

**Estela Mesquita Diegues de Oliveira**

**Nitrato, nitrito e sorbato em produtos  
cárneos consumidos no Brasil**

**Araraquara  
2014**

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

# **Nitrato, nitrito e sorbato em produtos cárneos consumidos no Brasil**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Farmacêutica-Bioquímica.

ESTELA MESQUITA DIEGUES DE OLIVEIRA

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Magali Monteiro da Silva

Araraquara  
2014

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Profa. Dra. Magali Monteiro pela orientação e pela paciência, por ter me apoiado e acreditado em meu trabalho.

Agradeço à banca examinadora por todas as críticas e colocações que muito contribuíram para a evolução desse trabalho.

Agradeço ao grupo de pesquisa do Laboratório de Análise de Alimentos pelo apoio, amizade e força em todos os momentos. Em especial, agradeço ao José Fernando, Eliane, Ana Luiza e Raíssa pelo apoio e amizade nos momentos mais difíceis, me ajudando a encontrar a força necessária para continuar.

Agradeço ao Prof. Dr. Arnaldo Alves Cardoso, do Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de Araraquara, pelo acolhimento.

Agradeço ao Dr. João Flávio Petrucci pelo acolhimento, pelo tempo e paciência, e também por todos os ensinamentos, que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e da continuação da minha atuação na pesquisa.

Agradeço à Dra. Ana Lúcia Correa Lemos, do CTC/ITAL, e à Viviane Ferracioli e a equipe do Laboratório de Controle de Qualidade Físico-Químico da Indústria Kienast & Kratschmer Ltda de Santo André/SP, pela oportunidade de treinamento durante a execução deste trabalho.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela Bolsa concedida.

À Lica e todos os funcionários e professores do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCF.

À Fernanda, Jhohann, Flávia e Bianca pela amizade, força, conselhos e companheirismo tanto nos momentos fáceis como os difíceis, durante toda a graduação.

Ao PAFE, gestões 2011/2012 à 2013/2014, por todo o aprendizado adquirido com trabalho em equipe.

Aos meus pais e irmãos, pelo amor e apoio em todos os momentos.

## SUMÁRIO

Resumo.....	5
Lista de Figuras.....	6
Lista de Tabelas.....	7
1. Introdução.....	8
1.1 Produtos cárneos no Brasil.....	8
1.2 Nitrito e nitrato em produtos cárneos.....	9
1.3 Sorbato em produtos cárneos.....	10
1.4 Implicações do uso de nitrito, nitrato e sorbato na alimentação.....	11
1.5 Espectroscopia de absorção no UV/Vis.....	13
1.6 Eletroforese capilar.....	16
2. Objetivo.....	18
3. Material e Métodos.....	18
3.1 Material.....	18
3.2 Métodos.....	18
3.2.1 Preparo das amostras.....	18
3.2.2 Obtenção dos extratos para determinação de nitrito.....	19
3.2.3 Determinação de nitrito por espectroscopia de absorção no UV/Vis.....	19
3.2.4 Curva de calibração de nitrito.....	20
3.2.5 Obtenção dos extratos para determinação de nitrato.....	21
3.2.6 Determinação de nitrato por eletroforese capilar.....	21
3.2.7 Curva de calibração de nitrato.....	22
3.2.8 Obtenção dos extratos para determinação de sorbato.....	22
3.2.9 Determinação de sorbato por espectroscopia de absorção no UV/Vis.....	23
3.2.10 Curva de calibração de ácido sórbico.....	24
3.2.11 Análise dos resultados.....	24
4. Resultados e Discussão.....	24
4.1 Ensaio preliminares à determinação de nitrito.....	24
4.2 Determinação de nitrito por espectroscopia de absorção no UV/Vis.....	25
4.3 Determinação de nitrato por eletroforese capilar.....	28
4.4 Ensaio preliminares à determinação de sorbato.....	31
4.5 Determinação de sorbato por espectroscopia de absorção no UV/Vis.....	31

5. Conclusões.....	37
6. Referências bibliográficas.....	37
Dados Finais.....	40

## RESUMO

Salsicha e mortadela são produtos cárneos embutidos muito consumidos pelos brasileiros. Muitos compostos usados na produção de carnes industrializadas visam melhorar o sabor, a cor e a aparência do produto, e também estender sua vida de prateleira. O emprego de nitrato e nitrito tem a função de conferir cor rósea e sabor típico aos produtos curados, inibir o crescimento de *Clostridium botulinum* e prevenir o aparecimento do sabor “requeimado” e da rancidez das carnes. O sorbato tem ação efetiva contra microorganismos em carnes, principalmente em combinação com nitrito. O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de nitrato, nitrito e sorbato em salsicha e mortadela de marcas comerciais brasileiras. Foi avaliada salsicha *hot dog*, mortadela suína e de aves de várias marcas e lotes, correspondentes a diferentes prazos de validade, todas adquiridas em supermercados de Araraquara, SP. A salsicha e mortadela foram submetidas à extração com água para determinar nitrito e nitrato, e com etanol para sorbato. A espectroscopia do UV/Vis foi usada para determinar sorbato e nitrito, no caso do nitrito, após reação com sulfanilamida e reagente NED, e o nitrato foi determinado por eletroforese capilar. Os teores de nitrito variaram de 0,17 a 1,80 mg/100g na salsicha, e de 0,73 a 2,04 mg/100g na mortadela, e os de nitrato de 3,16 a 18,9 mg/100g na salsicha, e de 2,93 a 7,05 mg/100g na mortadela. O nitrito e o nitrato da salsicha e mortadela de todas as marcas atenderam à legislação vigente. Os teores de sorbato variaram de 42,5 a 122,0 mg/100g na salsicha, e de 94,2 a 175,0 mg/100g na mortadela. Todas as marcas avaliadas apresentaram sorbato acima do limite estabelecido pela Legislação Brasileira, variando de 2 a 6 vezes acima do limite estabelecido para a salsicha, e de 5 a 9 vezes o limite estabelecido para a mortadela.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reação do nitrito com sulfanilamida e NED.....	14
Figura 2. Fluxograma da extração para determinação de nitrito em mortadela e salsicha (IAL, 2005).....	18
Figura 3. Ilustração dos pontos da curva de calibração de nitrito de sódio (0,3-1,1 mg/L), em triplicata.....	19
Figura 4. Fluxograma da extração de nitrato para determinação em salsicha e mortadela (PEREIRA <i>et al</i> , 2012).....	20
Figura 5. Sistema de eletroforese capilar Agilent Technologies, modelo HP 3D CE, acoplado ao computador.....	21
Figura 6. Fluxograma da extração de sorbato para determinação em salsicha e mortadela (CECCHI, 1988).....	22
Figura 7. Curva de calibração de nitrito de sódio (0,3-1,1 mg/L), $y = 0,63226x + 0,01283$ , $r = 0,99965$ .....	24
Figura 8. Curva de calibração de nitrato de sódio (0,51-5,15 mg/L), $y = 4,0521x - 0,12295$ , $r = 0,99535$ .....	27
Figura 9. Espectro de absorção no UV/Vis da solução padrão de ácido sórbico (2,11 mg/L).....	31
Figura 10. Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de salsicha da marca 2.....	31
Figura 11. Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de salsicha da marca 3.....	31
Figura 12. Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de mortadela de aves da marca 2.....	32
Figura 13. Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de mortadela suína da marca 2.....	32
Figura 14. Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de mortadela suína da marca 1.....	33
Figura 15. Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de salsicha da marca 1.....	33
Figura 16. Curva de calibração típica do ácido sorbico (0,92-2,76 mg/L), $y = 0,26049x + 0,00275$ , $r = 0,99996$ .....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração de nitrito de sódio (mg/100g) em salsicha de marcas comerciais.....	25
Tabela 2. Concentração de nitrito de sódio (mg/100g) em mortadela de marcas comerciais.....	26
Tabela 3. Concentração de nitrato de sódio (mg/100g) em salsicha de marcas comerciais.....	28
Tabela 4. Concentração de nitrato de sódio (mg/100g) em mortadela de marcas comerciais.....	29
Tabela 5. Concentração de ácido sórbico (mg/100g) em salsicha e mortadela de marcas comerciais.....	35

## 1. Introdução

### 1.1 Produtos cárneos no Brasil

O mercado brasileiro de carnes industrializadas vem se expandindo expressivamente. A produção brasileira de carnes industrializadas passou de aproximadamente 1,16 milhões para cerca de 2,39 milhões de ton entre 2000 e 2010, com previsão de cerca de 3 milhões de ton em 2014 (DATAMARK, 2010). Vale destacar que a produção brasileira de carne suína foi de 3,36 mil ton em 2011, e o consumo *per capita* de 15,10 kg, totalizando um consumo interno de 2,85 mil ton (ABIPECS, 2011).

A fabricação de embutidos representa um segmento importante das carnes industrializadas. São considerados embutidos os produtos obtidos a partir de matérias-primas cárneas submetidas à cominuição seguida de mistura com diferentes ingredientes e acondicionamento em tripas naturais ou artificiais, com ou sem cozimento (LEMOS *et al.*, 2008). Nessa classe estão incluídas linguiças, paio, copa, presunto, salame, salsicha, salsichão, mortadela, entre outros produtos, que são muito consumidos por parcela considerável da população brasileira.

