

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRATO E NITRITO NA ALIMENTAÇÃO  
OFERECIDA A TRABALHADORES DE CAMPINAS E LIMEIRA, SÃO PAULO**

**Antônio Silvério do Carmo  
Nutricionista**

**Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes  
Orientador**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos para a  
obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.**

**CAMPINAS – SP  
2009**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

C213a Carmo, Antônio Silvério do  
Avaliação dos níveis de nitrato e nitrito na alimentação  
oferecida de trabalhadores de Campinas e Limeira, São  
Paulo / Antônio Silvério do Carmo. -- Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Felix Guillermo Reyes Reyes  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Alimentação. 2. Trabalhadores. 3. Nitratos. 4.  
Nitritos. 5. Análise por injeção por fluxo. I. Reyes Reyes,  
Felix Guillermo. II. Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Titulo em inglês: Evaluation of the levels of nitrate and nitrite in the feeding  
offered to workers in Campinas and Limeira, São Paulo.

Palavras-chave em inglês (Keywords): Food, Worker, Nitrite, Nitrate, Flow injection  
analysis

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos  
Banca examinadora: Felix Guillermo Reyes Reyes  
Marili Villa Nova Rodrigues  
Gislaine Ghiselli  
Elisabete Salay  
Flavia Pereira da Silva Arioldi

Data da defesa: 31/07/2009

Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

---

Prof Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes  
(Orientador)

---

Dr<sup>a</sup>. Marili Villa Nova Rodrigues  
(Membro)

---

Dr<sup>a</sup> Gislaine Ghiselli  
(Membro)

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabete Salay  
(Membro)

---

Dr<sup>a</sup> Flavia Pereira da Silva Arioldi  
(Membro)

**À Cristiana,  
Ao Vitor,  
Aos meus Pais.**

## AGRADECIMENTOS

- A Deus, pela luz divina.
- À Cristiana, meu amor, pelo incentivo incondicional e apoio em todos os momentos. Ao meu filho, Vitor, pelo carinho espontâneo e pela alegria irradiante.
- Aos meus pais, João Ladislau e Maria Agripina, pelo esforço de todos os meus anos de estudo e o carinho em todos os momentos de minha vida.
- Aos meus sogros, Willian e Ana Maria, pelo apoio e valiosa colaboração.
- A toda minha família pelo carinho, apoio, participação.
- Ao professor Felix Guillermo Reyes Reyes pela oportunidade deste aprendizado, pela sua nobre orientação, disponibilidade, amizade, apóio e, principalmente pela confiança depositada.
- À Sandra Campos pelo incentivo e intervenção crucial para conclusão do meu mestrado. Com certeza não teria sido possível sem o apóio, compreensão e confiança depositada.
- Aos meus colegas do laboratório de toxicologia de Ciência de Alimentos, Silvia, Jonas, Renata, Juliana, por toda atenção, apoio, ajuda e amizade.
- Agradeço em especial a Renata e a Silvia pela ajuda crucial na avaliação das amostras e resultados.
- Aos professores, pelos ensinamentos e experiências.
- Aos funcionários da secretaria do DCA, pela dedicação e atenção.
- Aos funcionários da secretaria de pós graduação, Cosme, Marcão, pela presteza e atenção.
- Aos funcionários da biblioteca e demais funcionários que participam das atividades da FEA, pela atenção e bom atendimento.
- A todos os meus amigos que participaram deste momento de grande importância para mim, pelo apoio e amizade.

## ÍNDICE

RESUMO GERAL .....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	4
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>ALIMENTAÇÃO COLETIVA E A EXPOSIÇÃO DO TRABALHADOR AO NITRATO E NITRITO – REVISÃO</b>	
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. UAN – UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO.....	12
3. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS .....	15
4. EXPOSIÇÃO DO TRABALHADOR AOS COMPOSTOS NITROGENADOS	18
5. MÉTODOS ANALÍTICOS .....	23
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	25
7. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRATO E NITRITO NA ALIMENTAÇÃO OFERECIDA A TRABALHADORES DE CAMPINAS E LIMEIRA, SÃO PAULO</b>	
RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	36
1. INTRODUÇÃO.....	38
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	39
3. RESULTADO E DISCUSSÃO .....	47
4. CONCLUSÕES.....	56
5. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

## **TABELAS**

### **CAPÍTULO 1**

#### **ALIMENTAÇÃO COLETIVA E A EXPOSIÇÃO DO TRABALHADOR AO NITRATO E NITRITO – REVISÃO**

<b>Tabela 1 – Elaboração em milhões/dia de refeições pelos segmentos de Auto Gestão, Refeições Coletivas e Refeições Convênios de 2000 a 2008, Brasil. .</b>	<b>9</b>
<b>Tabela 2 – Faturamento em bilhões /dia com refeições pelos segmentos de Auto Gestão, Refeições Coletivas e Refeições Convênios de 2000 a 2008, Brasil. ....</b>	<b>10</b>

### **CAPÍTULO 2**

#### **DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRATO E NITRITO NA ALIMENTAÇÃO OFERECIDA A TRABALHADORES DE CAMPINAS E LIMEIRA, SÃO PAULO**

<b>Tabela 3. Resultados da precisão intra-dia e da exatidão na determinação de nitrito (n=3). ....</b>	<b>48</b>
<b>Tabela 4. Resultados da precisão inter-dias e da exatidão na determinação de nitrito (n=3). ....</b>	<b>49</b>
<b>Tabela 5. Resultados de exatidão e precisão obtidos na análise comparativa entre as diferentes matrizes analisadas.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabela 6. Resultados da precisão intra-dia e da exatidão na determinação de nitrato (n=3). ....</b>	<b>52</b>
<b>Tabela 7. Resultados da precisão inter-dias e da exatidão na determinação de nitrato (n=3). ....</b>	<b>52</b>
<b>Tabela 8. Resultados de eficiência de extração obtidos através da análise de curvas analíticas de nitrato preparadas em amostras fortificadas e extratos fortificados.....</b>	<b>53</b>

<b>Tabela 9. Teor de nitrito e nitrato em amostras de refeições coletivas oferecidas a trabalhadores de empresas de Campina e Limeira/SP (n=3).....</b>	<b>54</b>
<b>Tabela 10. Ingestão de nitrito e nitrato pelos comensais voluntários no estudo, considerando um consumo médio de 400 g de alimento. ....</b>	<b>55</b>
<b>Tabela 11. IMC – Índice de Massa Corporal. Categorias de acordo com a ABESO (Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica).....</b>	<b>56</b>

## **FIGURAS**

### **CAPÍTULO 2**

#### **DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRATO E NITRITO NA ALIMENTAÇÃO OFERECIDA A TRABALHADORES DE CAMPINAS E LIMEIRA, SÃO PAULO**

<b>Figura 1. Sistemas FIA para a determinação de nitrito e nitrato. A: amostra; C1: solução básica diluída (1,2 mL min<sup>-1</sup>); R1: solução de sulfato ferroso (1,2 mL min<sup>-1</sup>); R2: solução de tiocianato (1,2 mL min<sup>-1</sup>); L: alça de amostragem (300 µL); C: coluna de cádmio (75 mm x 3 mm); B: bobina de reação (100 cm), R: registrador e D: descarte. ....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 2. Curva analítica preparada em solução padrão para o cálculo da concentração de nitrito em refeições. r=0,9948.....</b>	<b>47</b>
<b>Figura 3. Curva analítica preparada em matriz fortificada para o cálculo da concentração de nitrato em refeições. r=0,9983. ....</b>	<b>50</b>
<b>Figura 4. Curvas analíticas obtidas no extrato fortificado e na matriz fortificada para o cálculo da eficiência de extração.....</b>	<b>53</b>



## RESUMO GERAL

O setor de alimentação coletiva para os trabalhadores está em constante expansão no Brasil, destacando-se pela empregabilidade direta e indireta e pela contribuição na renda econômica do país. O PAT (Programa de Alimentação do Trabalhador) foi instituído com o objetivo de melhorar as condições das refeições oferecidas nas empresas aos trabalhadores. O cardápio oferecido contém, dentre outras preparações, saladas, carnes e embutidos de forma geral, por isso a importância de monitorar os sais de nitrito e nitrato nessas refeições. Os sais de nitrato e nitrito estão naturalmente presentes no ambiente, na água e nos vegetais, sendo também utilizados como aditivo alimentar, principalmente como agente antimicrobiano em produtos cárneos. Desta forma os trabalhadores estão sujeitos à exposição aos compostos nitrogenados em função do cardápio elaborado. O nitrato é considerado um composto de baixa toxicidade e seu risco à saúde humana depende da sua redução ao nitrito, o qual pode conduzir a metamioglobinemia ou formar compostos N-nitrosos. O Comitê da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação/Organização Mundial da Saúde (FAO/OMS) de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) estabeleceu uma ingestão diária aceitável (IDA) para nitrato e nitrito de  $0-3,7 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso corpóreo e de  $0-0,07 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso corpóreo, respectivamente. No presente trabalho foi validado um método para a determinação de nitrito e nitrato em refeições coletivas utilizando análise por injeção em fluxo (FIA), com determinação espectrofotométrica através da formação do complexo  $\text{FeSCNNO}^+$ . Foram avaliados os seguintes parâmetros analíticos: faixa linear, linearidade, sensibilidade, limite de quantificação e exatidão. O método foi utilizado para a determinação de nitrito e nitrato em refeições oferecidas a trabalhadores de Campinas e Limeira, no Estado de São Paulo. Os teores médios (mínimo e máximo) de nitrito e nitrato nas amostras analisadas foram de 6,25 (4,66 e 9,89)  $\text{mg kg}^{-1}$  de nitrito e 35,63 (1,56 e 75,44)  $\text{mg kg}^{-1}$  de nitrato. Estimou-se a ingestão de nitrito e nitrato através do consumo do almoço oferecido aos trabalhadores, considerando o teor médio (mínimo e máximo) de nitrito e nitrato nas amostras

analisadas, o peso médio dos indivíduos (66 kg) e o peso médio da refeição (400g). Os valores de ingestão média (mínimos e máximos) calculados foram 0,04 (0,02 e 0,05) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo/refeição para nitrito e 0,21 (0,01 e 0,54) mg kg<sup>-1</sup> corpóreo /refeição para nitrato. Considerando que o almoço representa 40 % do total de alimentos consumidos diariamente, a ingestão de nitrito, mais não a de nitrato, supera o valor de IDA estabelecido pelo JECFA, o que indica que medidas devam ser tomadas visando minimizar o risco à saúde dos trabalhadores decorrente da ingestão de nitrito.

Palavras chaves: Programa de Alimentação do Trabalhador, nitrito, nitrato, análise por injeção em fluxo, FIA.

## ABSTRACT

The sector of collective meals to the workers is continually expanding in Brazil and stands out for its contribution to the country's economy and the direct and indirect number of associated jobs. The Feeding Worker Program was instituted with the objective of improving the quality of meals offered by companies to workers. Nitrate and nitrite salts are naturally present in the atmosphere, water and in vegetables, and are also used as food additives, mainly as antimicrobial agents in meat products. Nitrate is considered to have relatively low toxicity and the risk to human health primarily depends on its reduction to nitrite, which can cause methaemoglobinaemia, or form N-nitroso compounds such as nitrosamines that may cause cancers. The menu offered in the Feeder Worker Program usually contains salads, meats and processed food all of which may contain nitrite and nitrate, potentially exposing the workers to these compounds and justifying the monitoring of these compounds in the workers' food. The Joint FAO/WHO Committee on Food Additives (JECFA) established an acceptable daily intake (ADI) for nitrate and nitrite of 0-3.7 mg kg<sup>-1</sup> of body weight and 0-0.7 mg kg<sup>-1</sup> of body weight, respectively. In the present work a method was validated for nitrite and nitrate determination in collective meals using flow injection analysis (FIA), with spectrophotometric determination through the formation of FeSCNNO<sup>+</sup>. The following performance criteria for nitrite and nitrate were evaluated: linear range, linearity, sensitivity, limit of detection, limit of quantitation and accuracy. The method was used for the determination of nitrite and nitrate in meals offered to workers in Campinas and Limeira, in the State of São Paulo. The average levels (minimum and maximum) of nitrite and nitrate in the analyzed samples were 6.25 (4.66 and 9.89) mg kg<sup>-1</sup> for nitrite and 35.63 (1.56 and 75.44) mg kg<sup>-1</sup> for nitrate. Considering the daily exposure to nitrite and nitrate through the consumption of the meals offered to the workers, using an average weight of individuals of 66 kg and weight of the average meal eaten of 400 g, the average exposure (minimum and maximum) to nitrite was 0.04 (0.02 and 0.05) mg kg<sup>-1</sup> per meal and to nitrate 0.21 (0.01 and 0.54) mg kg<sup>-1</sup> per meal. Taking into consideration that lunch represents 40

% of total foods daily consumption, the nitrite intake, but not nitrate, overcome the ADI value established by JECFA, suggesting that measurements should be taken in order to minimize the risk to the workers health due to nitrite intake.

Key words: Food, worker, nitrite, nitrate, flow analysis injection

## **INTRODUÇÃO GERAL**

O Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT) foi instituído pela Lei 6.321, de 14/4/1976, com o objetivo de melhorar as condições nutricionais dos trabalhadores, prioritariamente os de baixa renda, visando repercussões positivas na qualidade de vida, redução de acidentes de trabalho, aumento da produtividade, e a prevenção de doenças profissionais (PAT, 2009).

O setor de alimentação coletiva está em constante expansão no Brasil e sua importância econômica pode ser expressa na geração de empregos diretos (aproximadamente 170 mil em 2004), em número de refeições produzidas (5,8 milhões ao dia), na movimentação financeira mediante comercialização das refeições (6 bilhões de Reais ao ano) e no consumo de alimentos (2,5 mil toneladas) (COLARES & FREITAS, 2007).

