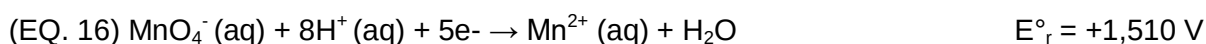
#### 4.3.3 Método com permanganato de potássio acidulada

O permanganato de potássio como agente oxidante (que sofre redução) apresenta o seguinte comportamento em meio ácido, de acordo com a Equação 15:



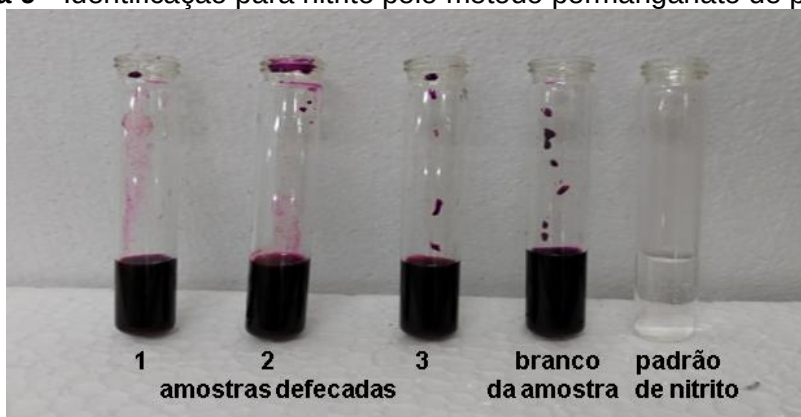
A reação da Equação 15 ocorre preponderantemente em valores de pH inferiores a 3,0 uma vez que, abaixo deste valor, o subproduto da reação de óxido-redução do  $\text{KMnO}_4$  é o manganês no estado de oxidação +2, sendo este altamente solúvel nesta faixa de pH. Por isso, adicionou-se ácido para o ajuste desta acidez.

Sendo o íon nitrito um pobre agente redutor (que sofre oxidação) (EQUAÇÃO 16), este reagirá somente com oxidantes fortes para produzir íon nitrato (EQUAÇÃO 17). Assim, tem-se o favorecimento espontâneo da redução de nitrito e a confirmação de sua presença (EQ. GLOBAL 1).



O fenômeno de mudança de cor violeta do íon permanganato para incolor do íon manganês (II) foi observado somente no tubo que continha a solução de referência de nitrito (FIGURA 9), nos tubos onde tinha amostra de salsicha defecada a mudança de cor não aconteceu.