A diferença básica entre os embutidos está relacionada ao grau de cominuição. A cominuição pode ser explicada pela influência das forças do corte, esmagamento e ruptura durante o processamento desse tipo de produto. O efeito da fragmentação dos tecidos musculares e adiposos determina a capacidade da carne sofrer as transformações necessárias à elaboração do produto desejado. A linguiça, por exemplo, sofre moagem grosseira, enquanto a salsicha é moída tão finamente que a mistura se torna homogênea. Durante o processamento dos embutidos, as partículas de carne e gordura ficam aderidas

entre si devido à extração de proteínas, exsudação de água e liberação de lipídeos, que se encontram distribuídos ao redor de partículas íntegras de tecido. A massa obtida, constituída de partículas de diferentes tamanhos, é moldada através do embutimento (LEMOS *et al.*, 2008).

A salsicha e a mortadela podem ser consideradas embutidos de grande aceitação pelo consumidor brasileiro. A produção de salsicha cresceu de 230.574 para cerca de 567.777 ton entre 2000 e 2010. Já a produção de mortadela cresceu de 176.368 para cerca de 434.328 ton no mesmo período. As estimativas são de 710.453 ton de salsicha e 574.140 ton de mortadela em 2014 (DATAMARK, 2010).

Aditivos são empregados na produção de carnes industrializadas com o objetivo de conservar, melhorar o sabor e contribuir para a aparência geral do produto final, além de garantir vida de prateleira mais extensa. Os principais agentes de cura utilizados em produtos embutidos são os sais de nitrito e nitrato. O processo de cura envolve a adição de sal, açúcar, nitrito e nitrato à carne para conservar, melhorar o sabor e desenvolver a cor do produto.

## **1.2 Nitrito e nitrato em produtos cárneos**

O principal objetivo do emprego de sais de nitrito e nitrato é conferir a coloração rósea e o sabor típico dos produtos curados. Entretanto, nitrato e nitrito também têm papel importante na prevenção ao aparecimento do sabor “requeimado”, típico de carnes cozidas e resfriadas ou congeladas, além da prevenção da rancidez, devido à sua ação antioxidante, capaz de retardar a oxidação das gorduras ao formar complexo estável com o íon ferro II e impedir que este se oxide a ferro III, um potente catalisador de oxidação. O nitrito

também tem ação muito eficiente como inibidor de crescimento de *Clostridium botulinum*, enquanto o nitrato atua tão somente na cura de carnes após ser convertido a nitrito, processo que ocorre pela ação de bactérias redutoras (LEMOS *et al.*, 2008).

Em pH baixo, o nitrito, se decompõe em óxido nítrico, agente fixador de cor que se liga à mioglobina da carne, formando nitrosomioglobina. Entretanto, o óxido nítrico é instável e se dissocia durante a estocagem se a cor não for fixada pela ação do calor (55°C), podendo resultar na formação de nitrosohemocromo. A quantidade de nitrosohemocromo que é formada depende do teor inicial de nitrito, do pH do meio e do potencial óxido-redução da carne (LEMOS *et al.*, 2008). Quanto maior a quantidade de nitrito, em pH baixo, maior a formação de óxido nítrico, e maior a probabilidade de formação de nitrosohemocromo, por isso a etapa de fixação da cor pela ação do calor em carnes curadas tem grande importância.

### **1.3 Sorbato em produtos cárneos**

Sorbatos (ácido sórbico e seus sais de sódio, potássio e cálcio) são considerados aditivos GRAS (*Generally Recognized As Safe*) e por isso têm grande importância, sendo largamente utilizado pela indústria de alimentos, ração animal, produtos cosméticos e farmacêuticos (SOFOS, 1989). No Brasil, em se tratando de alimentos, o ácido sórbico e seus sais podem ser utilizados como conservadores, estabilizantes e antioxidantes em uma grande variedade de produtos (BRASIL, 1998).

De maneira geral, o sorbato é considerado um conservador eficaz. Tem ação efetiva contra microorganismos patogênicos e de deterioração em

produtos cárneos, principalmente quando usado em combinação com nitrito (SOFOS, 1989).

#### **1.4 Implicações do uso de nitrito, nitrato e sorbato na alimentação**

A manipulação e o uso de nitrito devem ser bastante cuidadosos, pois o uso indiscriminado pode trazer riscos à saúde. Quando ingerido em doses acima das permitidas, o nitrito é considerado tóxico (LEMOS *et al.*, 2008). A IDA (Ingestão Diária Aceitável) para o nitrito, estabelecida de acordo com o JECFA, é de 0-0,06 mg/kg de peso corpóreo, e para o nitrato, é de 0-3,7 mg/kg de peso corpóreo. Ambos não devem ser consumidos por crianças abaixo de 3 meses de idade (FAO, 2013). A Legislação Brasileira permite o uso de nitrato de sódio ou potássio, associado ou não a nitrito de sódio ou potássio, com um limite máximo de 30 mg/100g de produtos cárneos curados, exceto charque, expressos em íon nitrito. Já para o nitrito de sódio ou potássio, usado isoladamente ou combinado, o limite máximo permitido é de 15 mg/100g de produto para produtos cárneos curados, exceto charque e alimentos infantis, expresso em íon nitrito (BRASIL, 1998).

A presença de metahemoglobina é uma das razões para que a quantidade de nitrito ingerido seja controlada, principalmente por crianças, pois esta reação impede que a hemoglobina exerça sua função normal de transportar oxigênio para os tecidos. Em doses baixas, os sintomas são enrubescimento da face e extremidades, desconforto gastrointestinal e dor de cabeça. Em doses mais elevadas, observa-se cianose, náusea, vômitos, dores abdominais, podendo inclusive levar a óbito (SGARBIERI, 1987; MÍDIO, 2000).

Embora os efeitos benéficos do uso do nitrito em produtos cárneos sejam conhecidos há muito tempo, seu emprego ainda é objeto de inúmeras controvérsias em relação aos possíveis danos que causa à saúde humana. As N-nitrosaminas, compostos N-nitrosos formados pela reação de agentes nitrosantes, são derivados de sais de nitrito ou óxido nítrico, com substâncias contendo um grupo amino. Os compostos N-nitrosos e, em particular, as N-nitrosaminas, são potentes mutagênicos, além de apresentarem ação teratogênica e carcinogênica em animais de laboratório. As N-nitrosaminas podem ser formadas durante o processamento de alimentos, bem como, *in vivo*, no trato gastrointestinal, pela nitrosação de aminas secundárias, as quais estão associadas com alto risco de câncer gástrico, hepático e de esôfago. De modo geral, os alimentos crus tais como vegetais, carnes, peixes, frutas, cereais e produtos lácteos contêm baixos teores de N-nitrosaminas. No entanto, o processo de cura, onde se adiciona nitrito e/ou nitrato, favorece consideravelmente o aumento do nível de nitrosaminas (ANDRADE, 2004; SINDELAR e MILKOWSKI, 2011).

Em carnes curadas pode ocorrer reação do ácido sórbico e seus sais com nitrito (SOFOS, 1989). Sorbato e nitrito, quando presentes em conjunto em pH gástrico, formam uma série de espécies mutagênicas e genotóxicas, dentre elas o ácido etilnitroso (ENA) e a 1,4-dinitro-2-metilpirrol (NMP) (HARTMAN, 1983; OSAWA *et al.*, 1986). De maneira geral, a reação do nitrito com ácido sórbico é capaz de formar produtos mutagênicos em pH 3.5. Compostos C-nitro e C-nitrosos foram os principais produtos mutagênicos isolados (SOFOS, 1989). A formação dessas espécies mutagênicas é bloqueada por ascorbato em valores baixos de pH. O uso combinado de nitrito e sorbato representa um

risco potencial à saúde na ausência de níveis adequados de ascorbato (HARTMAN, 1983). Ácido ascórbico (vitamina C), cisteína, sucos de fruta e o calor são capazes de inativar os compostos C-nitro mutagênicos, que são mais susceptíveis à inativação do que os compostos N-nitrosos mutagênicos (SOFOS, 1989; OSAWA *et al.*, 1986).

A IDA para ácido sórbico e seus sais de sódio e potássio, estabelecida de acordo com o JECFA, é de 0-25 mg/kg de peso corpóreo (FAO, 2013). O uso de sorbato de sódio, potássio e cálcio em carnes curadas é permitido pela legislação brasileira, com limite máximo de 20 mg/100g de carne, somente para uso externo, tratamento de superfície, para uso em associação ou isoladamente, expresso como ácido sórbico (BRASIL, 1998).

### **1.5 Espectroscopia de absorção no UV/Vis**

A espectroscopia de absorção no UV/Vis é uma técnica de análise muito utilizada na identificação e quantificação de substâncias químicas. Essa técnica identifica as substâncias que são capazes de absorver radiação eletromagnética na região de 250 a 700 nm, que apresentam em sua estrutura ligações duplas (elétrons  $\pi$ ) e elétrons não ligantes. O espectro de absorção é uma característica física utilizada para identificar as substâncias. A radiação eletromagnética no UV/Vis interage com os elétrons da última camada dos átomos e, no caso de moléculas, com os elétrons presentes em orbitais moleculares não ligantes. Ao receber radiação com comprimento de onda adequado, o orbital passa do estado fundamental para o estado excitado, com absorção de energia (SOARES, 2006).

