

Nitratos e nitritos em queijos caseiros e industrializados comercializados na região sul de Minas Gerais, Brasil

Kelly Regina Seraphim & Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira

Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, MG. Brasil

RESUMO. Foram avaliados os níveis de nitratos e nitritos em queijos produzidos e comercializados no sul de Minas Gerais. No Brasil, a adição destes aditivos é permitida no limite máximo (LMP) de 50 mg/kg. O método analítico validado fundamenta-se na redução do nitrato a nitrito em coluna de cádmio e quantificação espectrofotométrica por reação de diazoconjugação com ácido sulfanílico/ α -naftol. Das 43 amostras analisadas, 38 (88,37%) não apresentaram nitrato e nitrito em níveis detectáveis; em apenas 5 (11,63%) foi encontrado nitrato, sendo que em 4, acima do LMP. Do total, somente 1 (2,33%) apresentou nitrito, porém abaixo do LMP. Do ponto de vista toxicológico, a maioria das amostras podem ser consideradas seguras, apesar dos resultados também podem significar maior risco de contaminação bacteriana.

Palavras chaves: Nitratos, nitritos, queijos.

SUMMARY. Nitrate and nitrite in homemade and industrialized cheeses commercialized in the Southern region of Minas Gerais, Brazil. The evaluation of nitrate and nitrite in homemade and industrialized cheeses commercialized in the southern region of Minas Gerais State, was the aim of this work. In Brazil, the use of these additives is permitted at maximum levels of 50 mg/kg. The basis of the previously validated method is the quantitative reduction of nitrate to nitrite through cadmium column and spectrophotometric determination after nitrite diazotation with sulphanic acid/ α -naphthol reagent. From all samples analyzed, 38 (88,37%) showed neither a nitrate nor nitrite detectable content; 5 samples (11,63%) presented nitrate, 4 of them being above the tolerated level and only one (2,33%) showed detectable nitrite, however below the permissible limit. The majority of samples did not show nitrate or nitrite at detectable levels. However, though probably safe from a toxicological point of view, the results can implicate an increased risk of bacteriological contamination.

Key words: Nitrate, nitrite, cheeses, analysis.

INTRODUÇÃO

Os queijos podem ser afetados por diversos tipos de defeitos, o mais temido é o estufamento tardio, sendo na maioria das vezes causado pelo *Clostridium tyrobutyricum* (1,2) cuja presença causa fermentação do lactato (1) produzindo na massa ácido butírico, gás carbônico e hidrogênio (2-4). O acúmulo destes gases causa estufamento interno, com número variável de olhaduras grandes e irregulares. Pode apresentar trincas na casca, odor de ranço desagradável e sabor estranho, devido ao ácido butírico. Os queijos duros, com casca, ou os embalados em película plástica possuem facilidade a retenção de gases e aos estufamentos. Portanto, quando o defeito ocorre, os queijos são profundamente alterados do ponto de vista estético, físico-químico e organoléptico, de maneira que dificilmente podem ser vendidos no mercado regular (5).

Como consequência do estufamento tardio, muitas pesquisas têm sido realizadas para testar métodos que evitem o crescimento destes microrganismos (6). O mais eficaz e conveniente para aplicação em indústrias (4-9) é adição de nitrato de sódio ou de potássio (6,10,11) que são utilizados na fabricação de queijos na concentração de 10 a 30 g/100L de leite.

No Brasil, esta adição é permitida em queijos, com exceção de queijos frescos, no limite de 50 mg/kg (ppm), quantificado como íon nitrito, no produto a ser consumido (12).

Os nitratos têm eficiência comprovada contra microrganismos butíricos por tempo ilimitado e não possuem efeito prejudicial sobre a flora láctica desejável no queijo (5). Uma vez adicionado ao leite, ele sofre redução enzimática pela xantina oxidase a nitrito que inibe o crescimento e desenvolvimento do *Clostridium* (4,13).

Por outro lado, nitratos e nitritos podem causar efeito tóxico em indivíduos expostos através de alimentos, dependendo da quantidade ingerida e da susceptibilidade do organismo. Os nitritos convertem a hemoglobina a metemoglobinemia, o que afeta o transporte de oxigênio. Existe também a possibilidade de reação desses íons com aminas secundárias e terciárias tanto "in vivo" como no próprio alimento, originando compostos N-nitrosos de elevado potencial carcinogênico, teratogênico e mutagênico (14-18). Fabricantes de queijo que utilizam tal método e reaproveitam o soro para fabricar outros produtos, como por exemplo aricota e alimentos infantis, devem monitorizar a concentração de nitrato e nitrito nestes, visto que a maioria dos íons são dissolvidos e arrastados pelo soro (19).