De acordo com a Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas (ABERC), a dimensão e a importância do setor na economia nacional podem ser medidas a partir dos números gerados pelo segmento: no ano 2007 o mercado de refeições coletivas como um todo forneceu 7,5 milhões de refeições/dia, movimentou uma cifra de 8,4 bilhões de reais por ano, ofereceu 180 mil empregos diretos, consumiu diariamente um volume de 3,0 mil toneladas de alimentos e representou para os governos uma receita de 1 bilhão de reais anuais entre impostos e contribuições. Das 7,5 milhões de refeições em 2007, cerca de 7 milhões foram fornecidas pelas 90 empresas prestadoras de serviço filiadas a ABERC, que juntas correspondem por 93% (noventa e três por cento) do volume desse mercado (ABERC, 2009).

O mercado potencial teórico de refeições está estimado em 40 milhões/dia para empregados de empresas, e em 17 milhões nas escolas, hospitais e Forças Armadas (ABERC, 2009).

As Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) pertencem ao setor de alimentação coletiva, cuja finalidade é administrar a produção de refeições nutricionalmente equilibradas com bom padrão higiênico-sanitário para consumo fora do lar, que possam contribuir para manter ou recuperar a saúde de coletividades, e ainda, auxiliar no desenvolvimento de hábitos alimentares saudáveis (COLARES & FREITAS, 2007).

As alterações ambientais, que determinaram o aumento da competitividade entre as empresas, têm feito com que o setor de Alimentação Coletiva, mundialmente, experimentasse mudanças significativas nos últimos quinze anos. Neste setor, identificam-se pressões ambientais a partir de duas vertentes principais. A primeira é aquela referente ao alto custo e às dificuldades de gestão que apresenta a mão-de-obra. A segunda envolve aspectos de qualidade, voltados tanto às questões de higiene e sanidade dos alimentos e preparações, quanto ao atendimento de normas que regem o preparo e distribuição de alimentos (PROENÇA & SANTOS, 2007).

Assim, nos Estados Unidos da América e em vários países da Europa, novos processos tecnológicos de produção de alimentação para coletividades têm sido desenvolvidos e implantados na busca de aumentos expressivos de qualidade e produtividade, com conseqüentes reflexos na competitividade das empresas.

As inovações tecnológicas propostas para a produção de alimentação coletiva envolvem equipamentos, produtos alimentícios e processos produtivos. Os novos equipamentos contêm diferenciais principalmente com relação à transmissão de calor, através de aparelhos de cocção e resfriamento. Nos produtos alimentícios, as novidades baseiam-se na elaboração prévia dos mesmos, facilitando o preparo e aumentando o prazo de validade. Com relação aos processos produtivos, as proposições determinam a produção, a partir destes alimentos pré-elaborados (cozinha de montagem), com impactos significativos nos custos totais, bem como a utilização do processo de cadeia fria, que permite a

dissociação temporal e espacial entre preparo e distribuição (PROENÇA & SANTOS, 2007).

Também no setor de Alimentação Coletiva, a exemplo de qualquer outro setor produtivo, estas inovações tecnológicas, após serem testadas e implantadas nos países desenvolvidos, começam a ser transferidas para os novos países industrializados, como o Brasil. No país a introdução de inovações tecnológicas para a produção de alimentação coletiva encontra-se na fase inicial. Ainda não ocorre a produção através do processo de cadeia fria, mas a utilização de produtos pré-elaborados, oriundos das indústrias agroalimentares, na denominada cozinha de montagem, começa a ser gradativamente viabilizada (ARRUDA et al, 2007).

Estudos desenvolvidos em diversos países têm comprovado a validade da relação entre a ingestão calórica e produtividade, além da preocupação com substâncias tóxicas advindas da alimentação. Dentre as substâncias que podem constituir risco à saúde humana, incluem-se os compostos de nitrogênio nos seus diferentes estados de oxidação: nitrogênio amoniacal e albuminóide, nitrito e nitrato (ALABURDA, 1998).

Sais de cura, como nitrato e nitrito de sódio e de potássio, são largamente utilizados como aditivos alimentares no processamento de produtos cárneos. Os sais de nitrito, além de conservarem a carne contra a deterioração bacteriana são fixadores de cor e agentes de cura. Seus efeitos adversos são representados principalmente pela metamioglobinemia e pela formação de nitrosaminas. Seu uso é discutível dada à possibilidade de originar compostos N-nitrosos de ação carcinogênica (LEITÃO, 1978).

A exposição contínua a nitratos e nitritos é relevante sob o ponto de vista toxicológico, devido à possibilidade de formação de compostos nitrosos (N-nitrosaminas), indutores de câncer (DUARTE, et al, 1996).

Há atualmente uma preocupação mundial com as quantidades dos íons nitrato e nitrito, por isso verifica-se uma crescente busca por métodos analíticos eficientes e de baixo custo para a determinação desses íons (ROCHA & REIS, 2000).

Diante do exposto, essa pesquisa teve como objetivo geral avaliar os níveis de nitrato e nitrito presente em refeições coletivas consumidas por trabalhadores de Campinas e Limeira/SP. Para tanto, foi validado método analítico para a determinação de nitrato e nitrito utilizando sistema FIA com detecção espectrofotométrica. Com os dados obtidos foi estimada a ingestão de nitrato e nitrito por parte de trabalhadores participantes voluntários do estudo.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABERC. Associação Brasileira das Empresas de Alimentação Coletiva. Disponível: <<http://www.aberc.com.br/mercadoreal.asp?IDMenu=21>. >. Acesso em 12 de janeiro de 2009.

ALABURDA, J. NISHUHARA, L. Presença de compostos de nitrogênio em águas de poços. Revista de Saúde Pública volume 32 nº2. São Paulo abril de 1998. Disponível:<[http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89101998000200009](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101998000200009). Acesso em 07 de janeiro de 2009.

ARRUDA, B. K.G; ARRUDA, L.K.G. Marcos referenciais da trajetória das políticas de alimentação e nutrição no Brasil. Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil. Recife, 7 (3): 319-326, jul. / set., 2007.

COLARES, L.G.T; FREITAS. C. M. Processo de trabalho e saúde de trabalhadores de uma unidade de alimentação e nutrição: entre a prescrição e o real do trabalho. Caderno de Saúde Pública. Vol.23 nº 12. Rio de Janeiro,



2007.Disponível<[http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2007001200022](http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2007001200022)>, acesso em 09 de maio de 2008.

DUARTE, M. Nitratos e nitritos em alimentos. Cadernos de Nutrição, v.12, p.19-30, 1996.

LEITÃO, M.F.F. Microrganismos patogênicos na carne e derivados. Boletim do ITAL, Campinas, v. 59, p. 15-48, 1978.

PAT. PROGRAMA DE ALIMENTAÇÃO DO TRABALHADOR. Dúvidas mais freqüentes sobre a Portaria Interministerial N° 66/06. Disponível em: <[http://www.mte.gov.br/pat/perguntas\\_respostas.asp](http://www.mte.gov.br/pat/perguntas_respostas.asp)>. Acesso em 05 de julho de 2009.

PROENÇA, R.P.; SANTOS, N. Transferência de tecnologia Brasil/França: estudo de caso antropotecnológico no setor de alimentação coletiva. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

ROCHA, R. P.; REIS, F. A. Flow System Exploiting Multicommutation for Speciation of Inorganic Nitrogen in Waters. Analytica Chimica Acta, n. 409, p. 227, 24 nov. 2000.

WHO. Food Additives Series N° 50. Safety Evaluation of Certain Food Additives. Fifty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 2003.

## **CAPÍTULO 1**

### **ALIMENTAÇÃO COLETIVA E A EXPOSIÇÃO DO TRABALHADOR AO NITRATO E NITRITO – REVISÃO**

## **ALIMENTAÇÃO COLETIVA E A EXPOSIÇÃO DO TRABALHADOR AO NITRATO E NITRITO – REVISÃO**

### **RESUMO**

O PAT (Programa de Alimentação do Trabalhador) foi instituído com o objetivo de melhorar as condições das refeições oferecidas nas empresas aos trabalhadores. O cardápio oferecido contém dentre outras preparações saladas, carnes e embutidos de forma geral, por isso a importância de monitorar os sais de nitrito e nitrato nessas refeições. O segmento de alimentação coletiva encontra-se em um momento de grande expansão e modificações em função das necessidades de melhoria contínua e em virtude das exigências do setor. O mercado potencial teórico de refeições está estimado em 24 milhões/dia para empregados de empresas. O potencial teórico das refeições coletivas no Brasil é superior a 40 milhões de unidades diariamente, o que demonstra que o segmento ainda tem muito que crescer. Os sais de nitrato e nitrito estão naturalmente presentes no ambiente, na água e nos vegetais, sendo também utilizados como aditivo alimentar, principalmente como agente antimicrobiano em produtos cárneos. Dentre os compostos de nitrogênio que podem constituir risco para a saúde humana, incluem-se nitrito e nitrato. Sais de nitrito e nitrato são utilizados como aditivos alimentares, assim como estão naturalmente presentes em alimentos. Nitritos podem ser convertidos a N-nitrosaminas, substâncias carcinogênicas, formadas tanto nos alimentos como no sistema digestivo humano. O Comitê FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) estabeleceu uma ingestão diária aceitável (IDA) para nitrato e nitrito de  $0-3,7 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso corpóreo e de  $0-0,07 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso corpóreo, respectivamente.

Palavras chaves: Programa de Alimentação do Trabalhador, nitrito, nitrato.

## **COLLECTIVE FEEDING AND THE EXHIBITION OF THE WORKER TO THE NITRATE AND NITRITE**

### **ABSTRACT**

The Feeding Worker Program was instituted with the objective of improving the conditions of the meals offered in the companies to the workers. The offered menu contains among other preparations salads, meats and built-in in a general way, for that the importance of monitoring them leaves nitrite and nitrate in those meals. The segment of collective feeding is in a moment of great expansion and modifications in function of the improvement needs continues and because of the demands of the section. The theoretical potential market of meals is esteemed in 24 million / day for employees of companies. The theoretical potential of the collective meals in Brazil is superior to 40 million units daily, what demonstrates that the segment still has a lot to grow. The salts of nitrate and nitrite are naturally presents in the atmosphere, in the water and in the vegetables, being also used as food additive, mainly as microbial agent in meat products. Nitrite and nitrate are included among the nitrogen compounds that can constitute risk for the human health. Nitrite and nitrate salts are used as food additives, as well as they are naturally presents in foods. Nitrites can be converted to N-nitrosaminas, carcinogenic substances, formed in the foods and in the human digestive system. The Joint FAO/WHO Committee on Food Additives (JECFA) established an acceptable daily intake (ADI) for nitrate and nitrite of 0-3.7 mg kg<sup>-1</sup> of body weight and of 0-0.07 mg kg<sup>-1</sup> of body weight, respectively.

Key words: Feeding Worker Program, nitrite, nitrate.

## 1. INTRODUÇÃO

Calcula-se que o potencial teórico das refeições coletivas no Brasil é superior a 40 milhões de unidades diariamente, o que demonstra que o nosso segmento ainda tem muito que crescer. O setor conseguiu manter-se estável nos últimos anos graças, em parte, ao processo de terceirização e de desenvolvimento de novos nichos de mercado. Na presente década se prevê um crescimento anual de 10% duplicando-se em sete anos, participando do desenvolvimento do país e aumentando sua participação na merenda escolar e incorporando a alimentação em coletividades eventuais (ABERC, 2008).

Nos últimos oito anos, o segmento de autogestão (administração pela própria empresa) apresentou decréscimo de 0,57 milhões de refeições diárias em 2000 para 0,22 milhões de refeições diárias em 2008 (ABERC, 2008). Em contrapartida, o serviço de terceirização de refeições coletivas (Prestadoras de serviços) teve um aumento de 4,0 milhões de refeições diárias em 2000 para 8,3 milhões de refeições diárias em 2008 (Tabela 1). A mão de obra neste segmento representa aproximadamente 180 milhões de colaboradores (ABERC, 2008).

**Tabela 1** – Elaboração em milhões/dia de refeições pelos segmentos de Auto Gestão, Refeições Coletivas e Refeições Convênios de 2000 a 2008, Brasil.

<b>Refeições (milhões de refeições/dia)</b>									
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Autogestão	0,57	0,50	0,40	0,30	0,30	0,30	0,30	0,26	0,22
Refeições Coletivas	4,0	4,40	4,70	5,20	5,80	6,50	7,0	7,5	8,3
Refeições Convênios	3,4	3,60	3,80	3,50	3,50	4,00	4,2	4,6	5,2

Fonte: ABERC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE REFEIÇÕES COLETIVAS, 2008

Conforme dados apresentados na Tabela 1, o segmento de refeições convênios (tickets e cupons para restaurantes comerciais) apresentou também um crescimento, porém menor que as Prestadoras de Serviços e maior do que a autogestão. Em 2000 este segmento teve um volume de 3,4 milhões de refeições diárias e em 2008 teve um volume de 5,2 milhões de refeições diárias (ABERC, 2008).

O mercado potencial teórico de refeições está estimado em 24 milhões/dia para empregados de empresas, e em 17 milhões nas escolas, hospitais e Forças Armadas (ABERC, 2008).

Em relação ao faturamento diário de 2000 a 2008, no segmento de autogestão houve uma diminuição de 0,28%, no segmento de refeição convênio houve um aumento de 120% e no segmento de refeição coletiva houve um aumento de 179%, segundo estudo da ABERC, (Tabela 2).

**Tabela 2 – Faturamento em bilhões /dia com refeições pelos segmentos de Auto Gestão, Refeições Coletivas e Refeições Convênios de 2000 a 2008, Brasil.**

<b>Faturamento (bilhões de Reais) aproximado de refeições de 2000 a 2008</b>									
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Autogestão	0,7	0,5	0,5	0,4	0,5	0,6	0,7	0,7	0,5
Refeições Coletivas	3,4	3,9	4,2	5,0	6,0	6,9	7,5	8,4	9,5
Refeições Convênios	3,5	3,7	4,3	4,5	5,0	5,8	6,2	7,0	7,7

Fonte: ABERC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE REFEIÇÕES COLETIVAS, 2008.