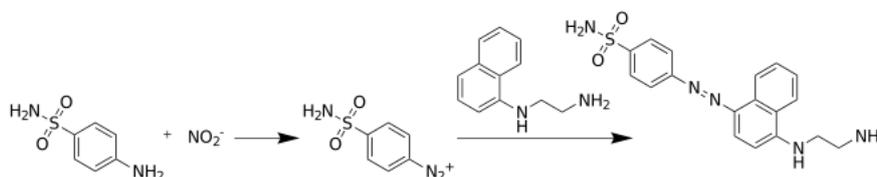
Compostos com duplas ligações conjugadas absorvem luz na região do ultravioleta, e à medida que o número de duplas conjugadas aumenta, o comprimento de onda de absorção máxima também aumenta, até atingir a faixa do visível. A presença de heteroátomos, capazes de compartilhar par de elétrons não ligantes e estender a conjugação, também aumenta o comprimento de onda de absorção (SOARES, 2006).

Mesmo que o espectro de absorção no UV/Vis não permita identificar completamente uma substância, é frequentemente utilizado para confirmar a identidade através de comparação com o espectro de referência (padrão) (SOARES, 2006). A quantificação de substâncias utilizando espectroscopia de absorção no UV/Vis é baseada na lei de Lambert-Beer, que diz que a quantidade de luz absorvida é proporcional ao número de moléculas absorvedoras presentes na solução pela qual a luz incide. A lei é dada pela equação, na forma linear,  $A = \epsilon \times b \times c$ , onde  $A$  é a absorbância,  $\epsilon$  o coeficiente de absorvidade molar,  $b$  o caminho óptico percorrido pela luz, e  $c$  a concentração do analito em questão (AGILENT TECHNOLOGIES, 2000; SOARES, 2006).

Para que a lei de Beer seja obedecida devem ser cumpridos alguns requisitos na análise, como empregar radiação monocromática, comprimento de onda de absorção máxima, caminho óptico constante, concentração da solução entre  $10^{-2}$  e  $10^{-5}$  mol/L, solvente idêntico para analitos e padrões, e não apresentar interferentes. O branco é utilizado para eliminar possíveis interferências. No caso de uma solução, o solvente, ou mistura de solventes, deve ser utilizado como branco (SOARES, 2006).

O coeficiente de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) é característico de cada substância em condições específicas (solvente, comprimento de onda e temperatura). Por isso, ao invés de valores tabelados de  $\epsilon$ , na quantificação faz-se uso de curva de calibração, construída a partir de solução padrão do analito. As curvas de calibração são preparadas usando quatro a cinco concentrações conhecidas da solução padrão, as quais têm a absorbância lida entre 0,2 a 0,8. Para a leitura dos extratos das amostras, deve-se respeitar os valores de absorbância obtidos na curva, de modo a obter resultados fidedignos.

A determinação de nitrito por espectroscopia de absorção no UV/Vis envolve a leitura de absorbância na região da luz visível, a 540 nm, do complexo róseo formado pela reação de diazotação do nitrito com sulfanilamida e cloridrato de alfa-naftiletilenodiamina (NED) (Figura 1). No caso de produtos cárneos, de matriz complexa, a etapa de limpeza previa é necessária. A técnica de determinação de nitrito por espectroscopia do UV/Vis é considerada simples, barata e rápida.



**Figura 1.** Reação do nitrito com sulfanilamida e NED.

A utilização da espectroscopia de absorção no UV/Vis permite a quantificação direta após extração dos conservadores ácido sórbico e ácido benzóico, sem nenhuma etapa de limpeza. Entretanto, no caso de matrizes

complexas como os produtos cárneos, só é possível identificar os conservadores pelo perfil do espectro de absorção. Para o caso dos conservadores a espectroscopia de absorção no UV/Vis também é considerada uma técnica simples, rápida e de baixo custo, mas que pode sofrer prejuízo em seus resultados devido à presença de interferentes na amostra, ou mesmo pela mistura de diferentes conservadores (ácidos sórbico e benzóico) (CECCHI, 1988).

### **1.6 Eletroforese capilar**

A eletroforese é uma técnica de separação que se baseia na velocidade de migração de espécies carregadas em um campo elétrico de corrente contínua (HOLLER *et al.*, 2009). É uma técnica bastante versátil, aplicada para a separação de cátions e ânions inorgânicos, aminoácidos, catecolaminas, fármacos, vitaminas, carboidratos, peptídeos e proteínas, ácidos nucleicos, nucleotídeos e polinucleotídeos, entre outras moléculas (HOLLER *et al.*, 2009).

A eletroforese capilar é um tipo de eletroforese que apresenta diversos mecanismos de separação. A técnica é baseada nas diferenças entre a mobilidade eletroforética de espécies carregadas na presença de campo elétrico (PEREIRA *et al.*, 2012; TAVARES, 1997). Na eletroforese capilar a separação é feita em tubo de 15-100  $\mu\text{m}$  de diâmetro interno e 50-100 cm de comprimento, preenchido com eletrólito, ao qual é aplicado um campo elétrico. O fenômeno da eletroosmose ocorre concomitantemente à migração eletroforética dos íons. Um fluxo eletrosmótico de grande magnitude arrasta os solutos independentemente da carga, permitindo a análise simultânea de cátions, ânions e moléculas de carga neutra (TAVARES, 1997).

A alta relação entre área superficial interna e volume do capilar é capaz de aumentar dissipação do calor gerado pela corrente elétrica (efeito Joule). Se o calor não for dissipado corretamente, haverá aumento da temperatura, prejudicando o processo (TAVARES, 1996; TAVARES, 1997). A alta resistência elétrica do capilar também possibilita a aplicação de voltagens elevadas, estabelecendo um campo elétrico elevado, de 100 a 500 V/cm, resultando em alta eficiência de separação e alta resolução em curto período de tempo (TAVARES, 1997).

Na eletroforese capilar o consumo de eletrólitos é baixo, a eficiência de separação é elevada e o tempo de corrida é curto (PEREIRA *et al.*, 2012). Ainda, a eletroforese capilar oferece vantagens sobre os métodos eletroforéticos convencionais, como o emprego de volume de amostra reduzido (1-10 nL), a automação da análise, com possibilidade de injeção e detecção em fluxo, e a compatibilidade com uma variedade de sistemas de detecção de cromatografia líquida, como absorção no UV/Vis, fluorescência, espectroscopia de massas, entre outros (HOLLER *et al.*, 2009; TAVARES, 1996).

Pereira *et al.* (2012) analisaram nitrito e nitrato em embutidos por eletroforese capilar em comparação com o método oficial (IAL, 2005). Os resultados obtidos pela análise por eletroforese capilar foram consistentes com os obtidos pela metodologia oficial tanto em precisão quanto em exatidão. A análise de nitrito e nitrato por eletroforese capilar foi considerada rápida e eficiente, com a vantagem de não requerer a redução de nitrato a nitrito para a quantificação, como ocorre no método oficial, já que a determinação de nitrato e nitrito é feita simultaneamente (PEREIRA *et al.*, 2012).

## **2. Objetivo**

O presente estudo teve como objetivo determinar nitrito, nitrato e sorbato em salsicha e mortadela de marcas representativas do mercado brasileiro.

## **3. Material e Métodos**

### *3.1 Material*

Foram utilizadas salsicha e mortadela de marcas comerciais representativas do mercado brasileiro, de acordo com o *Market Share* do setor (DATAMARK, 2010). Foram adquiridos de três a seis lotes de cada produto, de cada marca, correspondentes a diferentes prazos de validade, em supermercados da cidade de Araraquara, SP. Os produtos selecionados foram salsicha *hot dog* de três marcas, mortadela suína de duas marcas e mortadela de aves de uma marca.

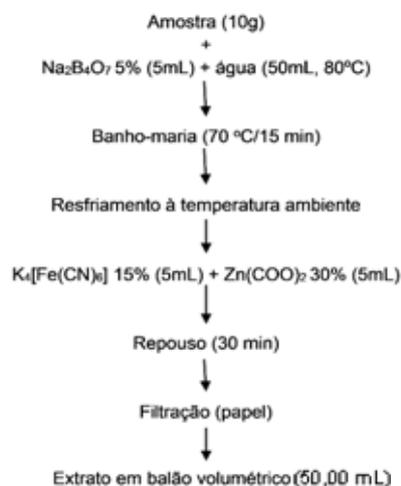
### **3.2 Métodos**

#### **3.2.1 Preparo das amostras**

Previamente às extrações, as amostras foram trituradas e homogeneizadas em liquidificador, armazenadas em frascos e congeladas em porções em freezers do Laboratório de Análise de Alimentos da FCF/UNESP. Parte das amostras foi guardada para as extrações, parte como contraprova, e parte foi utilizada para ensaios preliminares, visando adequação do método às matrizes em estudos e às condições do laboratório.

