

Artigo

Desenvolvimento e Validação da Análise Simultânea de Nitrito e Nitrato de Sódio em Salsicha por Cromatografia de Íons

Seabra, L. S.; Leal, I. L.;* Barreto, G. A.; Oliveira, R. S.; Santos, V. S.; Rodrigues, L. A. P.

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (4), 818-826. Data de publicação na Web: 15 de Junho de 2020

<http://rvq.sbq.org.br>

Development and Validation of Simultaneous Analysis of Sodium Nitrite and Nitrate in Sausage by Ion Chromatography

Abstract: Nitrites and nitrates act as curing agents in meat products. Traditionally, the determination of these additives is performed via colorimetric spectrophotometry, an extremely labor intensive method. Therefore, the objective was to develop and validate a methodology for sodium nitrite and nitrate determination in sausage through ion chromatography, a technique of high sensitivity and precision. Validation parameters of the method analyzed were linearity, accuracy, precision and limits of detection and quantification. The linear working range of the method was 0.1 - 2000 mg kg⁻¹ and 0.5 -10000 mg kg⁻¹, the mean recovery was 105.5% and 100.8%, detection limit 13 and 8,1 mg kg⁻¹, quantification limit 32 and 23 mg kg⁻¹ and variation coefficient 4.8 and 2.6 % for nitrite and nitrate, respectively. The “r” correlation coefficients were above 0.995. The developed method proved to be efficient for the analysis of nitrite and nitrate in sausage.

Keywords: Ion chromatography; meat products; quality control; food preservative.

Resumo

Nitritos e nitratos atuam como agentes de cura em produtos cárneos. Tradicionalmente, a determinação destes aditivos é realizada via colorimétrica por espectrofotometria, método extremamente trabalhoso. Por isso, objetivou-se desenvolver e validar uma metodologia para determinação de nitrito e nitrato de sódio em salsicha através da cromatografia de íons, uma técnica de alta sensibilidade e precisão. Os parâmetros de validação do método desenvolvido foram linearidade, exatidão, precisão e limites de detecção e de quantificação. A faixa linear de trabalho do método foi de 0,10-2000 mg kg⁻¹ e de 0,50-10000 mg kg⁻¹, recuperação média foi de 105,5% e 100,8%, limite de detecção 13 e 8,1 mg kg⁻¹, limite de quantificação 32 e 23 mg kg⁻¹ e coeficiente de variação 4,8 e 2,6% para o nitrito e nitrato, respectivamente. Os coeficientes de correlação “r” foram acima de 0,995. O método desenvolvido mostrou-se eficiente para análise de nitrito e nitrato em salsicha.

Palavras-chave: Cromatografia de íons; produtos cárneos; controle de qualidade; conservantes alimentícios.

* Centro Universitário SENAI CIMATEC – Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial, CEP: 41650-010, Salvador-BA, Brasil.

 ilessaleal@gmail.com
DOI: [10.21577/1984-6835.20200065](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200065)

Desenvolvimento e Validação da Análise Simultânea de Nitrito e Nitrato de Sódio em salsicha por Cromatografia de Íons

Laís Santos Seabra, Ingrid Lessa Leal,*^{ORCID} Gabriele de Abreu Barreto, Roseane Santos Oliveira, Verônica da Silva Santos, Leticia de Alencar Pereira Rodrigues

Centro Universitário SENAI CIMATEC – Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial, CEP 41650-010, Salvador-BA, Brasil.

*ilessaleal@gmail.com

Recebido em 7 de Fevereiro de 2020. Aceito para publicação em 29 de Abril de 2020.

1. Introdução

2. Material e Métodos

2.1. Material

2.2. Obtenção e preparo da amostra

2.3. Desenvolvimento e validação de método analítico

3. Resultados e Discussão

4. Conclusão

1. Introdução

A carne *in natura* é um produto altamente perecível e que apresenta vida de prateleira limitada devido aos fatores intrínsecos e extrínsecos que favorecem o desenvolvimento de microorganismos.¹ O desenvolvimento de produtos cárneos busca aumentar a vida útil, agregar novos sabores e valorizar cortes de baixo valor comercial.