Através de uma organização eficiente, é possível conciliar a propriedade gastronômica com a alimentação saudável e sem desperdício. Para isso é necessário que haja planejamento dos cardápios, cálculos dos fatores de correção das mercadorias recebidas, controle de aproveitamento das mercadorias e controle de custos das refeições (GUIMARÃES et al, 2006).

Estudos indicam que a alimentação influencia diretamente a saúde do homem, tanto de forma positiva como negativa, e é apontada com um dos fatores mais importantes para a longevidade com qualidade de vida (GUIMARÃES et al, 2006). Atualmente, muitos trabalhadores têm como única refeição àquela que é oferecida na empresa. Com isso, sua produtividade está diretamente ligada a essa refeição. Por isso as empresas oferecem de 4 a 6 refeições/dia aos trabalhadores.

Devido ao aumento da demanda no consumo de refeições em restaurantes industriais, aliado ao crescente aumento de ocorrências de toxinfecções alimentares nestes estabelecimentos, a implementação de cuidados que visam diminuir as contaminações microbiológicas vem ganhando ênfase em Programas de Vigilância Sanitária no Brasil (PORTERO et al, 2001).

Para que haja sucesso em um programa que tem por objetivos alimentos seguro, é preciso que também exista uma pressão por parte dos consumidores e fiscalização e vigilância eficaz dos pontos críticos em que a segurança alimentar esteja em risco, por parte do estado (PORTERO et al, 2001).

Os profissionais que trabalham com alimentação devem se preocupar em prestar informações plenas ao consumidor, usando linguagens claras, simples e acessíveis, com o objetivo de ganhar a fidelidade do cliente e oferecer atendimento com qualidade (LISBOA, 2000).

## **2. UAN – UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO**

A função de uma Unidade de Alimentação e Nutrição é fornecer uma refeição equilibrada nutricionalmente que, apresentando bom nível de sanidade, seja adequada ao consumidor. Além disso, a adequação deve ocorrer tanto no sentido de manter e/ou recuperar a saúde do consumidor, como auxiliar no desenvolvimento de hábitos saudáveis através da educação alimentar (FREIRE et al, 2006).

Na segunda metade do século XX, a sociedade brasileira passou por um intenso processo de transformação devido ao desenvolvimento industrial. Dentre as mudanças, destacam-se os novos hábitos sociais e a mudança no padrão de consumo alimentar.

O desenvolvimento do hábito de “comer fora” pode ser analisado a partir de duas perspectivas: a primeira enfoca o “comer fora” como atividade social; a segunda, como uma necessidade imposta pelo modelo de força de trabalho em que a mulher passou a ter papel relevante. A modificação no comportamento das mulheres alterou a correlação de forças, contribuindo para a construção de uma sociedade mais igualitária, tanto nos espaços reprodutivos (família) quanto nos espaços produtivos (trabalho) (AKUTSU, 2005).

Dentro de uma perspectiva mais ampla, os hábitos alimentares são adquiridos em função de aspectos culturais, antropológicos, sócio-econômicos e psicológicos que envolvem o ambiente das pessoas. Nesse sentido, o comportamento humano seria reciprocamente determinado pelas disposições internas e influências ambientais. O comportamento, fatores pessoais internos (cognitivos) e os eventos ambientais interagem entre si bidirecionalmente. A mudança de comportamento individual pode ser facilitada pela modificação dos fatores pessoais internos (ASSIS, citado por LOBATO, 2007). Esses fatores incluem não somente a obtenção dos conhecimentos necessários e práticas apropriadas para fazer uma mudança, mas também um componente de



autodesenvolvimento. Por exemplo, apesar de uma pessoa ter o desejo de realizar uma mudança e ser definitivamente a responsável pela modificação do comportamento alimentar, o nutricionista, sendo o único profissional da saúde com formação e embasamento que forneça propriedade à difusão dos conhecimentos acerca da alimentação, poderá ajudá-la no desenvolvimento pessoal de auto-eficácia, auto-controle e auto-avaliação, três aspectos críticos da mudança.

Uma alimentação balanceada em uma UAN é fundamental à saúde e à produtividade do trabalhador. Esta se encontra diretamente relacionada com o rendimento do trabalho, aumentando-se a produtividade diminui-se os riscos de acidentes de trabalho. De forma geral, os cardápios elaborados devem ser balanceados de modo que os requerimentos em energia e nutrientes possam ser atendidos, garantindo saúde e capacitação para o trabalho (PROENÇA, 2007).

A qualidade em uma UAN está associada à aspectos intrínsecos do alimento (qualidade nutricional e sensorial), à segurança (qualidade higiênico-sanitária), ao atendimento (relação cliente-fornecedor), e ao preço. A qualidade higiênico-sanitária como fator de segurança alimentar tem sido amplamente estudada e discutida, uma vez que as doenças veiculadas por alimentos são os principais fatores que contribuem para os índices de morbidade nos países da América Latina e do Caribe. O Comitê FAO/OMS admite que as doenças oriundas de alimentos contaminados sejam, provavelmente, os maiores problemas de saúde no mundo contemporâneo. Tais problemas são conseqüências do reaquecimento e refrigeração inadequados e da preparação de alimentos com muita antecedência, aumentando o tempo de espera (WEINGOLD, citado por AKUTSU, 2005).

O *Codex Alimentarius* estabelece as condições necessárias para a higiene e produção de alimentos seguros. Seus princípios são pré-requisitos para a implantação da APPCC (Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle), em que ocorre o controle de cada etapa de processamento. As BPF (Boas práticas de Fabricação) são pré-requisitos fundamentais para a implantação do sistema de

APPCC, considerado parte integrante das medidas de segurança alimentar e ponto referencial para a elaboração de normas reguladoras na produção de alimentos (GALLARDI, citado por AKUTSU, 2005).

A APPCC é eficaz porque, por exemplo, ao invés de detectar a presença de microorganismos patogênicos no final do processo de produção de alimentos, atua como um plano para minimizar os riscos de ocorrência desse evento, por meio do controle dos procedimentos em certos pontos críticos e específicos, durante a produção de alimentos. O uso da APPCC requer também procedimentos simultâneos com outras ferramentas, tais como BPF e sistemas avançados de qualidade na avaliação da produção de alimentos (HUGGETT, citado por AKUTSU, 2005).

No cotidiano de um profissional nutricionista que atua em uma UAN, o planejamento de cardápios é uma atividade constante e essencial. A problemática encontrada nestes casos pode ser demonstrada de diversas maneiras, como atender simultaneamente os critérios técnicos, as exigências operacionais e administrativas, as restrições dos custos e satisfazer uma grande diversidade de preferências e paladares. Além disso, as preparações culinárias de cada refeição devem ser selecionadas pelo Nutricionista, levando em consideração os hábitos e as preferências alimentares dos clientes, a safra, a oferta e o custo do gênero alimentício no mercado, os recursos humanos, o preparo e o consumo efetivo dos alimentos.

Estudos científicos confirmam a combinação entre uma alimentação equilibrada e a produtividade, assim como o baixo rendimento do trabalho quando ocorre ingestão calórica inadequada. Sabe-se que a má nutrição pode desencadear conseqüências relacionadas à redução da vida média, da produtividade, da resistência às doenças, aumento à predisposição aos acidentes de trabalho e baixa capacidade de aprendizado do trabalho. Deve-se ainda ressaltar que, a oferta de refeições aos trabalhadores durante a jornada de trabalho pode representar um acréscimo de 10% na sua produção. Por outro lado,

uma redução de refeição pode diminuir 30% a força muscular, 15% a precisão dos movimentos e em torno de 80% a aptidão para o trabalho (AMORIM, 2002). A avaliação do consumo médio do indivíduo em uma UAN é importante, tanto para verificar a adequação nutricional do almoço em questão, como para estabelecer parâmetros locais de consumo (PINHEIRO, 2000).

De acordo com um dos objetivos do PAT, que é a melhoria do estado nutricional do trabalhador, independente da modalidade do serviço, o programa de educação alimentar visa estimular as empresas a adotar um processo educativo permanente, resgatando da dieta brasileira mudanças desejáveis e aspectos positivos do atual padrão de consumo (SÁVIO, 2005).

O PAT foi instituído pela Lei 6.321, de 14/4/1976, com o objetivo de melhorar as condições nutricionais dos trabalhadores, prioritariamente os de baixa renda, visando repercussões positivas na qualidade de vida, redução de acidentes de trabalho, aumento da produtividade, assim como a prevenção de doenças profissionais. Como o PAT visa à saúde do trabalhador, existem exigências nutricionais mínimas a serem atendidas. As grandes refeições como o almoço e jantar, devem possuir no mínimo, 1.400 kcal de energia, admitindo-se uma redução para 1.200 kcal no caso de atividade leve, ou acréscimo para 1.600 kcal, no caso de atividade intensa, mediante justificativa técnica (PAT, 2009).

### **3. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS**

Sais de nitrito e nitrato estão naturalmente presentes em alimentos e, por essa razão, devem ser continuamente monitorados devido às suas toxicidades. Nitritos podem ser convertidos a nitrosaminas, substâncias carcinogênicas formadas tanto nos alimentos como no sistema digestivo humano. Nitratos são mais estáveis e menos tóxicos do que os nitritos, mas sua monitoração também é importante por serem rapidamente convertidos a nitritos pela redução microbiológica em alimentos (BADEA, 2001).

Os efeitos tóxicos mais relevantes decorrentes da ingestão de nitrato e de nitrito são a metemoglobinemia, em neonatos e em indivíduos com deficiência congênita de *metemoglobina-redutase* ou deficiência de *glicose-6-fosfato desidrogenase* e a formação in vivo de N-nitrosaminas (ECHANIZ et al, 2001).

Íons nitritos podem combinar com a hemoglobina e produzir metemoglobinemia. Casos severos de metemoglobinemia podem inibir a hemoglobina e oxigênio livre, causando retardo mental em crianças (WIGLE, citado por MUSTAFA CEMEK, 2007).

Cerca de 2 a 3% da hemoglobina é oxidada diariamente em metemoglobina (MetHb), que através da reação catalisada pela enzima *NADH-metemoglobina-redutase (NADH-diaforase)*, presente nos eritrócitos, é convertida novamente em hemoglobina. Há vários fatores que mantêm fisiologicamente o íon ferro da hemoglobina no estado  $Fe^{2+}$ . O mais importante parece ser a enzima *NADH-metemoglobina-redutase* (SWANN, 1990; CORTAS & WADIK, 1991). Entretanto a atividade desta enzima é baixa durante as 12 primeiras semanas de vida (NILSSON et al, 1990).

Quando a exposição ao nitrito é elevada, o sistema de redução da enzima é saturado, resultando num aumento da concentração de metemoglobina (MetHb) no sangue. Níveis de metemoglobina de 10% produzem cianose assintomática, enquanto níveis de 20 a 50% levam à cianose (coloração azulada da pele e membranas mucosas, resultado do excesso de concentração de hemoglobina reduzida), com sinais de hipóxia (deficiência de oxigênio nos tecidos orgânicos), astenia (sensação de fadiga e debilidade generalizada), dispnéia (um sintoma no qual a pessoa tem desconforto para respirar), dores de cabeça, taquicardia e perda da consciência. A concentração letal de MetHb não é conhecida, mas níveis superiores a 50% podem rapidamente levar ao coma e morte (WHO, 1978; BORONAT et al, 1982; KNOBELOCH et al., 2000). Quando a concentração de metemoglobina é superior a 15% a cor do sangue se torna achocolatada (FERNÍCOLA, 1989).

Crianças com menos de três meses de idade, por apresentarem deficiência fisiológica transitória de *metemoglobina redutase* ou de seu co-fator NADH podem até morrer com a ingestão de doses inadequadas de nitratos e nitritos. Embora a metemoglobinemia seja o principal efeito adverso agudo conseqüente da exposição ao nitrato, vários estudos sobre a alta exposição de nitrato têm sido associados a uma variedade de efeitos como a hipertrofia da tireóide, hipertensão e até efeitos carcinogênicos devido a formação de compostos N-nitrosos. Todos os efeitos têm sido observados em estudos epidemiológicos em seres humanos e são, freqüentemente, sustentados por estudo de fisiologia humana e animal (BRUNING-FANN & KANEENE, 1993).

Nitritos também reagem com aminas secundárias e terciárias formando composto N-nitrosos que podem estar associados com o alto risco de câncer gástrico, hepático e de esôfago (SIDDIQI et al, citado por GUADAGNIN, 2005).

Apesar de existir grande variabilidade entre indivíduos, em média 25% do nitrato ingerido via oral é secretado na saliva. O nível de nitrato salivar aumenta com a idade do indivíduo, sendo maior na idade adulta. A concentração salivar de nitrato em adultos varia de 0,1 a 40 m mol L<sup>-1</sup> após a ingestão de baixas e altas doses, respectivamente. Em crianças lactentes, o nível de nitrato salivar varia de 0,1 a 1 m mol L<sup>-1</sup>, com valor médio de 0,5 m mol L<sup>-1</sup> (WHO, 1996).

Em adição à saliva, nitrato também é secretado no trato gastrintestinal através das secreções gástricas (via glândulas parietais) e intestinais, incluindo a biliar, o que leva à redução do nitrato a nitrito pela flora do intestino grosso. A secreção do nitrato no estômago também parece ser realizada através de transporte ativo, similar ao das glândulas salivares.

Sabe-se também que a excreção urinária de nitrato está relacionada com a quantidade do íon ingerida. Essa excreção pode exceder a sua ingestão, como conseqüência da síntese endógena de nitrato. No homem a excreção urinária, independente da dose, equivale à 65 a 70 % do nitrato total ingerido. O máximo de excreção de nitrato ocorre após 5 horas da ingestão, retornando ao nível normal

após 18 horas. Em indivíduos em jejum, o nível urinário de nitrato varia entre 10-20 mg/L<sup>-1</sup> (BARTHOLOMEW & HILL, 1984).

O nitrito é bem mais tóxico que o nitrato. Produz, principalmente, vasodilatação e relaxamento da musculatura lisa em geral, além da formação de metahemoglobina. A dose letal para adultos está em torno de 1 g. Em doses mais baixas, os sintomas são enrubescimento da face e extremidades, desconforto gastrointestinal e dor de cabeça. Em doses tóxicas um pouco mais elevadas observam-se cianose, náusea, vômitos, dores abdominais e colapso (SGARBIERI, citado por OLIVEIRA, 2005).