**Figura 9** - Identificação para nitrito pelo método permanganato de potássio

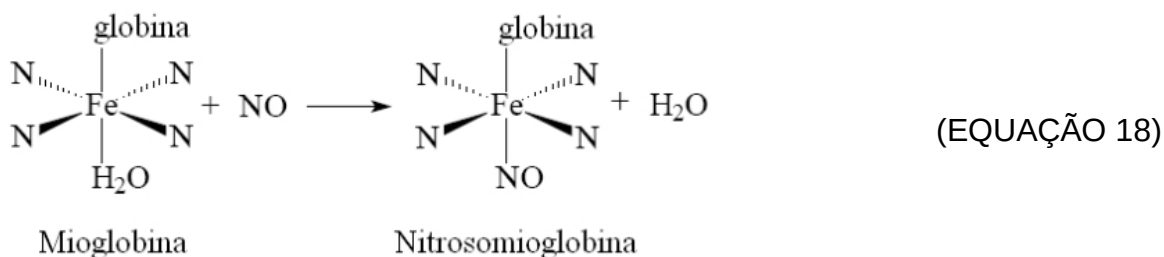


Fonte: Própria

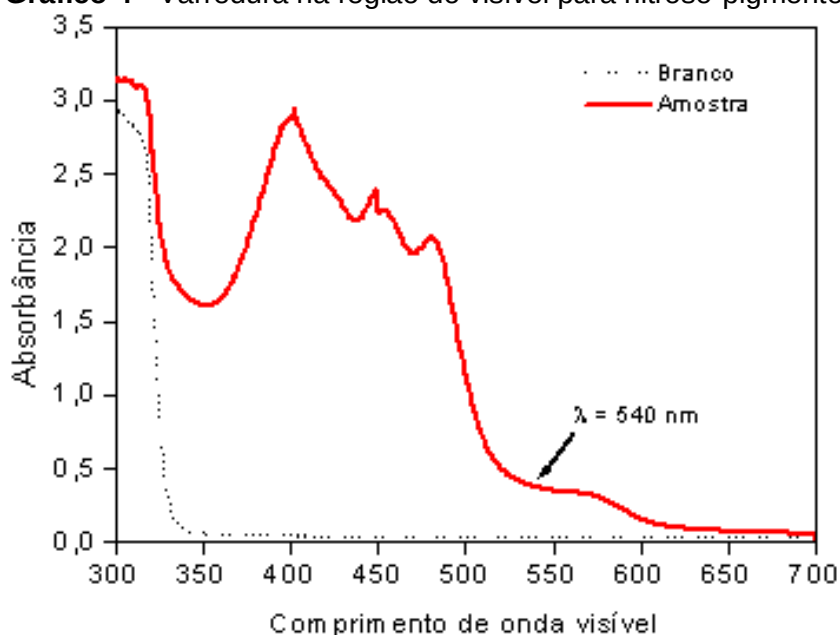
### 4.3 Pigmentos por espectrofotometria

#### 4.3.1 Método para Nitroso-Pigmentos

No processo de cura de carnes, o nitrato é reduzido a nitrito por ação bacteriana, que é convertida em óxido nítrico, por redução enzimática, o óxido nítrico reage com a mioglobina da carne (EQUAÇÃO 18) e, posteriormente, na presença de calor e fumaça, formam-se nitrosos e hemocromos, um pigmento rosa brilhante que caracteriza os produtos curados.



Para a determinação da concentração de nitroso-pigmentos adiciona-se acetona. Devido ao tipo de ligação nela presente (C=O), torna-a levemente polar apenas, ou seja, sua fraca força de eluição ( $\epsilon^\circ = 0,56$ ) irá dissolver o grupo cromóforo nitroso, assim como, seu lado mais fortemente apolar irá quebrar as interações proteína-proteína do complexo hemo e, a tem-se a consequente caracterização no comprimento de onda de 540 nm; afortunadamente, não foi observada a formação deste pigmento nessa linha espectral (GRÁFICO 4).

**Gráfico 4** - Varredura na região do visível para nitroso-pigmento

Fonte: Própria

A não detecção de nitro-pigmento é um indicativo da boa qualidade da salsicha amostrada mantida pela indústria durante a sua fabricação e pelo comerciante para distribuição ao consumidor.

#### 4.3.2 Método para Pigmentos Totais

Segundo Marchesi *et al.* (2006) a presença de pigmentos totais (inclui aqui os pigmentos oximioglobina - OMB, vermelho brilhante; mioglobina - MB, vermelho púrpura; e os pigmentos nitrosos – PN) que correspondem à mioglobina nitrosa (NOMB, rosa) e metamioglobina nitrosa (NOMetMB, marrom) está condicionada ao modo de conservação do produto cárneo, como segue o esquema no Quadro 4.