Para a obtenção de embutidos cárneos são utilizados alguns conservantes químicos, a exemplo do nitrito e nitrato que atuam como agentes de cura em produtos cárneos,² com objetivo de acentuar a coloração rósea e atribuir sabor típico dos produtos curados.³ Além disso, inibem ou retardam o crescimento microbiano,⁴⁻⁶ prolongando a vida de prateleira desses alimentos. Também apresentam excelentes propriedades antioxidantes, evitando a rancidez dos produtos cárneos.⁷

O processo de cura de carne e o uso de sais de curajá é amplamente utilizado.^{2,8,9} Mas, devido a um

forte debate público em 1970 quanto ao potencial para produzir nitrosaminas carcinogênicas, o uso de nitrito para o processo de cura dos produtos cárneos foi quase banido.¹⁰ O perigo alimentar ainda é discutido na comunidade acadêmica. Alguns autores sugerem que os sais podem ter efeito benéfico na saúde humana, reduzindo a hipertensão e doenças cardiovasculares.^{11,12} Por outro lado, estudos sugerem que a alta ingestão de nitrato e nitrito na dieta é um fator etiológico no desenvolvimento de certos tipos de câncer.^{11,13}

Existem algumas consequências indesejadas no uso dos sais de cura – nitrito e nitrato – como o risco inicial pela formação de nitrosaminas produzidas pela reação do nitrito com as amins secundárias. A carcinogênese do composto formado pauta-se na produção de aldeídos mutagênicos e na formação de elementos N-nitrosos (NOCs), que podem reagir com DNA.^{14,15} O segundo risco relacionado ao nitrito está associado à sua reação com o ferro heme da mioglobina, formando mioglobina nitrosa. A mutagenicidade desse composto foi relatada recentemente.¹⁴

A adição de nitritos e nitratos em alimentos é oficialmente regulamentada, na maioria dos países. Contudo, as orientações quanto ao seu emprego têm sofrido alterações nos últimos anos, principalmente nos países em desenvolvimento. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabeleceu os limites máximos de 150 e 300 mg kg⁻¹, respectivamente para carnes e produtos cárneos.^{16,17}

Tradicionalmente, a determinação de nitrito e nitrato de sódio é realizada através de método colorimétrico específico via espectrofotometria (forma direta), oriundo de diazotização dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico, de coloração rósea. Para o nitrato é realizada uma determinação indireta pelo mesmo método precedido da sua redução em coluna de cádmio.¹⁸ Tal metodologia, apesar de simples e de baixo custo, deve ser realizada de maneira criteriosa tendo em vista as interferências na região do espectro trabalhada e o conhecimento prévio que se deve ter sobre a origem da amostra.

Diante da importância industrial e os possíveis aspectos toxicológicos causados por esses aditivos é imprescindível a detecção e o monitoramento dos seus teores através do uso de técnicas de quantificação de alto padrão e sensibilidade como a Cromatografia de Íons, método desenvolvido no começo dos anos 1940, onde cátions e ânions são separados através de uma resina de troca iônica específica.¹⁹ O efeito de separação é baseado na distribuição entre duas fases: uma fase é estacionária e a segunda é uma fase móvel que flui em uma determinada direção, onde parâmetros como fator de retenção, seletividade e resolução são avaliados.¹⁹

A Cromatografia Iônica é um método rápido e automático usado para obter resultados confiáveis. Um estudo de validação foi realizado com três tipos diferentes de carne fresca, incluindo gordura e nervos. Para este trabalho, um cromatógrafo iônico equipado com um detector de condutividade foi otimizado com a avaliação da precisão, exatidão, incerteza e outros parâmetros matemáticos obtendo resultados satisfatórios.²⁰

Outro estudo se concentrou na avaliação de nitrato e nitrito em peixes, camarões e bivalves selecionados aleatoriamente do mercado. As espécies incluídas no foram estudo originárias de diferentes ambientes (mar aberto ou aquicultura) e foram subdivididos em três classes: defumado, fresco

e congelado. A análise preliminar foi realizada por meio de cromatografia iônica de alto desempenho com detecção por condutividade suprimida (HPIEC-SCD), que tem sido frequentemente usada para determinação de nitrato e nitrito em diferentes amostras de alimentos.^{20,21}

O sistema HPIEC-SCD foi validado para a determinação de nitrito e nitrato na parte comestível de diversas espécies de frutos do mar. Amostras analisadas por HPIEC-SCD com resultados negativos para os mesmos parâmetros foram submetidas a análise por método cromatográfico de troca aniônica com detecção por espectrometria de massa Q-Exactive Orbitrap. A maior concentração de nitrato foi encontrado em amostras de salmão defumado (mediana = 60 µg / g) enquanto nitrito não foi revelado em nenhuma das amostras estudadas.²²

É de fundamental importância que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para comprovar, por meio da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida, através do cumprimento de protocolos implantados pelo órgão regulamentador competente.