A avaliação periódica dos teores de nitratos e nitritos em alimentos deve ser realizada a fim de que a IDA (ingestão diária aceitável) não seja ultrapassada, o que colocaria em risco a população. Os valores de IDA para nitratos e nitritos preconizados no Brasil e em todo Mercosul, são os mesmos da FAO/OMS, ou seja, de 0,06 mg/kg/dia de nitrito (como íon) e de 3,7 mg/kg/dia para nitrato, ressaltando que a IDA não deve ser aplicada às crianças menores de 3 meses de idade. Alimentos destinados às crianças com menos de 6 meses de idade não podem conter nitrito como aditivo (20).

Não se tem conhecimento de trabalho desenvolvido na região sul de Minas relativo à determinação de nitratos e nitritos em queijo; esta região do é uma das maiores produtoras de queijos do País. Não se sabe se fabricantes estão usando tal aditivo, e, caso sim, se os valores ultrapassam ou não o permitido, o que motivou a realização deste trabalho. Para tal, a metodologia escolhida foi submetida a validação a fim de garantir a qualidade dos dados gerados.

MATERIAL E METODO

Foram analisadas 43 (quarenta e três) amostras de queijo, sendo 16 (dezesesseis) industrializados e 27 (vinte e sete) caseiros, adquiridos em supermercados, mercearias, açougues, mercados municipais, laticínios e feiras livres de Alfenas e região. Dentre as amostras de queijos caseiros, 14 eram do tipo fresco. Estas análises foram realizadas no período de maio a junho de 1998.

O método empregado para determinação de nitrato e nitrito em queijos foi baseado nas técnicas descritas pelas normas da AOAC (método 976.14) (21) e também segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (22), só diferindo na vidraria utilizada: ao invés de um funil de separação acoplado a um tubo de vidro, utilizou-se bureta de 50 mL, o que evitou a formação de bolhas de ar.

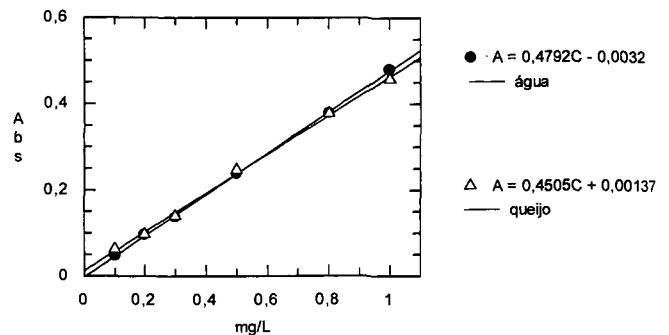
Para otimização do método, estudou-se: a linearidade, construindo a curva padrão de nitrito de sódio em água e em queijo; a capacidade redutora da coluna de cádmio, realizada logo após a montagem da coluna pela passagem de solução padrão de nitrato de sódio, num total de 7 experimentos; a precisão intra-ensaio, em adicionados com concentrações de 100, 500 e 1000 mg/kg, sendo feito quintuplicatas de cada concentração; a precisão interensaio, avaliada por análises de uma amostra dia-após-dia durante 7 dias, conservada sob refrigeração; a estabilidade da capacidade redutora da coluna de cádmio, calculada pela determinação da capacidade redutora da coluna, 7 vezes antes do início da análise das amostras e durante esta, por mais 4 vezes.

Os aparelhos utilizados foram: banho-maria Modelo 100 Fanem Ltda., espectrofotômetro de duplo feixe Micronal Modelo B493 e liqüidificador Roma Walita RI 6745.

RESULTADOS

Através do estudo da linearidade, pela construção das curvas padrão, observou-se pequena influência da matriz nas leituras de absorvâncias (Figura 1).

FIGURA 1
Curvas de calibração de nitrito adicionado á água e ao queijo



Portanto, a quantificação de nitrito foi feita utilizando a equação de regressão linear obtida da curva preparada pela adição de quantidades crescentes de nitrito em queijo.

A capacidade média redutora da coluna foi de 95,43% e a estabilidade ficou entre 93,66% e 103,82% (média 96,17%±3,71).