### 3.2.2 Obtenção dos extratos para determinação de nitrito

A extração foi realizada com base na metodologia oficial descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005), como apresentado no fluxograma da Figura 1. As amostras trituradas e homogeneizadas (10 g) foram acrescidas de solução de tetraborato de sódio 5% (m/v) (5 mL) e água destilada (50 mL). Após agitação manual, as amostras foram levadas à banho-maria (70°C) com agitação frequente (15 min), resfriadas à temperatura ambiente e acrescidas de solução de ferrocianeto de potássio 15% (m/v) (5 mL) e solução de acetato de zinco 30% (m/v) (5 mL). Após agitação, as amostras ficaram em repouso (30 min) e foram filtradas em papel. Os extratos foram recolhidos em balão volumétrico (50,00 mL) (Figura 2). A extração foi realizada em duplicata e os extratos foram congelados até o momento da análise.



**Figura 2.** Fluxograma da extração para determinação de nitrito em mortadela e salsicha (IAL, 2005).

### 3.2.3 Determinação de nitrito por espectroscopia de absorção no UV/Vis

A determinação de nitrito é baseada na reação de diazotização com sulfanilamida 0,5% (m/v) em meio ácido, seguida da reação com cloridrato de

alfa-naftiletilenodiamina (reagente NED) 0,5% (m/v). O produto formado tem coloração rósea e sua absorbância é lida na região do visível, a 540 nm (IAL, 2005).

Os extratos das amostras (1-8 mL) foram adicionados de sulfanilamida (1 mL) e reagente NED (0,6 mL), o volume foi completado com água em balão volumétrico (10,00 mL) e, após 30 minutos de repouso, foi feita a leitura de absorbância usando o espectrofotômetro Thermo Scientific modelo Evolution 220. Diferentes volumes de extrato foram usados para adequar a absorbância à faixa de 0,2-0,8, dependendo da amostra. Cada extrato foi lido em triplicata.

### 3.2.4 Curva de calibração de nitrito

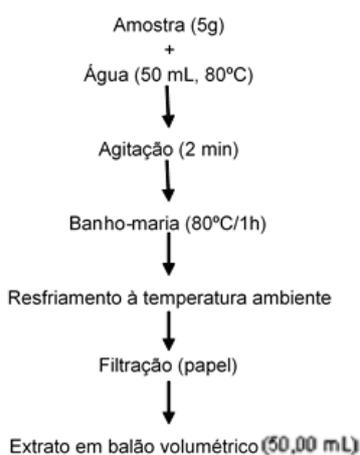
Foram realizados testes preliminares para adequar os pontos da curva de calibração de nitrito de sódio ao intervalo de absorbância 0,2-0,8. Foi preparada solução padrão de nitrito de sódio (200 mg/L), armazenada em geladeira (validade 2 semanas). Para cada curva foi preparada solução de trabalho (8 mg/L) por meio da diluição da solução padrão, a qual foi utilizada para a preparação dos pontos. O intervalo de concentração empregado foi de 0,3 a 1,1 mg/L. Cada ponto da curva foi preparado e lido em triplicata (Figura 3).



**Figura 3.** Ilustração dos pontos da curva de calibração de nitrito de sódio (0,3 a 1,1 mg/L), em triplicata.

### 3.2.5 Obtenção dos extratos para determinação de nitrato

Para cada amostra foram realizadas duas extrações, com base na metodologia descrita por Pereira *et al.* (2012), conforme apresentado na Figura 4. As amostras trituradas e homogeneizadas (5 g) foram acrescidas de água destilada (50 mL, 80°C) e submetidas à agitação em vórtex (2 min). Após agitação, as amostras foram levadas a banho-maria (80°C, 1 h) e resfriadas à temperatura ambiente, depois filtradas em papel. Os extratos foram recolhidos em balão volumétrico (50,00 mL), transferidos para frascos de vidro e congelados até o momento da análise.



**Figura 4.** Fluxograma da extração de nitrato para determinação em salsicha e mortadela (PEREIRA *et al.*, 2012).

### 3.2.6 Determinação de nitrato por eletroforese capilar

Os extratos obtidos de acordo com o fluxograma da Figura 4 foram diluídos (1:10) e filtrados em membrana politetrafluoretileno (PTFE) 0,22 e 0,45 µm previamente à análise. Os extratos filtrados (140 µL) foram colocados em *vials* e posicionados no sistema de eletroforese capilar modelo HP 3D CE, Agilent Technologies (Figura 5), para injeção e leitura. Previamente à injeção e

corrida das amostras, o capilar foi lavado com solução de NaOH 1 M (5 min), água (5 min) e solução de eletrólito de corrida, constituído de solução de tetraborato de sódio 60 mM e brometo de cetrimônio (CTAB) 20 mM (15 min). Cada extrato foi injetado em triplicata.



**Figura 5.** Sistema de eletroforese capilar Agilent Technologies, modelo HP 3D CE, acoplado ao computador.

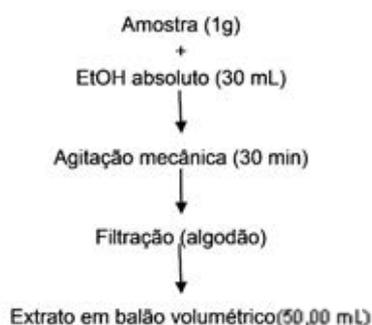
### 3.2.7 Curva de calibração de nitrato

Foi preparada solução padrão de nitrato de sódio (1000 mg/L), armazenada em geladeira (validade 1 mês). Foi preparada solução de trabalho (100 mg/L) por meio da diluição da solução padrão, a qual foi utilizada para a preparação dos pontos. O intervalo de concentração adotado foi de 0,51-5,15 mg/L. Cada ponto foi preparado e injetado em triplicata.

### 3.2.8 Obtenção dos extratos para determinação de sorbato

As extrações foram realizadas com base na metodologia descrita por Cecchi (1988), conforme apresentado na Figura 6. As amostras trituradas e homogeneizadas (1 g) foram acrescidas de etanol absoluto (30 mL) e submetidas à agitação em *shaker* (30 min). Em seguida, foram filtradas em algodão e os extratos foram recolhidos em balão volumétrico (50,00 mL)

(Figura 6). Os extratos foram obtidos em triplicata, no dia em que as análises foram realizadas, para evitar a evaporação do etanol e possível alteração dos resultados.



**Figura 6.** Fluxograma da extração de sorbato para determinação em salsicha e mortadela (CECCHI, 1988).

### 3.2.9 Determinação de sorbato por espectroscopia de absorção no UV/Vis

O método utilizado foi descrito por Cecchi (1988). A determinação de sorbato é feita por espectroscopia de absorção no UV/Vis, com leitura a 255 nm (comprimento de absorção máxima do ácido sórbico). Para a identificação da presença de sorbato nas amostras, foi feita a varredura entre 200 e 325 nm, comparando o perfil de cada amostra com o do padrão de ácido sórbico.

Os extratos obtidos foram diluídos (1:10) para a identificação e quantificação. Foi necessário realizar uma segunda diluição (2:5) para alguns dos extratos, visando adequar a absorbância à faixa de 0,2-0,8. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro Thermo Scientific modelo Evolution 220. Cada extrato foi analisado em duplicata.

### **3.2.10 Curva de calibração de ácido sórbico**

Foram realizados testes preliminares para adequar os pontos da curva de calibração de ácido sórbico ao intervalo de absorvância 0,2-0,8. Foi preparada solução padrão de nitrito de sódio (400 mg/L), armazenada em geladeira (validade 1 semana). Para cada curva foi preparada solução de trabalho (4 mg/L) por meio da diluição da solução padrão, a qual foi utilizada para a preparação dos pontos. Foram preparadas curvas de calibração em cada dia de análise, com intervalo de concentração variando de 0,92-3,17 mg/L. Cada ponto foi preparado e lido em triplicata.

### **3.2.11 Análise estatística dos resultados**

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey utilizando o programa SigmaStat 3.1 (2005).

## **4. Resultados e Discussão**

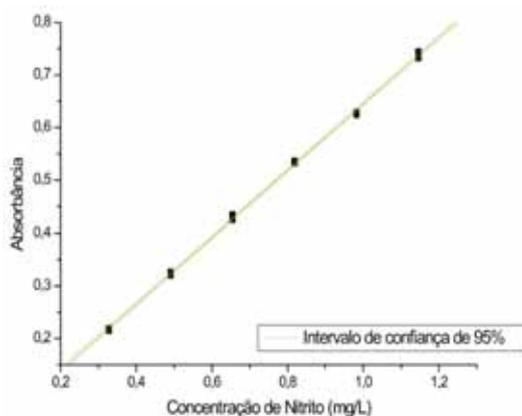
### **4.1 Ensaio preliminares à determinação de nitrito**

Inicialmente, foi realizado o treinamento na indústria, utilizando diferentes tipos de produtos embutidos, dentre eles mortadela, para a determinação de nitrato e nitrito. Após o treinamento e previamente à extração, foi necessário realizar ensaios para adequação do método às matrizes avaliadas e às condições do laboratório. Foram necessários ajustes na massa de amostra pesada, nas diluições realizadas antes da leitura de absorvância, e também nas alíquotas tomadas para a leitura de cada extrato. Também foi necessário reduzir o volume dos extratos obtidos e das diluições finais para a leitura, para adequação à vidraria do laboratório e à quantidade de reagentes

preparada. Optou-se por realizar duas extrações de cada produto e realizar a leitura de cada extrato em triplicata.