De maneira geral, tendo em vista as consequências no âmbito da Saúde Pública associadas ao consumo excessivo de alimentos processados, devido, entre outros fatores, a presença residual de nitrito e nitrato de sódio, é imprescindível estudar e disponibilizar variedades de técnicas aprimoradas e confiáveis na quantificação desses sais em alimentos. O desafio dessas matrizes é a carga proteica, gordurosa e salina que os extratos apresentam. Nesse contexto o presente artigo tem como objetivo desenvolver e validar um método por cromatografia de íons utilizando um sistema de diálise do fabricante que permite a separação das frações orgânicas oriundas da amostra preservando o sistema cromatográfico e de amostragem, com detecção UV/Vis para a determinação simultânea de nitrito e nitrato de sódio em salsicha.

2. Material e Métodos

2.1. Material

Para o desenvolvimento e validação do método analítico de determinação de nitrito e nitrato foram utilizados padrões de trabalho de nitrito de

sódio (Sigma Aldrich, Lote: BCB7891V) e nitrato de sódio (Inorganic Ventures, Lote: K2-NOX02132) de pureza analítica com certificação ISO GUIA 34. A água ultrapura foi obtida a partir de um sistema purificador de água (Sartorius, Arium Comfort II), com condutividade de água de 0,86 µs/cm.

2.2 Obtenção e preparo da amostra

A amostra de salsicha de carne bovina foi adquirida, de forma aleatória, em comércio popular na cidade de Salvador – Bahia. Em processador de alimentos (Philips Wallita®), 5g da amostra foi homogeneizada com água ultrapura aquecida (50 mL a 80 °C) com agitação magnética (Fisatom®) durante 2 minutos. Posteriormente, o sistema foi mantido em banho termostático (Tecnal®) à 80 °C por 1 hora. Após atingir temperatura ambiente, a amostra foi diluída (0,0004 g mL⁻¹) e filtrada à vácuo utilizando filtro de seringa 0,45 µm (PTFE, Millex Millipore®) e armazenada em *vials* até o momento da análise cromatográfica.

2.3. Desenvolvimento e validação de método analítico

As análises cromatográficas foram realizadas num sistema de cromatografia de íons com detector UV-Vis (Metrohm Company modelo 844 UV/VIS Compact IC, Suíça), juntamente com o amostrador 858 Professional Sample Processor, consistindo de bomba peristáltica de gradiente GP40, detector UV-VIS, gabinete LC20, pré-coluna de ânions Metrosep A Supp 4/5 Guard e coluna de separação de ânions Metrosep A Supp S 240/40.

Os eluentes ânions foram: 3,2 mmol L⁻¹ de Na₂CO₃ e 1,0 mmol L⁻¹ de NaHCO₃. Tempo de análise de 20 minutos com um fluxo de 0,7 mL min⁻¹. O comprimento de onda foi de 205 nm. Volume de amostra de 20 µL e temperatura da coluna a 40 °C.

Para a validação do método, foram adotadas as instruções presentes na Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos (DOQ-CGCRE-008) do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO).²³ Os parâmetros avaliados foram precisão (através do cálculo de estimativas de repetitividade), exatidão (avaliada por ensaios de recuperação), linearidade, e limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), já que estes

constituem o sistema de garantia de qualidade em laboratórios de análise de alimentos.

Para avaliar a exatidão e a precisão da metodologia desenvolvida, foram preparadas e analisadas dez réplicas de uma amostra de salsicha contendo 500 µL dos padrões de nitrito e nitrato de sódio (1000 µg L⁻¹), adicionados as amostras após pesagens das mesmas, para controlar com criticidade a qualidade da análise, garantindo segurança aos dados obtidos.

A precisão foi avaliada através da repetibilidade em termos da dispersão dos resultados da adição dos padrões na matriz salsicha para um nível de concentração (1000 µg L⁻¹). O coeficiente de variação (CV, usualmente expresso em %), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), foi calculado da seguinte forma (Equação 01):

$$CV = DPR = \left(\frac{DP}{CMD} \right) * 100 \quad (1)$$

Sendo:

DP é o desvio padrão;

CMD é a concentração média determinada.

A exatidão foi avaliada através do ensaio de recuperação do analito adicionado na amostra (1000 µg L⁻¹). O cálculo foi realizado conforme Equação 2:

$$Recuperação (\%) = \left(\frac{C1-C2}{C3} \right) * 100 \quad (2)$$

Onde:

C1: concentração do analito na amostra adicionada.