A precisão intra-ensaio do método, avaliada pela % de CV, foi de 4,90% para adicionados de 100 mg/kg de nitrito, 3,45% para 500 mg/kg e 3,41% para 1000 mg/kg. A precisão interensaio, para amostra com valor médio de 892,14 mg/kg±24,18, foi de 2,71% de CV. O limite de detecção do método foi estabelecido em 10 mg/kg.

Os teores de nitratos e nitritos determinados nas amostras podem ser visualizados na Tabela 1.

DISCUSSÃO

O método validado apresentou-se adequado para aplicação na determinação de nitratos e nitritos em queijos, com variações intra e interensaio aceitáveis e limite de detecção 5 vezes menor de que o valor considerado limite máximo permitido de nitratos em queijos no País, de 50 mg/kg. Os procedimentos adotados foram de fácil execução, relativamente rápidos (aproximadamente 3 horas para cada análise, utilizando coluna de cádmio), viabilizando-os para análise de rotina de nitrato e nitrito em queijo.

Pode-se verificar através deste trabalho que todos os queijos que não apresentaram nitratos foram também negativos para nitritos. Zerfiridis & Manolkidis (8), na Grécia, também encontraram dados similares ou nitrito em concentração menor que 1 mg/kg, independente do conteúdo de nitrato. A ausência de nitritos em queijos industrializados onde não foi detectado o nitrato foi reportada por vários

pesquisadores (23-26). Provavelmente este fato se deve a que o nitrito, quando presente em queijos, é proveniente da redução do nitrato adicionado.

TABELA 1

Valores médios de nitrito e nitrato em amostras de queijo: industrializados, de 1 a 16, e caseiros, de 17 a 43 (sendo as de 30 a 43 do tipo fresco)

Valor médio (mg/kg)			Valor médio (mg/kg)		
Amostra	Nitrito	Nitrato	Amostra	Nitrito	Nitrato
01	nd	nd	23	nd	nd
02	39,3	142,8	24	nd	nd
03	nd	269,7	25	nd	nd
04	ndnd	26	nd	nd	
05	nd	nd	27	nd	nd
06	nd	nd	28	nd	nd
07	nd	nd	29	nd	nd
08	nd	nd	30	nd	15,0
09	nd	533,4	31	nd	189,0
10	nd	nd	32	nd	nd
11	nd	nd	33	nd	nd
12	nd	nd	34	nd	nd
13	nd	nd	35	nd	nd
14	nd	nd	36	nd	nd
15	nd	nd	37	nd	nd
16	nd	nd	38	nd	nd
17	nd	nd	39	nd	nd
18	nd	nd	40	nd	nd
19	nd	nd	41	nd	nd
20	nd	nd	42	nd	nd
21	nd	nd	43	nd	nd
22	nd	nd			

Nas amostras analisadas neste trabalho não foi verificada a presença de nitratos e nitritos em quantidades superiores a 100 mg/kg na maioria delas (88,37%). Outro trabalho desenvolvido no Brasil, na cidade de São Paulo, por Silveira et al. (27), em 1991, que analisaram 112 amostras de queijos, foi verificado que em 104 (92,85 %) não havia nitrato e nitrito detectável (LD=10 mg/kg), e em 8 (7,14%) apenas o nitrato estava presente. Os baixos níveis de nitrato e nitrito encontrados em queijos poderiam ser explicados pela alta solubilidade destes íons em água, ficando pequena parte adsorvida na superfície das micelas da caseína coagulada (28).

Lemieszec Chodorowska et al., citados por Devoyod (4), analisaram 1281 amostras de queijo semiduros, e em apenas 1% das amostras encontraram concentrações acima de 100 mg/kg; em 32,5% entre 20 e 100 mg/kg; em 44,9% entre 5 e 20 mg/kg e em 21,6% abaixo de 5 mg/kg. Em relação ao nitrito, 50,3% das amostras apresentaram concentrações menores de 1 mg/kg e apenas 0,3% superiores a 10 mg/kg.

Em 1980, Zerfiridis & Manolkidis (8) analisaram 54 amostras de queijos da Grécia e verificaram que 46,3% não

apresentavam nitrato e nitrito, 24% nitrato inferior a 1 mg/kg; 9,3% entre 1 a 10 mg/kg; 20,4%, entre 35 e 104 mg/kg. Pesquisaram também 69 marcas de queijos importados, sendo que o resultado encontrado mostrou grandes variações de teor: entre 1 e 508 mg/kg, sendo que 8,7% não apresentaram nitrato.