#### 4.2 Determinação de nitrito por espectroscopia de absorção no UV/Vis

Para a quantificação de nitrito na salsicha e mortadela foi utilizada curva de calibração obtida no intervalo de concentração de 0,3-1,1 mg/L, com absorbância de 0,2 a 0,8. A leitura de cada ponto da curva foi feita em triplicata. A curva de calibração está representada pela equação da reta  $y = ax + b$ , com coeficiente de relação linear ( $r$ ) de 0,99965 (Figura 7). A curva de calibração foi preparada a cada dia de análise.



**Figura 7.** Curva de calibração de nitrito de sódio (0,3-1,1 mg/L),  $y = 0,63226x + 0,01283$ ,  $r = 0,99965$ .

O teor de nitrito da salsicha está apresentado na Tabela 1. Observa-se que o teor de nitrito variou de 0,17 a 1,80 mg/100g entre as marcas. Houve diferença no teor de nitrito entre os lotes ( $p \leq 0,05$ ) das três marcas de salsicha avaliadas. Para a salsicha da marca 1, o terceiro lote apresentou maior teor de nitrito (0,94 mg/100g), diferindo ( $p \leq 0,05$ ) dos demais, que também diferiram entre si ( $p \leq 0,05$ ). O menor valor, 0,47 mg/100g, foi para o lote 1 ( $p \leq 0,05$ ). Para

a salsicha da marca 2, o lote 3 também apresentou o teor de nitrito mais elevado (1,80 mg/100g) ( $p \leq 0,05$ ), o mais elevado de todos os lotes das marcas avaliadas. O lote 1 apresentou o menor valor, 0,89 mg/100g, e também diferiu ( $p \leq 0,05$ ) do lote 2, com 1,53 mg/100g. A salsicha da marca 3 apresentou o menor teor de nitrito de todos os lotes de todas as marcas avaliadas no lote 2, 0,17 mg/100g ( $p \leq 0,05$ ). O lote 1 foi o mais elevado da marca, com 0,57 mg/100g, diferindo ( $p \leq 0,05$ ) do lote 3, com 0,49 mg/100g. Houve diferença significativa no teor de nitrito da salsicha de todas as marcas ( $p \leq 0,05$ ), com exceção do lote 1 da marca 1, que não apresentou diferença do lote 3 da marca 3, e o lote 3 da marca 1, que não diferiu do lote 1 da marca 2 ( $p > 0,05$ ) (Tabela 1).

Todos os lotes de todas as marcas de salsicha avaliadas atenderam à Legislação Brasileira, apresentando teor de nitrito abaixo do limite estabelecido, que é de 15mg/100g de produto (ANVISA, 1998).

**Tabela 1.** Concentração de nitrito de sódio (mg/100g) em salsicha de marcas comerciais.

	Lotes	Salsicha		
		Marca 1	Marca 2	Marca 3
<b>NaNO<sub>2</sub></b> <b>(mg/100g)</b>	1	0,47±0,01 <sup>F,c</sup>	0,89±0,03 <sup>C,c</sup>	0,57±0,03 <sup>E,a</sup>
	2	0,68±0,03 <sup>D,b</sup>	1,53±0,04 <sup>B,b</sup>	0,17±0,00 <sup>G,c</sup>
	3	0,94±0,03 <sup>C,a</sup>	1,80±0,07 <sup>A,a</sup>	0,49±0,00 <sup>F,b</sup>

Média ± desvio padrão, n=6.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

O teor de nitrito da mortadela variou de 0,73 a 2,04 mg/100g entre as marcas (Tabela 2). Houve diferença no teor de nitrito entre os lotes de mortadela suína da marca 1 ( $p \leq 0,05$ ), com 0,99 mg de nitrito/100g de produto

no lote 1 e 0,73 mg/100g no lote 2. Com relação à marca 2, para a mortadela de aves, o lote 1 diferiu dos demais ( $p \leq 0,05$ ), que não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ). O lote 1 apresentou o menor teor de nitrito, 0,80 mg/100g ( $p \leq 0,05$ ). Para a mortadela suína da marca 2, todos os lotes diferiram entre si ( $p \leq 0,05$ ). O lote 1 apresentou o maior teor de nitrito (2,04 mg/100g) ( $p \leq 0,05$ ), o teor mais elevado entre todos os lotes de todas as marcas avaliadas, o lote 3, 1,34 mg/100g e o lote 2, 1,03 mg/100g ( $p \leq 0,05$ ).

Houve diferença entre as marcas ( $p \leq 0,05$ ), com destaque para a marca 2, que apresentou o teor mais elevado de nitrito na mortadela suína, embora dois lotes da mortadela de aves (lotes 2 e 3) não tenham diferido de um dos lotes da mortadela suína (lote 3) ( $p > 0,05$ ). O lote 1 da mortadela suína da marca 1 não diferiu do lote 2 da mortadela suína da marca 2 ( $p > 0,05$ ), e o lote 2 da mortadela suína da marca 1 não diferiu do lote 1 da mortadela de aves da marca 2 ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

Assim como a salsicha, todas as marcas de mortadela também apresentaram teor de nitrito abaixo do limite estabelecido pela Legislação Brasileira. Vale salientar que tanto a mortadela à base de carne suína quanto à base de carne de aves atenderam a legislação vigente (ANVISA, 1998).

**Tabela 2.** Concentração de nitrito de sódio (mg/100g) em mortadela de marcas comerciais.

NaNO <sub>2</sub> (mg/100g)	Lotes	Mortadela		
		Marca 1 Suína	Suína	Marca 2 de Aves
	1	0,99±0,09 <sup>C,a</sup>	2,04±0,12 <sup>A,a</sup>	0,80±0,03 <sup>D,b</sup>
	2	0,73±0,06 <sup>D,b</sup>	1,03±0,09 <sup>C,c</sup>	1,35±0,08 <sup>B,a</sup>
	3	-	1,34±0,10 <sup>B,b</sup>	1,28±0,09 <sup>B,a</sup>

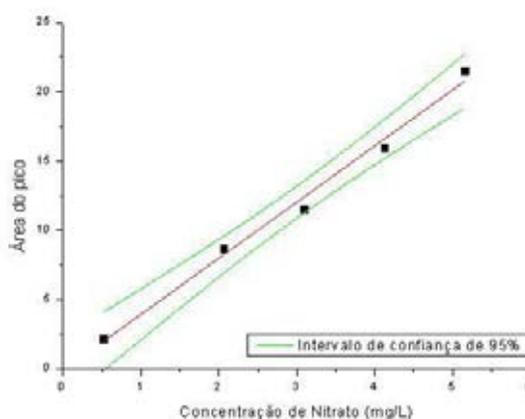
Média ± desvio padrão, n=6.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

### 4.3 Determinação de nitrato por eletroforese capilar

Para a quantificação do nitrato da salsicha e da mortadela foi obtida curva de calibração com intervalo de 0,51-5,15 mg/L (Figura 8). A curva de calibração está representada pela equação da reta  $y = ax + b$ , com coeficiente de correlação linear ( $r$ ) de 0,99535.



**Figura 8.** Curva de calibração de nitrato de sódio (0,51-5,15 mg/L),  $y = 4,0521x - 0,12295$ ,  $r = 0,99535$ .

O teor de nitrato nas salsichas de marcas comerciais está apresentado na Tabela 3. Os teores variaram de 3,16 a 18,9 mg/100g. Todos os lotes da marca 1 diferiram entre si ( $p \leq 0,05$ ), com exceção dos lotes 2 e 5 ( $p > 0,05$ ). A marca 2 também apresentou diferença no teor de nitrato entre os lotes ( $p \leq 0,05$ ), com exceção dos lotes 2 e 3 ( $p > 0,05$ ), e 5 e 6 ( $p > 0,05$ ), que não diferiram entre si. A marca 3 apresentou diferença no teor de nitrato entre ambos os lotes avaliados ( $p \leq 0,05$ ). O maior valor de nitrato, entre todas as marcas avaliadas, foi obtido no lote 4 da marca 1, 18,9 mg/100g ( $p \leq 0,05$ ), enquanto os menores, 3,6 e 3,1 mg/100g ( $p > 0,05$ ), foram obtidos nos lotes 5 e 6 da marca 2 (Tabela 3).

Todos os lotes de todas as marcas avaliadas apresentaram teor de nitrato abaixo do limite permitido pela Legislação Brasileira, que é de 30 mg/100g de produto.