C2: concentração do analito na amostra original, não adicionada.

C3: concentração do analito adicionado à amostra.

A linearidade foi avaliada através da construção de duas curvas analíticas em cromatógrafo de íons com detector UV-Vis, com cinco concentrações dos padrões de nitrito e nitrato de sódio, 0,10 a 2000 mg kg⁻¹ e 0,50 a 10000 mg kg⁻¹, respectivamente. Utilizou-se o método de regressão linear para obter a equação da reta ($y = ax + b$) e o respectivo coeficiente de correlação com um nível de confiança de 95 %.

A determinação do LD e do LQ foi realizada com 99 % de nível de confiança através da análise de dez réplicas de ensaios em branco, utilizando-se água ultrapura isenta de nitrito e nitrato. O branco de amostra é a matriz sem o analito alvo. O limite de detecção (LD) pode ser estimado pela Equação 03:

$$LD = X + t * S \quad (3)$$

Onde:

X: média dos valores dos brancos da amostra;

t: abscissa da distribuição de Student, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança;

s: desvio padrão amostral dos brancos da amostra.

O limite de detecção (LD) pode ser estimado pela Equação 04:

$$LD = X + 10 * S \quad (4)$$

Onde:

X: média dos valores dos brancos da amostra;

s: desvio padrão amostral dos brancos da amostra.

A aquisição e tratamento dos dados foram realizados através do *software* Magic Net 3.1, IC Net 2.3 e LABWIN-LIMS versão 2020-03a.

3. Resultados e Discussão

Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo²⁰. O cromatograma apresentado na Figura 1 (A) demonstra a leitura dos analitos na curva analítica calibrada, onde os picos são nitidamente visualizáveis, livres de interferentes, de fácil detecção, afirmando a confiabilidade e seletividade do método desenvolvido e validado. Essa informação se confirma a partir do cromatograma da leitura dos padrões, apresentado na Figura 1 (B).

No desenvolvimento de métodos analíticos é indispensável que o mesmo seja validado, a fim de garantir sua efetividade, aplicabilidade e reprodutibilidade, de modo também a garantir a confiabilidade dos resultados encontrados. Desse modo, os resultados relacionados à validação do método encontram-se na Tabela 1.