**Quadro 4** - Qualidade de produtos cárneos

| OMB, MB, PN                                  | OMB, MB << PN                                                                     | OMB, MB >> PN                                             |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| ↑luz ↑O <sub>2</sub><br>↓luz ↑O <sub>2</sub> | ↓NO <sub>2</sub> ↑NO <sub>3</sub><br>↑luz ↑O <sub>2</sub><br>↓luz ↑O <sub>2</sub> | ↑NO <sub>2</sub> ↓NO <sub>3</sub><br>↓luz ↓O <sub>2</sub> |
| <b>RUIM</b>                                  | <b>RUIM</b>                                                                       | <b>ÓTIMO</b>                                              |

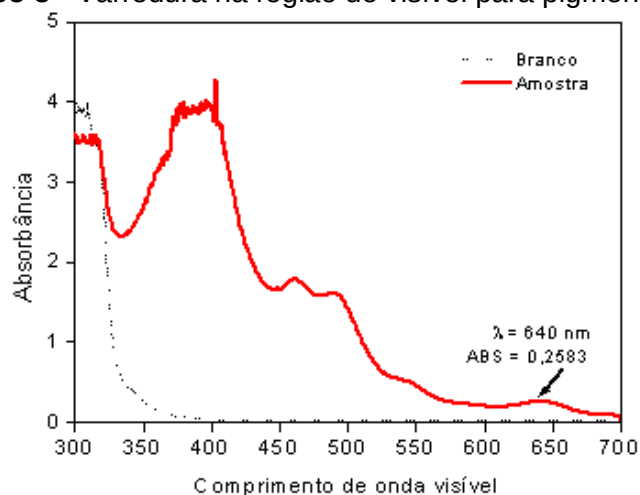
Fonte: Marchesi *et al.* (2006)

Assim, Marchesi *et al.* (2006) sugere que:

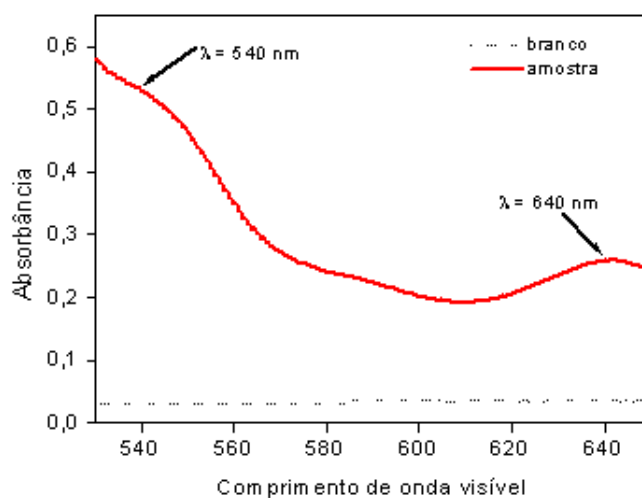
Uma alternativa para prevenir a descoloração nos produtos cárneos, consiste em minimizar a quantidade de oxigênio e a intensidade de luz que entra em contato com a superfície do produto. Filmes com baixa permeabilidade ao oxigênio, associados ao acondicionamento a vácuo, são utilizados para impedir esse contato do produto.

O Gráfico 5a, apresenta a varredura para pigmentos totais na região do visível de 300 a 700 nm. No Gráfico 5b, tem-se um destaque maior para a região do comprimento de onda de 530 a 650 nm, onde é possível observar com maior clareza que a amostra de salsicha analisada contém somente pigmentos totais (640 nm) e, sem a presença de pigmentos nitrosos (540 nm), denotando uma qualidade ótima de conservação.

**Gráfico 5 - Varredura na região do visível para pigmento total**



(a) Espectro 300 – 700 nm



(b) espectro 530 – 650 nm

Fonte: Própria

## 5 CONCLUSÃO

O método de diazotação para espectrofotometria permite a determinação e quantificação de nitrito em amostras de salsicha acima dos limites de sensibilidade instrumental (L.D. e L.Q.), porém a identificação visual para nitrito foi ineficaz na amostra quando defecada.

O acondicionamento da amostra de salsicha realizada desde a sua fabricação até a sua distribuição ao consumidor garantiu a não formação de pigmentos nitrosos e a boa qualidade para consumo.