#### **4. EXPOSIÇÃO DO TRABALHADOR AOS COMPOSTOS NITROGENADOS**

A ingestão humana do nitrato é proveniente principalmente de vegetais, água, aditivos e conservantes usados em carnes (TIBURU et al, citado por SURENDRA, 2008).

Aproximadamente 87% do total da concentração de nitrato em uma dieta normal é resultado direto da ingestão de vegetais (HUARTE, citado por SURENDRA, 2008). A preocupação com os altos teores de nitrito em vegetais fez com que vários países europeus estabelecessem como limite máximo permitido para alface produzida em casa de vegetação, teores de nitrato na massa de matéria fresca de 3500 mg kg<sup>-1</sup> para o período de verão e 4500 mg kg<sup>-1</sup> para o período de inverno (GUADAGNINI, 2005). Isso mostra que, em função das atividades enzimáticas no verão há uma maior exposição da população em relação ao nitrito e nitrato.

A concentração de nitrato em espinafre não deve exceder 3000 mg kg<sup>-1</sup> no inverno e 2500 mg kg<sup>-1</sup> no verão (MAFF 1999, citado por GUADAGNINI, 2005).

Estudos do metabolismo do nitrato mostram que a maior parte da eliminação é através da excreção urinária, mas também a secreção salivar apresenta significado importante (DJEKOUN, 2007).

Sais de cura, como nitrato e nitrito de sódio e de potássio, são largamente utilizados como aditivos alimentares no processamento de produtos cárneos. Os sais de nitrito, além de conservarem a carne contra a deterioração bacteriana são fixadores de cor e agentes de cura. Seus efeitos adversos são representados principalmente pela metamioglobina tóxica e pela formação de nitrosaminas. Seu uso é discutível dada à possibilidade de originar compostos nitrosos de ação carcinogênica como a N-nitrosodimetilamina e a monometilnitrosamina (LEITÃO, 1978).

Em 2002, MELO FILHO e BISVONTINI avaliaram os teores de nitrato e nitrito em amostras de salsichas, um dos embutidos mais vendidos no Brasil, comercializadas na região metropolitana do Recife. Os resultados mostraram que 67% das salsichas de feiras livres (18% do total geral pesquisado) estavam acima do limite máximo permitido para nitritos; e os teores de nitrato, foram também superiores ao valor máximo permitido em 17% das amostras do grupo de indústrias da região sul do país, 67% das amostras do grupo de salsichas produzidas em indústrias da região nordeste e 83% das amostras no grupo de salsichas cuja produção era desconhecida (feira livre). Os autores concluíram que, os níveis de nitrato e nitrito encontrados significavam um risco à saúde da população e que a produção e a comercialização desses embutidos não eram submetidas a uma inspeção e fiscalização rígida para a garantia da qualidade do produto e a segurança do consumidor.

Íons nitrato são espécies químicas comumente encontradas em uma diversidade de processos naturais, como parte do ciclo básico do nitrogênio. São usados na agricultura como parte integral de fertilizantes e inseticidas e na indústria de alimentos como conservantes (DJEKOUN, 2007). A aplicação excessiva de fertilizantes, a exploração intensiva das fazendas e a significativa contribuição da indústria têm aumentado o nitrogênio na água. Isto tem diminuído a qualidade da água e causado problemas de saúde relacionados à oxidação do

nitrogênio. Como resultado, muitas regulamentações têm sido aprovadas para diminuir esse problema.

O Nitrato é formado durante a biodegradação do nitrito e nitrogênio amoniacal ou nitrogênio orgânico, sendo importante indicador de poluição fecal de água natural (KAZEMZADEH e ALI ENSAFI, 2001). A reação entre nitrito e aminas secundárias ou terciárias, culmina na formação de compostos N-nitrosos que podem ser carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos.

Os processos biológicos de nitrificação-desnitrificação estão sendo usados para diminuir a amônia e remover o nitrito, desta forma reduzindo o seu teor na água. A determinação de nitrito é um fator importante na análise de solos, alimentos e água natural. Um limite de 45 mg mL<sup>-1</sup> de nitrato é proposto para água (ANVISA, 2009).

ISOLDI et al, em sua pesquisa de Pós-tratamento de efluente nitrificado proveniente da parboilização de arroz, utilizando desnitrificação em reator UASB (sistema utilizado para remoção simultânea da matéria orgânica e dos compostos oxidados do oxigênio), concluíram que a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de 84% e de nitrogênio total Kjeldahl foi de 83%, para o sistema combinado reator UASB-reator aeróbio. A eficiência de remoção de nitrato foi de 87% e para o nitrito foi de 51%, durante o processo de desnitrificação.

As nitrosaminas são carcinógenos potentes e versáteis, produzindo tumores em muitas espécies, praticamente em todos os órgãos do corpo. São rapidamente metabolizadas e, em indivíduos suscetíveis, apenas uma dose pode produzir tumores (PÉREZ, 1977). As principais manifestações clínicas na intoxicação por nitratos são: vômitos, gastrite, hemorragias digestivas, dor abdominal, metahemoglobinemia, cianose, hemólise. Experimentos realizados em cobaias demonstraram dano irreversível em linfócitos e monócitos, após 24 horas de ingestão destes compostos.



Apesar de todos os riscos relacionados à toxicidade dos íons nitritos, os especialistas têm mantido a utilização dos nitritos e nitratos na quase totalidade dos produtos cárneos e a razão desta prática tecnológica é a presença da bactéria patogênica *Clostridium botulinum*, agente causadora do botulismo. O risco devido ao botulismo é mais evidente e visível do que o risco de formação de nitrosaminas (RODRIGUES, 2001).

A concentração de nitrato em vegetais, principalmente alfaces, varia de acordo com a espécie e variedade, bem como o envolvimento de fatores como a intensidade de luz e temperatura. Além disso, depende do período sazonal, sistema de agricultura e estágio de maturação da planta (MAYNARD et al, citado por GUDADNINI, 2005).

Em culturas convencionais, os vegetais são produzidos com o suporte de nutrientes e água. Para grandes produções, substâncias químicas são freqüentemente usadas como fertilizantes e agrotóxicos para controle de insetos e fungos. Essa prática eleva o teor de nitrato nos vegetais.

O sistema de produção orgânica utiliza a prática de cultivo rotativo, reciclando o resíduo orgânico. Nesta técnica a intenção é manter a vida microbológica no solo em ordem para suprir os nutrientes das plantas.

O sistema de cultivo hidropônico é o cultivo de planta em água, onde os nutrientes requeridos pelas plantas são obtidos através da água e soluções químicas de nutrientes. O emprego de fertilizantes químicos usados na agricultura convencional e hidropônica contribui para a elevação de altos teores de nitratos em alguns vegetais. Algumas espécies de vegetais, tais como beterraba, aipo, alface e espinafre podem acumular mais de 2500 mg kg<sup>-1</sup> de nitrato (BLOM-ZANDSTRA, 1989).

Alfaces cultivadas sob hidroponia no norte da Europa, no inverno, podem acumular até 6000 mg Kg<sup>-1</sup> (VAN DER BOON et al, citado por GUADAGNINI, 2005). Em muitas partes do mundo, os alimentos naturais e orgânicos têm

apresentado um explosivo crescimento de mercado. Consumidores preferem pagar mais quando se trata de um produto natural e orgânico (SEBRANEK, 2007).

Em relação ao limite toxicológico, os valores de ingestão diária aceitável (IDA) foi estabelecido pelo Comitê FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) para nitrato de 0 – 3,7 mg Kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo e para o nitrito de 0 – 0,07 mg/Kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo (WHO, 2003).

De acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), o emprego dos nitratos e nitritos de sódio ou de potássio ou de qualquer combinação entre eles, só pode ser feito em quantidades tais, que, no produto pronto para consumo, o teor em nitrito não ultrapasse 150 mg Kg<sup>-1</sup>.

Ainda, conforme a ANVISA, os nitritos de sódio ou de potássio só podem ser empregados isoladamente ou combinados, nas seguintes proporções máximas:

1 – 240 g para cada 100 L de salmoura;

2 – 60 g para cada 100 kg de carne, na cura a seco, de mistura com o sal (cloreto de sódio).

3 – 15 g para cada 100 kg de carne picada ou triturada, de mistura com o sal (cloreto de sódio);

De acordo com a ANVISA, no Brasil, a adição de nitrato de sódio ou potássio em queijos, é permitida no limite de 50 mg Kg<sup>-1</sup> no produto a ser consumido. Entretanto, a legislação brasileira considera impróprio para o consumo o leite que contenha nitratos e nitritos em qualquer concentração. Em água potável, a ANVISA estabelece o limite de 50 mg L<sup>-1</sup>, calculado como nitrato e 0,02 mg L<sup>-1</sup>, calculado como nitrito (ANVISA, 2009).

## 5. MÉTODOS ANALÍTICOS

Diversos métodos são descritos na literatura para determinação de nitratos e nitritos em alimentos e água. Na determinação simultânea de íons nitrato e nitrito são empregadas várias metodologias, tais como cromatografia de troca iônica, espectrometria de massa, eletroforese capilar e outras (BURAKHAM, et al., 2004).

Outros autores também citam a utilização de vários métodos utilizados na determinação do nitrato e nitrito; Cromatografia líquida (KAWASHIMAA et al, 2004); espectrofotometria (AZANZA, 2004); fluorimetria (FERNANDEZ-ARGULLES et al, 2004), cromatografia de troca iônica (KAPINUS et al, 2004); quimiluminescência (MIKUSKA, 2003), dentre outros. Entre esses métodos, nenhum é considerado totalmente satisfatório, visto que são muitos caros, demorados, ou ainda envolvem grandes quantidades de reagentes, muitas vezes de elevada toxicidade.

A reação de Griess está entre os métodos espectrofotométricos reportados como método oficial da Association of Official Analytical Chemists (AOAC) para determinação de nitrito, nessa determinação ocorre a reação de diazotação do nitrito com o ácido sulfanílico e acoplamento com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando o ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico, de coloração rósea. O produto resultante é determinado espectrofotometricamente a 540 nm (AOAC, 1990; BRASIL, 1998). Este método requer um controle cuidadoso da acidez para cada etapa do processo e resulta em produtos carcinogênicos.

Vários métodos para a determinação de nitrito reportados baseiam-se nas variações de procedimento da diazotação de Griess, na qual uma coloração azo é produzida pela ligação de um sal diazônico com uma amina aromática o fenol. Fatores como pH, temperatura e concentração dos reagentes afetam a intensidade da cor fina (NIKONOROV et al, 1995).

Técnicas envolvendo eletrodo de íon seletivo para nitrato tornaram-se populares, mas são susceptíveis de sofrer várias interferências causadas pela presença de outros ânions (GARDOLINSKI 2002).

Todos estes métodos apresentam desvantagens por serem muito caros e pouco adequados para uso rotineiro (BURAKHAM, et al., 2004).

As determinações quantitativas de nitrato e nitrito em amostras de alimentos necessitam, geralmente, de procedimentos trabalhosos em razão da presença de substâncias interferentes (devido à complexidade da amostra) e dos altos limites de detecção que as diferentes técnicas apresentam (BELGRANO et al, 2003).

ARRUDA, em 2004, propôs um método para determinação de nitrito que consiste em uma reação entre o corante metileno violeta 3 RAX e o nitrito, em meio ácido, e determinação por descoramento ou aparecimento de cor.

O método empregando análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica do complexo ternário  $\text{FeSCNNO}^+$ , desenvolvido para a determinação de nitrato, é adequado para o monitoramento do mesmo em alimentos (leite, vegetais, queijos). Com relação ao método oficial da AOAC, apresenta as seguintes vantagens: emprego de reagentes de baixa toxicidade e de baixo custo, baixo consumo de reagentes, maior frequência analítica e menor manipulação das amostras (ANDRADE et al, 2003).

A metodologia proposta para a determinação de amônia, baseada na reação de formação de imina pela adição de formaldeído, foi aplicada com sucesso para a determinação de nitrogênio na forma amoniacal em água, aveia, solo e fertilizantes (SANTOS, 2007). A metodologia apresenta algumas vantagens em relação à metodologia de Kjeldahl dentre elas a eliminação da etapa de destilação da amônia formada, utilização de equipamento especializado ou sistema de destilação e o uso de indicadores.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, grande parte das empresas fornece alimentação aos seus colaboradores. Tal benefício proporciona maior satisfação por parte dos trabalhadores, bem como um ganho em produtividade, menores índices de absenteísmo, acidente de trabalho e melhora na relação empregado e empregador.

A alimentação oferecida ao trabalhador deve estar de acordo com as recomendações nutricionais estipuladas pelo PAT.

A operacionalização das preparações das refeições nas UAN requer diversos procedimentos que devem estar em conformidade com as exigências dos órgãos fiscalizadores, principalmente a Vigilância Sanitária.

Para que se tenha uma alimentação com qualidade nutricional em todos os aspectos, visando prevenir riscos seja de natureza física, química ou biológica, cuidados devem ser tomados em toda a cadeia produtiva.

Os profissionais técnicos responsáveis devem estar envolvidos no controle da qualidade desde a origem dos produtos adquiridos no fornecedor, bem como cuidar do transporte, armazenamento, preparo e distribuição final ao consumidor.

Em função da grande produção de alimentos para atender o mercado, é cada vez maior a preocupação com métodos produtivos em função do uso exagerado de fertilizantes, inseticidas, aditivos e conservantes.

Sem dúvida, os trabalhadores estão expostos aos compostos nitrogenados, seja através dos vegetais ou dos produtos industrializados, principalmente carnes e embutidos. Desta forma, estudos visando à avaliação desses compostos na alimentação do trabalhador fazem-se necessários para contribuir com a saúde dessa população em conformidade com as exigências do PAT.