O teor de nitrato da mortadela de marcas comerciais está apresentado na Tabela 4. Os teores variaram de 2,93 a 7,05 mg/100g. Houve diferença no teor de nitrato nos lotes da mortadela suína da marca 1 ( $p \leq 0,05$ ). Apenas o lote 3 da mortadela suína da marca 2 diferiu significativamente dos demais ( $p \leq 0,05$ ). Para a mortadela de aves, houve diferença entre os lotes ( $p \leq 0,05$ ), com exceção dos lotes 2 e 3, que não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

Todos os lotes de todas as marcas avaliadas, tanto de mortadela suína quanto de aves, apresentaram teor de nitrato dentro do permitido pela Legislação Brasileira (ANVISA, 1998).

**Tabela 3.** Concentração de nitrato de sódio (mg/100g) em salsicha de marcas comerciais.

	Lotes	Salsicha		
		Marca 1	Marca 2	Marca 3
<b>NaNO<sub>3</sub></b> <b>(mg/100g)</b>	1	17,81±0,41 <sup>B,b</sup>	9,93±0,54 <sup>D,a</sup>	6,38±0,23 <sup>G,b</sup>
	2	5,66±0,29 <sup>GH,e</sup>	4,55±0,41 <sup>I,c</sup>	7,35±0,71 <sup>F,a</sup>
	3	9,07±0,33 <sup>E,d</sup>	4,74±0,23 <sup>I,c</sup>	-
	4	18,88±0,74 <sup>A,a</sup>	7,46±0,45 <sup>F,b</sup>	-
	5	4,97±0,34 <sup>HI,e</sup>	3,60±0,24 <sup>J,d</sup>	-
	6	15,50±0,40 <sup>C,c</sup>	3,16±0,11 <sup>J,d</sup>	-

Média ± desvio padrão, n=6.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 4.** Concentração de nitrato de sódio (mg/100g) em mortadela de marcas comerciais.

Lotes	Mortadela		
	Marca 1	Marca 2	
	Suína	Suína	de Aves
1	5,01±0,40 <sup>C,a</sup>	4,27±0,12 <sup>EF,c</sup>	7,05±0,35 <sup>A,a</sup>
2	2,93±0,16 <sup>G,b</sup>	3,81±0,37 <sup>F,c</sup>	4,18±0,19 <sup>EF,c</sup>
3	-	6,46±0,13 <sup>B,a</sup>	4,44±0,15 <sup>DEF,c</sup>
4	-	4,97±0,26 <sup>CD,b</sup>	6,42±0,44 <sup>B,b</sup>
5	-	4,56±0,27 <sup>CDE,b</sup>	-
6	-	-	-

Média ± desvio padrão, n=6.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Letras maiúsculas iguais não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Guerreiro *et al.* (2012) avaliaram os teores de nitrito e nitrato em presunto, salsicha e mortadela comercializados na cidade de Salvador usando a espectroscopia do UV/Vis. Para a mortadela, as concentrações obtidas variaram de 39,0 a 74,0 mg nitrito/kg (3,9 a 7,4 mg/100g) e 12,2 a 61,2 mg nitrato/kg (1,2 a 6,1 mg/100g). Para a salsicha, os teores foram mais elevados, entre 38,0 e 80,0 mg nitrito/kg (3,8 a 8,0 mg/100g) e 44,7 e 117,8 mg nitrato/kg (4,5 e 11,8 mg/100g). Todas as marcas avaliadas atenderam à legislação vigente (BRASIL, 1998).

Pereira *et al.* (2012) avaliaram os teores de nitrito e nitrato de amostras de salame, presunto, bacon e linguiça curados na região de Araraquara, SP usando a eletroforese capilar. Os resultados de todas as amostras estavam abaixo dos limites estabelecidos pela Legislação Brasileira, tanto para o nitrito quanto para o nitrato (BRASIL, 1998).

Melo Filho *et al.* (2004) avaliaram os teores de nitrito e nitrato de salsichas produzidas com selo da inspeção federal e salsichas artesanais (sem inspeção) na região metropolitana de Recife, PE. O teor de nitrito variou de 27,5 a 180,2 mg/kg (2,7 a 18,0 mg/100g) e o teor de nitrato de 62,5 a 482,1

mg/kg (6,2 a 48,2 mg/100g). Todas as salsichas com selo da inspeção federal atenderam à Legislação Brasileira, enquanto a maioria das salsichas artesanais apresentou teor de nitrito acima do limite estabelecido pela legislação vigente. Para o nitrato, observou-se que maioria das amostras, tanto aquelas com selo da inspeção federal quanto as artesanais, apresentou teor de nitrato até 20% acima do limite estabelecido pela Legislação Brasileira (BRASIL, 1998).

Nossos resultados estão de acordo com os relatados por Guerreiro *et al.* (2012) e Pereira *et al.* (2012) para nitrato e nitrito na salsicha e na mortadela. Nossos resultados de nitrito e nitrato em salsicha diferiram daqueles descritos por Melo Filho *et al.* (2004).

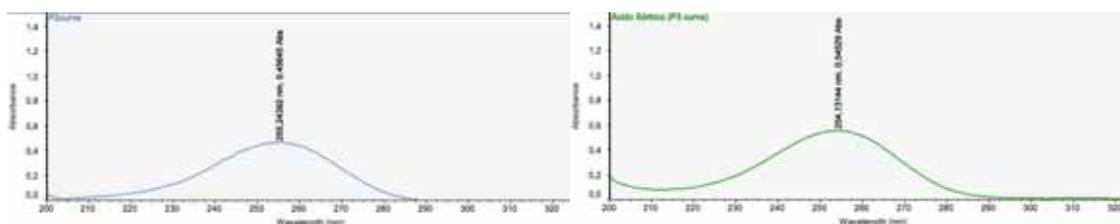
#### **4.4 Ensaio preliminares à determinação de sorbato**

Previamente à extração, foi necessário realizar ensaios para adequação do método às matrizes avaliadas e às condições do laboratório. A massa inicialmente pesada precisou ser reduzida de 5 para 1 g, para adequar a leitura de absorbância para a faixa de 0,2-0,8. Optou-se por realizar três extrações de cada amostra e leituras de cada extrato em duplicata.

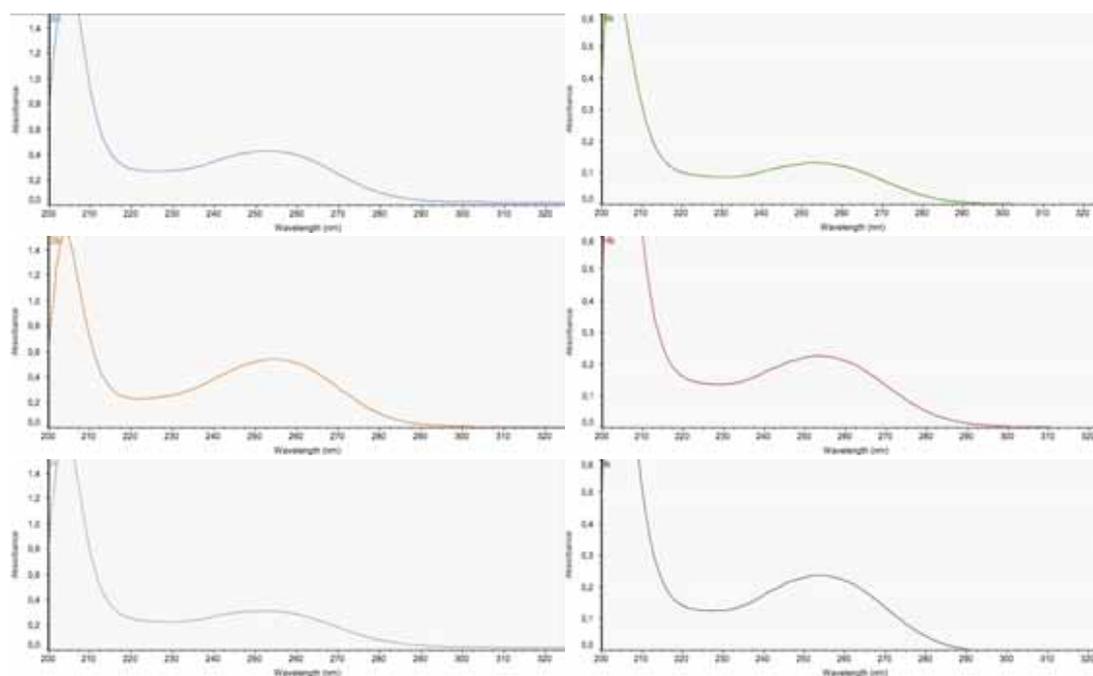
#### **4.5 Determinação de sorbato por espectroscopia de absorção no UV/Vis**

A identificação do sorbato nas amostras foi feita por comparação dos espectros de absorção da solução padrão de ácido sórbico (Figura 9) e dos extratos das amostras (Figuras 10, 11, 12, 13, 14 e 15), realizando varredura entre 200 e 325 nm. Foi verificada a presença de sorbato em 18 amostras de salsicha e mortadela de várias marcas, que apresentaram perfil de absorção no UV/Vis semelhante ao do padrão ácido sórbico, com pico de absorção máxima

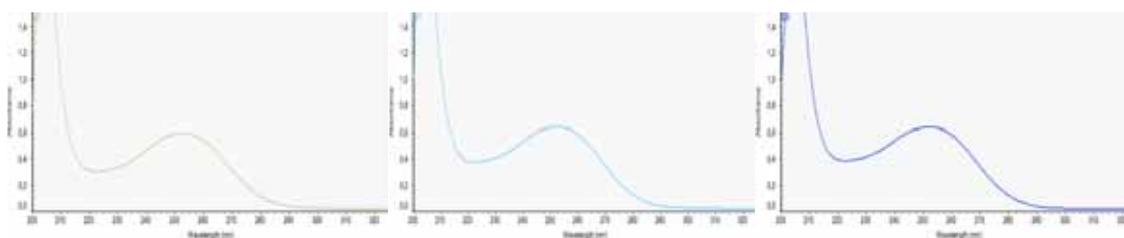
a 255 nm. Todos os lotes das marcas 2 (Figura 10) e 3 (Figura 11) de salsicha apresentaram espectro de absorção semelhante à solução padrão de ácido sórbico, indicando a presença de sorbato em sua composição, assim como todos os lotes de mortadela de aves (Figura 12) e suína (Figura 13) da marca 2.