Lipparini & Rampa (2), em 1983, analisaram 72 amostras de queijo para teores de nitratos e nitritos procedentes de diferentes países: Itália, França, Alemanha, Holanda, Dinamarca, Suíça e Inglaterra. As quantidades de nitrato encontradas estiveram entre 0,4 e 18,3 mg/kg. Em todas obteve-se traços de nitrito até o limite de 0,9 mg/kg.

Baixas também foram as concentrações encontradas por Karlowski & Bojeski (29) para queijos poloneses, onde a média de nitrato encontrada foi de 12,2 mg/kg (de nd a 131,8 mg/kg) e de nitrito de 4,2 mg/kg (de 0 a 10,0 mg/kg).

Plutta et al. (30), analisando níveis de nitrato e nitrito em queijo produzido na Polônia, onde 0,01 a 0,02% de nitrato de sódio foi adicionado durante a fabricação, encontraram quantidades relativamente baixas, médias de 10 mg/Kg de nitrato e 1 mg/kg de nitrito.

Su et al. (31), na China, conduziram seus estudos sobre a composição de 41 amostras de queijos importados, sendo a concentração de nitrito detectada entre 1,1 e 6,3 mg/kg.

Diraman (32), em 1993, analisando 82 amostras de queijo na Turquia, onde nitrato e nitrito foram usados como agentes antimicrobianos, encontraram nitrato em concentrações variando de 0,19 a 191,64 mg/kg, sendo que 27 amostras continham menos que 1 mg/kg.

A adição de nitrato ao leite utilizado na preparação de queijo na Polônia é permitido num limite máximo de 50 mg/kg (33). Na Bulgária, nitrato de potássio é adicionado de 10 a 20 g/100 L para queijo duro e semi-duro. Esse valor de 20g/100L deve ser aderido à produção de queijo e tal regulamentação não resulta num risco de acumular nitrato, nitrito e N-nitrosaminas no consumidor (34). Na Holanda, é permitida a adição de 15 g de nitrato/100 L de leite e no Canadá, 20 g/100 L de leite. Já na França, Turquia, Grécia e Itália, o uso de tais conservantes não é permitido (32, 35).

A adição de nitrato e nitrito durante a fabricação de queijo é uma necessidade tecnológica no Brasil, pois outros métodos não contam com apoio legal, ou dependem de melhora da qualidade higiênica (27, 28, 32, 35, 36), de apoio financeiro (salvo a usinas de grande porte), de tecnologia ou mesmo da comprovação de sua eficiência.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados experimentais obtidos neste trabalho, concluiu-se que:

1. Grande parte dos produtores de queijo da região sul de Minas Gerais, Brasil, não fazem uso de nitratos e nitritos como agentes conservantes ou utilizam quantidades muito baixas e os que o fazem ultrapassam os limites máximos permitidos (amostras 2, 3, 12 e 14).

2. Apesar da maioria das amostras não apresentar níveis detectáveis de nitrato e nitrito, estando portanto seguras do ponto de vista toxicológico, isto pode implicar num maior risco de contaminação bacteriana.
3. Quando a adição de nitrato e nitrito se fizer necessária, e sendo o limite estabelecido pela legislação brasileira coerente, deve-se promover orientação para o uso correto. Mas, só a junção dos esforços de autoridades sanitárias, extensionistas, produtores de leite, técnicos de laticínios e pesquisadores poderá garantir bons produtos alimentícios.