## 7. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABERC. Associação Brasileira das Empresas de Alimentação Coletiva. Disponível em < <http://www.aberc.com.br/base.asp?id=3>>, acesso em 23 de março de 2008.
- AKUTSU, R.C. Adequação das boas práticas de fabricação em serviços de alimentação. *Rev. Nutr.*, Campinas, 18(3):419-427, maio/jun., 2005.
- AMORIM M.M.A. Adequação nutricional do almoço self-service de uma empresa do município de Santa Luzia (MG) [dissertação]. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais; 2002.
- ANDRADE, R. VIANA, C.O. GUADAGNINI, S.G. REYES, F.G.R. RATH, S.A. Flow-injection spectrophotometric method for nitrate and nitrite determination through nitric oxide generation. *Food Chemistry*, 80, 597-602, 2003.
- ANVISA. Decreto nº 30691, de 29 de março de 1952. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18&word=>. Acesso em 05 de janeiro de 2009.
- ANVISA. Portaria MS nº 1469, de 29 de dezembro de 2000. Regulamento Técnico na Norma de Qualidade da Água para consumo Humano. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/search.php>. Acesso em 05 de janeiro de 2009.
- ANVISA. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamento Técnico da identidade dos queijos. Diário Oficial da União. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/search.php>. Acesso em 05 de janeiro de 2009.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists: agriculture chemical contaminants' drugs. Method 976.14 (15th ed.) Washington, D.C., v.1, 1990.

- ARRUDA, S. S. CARDOSO, A. A. Proposta de uma nova reação para a determinação de nitrito usando o corante Metileno Violeta 3 RAX. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). 29a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004.
- AZANZA, M.P.V. Residual nitrite levels in Philippine sweet bacon. *Food Control*, v. 14, p.385-389, 2004.
- BADEA, M.; AMINE, A.; PALLESCHI, G.; MOSCONE, D.; VOLPE, G.; CURULLI, A. New electrochemical sensors for detection of nitrites and nitrates. *Journal of Electro analytical Chemistry*, Volume 509, 66-72, 2001.
- BARTHOLOMEW, B.; HILL, M.J. The pharmacology of dietary nitrate and the origin of urinary nitrate. *Food and Chemistry Toxicology*, 22, 789-795, 1984.
- BELGRANO, R. F.; COLASURDO, Viviana; DÍAZ, O. A. Métodos Ultravioleta Selectivo y de Reducción con Hidracina en la Determinación Delión Nitrato an Águas Subterranas. Nota Técnica; *Química Nova*, Argentina. v. 26, n. 5, p. 766, 2003.
- BLOM-ZANDSTRA, M. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Annals of Applied Biology*, 115, 553-561, 1989.
- BORONAT, M.D.C.T.; PADROS, R.B.; ALONSO, M.I. Nitratos y nitritos en la alimentación infantil: riesgos de su ingesta. *Alimentaria*, 138, 31-35, 1982.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento técnico para atribuição de função de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para a categoria 8 – carnes e produtos cárneos. Portaria 1004 de 11 de dezembro de 1998.
- BRUNING-FANN, C.S., KANEENE, J.B. The effects of nitrate, nitrite and n-nitroso compounds on human health: a review. *Veterinary and Human Toxicology*, 35, 521-538, 1993.

- BURAKHAM, R.; OSHIMA, M.; GRUDPAN, K.; MOTOMIZU, S. Simple Flow-Injection System for the Simultaneous Determination of Nitrite and Nitrate in Water Sample. *Talanta*, Thailand, n. 64, p. 1259, 2004.
- CODEX ALIMENTARIUS. Food Hygiene basic texts. 2<sup>nd</sup> ed. Rome; 2001.
- CORTAS, N.K.; WAKID, N.W. Pharmacokinetics aspects of inorganic nitrate ingestion in man. *Pharmacology and Toxicology*, 68, 192-193, 1991.
- DJEKOUN, B. S. Nitrate and nitrite concentrations in rabbit saliva Comparison with rat saliva. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23 (2007) 132–134.
- ECHANIZ, J.S.; FERNANDEZ, J.B.; RASO, S.M. Methemoglobinemia and Consumption of Vegetables in Infantis. *Pediatrics*, 107 (5), 2001.
- FERNANDEZ-ARGULLES, M.T. Flow injection determination of nitrite by fluorescence quenching. *Talanta*, v.62, p.991-995, 2004.
- FERNÍCOLA, N.A.G.G. Metahemoglobina infantil causada por nitratos. *Boletim Oficial Sanitary Panamericana*, 106, 32-39, 1989.
- FREIRE, R. Introdução de Alimentos funcionais em uma Unidade de Alimentação e nutrição. Disponível em : < <http://www.nutricaoempauta.com.br>. Acesso em 10 de outubro de 2006.
- GARDOLINSKI, P. C. F. C.; DAVID, A. R. J.; WORSFOLD, P. J. Miniature Flow Injection Analyser for Laboratory, Shipboard and in Situ Monitoring of Nitrate in Estuarine and Coastal Waters. *Talanta*, n. 58, p. 1015, 2002.
- GUADAGNIN, S. G.; RATH. S.; REYES. F. G. R. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural Systems. *Food Additives and Contaminants*, 22(12), 1203-1208, 2005.
- GUERRA, A . Implantação e validação de um sistema de injeção em fluxo aplicado à determinação de nitrato em solos. ABQ - Associação Brasileira de Química. 46<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Química. Salvador/BA. 25 a 29 de setembro de



2006. Disponível em <<http://www.abq.org.br/cbq/2006/trabalhos2006/4/988-1139-4-T1.htm>>. Acesso em 07 de janeiro de 2009.
- GUIMARAES, G.P. Estimativa do fluxo de amônia na interface ar-mar na baía de Guanabara. *Química Nova*, v.29, n.1, p.54-60, 2006.
- ISOLDI, L.A.; KOETZ, P.R. Pós-tratamento de efluente nitrificado da parboilização de arroz utilizando desnitrificação em reator UASB. *Engenharia Sanitária e Ambiental*. [online]. 2005, v. 10, n. 4, pp. 271-277. ISSN 1413-4152. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/esa/v10n4/a02v10n4.pdf>>. Acesso em 07 de janeiro de 2009.
- KAPINUS, E.N. Simultaneous determination of fluoride, chloride, nitrite, bromide, nitrate, phosphate and sulfate in aqueous solutions at 10.9 to 10.8% level by ion chromatography. *Journal of Chromatography B*, v.800, p.321-323, 2004.
- KAWASHIMAA, H. Serum and cerebrospinal fluid nitrite/nitrate levels in patients with rotavirus gastroenteritis induced convulsion. *Life Sciences*, v. 74, p.1937-1405, 2004.
- KAZEMZADEH, A.; ENSAFI, A.A. Sequential flow injection spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in various samples. *Analitica Chimica Acta* 442 (2001) 319-326.
- KNOBELOCK, L.; SALNA, B.; HOGAN, A.; POSTLE, J.; ANDERSON, H. Blue Babies and nitrate-contaminated well water. *Environmental Health Perspectives*, 108 (7), 2000.
- LEITÃO, M.F.F. Microrganismos patogênicos na carne e derivados. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 59, p. 15-48, 1978.
- LISBOA, R. S. Direito do Consumidor. Disponível em: < <http://www.nutrinews.com.br>. Acesso em 10 de outubro de 2006.

- LOBATO, R.C; VARGAS, V.C. A Educação em Saúde e os Trabalhadores do Serviço de Alimentação: Uma proposta de Educação Nutricional. *VITTALLE*, Rio Grande, 19(1): 69-76, 2007.
- LORENZO, J.M. Biogenic amine content during the manufacture of dry-cured laco'n, a Spanish traditional meat product: Effect of some additives. / *Meat Science* 77 (2007) 287–293.
- MIKUSKA, P. Simultaneous determination of nitrate in water by chemiluminescent flow-injection *Analytica Chimica Acta*, v.496, p.225-232, 2003.
- MUSTAFA, C. Nitrate and nitrite levels in fruity and natural mineral waters marketed in western Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 20 (2007) 236–240.
- NIKONOROV, V.V. Spectrophometric determination of nitrite with 4-iodo-n,n-dimethylaniline. *Analytica Chimica Acta*, v.306, p.357-360, 1995.
- NILSSON, A.; ENGBERG, G.; HENNEBERG, S. Inverse relationship between age-dependent erythrocyte activity of methaemoglobin reductase and prilocaine-induced methaemoglobinaemia during infancy. *British Journal Anaesthesiology*. 64, 72-76, 1990.
- OLIVEIRA, M.J. Ciência e Tecnologia de Alimentos.Campinas, 25(4): 736-742 out.-dez. 2005.Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27644.pdf>>. acesso em 06 de janeiro de 2009.
- PÉREZ, B. S. Los Nitritos en la tecnologia de la carne. Zaragoza: Acribia, 1977.
- PINHEIRO, A. B. V. Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras. 4ªed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2000.
- PORTERO, K.C.C.; MAISTRO, L. Tendência do Food Service: Oferecer Alimentação Saudável. Nº 47. Março/Abril 2001.
- PROENÇA, R.P.; SANTOS, N. Transferência de tecnologia Brasil/França: estudo de caso antropotecnológico no setor de alimentação coletiva. Programa de

- Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.
- PROGRAMA DE ALIMENTAÇÃO DO TRABALHADOR. Dúvidas mais freqüentes sobre a Portaria Interministerial N° 66/06. Disponível em: <[http://www.mte.gov.br/pat/perguntas\\_respostas.asp](http://www.mte.gov.br/pat/perguntas_respostas.asp)>. Acesso em 05 de julho de 2009.
- RAMOS, L. A. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. *Química Nova*, Vol. 29, No. 5, 1114-1120, 2006. Disponível em: <<http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2006/vol29n5/36-ED05160.pdf>>. Acesso em 11 de janeiro de 2009.
- RODRIGUES, S. H. S. M. Microencapsulação de nitrito de sódio para uso em mortadela. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos – Área Bromatologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, São Paulo.
- SANTOS, J. S. Desenvolvimento e Otimização de Metodologias para a Determinação de Nitrogênio. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa – MG, 2007. Disponível em <[http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=620](http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=620)>. Acesso em 08 de janeiro de 2009.
- SAVIO, K. L. O. Avaliação do almoço servido a participantes do programa de alimentação do trabalhador. *Rev. Saúde Pública* vol.39 no.2 São Paulo. Abril de 2005. Disponível em [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-89102005000200002&script=sci\\_arttext&tlng=](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-89102005000200002&script=sci_arttext&tlng=). Acesso em 09/05/2008.
- SEBRANEK, J.G.; BACUS, J.N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science* 77 (2007) 136–147.
- SIMÃO, A. M. Aditivos para Alimentos sob o aspecto toxicológico. São Paulo: Nobel, 1989.

- SURENDRA, P.; ADRIAN, A. C. Nitrate-N determination in leafy vegetables: Study of the effects of cooking and freezing. *Food Chemistry* 106 (2008) 772–780.
- SWANN, P. F. The toxicology of nitrate, Nitrite and N-nitroso Compounds. *Journal of Chromatography A*, 508, 357-362, 1990.
- WHO. World Health Organization. Food Additives Series No 35. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives. Forty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 1996.
- WHO. World Health Organization. Food Additives Series N° 5. Nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds. Forty fourth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 1978
- WHO. World Health Organization. Food Additives Series N° 50. Safety Evaluation of Certain Food Additives. Fifty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 2003.

## **CAPÍTULO 2**

### **DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRATO E NITRITO NA ALIMENTAÇÃO OFERECIDA A TRABALHADORES DE CAMPINAS E LIMEIRA, SÃO PAULO**

## **DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRATO E NITRITO NA ALIMENTAÇÃO OFERECIDA A TRABALHADORES EM CAMPINAS E LIMEIRA, SÃO PAULO**

### **RESUMO**

O mercado de refeições coletivas está estimado em 24 milhões/dia para empregados de empresas. O potencial teórico das refeições coletivas no Brasil é superior a 40 milhões de unidades diariamente, o que demonstra que o segmento ainda tem muito que crescer. Dentre os compostos de nitrogênio que podem constituir risco para a saúde humana, incluem-se nitrito e nitrato. Sais de nitrito e nitrato são utilizados como aditivos alimentares, assim como estão naturalmente presentes em alimentos. Nitritos podem ser convertidos a N-nitrosaminas, substâncias carcinogênicas, formadas tanto nos alimentos como no sistema digestivo humano. O Comitê FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) estabeleceu uma ingestão diária aceitável (IDA) para nitrato e nitrito de 0-3,7 mg kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo e de 0-0,07 mg kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo, respectivamente. O presente trabalho teve por objetivo determinar os níveis de nitrato e nitrito em refeições oferecidas através do Programa de Alimentação do Trabalhador em Campinas e Limeira, no Estado de São Paulo. Com o consentimento do voluntário a coleta das refeições foi realizada nas empresas, seguida de uma breve entrevista, após cada participante ter finalizado o preparo da sua refeição. Para a determinação de nitrito e nitrato em refeições coletivas (horário de almoço) foi validado um método utilizando análise por injeção em fluxo (FIA), com determinação espectrofotométrica através da formação do complexo FeSCNNO<sup>+</sup>. Foram avaliados os seguintes parâmetros analíticos: faixa linear, linearidade, sensibilidade, limite de quantificação e exatidão. Os teores médios (mínimo e máximo) de nitrito e nitrato nas amostras analisadas (n=20) foram de 6,25 (4,66 e 9,89) mg kg<sup>-1</sup> de nitrito e 35,63 (1,56 e 75,44) mg kg<sup>-1</sup> de nitrato. Calculou-se a ingestão de nitrito e nitrato através dessas refeições, considerando o teor médio (mínimo e máximo) de nitrito e nitrato nas amostras analisadas, o

peso médio dos indivíduos (66 kg) e o peso médio da refeição (400 g). Assim, os valores de ingestão média (mínimos e máximos) calculados foram 0,04 (0,02 e 0,05) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo/refeição para nitrito e 0,21 (0,01 e 0,54) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo/refeição para nitrato. Considerando que o almoço representa 40 % do total de alimentos consumidos diariamente, a ingestão de nitrito, mais não a de nitrato, poderá estar superando o valor da IDA estabelecido pelo JECFA, o que indica que medidas devam ser tomadas visando minimizar o risco à saúde dos trabalhadores decorrente da ingestão de nitrito.