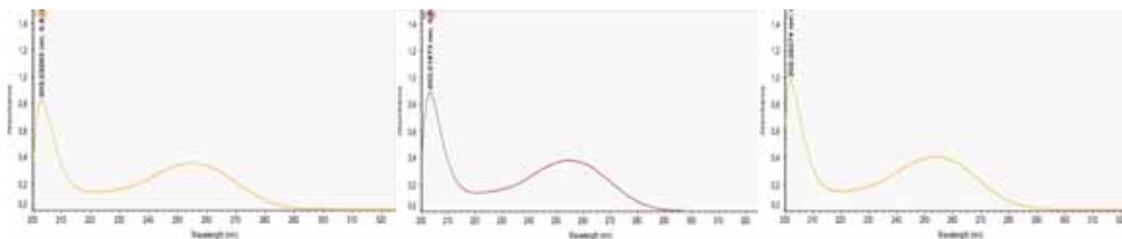
**Figura 9.** Espectro de absorção no UV/Vis da solução padrão de ácido sórbico (2,11 mg/L).



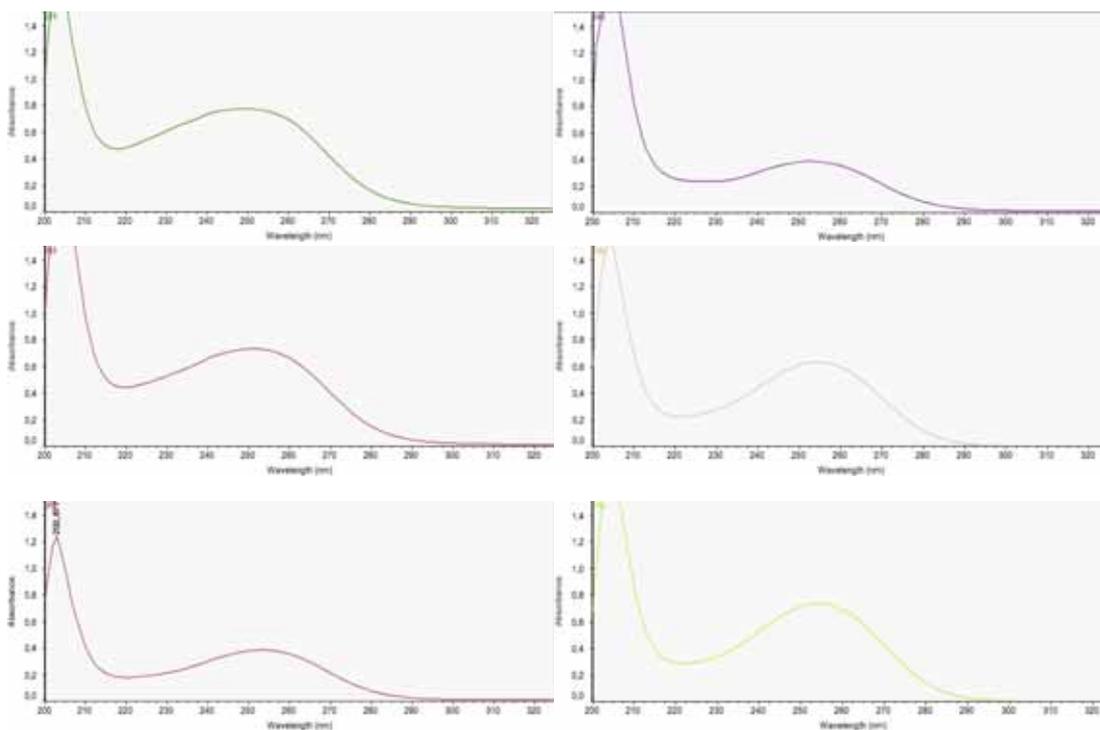
**Figura 10.** Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de salsicha da marca 2.



**Figura 11.** Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de salsicha da marca 3.

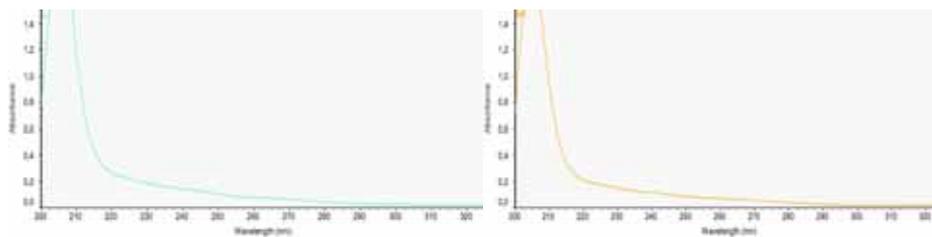


**Figura 12.** Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de mortadela de aves da marca 2.

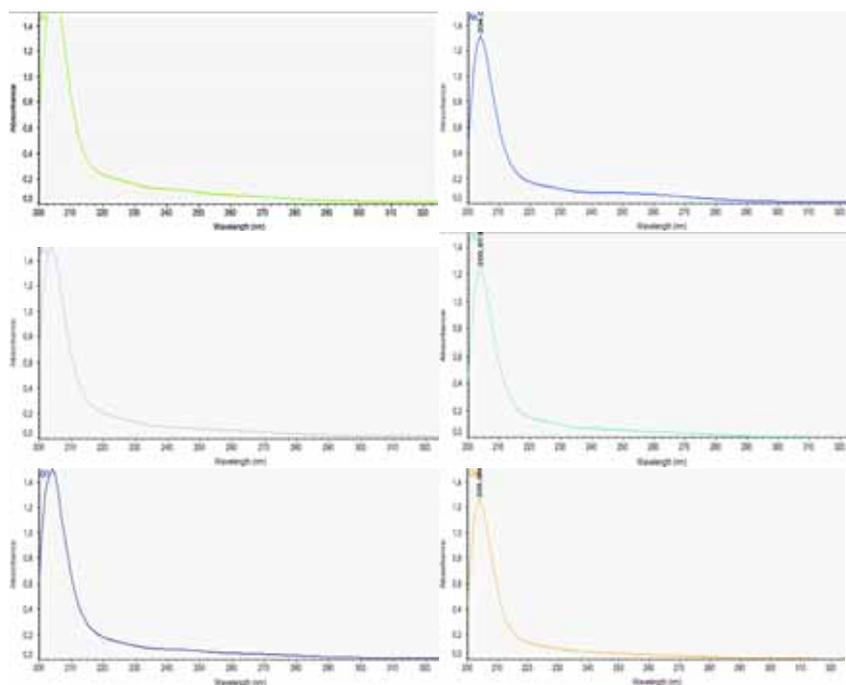


**Figura 13.** Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de mortadela suína da marca 2.

Oito lotes de salsichas e mortadelas de algumas marcas não apresentaram o mesmo perfil de absorção do padrão ácido sórbico (Figuras 14 e 15), indicando não conterem esse conservador. Todos os lotes de mortadela suína da marca 1 (Figura 14) não continham sorbato em sua composição, assim como todos os lotes de salsicha da marca 1 (Figura 15).

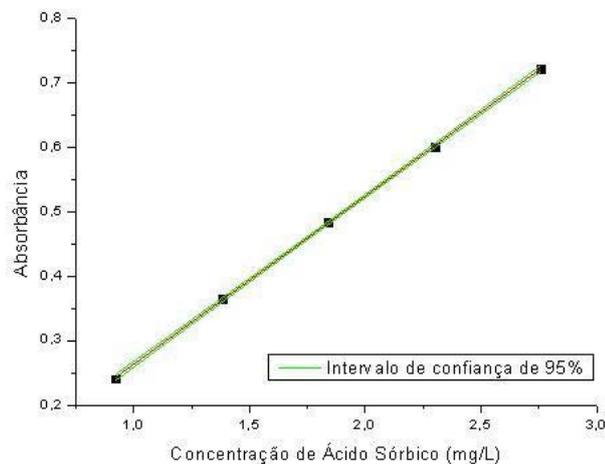


**Figura 14.** Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de mortadela suína da marca 1.



**Figura 15.** Espectro de absorção no UV/Vis das amostras de salsicha da marca 1.

Para a quantificação de sorbato nas amostras de salsicha e mortadela de diferentes marcas comerciais foram obtidas curvas de calibração com intervalo de concentração de 0,92-3,17 mg/L, com absorvância de 0,2-0,8. A curva de calibração está representada pela equação da reta  $y = ax + b$ , com coeficiente de correlação linear ( $r$ ) de 0,99996 (Figura 16).