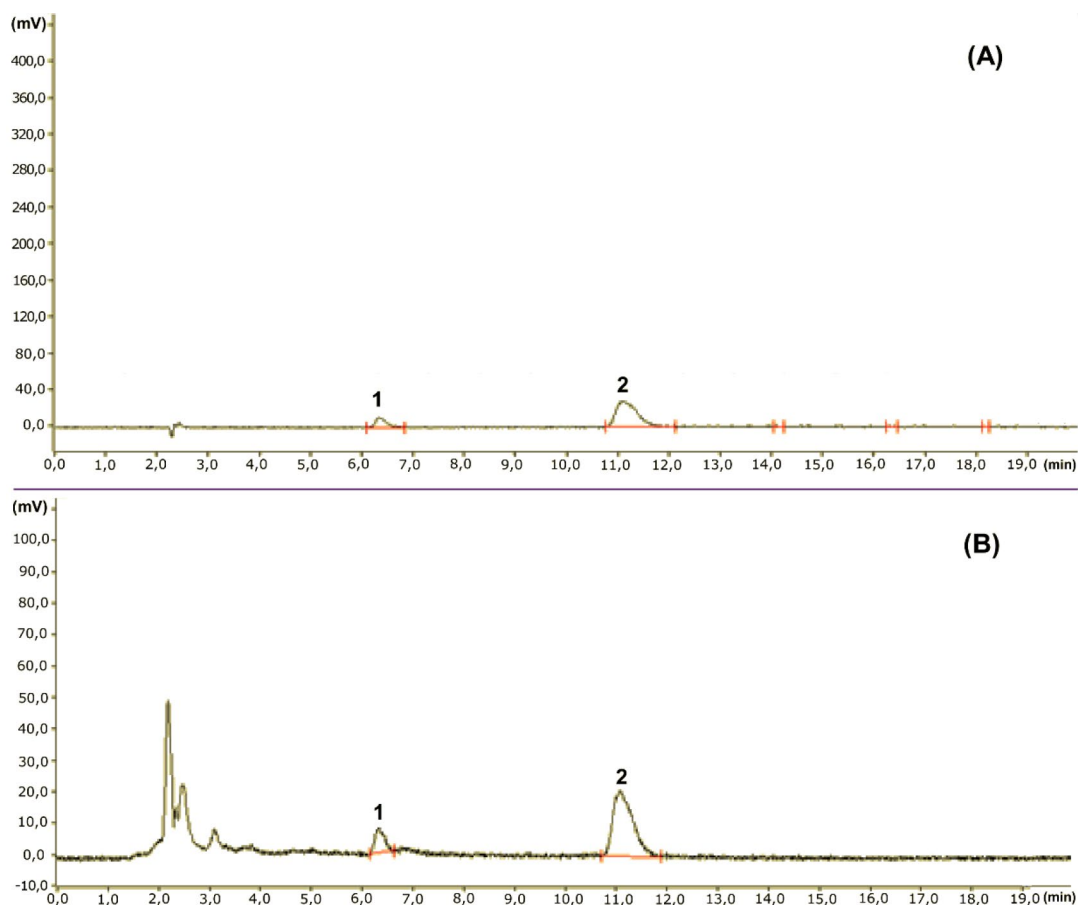


Figura 1. (A) Cromatograma obtido das leituras dos padrões de nitrito (1) e nitrato (2) de sódio. **(B)** Cromatograma da amostra de salsicha com adição de padrão de nitrito (1) e nitrato (2) de sódio

Tabela 1. Resultados obtidos para os parâmetros de Validação de Método Analítico

Parâmetros	Nitrito (NaNO ₂)	Nitrato (NaNO ₃)
Linearidade (mg kg ⁻¹)	Até 2000	Até 10000
Coefficiente de correlação "r"	0,9995	0,998
LD (mg kg ⁻¹)	13	8,1
LQ (mg kg ⁻¹)	32	23
Repetitividade (% CV)	4,8	2,6
Recuperação (Média %)	105,5	100,8

Os resultados demonstrados na Tabela 1, estão dentro dos padrões estabelecidos pela AOAC (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists).²⁴ Para a exatidão, recomenda-se que a recuperação esteja na faixa de 90% a 110%. Sendo assim, os valores apresentados para os parâmetros analisados evidenciam de forma objetiva que os requisitos para aplicação do método desenvolvido foram atendidos.

Os coeficientes de correlação linear obtidos foram de 0,9995 (nitrito) e 0,9980 (nitrato). Estes valores foram superiores ao determinado pela AOAC de $r \geq 0,995$,²⁴ sendo um bom indicativo do quanto a reta pode ser considerada adequada como modelo matemático, porém não é conclusivo. Desse modo, devem ser avaliados os resíduos para verificar essa adequação.²⁰

Assim sendo, foi realizado um teste no último ponto de cada curva através do Teste t. O que garante a capacidade do método de obter resultado proporcional à concentração

dos analitos nas amostras. Os dados estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

A partir dos dados apresentados na Tabela 2 para o nitrato, foi possível a realização do Teste t com 95% de nível de confiança e 2 graus de liberdade. Sendo o t calculado igual a 2,34 e t tabela igual a 2,92, o que demonstra que a curva é linear em toda a sua extensão.

A partir dos dados apresentados na Tabela 3 para o nitrito, foi possível a realização do Teste t com 95% de nível de confiança e 2 graus de liberdade. Sendo o t calculado igual a 0,37 e t tabela igual a 2,92, o que demonstra que a curva é linear em toda a sua extensão.

A precisão do método desenvolvido foi satisfatória, como observa-se na Tabela 1 e 4. De forma geral, os resultados evidenciam a repetitividade do método validado. Para um estudo de validação para a análise de nitrato e nitrito em carne usando cromatografia de íons, os valores médios dos coeficientes de variação foram

Tabela 2. Coeficientes do modelo da regressão linear simples para 5 pontos da curva analítica do nitrato

Conc. (X)	Área (Y)	Y Calculado	(YCalc-YReal) ²	(X * Y)
500	0,93	0,73619	0,0375634	465,00
2500	6,049	6,24758	0,0394356	15122,50
5000	13,425	13,13683	0,0830419	67125,00
7500	19,309	20,02608	0,5141984	144817,50
10000	27,349	26,91532	0,1880763	273490,00

Conc.: concentração em mg/kg; Calc.: calculado

Tabela 3. Coeficientes do modelo da regressão linear simples para 5 pontos da curva analítica do nitrito