Palavras chaves: alimentação coletiva, trabalhador, nitrito e nitrato, análise por injeção em fluxo, FIA.

## **EVALUATION OF THE LEVELS OF NITRATE AND NITRITE IN THE FEEDING OFFERED TO WORKERS IN CAMPINAS AND LIMEIRA, SÃO PAULO**

### **ABSTRACT**

In Brazil, the market of collective meals to the workers is estimated in 24 million-meals/day for employees of companies. The theoretical potential of the collective meals is superior to 40 million units daily, what demonstrates that the segment still has a lot to grow. Among the nitrogen compounds that can constitute risk to the human health are included nitrite and nitrate. Nitrite and nitrate salts are used as food additives, as well as they are naturally presents in foods. Nitrite can be converted to N-nitrosaminas, carcinogenic substances formed in the foods and in the human digestive system. The Joint FAO/WHO Committee on Food Additives (JECFA) established an acceptable daily intake (ADI) for nitrate and nitrite of 0-3.7 mg kg<sup>-1</sup> of body weight and of 0-0.07 mg kg<sup>-1</sup> of body weight, respectively. The purpose of the present work was to determine the level of nitrate and nitrite in meals offered through the Feeding Worker Program in Campinas and Limeira, in the State of São Paulo. With the interviewee's consent, the collection of meals was accomplished in the companies after each participant has concluded the preparation of his/her meal; a short interview was also conducted. A method was validated for nitrite and nitrate determination in coletive meals using flow-injection analysis (FIA), with spectrophotometric determination through the formation of the FeSCNNO<sup>+</sup> complex. The following performance criteria for nitrite and nitrate were evaluated: linear range, linearity, sensitivity, limit of detection, limit of quantitation and accuracy. The method was used for the determination of nitrite and nitrate in the meals offered during lunchtime. The average level (minimum and maximum) of nitrite and nitrate in the analyzed samples were 6.25 (4.66 and 9.89) mg kg<sup>-1</sup> for nitrite and 35.63 (1.56 and 75.44) mg kg<sup>-1</sup> for nitrate. Considering the average level (minimum and maximum) of nitrite and nitrate in the samples, the average body



weight of the individuals (66 kg) and the average weight of the meal (400 g) the nitrite and nitrate intake were calculated as 0.04 (0.02 and 0.05) mg kg<sup>-1</sup> bw/meal for nitrite and 0.21 (0.01 and 0.54) mg kg<sup>-1</sup> bw/meal for nitrate. Taking into consideration that lunch represent 40 % of total foods daily consumption, the nitrite intake, but not nitrate, could overcome the ADI value established by JECFA, suggesting that measurements should be taken in order to minimize the risk to the workers health due to nitrite intake.

Key words: Feeding Worker Program, nitrite, nitrate, flow injection analysis, FIA.

## 1. INTRODUÇÃO

O Setor de Alimentação Coletiva é o setor produtor de serviços, representado por todos os estabelecimentos envolvidos com a produção e a distribuição de refeições, para qualquer tipo de coletividade como empresas, escolas, hospitais, asilos, prisões, comunidades religiosas ou forças armadas (ABERC, 2009).

UAN (Unidades de Alimentação e Nutrição) são unidades que pertencem ao setor de alimentação coletiva, cuja finalidade é administrar a produção de refeições nutricionalmente equilibradas com bom padrão higiênico-sanitário para consumo fora do lar, que possam contribuir para manter ou recuperar a saúde de coletividades, e ainda, auxiliar no desenvolvimento de hábitos alimentares (COLARES et al, 2007).

Quanto aos aspectos toxicológicos, o homem é diariamente exposto à presença de nitrito e nitrato através de medicamentos, água e alimentos. Geralmente, suas quantidades são pequenas, não apresentando efeito prejudicial à saúde humana e animal. Porém, quando os alimentos possuem alto teor de nitrato, sua qualidade nutricional é diminuída, devido aos compostos nocivos formados a partir de sua ingestão. Maiores prejuízos à saúde são causados pelo nitrito e nitrosaminas (BENINNI et al, 2002).

As nitrosaminas, substâncias carcinogênicas, formadas a partir do nitrito podem estar presentes tanto nos alimentos como no sistema digestivo humano. Nitratos são mais estáveis e menos tóxicos do que os nitritos, mas seu controle de uso como aditivo alimentar também é importante, pelo fato de serem rapidamente convertidos a nitritos pela redução microbiológica em alimentos (BADEA, 2001).

Diversos métodos são descritos na literatura para determinação de nitratos e nitritos em alimentos e água. Na determinação simultânea de íons nitrato e nitrito

são empregadas várias metodologias, tais como cromatografia de troca iônica, espectrometria de massa, eletroforese capilar e outras (BURAKHAM, et al., 2004).

O método empregando análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica do complexo ternário  $\text{FeSCNNO}^+$ , desenvolvido para a determinação de nitrato, é adequado para o monitoramento do mesmo em alimentos (leite, vegetais, queijos). Com relação ao método oficial da AOAC, apresenta as seguintes vantagens: emprego de reagentes de baixa toxicidade e de baixo custo, baixo consumo de reagentes, maior frequência analítica e menor manipulação das amostras (ANDRADE et al, 2003).

A metodologia analítica empregada para a determinação de nitrito e nitrato nas refeições oferecidas aos trabalhadores, utilizando análise por injeção em fluxo (FIA), baseia-se no trabalho de ANDRADE et al (2003).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1) Reagentes**

Foram utilizados acetato de zinco, ácido sulfúrico, ferrocianeto de potássio, nitrato de sódio, nitrito de sódio, sulfato de cádmio e tetraborato disódico (10-hidrato crist), adquiridos da Merck; cloreto de amônio granulado da J.T. Baker Chemical; etilenodiaminatetraacetato dissódico (EDTA) e sulfato de cobre pentahidratado da Ecibra Reagentes Analíticos; sulfato de ferro (II) granular da Mallinckrodt; e tiocianato de potássio da marca Synth. Todos os reagentes utilizados foram de grau de pureza para análise (p.a.). Foi utilizado bastão de zinco (diâmetro 6 mm) da Riedel-de Haën.

### **2.2) Preparo das soluções**

Para realização das análises, foram preparadas soluções de acetato de zinco ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ); ácido sulfúrico ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ); ferrocianeto de potássio ( $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ );

EDTA dissódico ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ); hidróxido de amônio ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ); tiocianato de potássio ( $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) e solução de sulfato de cádmio (20 %, m/v). A partir destas soluções, foram preparadas soluções de sulfato de ferro (II) ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) em ácido sulfúrico  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ; solução de sulfato de ferro (II) ( $0,0006 \text{ mol L}^{-1}$ ) em ácido sulfúrico  $1 \text{ mol L}^{-1}$  e solução de sulfato de cobre (2 %, m/v) em EDTA  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

Para a obtenção do tampão amoniacal concentrada, foi preparada uma solução contendo cloreto de amônio ( $1,87 \text{ mol L}^{-1}$ ), tetraborato dissódico ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e EDTA dissódico ( $0,0027 \text{ mol L}^{-1}$ ), que foi diluída em cem vezes para o preparo da solução amoniacal diluída.

O Reagente de Carrez foi preparado através da mistura de solução de ferrocianeto de potássio ( $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ ) e solução de acetato de zinco ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) (1:1, v/v).

#### ***Solução padrão estoque de nitrito de sódio ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ )***

Pesou-se 0,1500 g de nitrito de sódio, previamente seco em estufa a  $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , dissolveu-se em água destilada e transferiu-se para um balão volumétrico de 1 L completando-se o volume com água destilada.

#### ***Solução padrão estoque de nitrato de sódio ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ )***

Pesou-se 0,137 g de nitrato de sódio, previamente seco em estufa a  $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , dissolveu-se em água destilada e transferiu-se para um balão volumétrico de 1 L completando-se o volume com água destilada.

#### ***Soluções de trabalho para construção das curvas analíticas do nitrito***

Soluções de trabalho em concentrações iguais a 0,10; 0,30; 0,90; 1,30; 1,80 e  $2,20 \text{ mg L}^{-1}$ , utilizadas para a construção das curvas analíticas, foram preparadas a partir da diluição da solução estoque de nitrito em água.

### ***Amostras fortificadas para a construção das curvas analíticas do nitrato***

As curvas analíticas empregadas na quantificação de nitrato foram preparadas na matriz (5,00 g), com adição da solução estoque de nitrato para obtenção de cinco níveis de fortificação: 2,00; 4,00; 6,00; 8,00 e 10,00 mg L<sup>-1</sup> de amostra diluída a 100 mL. Ou seja: 40,00; 80,00; 120,00; 160,00 e 200,00 mg kg<sup>-1</sup> de amostra.

### **2.3) Preparo da coluna redutora de cádmio coperizado**

Os bastões de zinco foram mergulhados em uma proveta contendo 50 mL de solução de sulfato de cádmio. Após um período de repouso (3 h), o depósito de cádmio esponjoso formado ao redor do bastão foi removido com o auxílio de uma espátula, diluído em água destilada, e triturado em liquidificador durante 3 segundos. Após esse procedimento, o cádmio triturado foi lavado com água destilada e peneirado em tamis ABNT 30 (abertura de 0,59 mm), para a obtenção de granulação uniforme. O cádmio peneirado foi lavado em solução de sulfato de cobre por agitação. Em seguida, o material cobreado foi lavado com água destilada até verificação da ausência de partículas em suspensão nas águas de lavagem.

### **2.4) Preenchimento da Coluna de Redução**

Em coluna de vidro pirex (100 x 3 mm), colocou-se lã de vidro em uma das extremidades e com o auxílio de uma espátula transferiu-se o cádmio cobreado triturado, mantendo-o submerso em água destilada. O cádmio foi transferido gradativamente, sendo compactado com o auxílio de agulha para evitar a formação de bolhas. Após o preenchimento, finalizou-se com lã de vidro.

### **2.5) Ativação da Coluna**

Para a ativação da coluna redutora submeteu-se a eluição com mistura em

fluxo de 40 mL da solução tampão concentrada e 40 mL da solução estoque de nitrato, finalizando com 40 mL da solução tampão diluída. Sempre que a coluna esteve fora de uso foi mantida em água destilada.

## **2.6) Regeneração da Coluna**

Ao final da análise de cada amostra a coluna foi submetida, por aproximadamente 5 minutos, em solução tampão concentrada para a regeneração da mesma.

Quando a eficiência da coluna foi menor que 70 %, procedeu-se a limpeza rigorosa empregando uma mistura de 20 mL de solução tampão concentrada e 20 mL de solução estoque de nitrato  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , seguida de 30 mL de água destilada, 30 mL de solução tampão concentrada, 20 mL de água destilada e por fim 20 mL de solução tampão diluída.

## **2.7) Equipamentos**

Agitador magnético (Fanem Mod.257), Balança analítica (Sartorius), Balança eletrônica (Marte AM 5500 Automarte), Balança mecânica (Digimed), Bomba peristáltica, quatro canais (Ismatec Reglo), Chapa aquecedora (Fisatom), Espectrofotômetro (Femto 600 Mod. 432 equipado com cela espectrofotométrica de 10mm de caminho óptico), Liquidificador (Arno), Medidor de pH (Digimed DM20), Registrador ECB Modelo RB103, Integrador (Waters 746 Data Module-Millipore).

## **2.8) Amostras**

Amostras de refeições coletivas foram coletadas aleatoriamente entre freqüentadores de restaurantes de empresas de Campinas e Limeiras no Estado de São Paulo, de outubro de 2008 a março de 2009. Os comensais foram

abordados depois de terem preparado suas refeições e informados sobre o projeto. Após a confirmação de consentimento com a pesquisa, suas refeições foram solicitadas. Os indivíduos que forneceram as amostras responderam a um breve questionário e tiveram seu peso corpóreo aferido. No total, foram analisadas 20 amostras.

As amostras coletadas foram homogeneizadas com gelo seco em liquidificador e divididas em alíquotas de 5,00 g, exatamente pesadas, que foram estocadas ( $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) para posterior análise.

## **2.9) Preparo de amostras para a determinação de nitrito e nitrato nas refeições.**

Para extração do nitrito e nitrato da amostra, foram adicionados 40 mL de água pré-aquecida ( $70 - 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) as amostras de 5,00 g. Em seguida, a solução obtida foi aquecida em banho-maria em ebulição durante 15 minutos. Após resfriamento, foram adicionados 4 mL de Reagente de Carrez para clarificação do extrato. A solução foi mantida em repouso por 30 minutos, e posteriormente foi transferida para balão volumétrico (100 mL) e seu volume completado com água. O extrato final foi filtrado em papel de filtro qualitativo Whatman.

## **2.10) Método analítico para a determinação de nitrito e nitrato**

A determinação de nitrito e nitrato nas amostras foi realizada utilizando um método de injeção em fluxo (FIA), baseado no trabalho de ANDRADE et al (2003), empregando o sistema apresentado na Figura 1.

O método baseia-se na determinação do nitrato e nitrito através de um complexo ternário  $\text{FeSCNNO}^+$  formado a partir de NO, ferro (II) e tiocianato ( $\text{SCN}^-$ ) em meio ácido. O NO é gerado por redução do nitrito em meio ácido, utilizando ácido sulfúrico. O complexo  $\text{FeSCNNO}^+$  absorve na região do visível do espectro eletromagnético com um máximo de absorbância em 460 nm, sendo que a absorbância é proporcional à concentração de nitrato e nitrito (ANDRADE et al,

2003; REYES, 2008).

Vale ressaltar que o sistema utilizado para a determinação de nitrato e nitrito é o mesmo, exceto em relação à introdução do carregador ( $C_1$ ) e coluna de cádmio esponjoso ( $C$ ), no sistema FIA para determinação do nitrato. Essa coluna tem a finalidade de reduzir o nitrato a nitrito para formação do NO e do complexo ternário.