**Figura 16.** Curva de calibração típica do ácido sórbico (0,92-2,76 mg/L),  $y = 0,26049x + 0,00275$ ,  $r = 0,99996$ .

O teor de sorbato da salsicha e mortadela está apresentado na Tabela 5. Na salsicha, o teor de sorbato variou de 42,5 a 122,0 mg/100g. Foram avaliados 6 lotes da marca 2, três dos quais não diferiram entre si (lotes 4, 5 e 6) ( $p > 0,05$ ). A marca 2 apresentou os menores teores de sorbato entre os lotes das marcas avaliadas nos lotes 4, 5 e 6 ( $p > 0,05$ ). Apenas o lote 2 da marca 3 diferiu dos demais, apresentando também o maior teor de sorbato entre as marcas avaliadas, 122,0 mg/100g ( $p \leq 0,05$ ). Houve diferença significativa entre as marcas 2 e 3 ( $p \leq 0,05$ ).

Para a mortadela, o teor de sorbato variou de 94,2 a 175,0 mg/100g. O menor teor foi obtido na mortadela suína (94,2 mg/100g), e os maiores teores na mortadela de aves, 175,0 e 161,5 mg/100g, e também na mortadela suína 164,2 mg/100g ( $p > 0,05$ ). Houve diferença no teor de sorbato entre os lotes 1 e 2 da mortadela de aves ( $p \leq 0,05$ ), entretanto, estes não diferiram do lote 3 ( $p > 0,05$ ). Para a mortadela suína, os lotes 3 e 4 diferiram dos demais ( $p \leq 0,05$ ), que também diferiram entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os lotes 1 e 2 não diferiram entre si, assim como os lotes 5 e 6, e 2 e 6 ( $p > 0,05$ ).

O uso de sorbato é permitido pela Legislação Brasileira, com limite máximo de 20mg/100g. Todas as marcas de salsicha e mortadela avaliadas, que continham sorbato em sua composição, apresentaram teor acima do permitido pela Legislação Brasileira em todos os lotes, com 2,1 a 6,1 vezes acima do limite para a salsicha, e 4,7 a 8,7 vezes acima do limite para a mortadela. Vale salientar que em nenhum dos produtos nos quais foi identificada a presença de sorbato havia indicação do uso do mesmo entre os ingredientes, no rótulo.

**Tabela 5.** Concentração de ácido sórbico (mg/100g) em salsicha e mortadela de marcas comerciais.

Lotes	Ácido Sórbico (mg/100g)			
	Salsicha		Mortadela	
	Marca 2	Marca 3	Mortadela Suína	Mortadela de Aves
1	78,26±2,71 <sup>C,a</sup>	108,84±3,85 <sup>B,b</sup>	141,50±6,81 <sup>C,b</sup>	174,98±6,98 <sup>A,a</sup>
2	69,80±3,82 <sup>D,b</sup>	121,98±2,90 <sup>A,a</sup>	138,31±1,67 <sup>C,b</sup>	149,90±14,75 <sup>BC,b</sup>
3	55,83±1,58 <sup>E,c</sup>	114,23±4,12 <sup>B,b</sup>	164,18±6,64 <sup>AB,a</sup>	161,52±8,43 <sup>AB,ab</sup>
4	43,60±4,04 <sup>F,d</sup>	-	94,27±4,88 <sup>E,d</sup>	-
5	42,49±3,74 <sup>F,d</sup>	-	111,73±9,93 <sup>D,c</sup>	-
6	44,90±3,53 <sup>F,d</sup>	-	125,25±11,9 <sup>CD,bc</sup>	-

Média ± desvio padrão, n=6.

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Letras maiúsculas iguais para salsicha e para mortadela, independentemente, não diferem significativamente no teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Não existem dados disponíveis na literatura para teor de sorbato em produtos cárneos embutidos do Brasil, embora nosso trabalho tenha confirmado o uso de sorbato como conservador para mortadela e salsicha, além do limite permitido pela Legislação Brasileira (BRASIL, 1998).

## 5. Conclusões

O presente trabalho mostrou que os teores de nitrito e nitrato de salsicha e mortadela de marcas comerciais representativas do mercado brasileiro estão dentro do limite estabelecido pela legislação vigente. O sorbato apresentou níveis acima do permitido pela legislação vigente, tendo apresentado teores 2 a 6 vezes maiores do que o limite para a salsicha, e de 5 a 9 vezes para a mortadela. Além disso, o uso do conservador não era indicado nos rótulos dos produtos.

A falta de dados disponíveis sobre o teor de sorbato em produtos cárneos produzidos no Brasil e os teores obtidos neste trabalho para salsicha e mortadela indicam a importância da realização desse tipo de estudo, além da necessidade de estendê-lo para outros produtos cárneos, de forma a conhecer a amplitude desse cenário.

## 6. Referências bibliográficas

- ABIPECS. Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. Relatório ABIPECS 2011. Disponível em: <[http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS\\_relatorio\\_2011\\_pt.pdf](http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2011_pt.pdf)>. Acesso em: 10 de dezembro de 2012.
- AGILENT TECHNOLOGIES. Fundamentals of UV-visible spectroscopy. Germany, 2000. 148 p.
- ANDRADE, R. Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato, nitrito e n-nitrosaminas em produtos cárneos. 2004. 172 p. Tese (Doutorado em Ciências)- Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2004.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998 - Aprova o Regulamento Técnico: "Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e

Produtos Cárneos", constante do Anexo desta Portaria. Disponível em: <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acesso em: 30 de março de 2014.

CECCHI, H. M. Comparação e desenvolvimento de métodos analíticos para ácido benzóico e sórbico em alimentos. 1988. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1988.

DATAMARK, Market Intelligence Brazil. Carne Industrializada: Carne industrializada. Disponível em: <<http://www.datamark.com.br/>>. Acesso em: 09 de agosto de 2010.

DATAMARK, Market Intelligence Brazil. Carne Industrializada: Salsichas. Disponível em: <<http://www.datamark.com.br/>>. Acesso em: 09 de agosto de 2010.

DATAMARK, Market Intelligence Brazil. Carne Industrializada: Mortadela. Disponível em: <<http://www.datamark.com.br/>>. Acesso em: 09 de agosto de 2010.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Sodium Nitrite. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-417.pdf>>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Sodium Nitrate. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-416.pdf>>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Potassium Sorbate. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-349.pdf>>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2013.

GUERREIRO, R. S.; SÁ, M. S.; RODRIGUES, L. A. P. Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, v. 5, n. 1, p. 77-91, fev. 2012.

HARTMAN, P. E. Review: Putative Mutagens and Carcinogens in Foods - II: Sorbate and Sorbate-Nitrite Interactions. Environmental Mutagenesis, n. 5, p. 217-222, 1983.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. Princípios de Análise Instrumental. Bookman, 2009. 1056 p.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. Brasília, 2005. 1020 p.

LEMOS, A. L. S. C.; YAMADA, E. A.; HAGUIWARA, M. M. H. Processamento de Embutidos Cárneos. Campinas: ITAL, Centro de Tecnologia de Carnes, 2008. 213 p.

MELO FILHO, A. B.; BISCONTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. Ciênc. Tecnol. Aliment., vol. 24, n. 3, p. 390-392, jul.-set. 2004.

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

OSAWA, T.; ISHIBASHI, H.; NAMIKI, M.; KADA, T.; TSUJI, K. Desmutagenic Action of Food Components on Mutagens Formed by the Sorbic Acid/Nitrite Reaction. Agric. Biol. Chem., vol. 50, n. 8, p. 1971-1977, 1986.

PEREIRA, E. A.; PETRUCI, J. F. S.; CARDOSO, A. A. Determination of Nitrite and Nitrate in Brazilian Meats Using High Sheer Homogenization. Food. Anal. Methods, vol. 5, p. 637-642. 2012.

SGARBIERI, V. C. Alimentação e Nutrição - Fator de Saúde e Desenvolvimento. São Paulo: Editora UNICAMP, 1987. 387 p.

SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats: A Review of Curing and Examining the Risk/Benefit of Its Use. American Meat Science Association White Paper Series, n. 3, nov. 2011.

SOARES, L. V. Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos. São Paulo: Manole, 2006. 337 p.

SOFOS, J. N. Sorbate Food Preservatives. Florida: CRC Press, 1989. 237 p.

TAVARES, M. F. M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. Química Nova, vol. 20, n. 5, p. 493-511. 1997.

TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos. Química Nova, vol. 19, n. 2, p. 173-181. 1996.

**Dados Finais**

Araraquara, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

---

Estela Mesquita Diegues de Oliveira

De acordo:

---

Profa. Dra. Magali Monteiro da Silva