Conc. (X)	Área (Y)	Y Calculado	(YCalc-YReal) ²	(X * Y)
100	0,242	0,21905	0,0005266	24,20
500	1,32	1,37995	0,0035941	660,00
1000	2,898	2,83108	0,0044789	2898,00
1500	4,241	4,28220	0,0016974	6361,50
2000	5,7446	5,73332	0,0001272	11489,20

respectivamente 3,1 e 1,2 %, sendo a tolerância inferior a 10 %.²⁰ Em outro estudo a precisão também foi estimado pelo coeficiente de variação (CV) para períodos de intra-dia e inter-dias, os valores encontrados foram inferiores a 10 %.²² O que demonstra que o método atende aos níveis de tolerância estabelecidos por este laboratório para garantir a validação dos dados analíticos.

Os resultados obtidos referentes à adição de padrão de nitrito e nitrato em amostra de salsicha estão indicados na Tabela 4, e nesta pode-se constatar a boa recuperação das amostras, e de níveis satisfatórios de repetibilidade. Vale ressaltar que antes de fazer a regressão linear, foi verificada a ausência de valores aberrantes (em inglês, *outliers*) através do teste de *Grubbs*.

Diversos estudos no campo da cromatografia também têm sido realizados a fim de demonstrar a eficiência de tecnologias alternativas na detecção de íons de nitrito e nitrato de sódio em produtos cárneos.²⁵⁻²⁷ Existem outras pesquisas que demonstram o teor de nitrito e nitrato por cromatografia iônica em amostras de vegetais folhosos (espinafre e alface), carnes frescas (carne bovina, suína, equina e frango), queijo (curado e mussarela), marisco (mexilhões e amêijoas), ração animal (aquicultura, vacas leiteiras, bovinos e vitelos). O método para determinação de nitratos e nitritos dos produtos à base de carne por cromatografia de íons utilizado foi o EN 12014-4: 2005. A literatura relata que este método padrão tem um limite de detecção de 5 mg kg⁻¹ e 10 mg kg⁻¹ para nitrito e nitrato, respectivamente.²⁷⁻²⁸

Tendo em vista a relevância do aprimoramento de técnicas na detecção desses íons, esses

métodos têm sido desenvolvidos e validados para aplicabilidade na rotina analítica. Em um desses estudos constatou-se uma excelente recuperação da análise de nitrato em produtos cárneos através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), de 98,02 % a 98,99 %, e um excelente coeficiente de correlação ($r = 0,997$), ambos inferiores ao estudo em questão que foi de 100,8 % e $r = 0,999$, respectivamente. Ainda assim, o método de HPLC desenvolvido obteve uma excelente recuperação, demonstrando-se adequado na determinação de nitratos em amostras de carnes.²⁷

Para confirmar o desempenho do método, aplicou-se amostras de salsichas diferentes das utilizadas na validação sem efetuar a adição padrão. Foram analisadas 3 amostras de marcas diferentes de salsichas tipo *hot dog* em triplicatas (marcas A, B e C).

Os resultados referentes à amostra total de salsichas analisadas estão apresentados na Tabela 5. Quando comparadas com a legislação vigente, Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998, do MAPA^{16,17}, foi observado que a média de nitrito das amostras de salsichas analisadas (65,50±63,42 mg/kg) apresentou-se significativamente inferior ao valor estabelecido pela legislação, correspondente a 150 mg/kg, enquanto a média de nitrato foi (360,37±359,15 mg/kg) significativamente superior ao valor estabelecido pela legislação, correspondente a 300 mg/kg.

Vale ressaltar que uma reação natural do organismo e nos alimentos transforma o nitrato (NO₃) em nitrito (NO₂), que, por sua vez, se reduz a ácido nitroso. O ácido nitroso é capaz de reagir com aminas e amidas secundárias e terciárias

Tabela 4. Percentual de recuperação obtida para Nitrito e Nitrato de Sódio (n = 10)

Quantidade		Recuperação (%)	DPR ^b
Concentração da adição padrão (mg kg ⁻¹)	Valor Encontrado ± DP ^a (mg kg ⁻¹)		
164 (NaNO ₂)	173,0 ± 8,23	105,5	4,8
965 (NaNO ₃)	973,1 ± 25,3	100,8	2,6

^a Desvio padrão; ^b Desvio padrão relativo

Tabela 5. Resultados obtidos para análise de nitrito e nitrato (mg/kg) em amostras comerciais de salsicha tipo *hot dog*