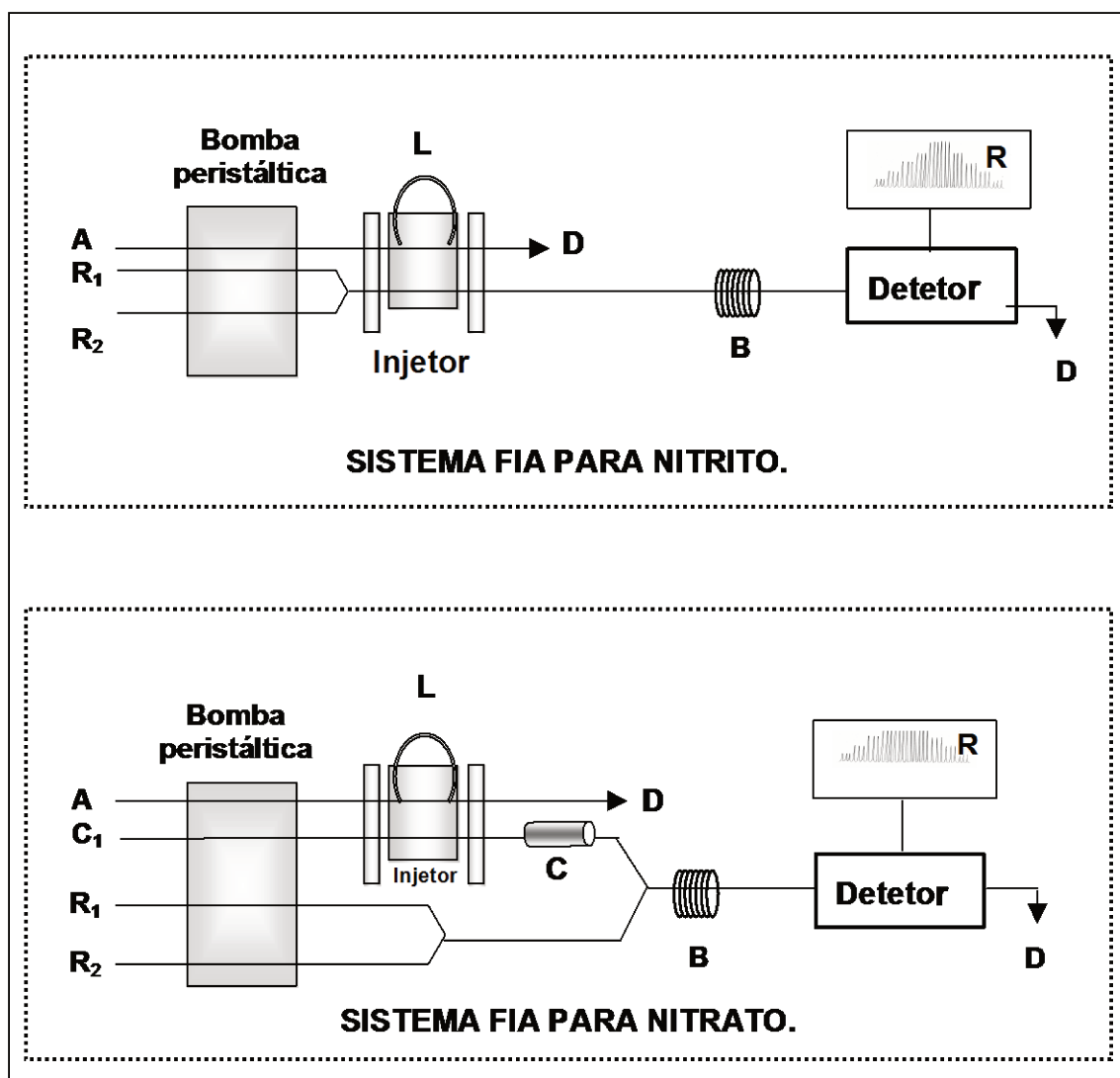


Figura 1. Sistemas FIA para a determinação de nitrito e nitrato. A: amostra; C<sub>1</sub>: solução básica diluída (1,2 mL min<sup>-1</sup>); R<sub>1</sub>: solução de sulfato ferroso (1,2 mL min<sup>-1</sup>); R<sub>2</sub>: solução de tiocianato (1,2 mL min<sup>-1</sup>); L: alça de amostragem (300 µL); C: coluna de cádmio (75 mm x 3 mm); B: bobina de reação (100 cm), R: registrador e D: descarte.

Fonte: REYES, 2008.



## 2.11) Validação Analítica

Tanto para nitrito como para nitrato foram avaliados os seguintes parâmetros analíticos: curva analítica, linearidade, precisão (intra e inter-dias), exatidão e limite de quantificação. A validação do método de análise para o nitrito foi realizada em cinco tipos básicos de refeições, classificadas de acordo com sua fonte protéica (bovina, suína, embutido, peixe ou frango). A validação do método de nitrato foi realizada utilizando três tipos de refeições (bovina, peixe e frango).

Para a elaboração das curvas analíticas do nitrito, e determinação da linearidade do método, foram utilizadas soluções padrão em cinco níveis de concentração. Para a elaboração das curvas analíticas de nitrato, e determinação da linearidade do método, foram utilizadas amostras fortificadas em cinco níveis de concentração.

Avaliou-se a precisão em duas etapas: (i) intra-dia avaliando o desvio relativo dos resultados de análises ( $n=3$ ) em um mesmo dia, realizadas pelo mesmo analista, utilizando o mesmo equipamento; e (ii) inter-dias verificando as variações entre análises realizadas em três dias diferentes ( $n=3$ ), pelo mesmo analista, utilizando o mesmo equipamento. Para tanto, para nitrito foram preparadas amostras fortificadas nos níveis de 2,00, 18,00 e 44,00 mg kg<sup>-1</sup> e, para nitrato, amostras fortificadas em concentrações de 40,00; 120,00 e 200,00 mg kg<sup>-1</sup>.

A exatidão foi avaliada através de testes de recuperação realizados mediante análise de amostras fortificadas com cada analito, nos mesmos níveis utilizados na verificação da precisão. Foi calculada a porcentagem da concentração do analito em função da fortificação. Avaliou-se, ainda, a variação entre os resultados obtidos na análise das diferentes matrizes. Nos cálculos da precisão e da exatidão foram considerados aceitáveis os valores de desvio padrão relativo (C.V.) e de recuperação estabelecidos pela Comunidade Européia (2002).

Os limites de quantificação foram determinados através da análise de amostras fortificadas em níveis decrescentes de concentração dos analitos, avaliando a exatidão e precisão dos resultados. O limite de quantificação de cada método (LQ) foi igual à mínima concentração dos analitos, presente na amostra, que pôde ser quantificada pelo método analítico com exatidão e precisão adequadas (ANVISA, 2003).

Para avaliação da eficiência de extração, extratos de amostras foram fortificados com solução padrão dos analitos para construção de curva analítica. Esses extratos foram denominados extratos fortificados. A curva analítica obtida a partir dos extratos fortificados foi comparada com uma curva analítica preparada na matriz fortificada. A eficiência de extração foi obtida a partir do cálculo da porcentagem de absorbância obtida em cada ponto da curva analítica preparada na matriz fortificada em relação à curva preparada no extrato fortificado.

## **2.12) Análise dos resultados**

Os valores médios de absorbância obtidos foram utilizados para o cálculo da concentração de nitrito e nitrato em cada amostra, que foi realizado através de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados através do software Excel<sup>®</sup>.

Para o cálculo da concentração de nitrito em cada amostra ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), os valores obtidos através dos cálculos empregando a curva analítica preparada em solução padrão, foram multiplicados por 20 para correção da diluição.

As matrizes utilizadas para o preparo das curvas analíticas de nitrato, foram previamente analisadas para determinação da quantidade inicial de nitrito e nitrato. As absorbâncias obtidas nessas análises foram subtraídas do valor de absorbância de cada ponto da curva analítica.

A concentração de nitrato em cada amostra ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) foi obtida através da curva analítica preparada na matriz. De cada resultado obtido, foi subtraída a

quantidade de nitrito presente na amostra, previamente determinado. O resultado foi multiplicado por 20 para correção da diluição.

### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1 – Validação do Método para Determinação de Nitrito

A curva analítica apresentou linearidade com coeficientes de correlação ( $r$ ) superiores a 0,99, na faixa linear de 0,10 a 2,20 mg L<sup>-1</sup> de nitrito em solução padrão (Figura 2).

Os valores de recuperação variaram entre 82,0 e 111,7 % e os valores de desvio relativo foram inferiores a 15 % em todos os níveis de concentração. Esses resultados estão de acordo com os valores estabelecidos pela Comunidade Européia (2002), os quais foram considerados apropriados para o presente trabalho, demonstrando a precisão (intra-dia e inter-dias) e exatidão do método analítico (Tabelas 1 e 2). O limite de quantificação do método foi de 2,00 mg kg<sup>-1</sup> de nitrito na amostra.

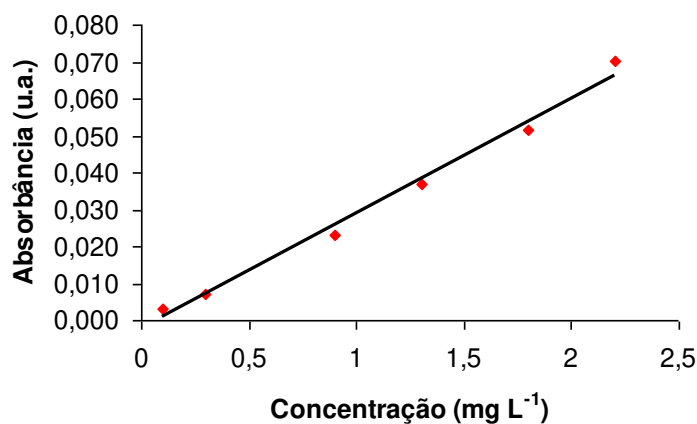


Figura 2. Curva analítica preparada em solução padrão para o cálculo da concentração de nitrito em refeições.  $r=0,9948$ .

Tabela 3. Resultados da precisão intra-dia e da exatidão na determinação de nitrito (n=3).

Matriz	Concentração adicionada (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração Determinada (mg kg <sup>-1</sup> )	Estimativa do Desvio Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Precisão (C.V. %)	Recuperação (%)
1	2,00	2,20	0,01	8,5	110,0
1	18,00	16,20	0,05	5,7	90,0
1	44,00	40,40	0,06	3,2	91,8
2	2,00	2,00	0,01	12,7	100,0
2	18,00	10,80	0,09	11,0	60,0
2	44,00	42,20	0,09	4,2	95,9
3	2,00	2,20	0,01	4,8	110,0
3	18,00	15,00	0,02	2,4	83,3
3	44,00	42,80	0,07	3,2	97,3
4	2,00	2,20	0,01	7,6	110,0
4	18,00	16,00	0,02	2,8	88,9
4	44,00	40,00	0,11	5,6	90,9
5	2,00	2,00	0,01	6,6	100,0
5	18,00	14,80	0,04	5,5	82,2
5	44,00	39,40	0,32	1,6	89,5

Onde: 1 – matriz bovina; 2 – matriz embutido; 3 – matriz suína; 4- matriz frango; 5- matriz peixe.  
C.V.: Coeficiente de Variação.

Tabela 4. Resultados da precisão inter-dias e da exatidão na determinação de nitrito (n=3).

Matriz	Concentração adicionada (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração Determinada (mg kg <sup>-1</sup> )	Estimativa do Desvio Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Precisão (C.V. %)	Recuperação (%)
1	2,00	2,20	0,01	5,65	110,0
1	18,00	15,80	0,07	9,23	87,8
1	44,00	39,40	0,09	4,48	89,5
2	2,00	2,00	0,01	3,49	100,0
2	18,00	17,00	0,05	5,70	94,4
2	44,00	39,00	0,10	5,28	88,6
3	2,00	2,20	0,01	2,81	110,0
3	18,00	16,60	0,03	4,19	92,2
3	44,00	44,00	0,16	7,25	100,0
4	2,00	2,20	0,01	4,07	110,0
4	18,00	17,00	0,04	4,89	94,4
4	44,00	45,00	0,08	3,67	102,3
5	2,00	2,20	0,01	5,59	110,0
5	18,00	16,80	0,05	5,58	93,3
5	44,00	49,20	0,10	4,16	111,8

Onde: 1 – matriz bovina; 2 – matriz embutido; 3 – matriz suína; 4- matriz frango; 5- matriz peixe.  
C.V.: Coeficiente de Variação.

Na análise comparativa dos resultados obtidos para as diferentes matrizes, foi possível verificar que não há diferença entre os mesmos.

Tabela 5. Resultados de exatidão e precisão obtidos na análise comparativa entre as diferentes matrizes analisadas.

Matriz	Concentração adicionada (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração Determinada (mg kg <sup>-1</sup> )	Estimativa do Desvio Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Precisão (C.V. %)	Exatidão Recuperação (%)
1,2,3,4,5	2,00	2,20	0,01	7,34	110,0
1,2,3,4,5	18,00	15,80	0,06	7,75	87,8
1,2,3,4,5	44,00	41,00	0,09	4,65	93,2

Onde: 1 – matriz bovina; 2 – matriz embutido; 3 – matriz suína; 4- matriz frango; 5- matriz peixe. C.V.: Coeficiente de Variação.

### 3.2 – Validação do Método para Determinação do Nitrato

Para o método de análise do nitrato, as curvas analíticas foram preparadas na matriz devido à interferência causada por componentes da matriz.