De acordo com as análises feitas na amostra de salsicha a mesma encontra-se dentro das normas estipuladas pela legislação vigente, RDC Nº 272/2019, este resultado é uma garantia de que o fabricante desta amostra respeita os padrões estabelecidos. De acordo com as recomendações internacionais, JECFA e EPA, uma pessoa de 55 kg pode consumir de meia salsicha a quatro salsichas por dia, respectivamente.

## REFERÊNCIAS

- ADAMI, F. S. **Teor de nitrato e nitrito e análise microbiológica em linguiças e queijos**. 66f. Tese (Doutorado em Ambiente e Desenvolvimento) - Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2015.
- ALVES, A. C. L. **Intervenção pedagógica: estímulo à aprendizagem em curso de especialização em instrumentação cirúrgica**. 66 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Formação Interdisciplinar em Saúde). Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.
- ANDRADE, L. M.; BOCCA, C. Análise comparativa de guias alimentares: proximidades e distinções entre três países. **Demetra**. v. 11, n. 4, 1001-1016, 2016.
- BARBOSA, R. M. S.; COLARES, L. G. T.; SOARES, E. A. Desenvolvimento de guias alimentares em diversos países. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 21, n. 4, p. 455-467, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Secretaria de Defesa Agropecuária. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] União**: nº 66, Seção 1, pág. 6, 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Desmistificando dúvidas sobre alimentação e nutrição: material de apoio para profissionais de saúde. Ministério da Saúde, Universidade Federal de Minas Gerais. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 164 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Situação epidemiológica. **Dados estatísticos**. 2018. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos/situacao-epidemiologica>
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 272, de 14 de março de 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. **Diário Oficial [da] União**: nº 52, Seção 1, pág. 194, 2019.
- CARTAXO, J. L. S. **Riscos associados aos níveis de nitritos em alimentos: uma revisão**. 30f. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2015.
- CASS, Q. B.; BARREIRO, J. C. Os avanços tecnológicos na química analítica: sucessos e desafios. **Ciência e Cultura**. v. 63, n. 1, p. 37-40, 2011.
- DUARTE, C. M. D. **Controlo da qualidade aplicado ao desenvolvimento de novos produtos**. 2010. 31f. (Curso de Especialização Tecnológica em Qualidade Alimentar) – Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra, 2010.
- ESPINOLA, A. Fritz Feigl: sua obra e novos campos tecno-científicos por ela originados. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 169-176, 2004.
- FELDAN, J. V. **Exposição a compostos carcinogênicos através da alimentação**. 65f. Trabalho de Conclusão de Curso (Nutrição) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2017.