Matriz	Nitrito (NaNO ₂)	Nitrato (NaNO ₃)
Salsicha A	15,7 ± 0,5	58,1 ± 0,5
Salsicha B	25,8 ± 0,7	158 ± 0,9
Salsicha C	155 ± 1,1	865 ± 8,1

naturalmente presentes em produtos à base de carne, e assim, formar compostos nitrosos como as nitrosaminas e nitroamidas, com grande potencial carcinogênico, podendo causar também efeitos mutagênicos, neurotóxicos e nefrotóxicos.²⁸

Quanto a aplicabilidade analítica da técnica de Cromatografia de Íons há uma ampla diversidade de estudos científicos em amostras de água, onde concentrações de analitos como amônio, nitrito e nitrato, entre outros elementos são detectados em águas salinas e salobras de modo rápida e eficaz, respeitando os requisitos de reprodutibilidade e sensibilidade exigidos em técnicas analíticas, em especial, quando não convencionais.¹⁶

A literatura vem contribuindo para o avanço e aplicabilidade de experimentos alternativos, desde que validados, que substituam técnicas convencionais, a fim de dinamizar a rotina laboratorial. Como a determinação de amônia em rochas sedimentares por Cromatografia de Íons, em substituição ao método clássico de Kjeldahl, que assim como esse estudo demonstrou-se um método simples, sensível e mais rápido do que o método convencional.²⁹

Outras técnicas alternativas na determinação de nitrito e nitrato de sódio em alimentos como salsicha também têm sido desenvolvidas como a técnica de eletroferese capilar (CE), que se mostrou eficiente na separação, identificação e quantificação desses analitos. Apesar de necessitar de ajustes na extração a fim de aperfeiçoar os limites de detecção, de acordo com a conclusão do experimento.³⁰

4. Conclusão

A Cromatografia de íons com detector UV-VIS permitiu determinar com precisão e exatidão os teores de nitrito e nitrato em salsicha. As recuperações de nitrito e nitrato foram de 105,5 e 100,8%, respectivamente. Além disso, a simplicidade do método, o pequeno volume de amostras e o curto período de análise para obter informações durante o procedimento analítico, torna a técnica particularmente adequada para o controle rotineiro. O método analítico é válido e inovador, no sentido de complementar e aperfeiçoar a quantificação desses aditivos, além de contribuir para a redução dos resíduos gerados quando comparado com o método tradicional espectrofotométrico. Entretanto,

o mesmo requer aprimoramento no momento da extração a fim de eliminar possíveis perdas dos analitos analisados.

Agradecimentos

Ao Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI CIMATEC pela infraestrutura.

Referências Bibliográficas

- Oliveira, M. J. de; Araújo, W. M. C.; Borgo, L. A. Quantificação de nitrato e nitrito em lingüiças do tipo frescal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2005**, *25*, 736. [CrossRef]
- Binker, E. F.; Kolari, E. The history and use of nitrate and nitrite in the curing of meat. *Food and Cosmetics Toxicology* **1975**, *13*, 655. [CrossRef]
- Majou, D.; Christieans, S. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. *Meat Science* **2018**, *145*, 273. [CrossRef]
- Hospital, X. F.; Hierro, E.; Fernández, M. Survival of *Listeria innocua* in dry fermented sausages and changes in the typical microbiota and volatile profile as affected by the concentration of nitrate and nitrite. *International Journal of Food Microbiology* **2012**, *153*, 395. [CrossRef] [PubMed]
- Hospital, X. F.; Hierro, E.; Fernández, M. Effect of reducing nitrate and nitrite added to dry fermented sausages on the survival of *Salmonella Typhimurium*. *Food Research International* **2014**, *62*, 410. [CrossRef]
- Keto-Timonen, R.; Lindström, M.; Puolanne, E.; Niemistö, M.; Korkeala, H. Inhibition of Toxigenesis of Group II (Nonproteolytic) *Clostridium botulinum* Type B in Meat Products by Using a Reduced Level of Nitrite. *Journal of Food Protection* **2012**, *75*, 1346. [CrossRef] [PubMed]
- Lemos, A. L. S. C.; Yamada, E. A.; Hagiwara, M. M. H.; *Processamento de Embutidos Cárneos*, ITAL: Campinas, 2008.
- Benedict, R. C. Biochemical Basis for Nitrite-Inhibition of *Clostridium botulinum* in Cured Meat. *Journal of Food Protection* **1980**, *43*, 877. [CrossRef]
- Gray, J. I.; Macdonald, B.; Pearson, A. M.; Morton, I. D. Role of Nitrite in Cured Meat Flavor: A Review. *Journal of Food Protection* **1981**, *44*, 302. [CrossRef]
- Cassens, R. G. Composition and safety of cured meats in the USA. *Food Chemistry* **1997**, *59*, 561. [CrossRef]