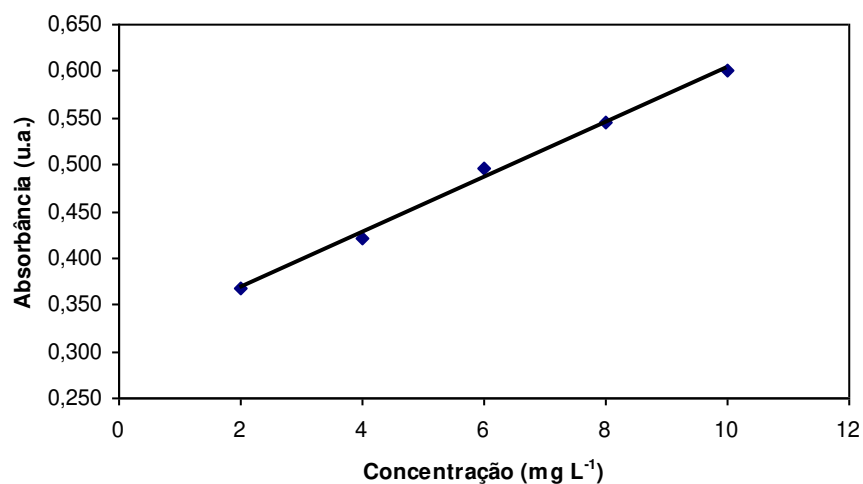


Figura 3. Curva analítica preparada em matriz fortificada para o cálculo da concentração de nitrato em refeições.  $r=0,9983$ .

O método analítico apresentou linearidade com coeficientes de correlação (r) superiores a 0,99, na faixa linear de 2,00 a 10,00 mg L<sup>-1</sup> de nitrato nas amostras fortificadas diluídas (Figura 2).

Os resultados obtidos nos ensaios para determinação da precisão e da exatidão estão de acordo com os valores estabelecidos pela Comunidade Européia (2002) e são apresentados na Tabela 4. A precisão intra-dia e inter-dias foi avaliada através dos valores de desvio relativo para os ensaios de repetibilidade, e apresentou valores menores do que 15 % para todos os níveis de concentração. Os valores médios de recuperação ficaram entre 93,1 e 109,6 %, demonstrando a exatidão do método analítico.

Tabela 6. Resultados da precisão intra-dia e da exatidão na determinação de nitrato (n=3).

Matriz	Concentração adicionada (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração Determinada (mg kg <sup>-1</sup> )	Estimativa do Desvio Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Precisão (C.V. %)	Recuperação (%)
1	40,00	38,00	0,13	6,63	95,0
1	120,00	116,00	0,26	4,55	96,7
1	200,00	188,00	0,26	2,74	94,0
2	40,00	44,00	0,26	12,20	110,0
2	120,00	114,00	0,25	4,49	95,0
2	200,00	182,00	0,26	2,68	91,0
3	40,00	39,00	0,18	8,96	97,5
3	120,00	124,40	0,36	5,87	103,7
3	200,00	186,20	0,66	7,12	93,1

Onde: 1 – matriz bovina; 2 – matriz frango; 3 - matriz peixe.  
C.V.: Coeficiente de Variação.

Tabela 7. Resultados da precisão inter-dias e da exatidão na determinação de nitrato (n=3).

Matriz	Concentração adicionada (mg kg <sup>-1</sup> )	Concentração Determinada (mg kg <sup>-1</sup> )	Estimativa do Desvio Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Precisão (C.V. %)	Recuperação (%)
1	40,00	38,20	0,18	9,57	95,5
1	120,00	117,80	0,28	4,71	98,2
1	200,00	195,00	0,14	1,39	97,5
2	40,00	43,80	0,30	13,86	109,5
2	120,00	115,20	0,30	5,27	96,0
2	200,00	202,40	0,59	5,88	101,2
3	40,00	39,60	0,17	8,43	99,0
3	120,00	118,20	0,40	6,76	98,5
3	200,00	191,00	0,32	3,37	95,5

Onde: 1 – matriz bovina; 2 –matriz frango; 3- matriz peixe.  
C.V.: Coeficiente de Variação.

A eficiência de extração do método foi igual a, aproximadamente, 80 %, conforme dados apresentados na Figura 4 e Tabela 8.



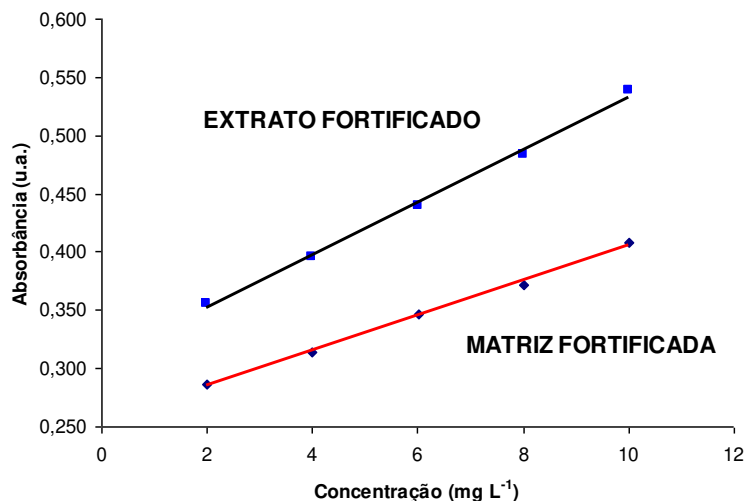


Figura 4. Curvas analíticas obtidas no extrato fortificado e na matriz fortificada para o cálculo da eficiência de extração.

Tabela 8. Resultados de eficiência de extração obtidos através da análise de curvas analíticas de nitrato preparadas em amostras fortificadas e extratos fortificados.

Nível de Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Eficiência de Extração (%)
40,00	80,3
80,00	79,5
120,00	78,8
160,00	77,0
200,00	75,8

O limite de quantificação do método analítico para determinação de nitrato nas refeições foi igual a 40 mg kg<sup>-1</sup>, que é igual ao menor nível de concentração em que foram obtidos valores adequados de exatidão e precisão.

### **Análise de amostras**

Na Tabela 9 são apresentados os valores de concentração de nitrito e nitrato determinados nas amostras de refeições coletivas analisadas.

Tabela 9. Teor de nitrito e nitrato em amostras de refeições coletivas oferecidas a trabalhadores de empresas de Campina e Limeira/SP (n=3).

Amostras	Nitrito (mg kg <sup>-1</sup> )	Nitrato (mg kg <sup>-1</sup> )
1	5,62 ± 0,23	41,46 ± 0,70
2	6,37 ± 0,45	48,63 ± 0,18
3	5,41 ± 0,23	< LQ
4	5,94 ± 0,45	< LQ
5	9,89 ± 0,23	72,63 ± 0,09
6	4,77 ± 0,23	< LQ
7	5,83 ± 0,23	< LQ
8	4,77 ± 0,23	< LQ
9	4,66 ± 0,45	< LQ
10	6,79 ± 0,45	67,33 ± 0,12
11	6,47 ± 0,23	49,88 ± 0,06
12	5,30 ± 0,45	52,68 ± 1,72
13	7,33 ± 0,23	< LQ
14	5,94 ± 0,45	50,18 ± 0,03
15	4,77 ± 0,23	60,78 ± 0,09
16	5,73 ± 0,00	< LQ
17	7,65 ± 0,45	65,15 ± 0,03
18	6,90 ± 1,13	< LQ
19	8,83 ± 0,68	75,44 ± 0,06
20	6,05 ± 0,23	< LQ
Valor médio	6,25	35,63

LQ = limite de quantificação

De acordo com os dados obtidos, teores médios (mínimo e máximo) nas amostras analisadas (n=20), estimou-se a ingestão de nitrito e nitrato através do consumo do almoço oferecido aos trabalhadores. Para tanto, considerou-se o peso médio da refeição (400 g). Assim, os valores de ingestão média (mínimos e máximos) calculados foram 0,04 (0,02 e 0,05) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo por refeição para nitrito e 0,21 (0,01 e 0,54) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo por refeição para nitrato (Tabela 10).

Tabela 10. Ingestão de nitrito e nitrato pelos comensais voluntários no estudo, considerando um consumo médio de 400 g de alimento.

Indivíduos	Peso Indivíduo (kg)	Nitrito (mg kg <sup>-1</sup> pc)	Nitrato (mg kg <sup>-1</sup> pc)
1	60	0,04	0,28
2	72	0,04	0,27
3	56	0,04	< LQ
4	83	0,03	< LQ
5	76	0,05	0,38
6	48	0,04	< LQ
7	66	0,04	< LQ
8	69	0,03	< LQ
9	53	0,04	< LQ
10	79	0,03	0,34
11	64	0,04	0,31
12	88	0,02	0,24
13	66	0,04	< LQ
14	60	0,04	0,33
15	45	0,04	0,54
16	52	0,04	< LQ
17	63	0,05	0,41
18	64	0,04	< LQ
19	77	0,05	0,39
20	82	0,03	< LQ
Valor médio	66	0,04	0,21

LQ = limite de quantificação

Conforme a Tabela 10, em relação aos valores de ingestão média (mínimos e máximos) de nitrito e nitrato, através da refeição (almoço), foram calculados respectivamente, os seguintes valores: 0,04 (0,02 e 0,05) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo por refeição e 0,21 (0,01 e 0,54) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo por refeição.

Considerando que o almoço representa 40% do total da dieta diária de um indivíduo e que a composição total da dieta mantenha as características semelhantes desta refeição, o valor de ingestão diária média (mínimos e máximos)

calculado para nitrito foi de 0,01 (0,05 e 0,13) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo dia e de 0,53 (0,03 e 1,35) mg kg<sup>-1</sup> peso corpóreo dia para nitrato. Esses dados indicam que a ingestão de nitrito, mais não a de nitrato, poderá estar superando o valor da IDA estabelecido pelo JECFA, o que sugere que medidas devam ser tomadas visando minimizar o risco à saúde dos trabalhadores decorrente da ingestão de nitrito.

Através da entrevista realizada com os comensais e considerando as categorias do IMC (Índice de Massa Corporal), da Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO, 2009) (Tabela 11), verificou-se que 70% dos indivíduos que participaram do estudo estavam com o peso normal, 25% estavam com sobrepeso e 5% com obesidade grau I.

Tabela 11. IMC – Índice de Massa Corporal. Categorias de acordo com a ABESO (Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica)

Categoria	IMC
Abaixo do peso	Abaixo de 18,5
Peso normal	18,5 - 24,9
Sobrepeso	25,0 - 29,9
Obesidade Grau I	30,0 - 34,9
Obesidade Grau II	35,0 - 39,9
Obesidade Grau III	40,0 e acima

Fonte: ABESO, 2009

#### 4. CONCLUSÕES

O método FIA utilizado no presente estudo apresentou precisão e exatidão adequadas para a determinação de nitrito e nitrato em todos os tipos de refeições avaliadas.

Os dados obtidos indicam que a ingestão de nitrito, mais não a de nitrato, poderá estar superando o valor da IDA estabelecido pelo JECFA, o que indica que

medidas devam ser tomadas visando minimizar o risco à saúde dos trabalhadores decorrente da ingestão de nitrito.

Os dados obtidos indicam a importância de se monitorar os valores de nitrito e nitrato na alimentação oferecida ao trabalhador, visando à promoção e manutenção da saúde dos mesmos.

Os valores de IMC calculados para os comensais corroboram a importância da necessidade de que os trabalhadores recebam orientação nutricional em relação a uma dieta equilibrada, em particular, e de hábitos de vida saudável, em geral.

Sugere-se que estudos adicionais sejam realizados visando a determinação da ingestão diária de nitrito e nitrato por parte dos trabalhadores, considerando a dieta total consumida pelos mesmos.

## 5. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABERC. Associação Brasileira das Empresas de Alimentação Coletiva .Disponível: <<http://www.aberc.com.br/mercadoreal.asp?IDMenu=21>. >. Acesso em 12 de janeiro de 2009.
- ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Cálculo do IMC (Índice de Massa Corporal). Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/>>. Acesso em 8 de julho de 2009.
- ANDRADE, R.; VIANA, C.O.; GUANAGNIN, S.R.; REYES, F.G.R.; RATH, S. A Flow-injection spectrophotometric method for nitrate and nitrite determination through nitric oxide geration. *Food Chemistry*, 80, 597-602, 2003.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, RE nº 899, 2003. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899\\_03re.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm). Acesso em 1 de setembro de 2008.
- BADEA, M.; AMINE, A.; PALLESCHI, G.; MOSCONE, D.; VOLPE, G.; CURULLI, A. New electrochemical sensors for detection of nitrites and nitrates. *Journal of Electro analytical Chemistry*, Volume 509, 66-72, 2001.
- BENINNI, E .R. Y.; TAKAHASHI, H. W.; NEVES, C. S. V. J.; FONSECA, I. C. B. Teor de nitrato em alface cultivada em sistemas hidropônico e convencional. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 2, p. 183-186, junho 2.002.
- BURAKHAM, R.; OSHIMA, M.; GRUDPAN, K.; MOTOMIZU, S. Simple Flow-Injection System for the Simultaneous Determination of Nitrite and Nitrate in Water Sample. *Talanta*, Thailand, n. 64, p. 1259, 2004.
- COLARES, A. Processo de trabalho e saúde de trabalhadores de uma unidade de alimentação e nutrição: entre a prescrição e o real do trabalho. *Cad. Saúde Pública* vol.23 no.12 Rio de Janeiro 2007.

- COMUNIDADE EUROPÉIA - Decisão da Comissão 657/2002. Jornal Oficial da Comunidade Européia L221/8, 2002.
- INMETRO. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos. DOQ-CGCRE-008, INMETRO, 2003, 35p.
- KAZEMZADEH, A.; ENSAFI, A. A. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in various samples using flow-injection spectrophotometric detection. *Microchemical Journal*, 69, 159-166, 2001.
- PROENÇA, R.P.; SANTOS, N. Transferência de tecnologia Brasil/França: estudo de caso antropotecnológico no setor de alimentação coletiva. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção. Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.
- REYES, F.G.R. Nitrato e Nitritos: Análise de Nitratos e Nitrito em Alimentos Cárneos por Injeção em Fluxo (FIA) com Detecção Espectrofotométrica. In: MOREAU, R.L.M.; SIQUEIRA, M.E.P.B. Toxicologia Analítica. Editora Guanabara, Koogan, Rio de Janeiro, 2008.
- THOMPSON, M., STEPHEN, L. R., WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.*, v.74, p.835, 2002.