- FERRACCIOLI, V. R. **Avaliação da qualidade de salsichas do tipo *hot dog* durante o armazenamento.** 116f. Dissertação (Mestre em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos), Escola de Engenharia Mauá do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2012.
- FONSECA, K. C. O. S.; CARVALHO, C. W. F.; CARVALHO, C. V. F.; BARBOSA, F. R.; PEREIRA, D. E. Botulismo de Origem Alimentar e suas Toxinas: uma Revisão Literária. **International Journal of Nutrology**, 11(S 01): S24-S327, 2018.
- GANHÃO, F. M. C. **Evolução do teor de nitritos e de nitratos e da concentração de pigmentos no fiambre e na mortadela ao longo do seu processo produtivo e do seu prazo de vida útil.** 111f. Dissertação (Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar), Universidade Nova de Lisboa Faculdade de Ciências e Tecnologia, Lisboa, 2010.
- GONÇALVES, D. E. F.; CARVALHO, E. M. S.; GOMES, J. F. S.; ALVARENGA, A. D. **Importância da calibração de espectrofotômetros Uv-Vis nas análises químicas.** 15f. Relatório Técnico. Visomes Comercial Metrológica Ltda - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro). 2010.
- HENTGES, D.; ZART, N.; MARMITT, G.L.; OLIVEIRA, E. C.; ADAMI, F. S. **Concentrações de nitrito e nitrato em salsichas.** 7f. Unidade Integrada Vale do Taquari de Ensino Superior (UNIVATES), Lajeado, Rio Grande do Sul, 2016.
- HONORATO, T. C.; BATISTA, E.; PIRES, T.; NASCIMENTO, K. O. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 8, n. 5, p. 01 – 11, ed. Especial. 2013.
- IAMARINO, L. Z.; OLIVEIRA, M. C.; ANTUNES, M. M.; OLIVEIRA, M.; RODRIGUES, R. O.; ZANIN, C. I. C. B.; SCHIMILE, M.; LIMA, A. A. Nitritos e nitratos em produtos cárneos enlatados e/ou embutidos. **Revista Gestão em Foco**. ed.7. 2015.
- LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y.; SILVEIRA, N. **Determinação de nitritos e nitratos em conservas de carne.** Rev. Inst. Adolfo Lutz, 38: (2) 161-166, 1978.
- LÍRIO, T. F.; BRITO, B. M. S.; ANTUNES, W. L. Avaliação dos níveis de nitrito em salsichas comercializadas na cidade de Macaé/RJ. **Revista de Engenharias da Faculdade Salesiana**. n. 6, pp. 10-14. 2017.
- MACEDO, G. A.; PASTORE, G. M.; SATO, H. H.; PARK, Y. G. K. **Bioquímica experimental de alimentos.** São Paulo, Varela. 2005. 187p.
- OLIVEIRA, J. F.; SILVA, U. R.; PASTORE, A. A.; AZEVEDO, E. C.; CAMPOS, G. M.; SILVA, F.C. G.; RAGHIANTE, F.; MARTINS, O. A. Determinação espectrofotométrica de nitrito em produtos cárneos embutidos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v. 11, n.1, p.19-31. 2017.
- OLIVO, R.; RIBEIRO, L. G. T. Novos conceitos sobre nitratos e nitritos. 2018. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research (BJSCR)**. vol.24, n.3, pp.115-125, 2018.
- PENHA, J. G. **DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE DETECÇÃO E DE QUANTIFICAÇÃO PARA ANÁLISE DE ELEMENTOS-TRAÇO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA.** 109f. Dissertação (Mestre em Tecnologias e Inovações Ambientais, área de concentração em Solo e sua Interface com o Ambiente) - Universidade Federal de Lavras, Lavras Minas Gerais, 2017.

PORTAL ACTION. **Limite de detecção**. 2019. Disponível em: <http://www.portalaction.com.br/validacao-de-metodologia-analitica/115-limite-de-deteccao>.

SANTOS, P. S.; LOURIVAL, N. B. S. Consumo de compostos químicos oriundos de embutidos e sua correlação com o desenvolvimento do câncer: uma revisão. 2019. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**. v.34, n. 67. 2019.

SHIBAMOTO, T. BJELDANES, L. **Introdução à toxicologia dos alimentos**. 2ª ed. São Paulo. 2009. 320 p.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, J. F. **Fundamentos de química analítica**. 8º ed. p 179.

VOGUEL, A. I. **Química Analítica Qualitativa**. 5ª ed. São Paulo, 1981. 665 p.

VAZ JR, S. Análise Química Instrumental e sua Aplicação em Controle de Qualidade de Biocombustíveis. **Circular Técnica**, n. 3, 1 ed., EMBRAPA, 2010.

VOGEL, C.C.; PAZUCH, C. M.; SARMENTO, C.; BACK, L.; SECCO, T. H. Desenvolvimento de salsicha com teor de sódio reduzido (sal light). **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n.3, p. 305-316, 2011.

WELCH, A. S. **Consumir carne processada e outros alimentos ricos em nitrito ou nitrato faz mal à saúde?** BBC Future, News Brasil. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/vert-fut-47926874>. 2019.