- ¹¹ Sindelar, J. J.; Milkowski, A. L. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide* **2012**, *26*, 259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
- ¹² Bryan, N. S.; Alexander, D. D.; Coughlin, J. R.; Milkowski, A. L.; Boffetta, P. Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: An updated review. *Food and Chemical Toxicology* **2012**, *50*, 3646. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
- ¹³ Lee, H. J.; Jeong, S. hye; Chung, Y. jae Wood injury characteristics of fungi isolated from printing woodblocks of the Tripitaka Koreana in the Haeinsa Temple at Hapcheon, Republic of Korea. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2018**, *131*, 29. [[CrossRef](#)].
- ¹⁴ Santarelli, R. L.; Pierre, F.; Corpet, D. E. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. *Nutrition and Cancer* **2008**, *60*, 131. [[CrossRef](#)].
- ¹⁵ Kuhnle, G. G.; Bingham, S. A. Dietary meat, endogenous nitrosation and colorectal cancer. *Biochemical Society Transactions* **2007**, *35*, 1355. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
- ¹⁶ ANVISA, Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998. [[Link](#)].
- ¹⁷ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006. [[Link](#)].
- ¹⁸ São Paulo, I. A. L.; *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*, Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, 2008.
- ¹⁹ Mendham, J.; Barnes, J.; Denney, R.; Thomas, M.; *Análise Química Quantitativa*, 6a. ed, LTC: São Paulo, 2002.
- ²⁰ Lopez-Moreno, C.; Perez, I. V.; Urbano, A. M. Development and validation of an ionic chromatography method for the determination of nitrate, nitrite and chloride in meat. *Food Chemistry* **2016**, *194*, 687. [[CrossRef](#)].
- ²¹ Iammarino, M.; di Taranto, A. Nitrite and nitrate in fresh meats: A contribution to the estimation of admissible maximum limits to introduce in directive 95/2/EC. *International Journal of Food Science and Technology* **2012**, *47*, 1852. [[CrossRef](#)].
- ²² Chiesa, L.; Arioli, F.; Pavlovic, R.; Villa, R.; Panseri, S. Detection of nitrate and nitrite in different seafood. *Food Chemistry* **2019**, *288*, 361. [[CrossRef](#)].
- ²³ Inmetro Doq-Cgcre-8_04. 2011.
- ²⁴ Official Methods of Analysis, A. International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis. *Journal of AOAC International* **2002**, *85*. [[PubMed](#)].
- ²⁵ Hsu, J.; Arcot, J.; Alice Lee, N. Nitrate and nitrite quantification from cured meat and vegetables and their estimated dietary intake in Australians. *Food Chemistry* **2009**, *115*, 334. [[CrossRef](#)].
- ²⁶ Gapper, L. W.; Fong, B. Y.; Otter, D. E.; Indyk, H. E.; Woollard, D. C. Determination of nitrite and nitrate in dairy products by ion exchange LC with spectrophotometric detection. *International Dairy Journal* **2004**, *14*, 881. [[CrossRef](#)].
- ²⁷ Siddiqui, M. R.; Wabaidur, S. M.; Alothman, Z. A.; Rafiquee, M. Z. A. Rapid and sensitive method for analysis of nitrate in meat samples using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2015**, *151*, 861. [[CrossRef](#)].
- ²⁸ Adami, F. S.; Weizenmann, E.; Altenhofen, G.; Dal Bosco, S. M.; Oliveira, E. C. Análise microbiológica e teor de Nitrito e Nitrato em queijos. *Scientia Plena* **2015**, *11*, 1. [[CrossRef](#)].
- ²⁹ Pontes, F. V. M.; Carneiro, M. C.; Vaitsman, D. S.; Monteiro, M. I. C.; Da Silva, L. I. D.; Neto, A. A. Application of a purge-and-trap system for fixed-NH₄⁺determination by matrix interference free ion chromatography in oil reservoir rocks. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2010**, *21*, 1126. [[CrossRef](#)].
- ³⁰ Petrucic, J. F. S.; Elisabete A. Pereira; Cardoso, A. A.; *Resumos da 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia, Brasil, 2008.