REFERÊNCIAS

1. Moraes JM. Influência de diferentes concentrações de nitratos e nitritos na inibição de esporulados anaeróbicos gasógenos do leite. *Rev Inst Latic. Cândido Tostes* 1981;36(215):21-23.
2. Lipparini L, Rampa A. Note sulla presenza di residui di nitrati e nitriti e di N-nitrosoamine nei prodotti lattiero - caseari del commercio. *Rass Chim* 1983;35(2):73-78.
3. Alais C. *Ciencia de la leche*. Barcelona: Reverté, 1985;233. 635-37.
4. Devoyod JJ. L'emploi des nitrates dans la fabrication des fromages. *Ann Nutr Aliment*. 1976;30(5/6):789-92.
5. Furtado MM. O estufamento tardio dos queijos: características e prevenção - um revisão. *Rev Inst Latic Cândido Tostes* 1985;40(242):3-39.
6. Gray JL, Irvine DM, Kakuda Y. Nitrates and N-nitrosamines in cheese. *J Food Prot*. 1979;42(3):263-72.
7. Rockize S. Les nitrates et nitrites comme additifs aux aliments. *Ann Nutr Aliment*. 1976;30:715-42.
8. Zerfliridis GK, Manolkidis KS. Contents of nitrates and nitrites in some Greek and imported cheeses. *J Food Prot*. 1981;44(8):576-79.
9. Zerfliridis GK. Hydrogen peroxide okayed for use in cheesemaking and whey manufacture. *Dairy Field* 1981;164(19):17.
10. Galesloot TE, Stadhouders GW, Elgersma RHC. On the occurrence of nitrosamines and the use of nitrate in the production of Gouda and Edam cheese. Report NOV-470, 2nd version, Netherlands Institute for Dairy Research 1975.
11. Webb BH, Johnson N AH, Alford JA. *Fundamentals of dairy chemistry*, 2a. ed: AVI Publishing Co. 1974.
12. Brasil, Leis, Decretos, etc. Resolução no 4/1988 do Conselho Nacional de Saúde. *Diário Oficial, Brasília*, 19 dez. 1988, Sec. I, p.24718. Aprova a revisão das tabelas I, III, IV e V, referentes a aditivos intencionais e anexos I, II, III, IV, V, VI e VII, todos do Decreto 55.871 de 26/03/65.
13. Galesloot TE. Effect of nitrate in preventing butyric acid fermentation in cheese. *Neth Milk Dairy J* 1961;15:395-410.
14. Araújo ACP, Midio AF. Nitratos e nitritos em alimentos infantis industrializados y caseros. *Alimentaria* 1990;27(209):69-75.
15. Reys GR, Scalan RA. N-nitrosaminas: formação e ocorrência em alimentos. *Bol Soc Bras Cien Tecnol Aliment*. 1984;18:299-309.
16. Sarasera S, Savitz RA. Cured and broiled meat consumption in relation to childhood cancer. *Cancer Causes Control* 1994; 5:141-148.
17. Swann PF. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J Sci Food Agric*. 1975;26:1761-1770.
18. Vitozzi L. Toxicology of nitrates and nitrites. *Food Addit. Contam*. 1992;9:579-585.
19. Duarte M, Midio AF. Soro lácteo: características nutricionais e riscos na sua utilização, *Higiene Alimentar* 1997a;11(47):23-25.
20. World Health Organization. Technical Report Series 859 - Evaluation of certain food additives and contaminants. 44th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 1996.
21. Official methods of the Association of Official Analytical Chemists. 16ed. Washington 1997:2:62-63.
22. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3ed. São Paulo 1985, 1.
23. Birkkjaer HE, Thomsen D. Varying the addition of saltpetre in manufacture of different types of Danish cheese. *Beterning fra Statens Forsogsmejeri* 1978; 230.
24. Goodhead K, Gough TA, Webb KS, Stadhouders J, Elgersma RHC. The use of nitrate in the manufacture of Gouda cheese. Lack of evidence of nitrosamine formation. *Neth Milk Dairy J*. 1976;30:207-221.
25. Przybylowski P, Kiszka J, Daznowiec Z. Contents of nitrates, nitrites and nitrosamines in 3 types of cheese, Edam, Gouda and Tilsit. *Przemysl*.
26. Sen NP, Donaldson B. Improved colorimetric method for determination nitrate and nitrite foods. *J Assoc Off Anal Chem*. 1975; 61:1755-1760.
27. Silveira NVV, Yabiku HY, Durte M, Takahashi MY, Chicourel EL. Níveis de nitritos, nitratos e sorbatos em queijos comercializados na cidade de São Paulo. *Rev Inst A. Lutz* 1991;51(1/2):37-40.
28. Abreu LR, Costa LCG, Furtado MM. Influência da adição de nitrato de sódio ao leite destinado à fabricação de queijo prato nos teores de nitrato e nitrito do soro e do queijo. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes* 1986; 41(247):35-6.
29. Karlowski K, Bojewski J. Investigation of Polish cheeses for the presence of nitrate, nitrite and N-nitrosamines. *Rocz Panstw Zakl Hig*. 1987; 38(3):199-205.
30. Pluta A, Zmarlicki S, Gawel J & Ostrowski S. - Nitrate and nitrite in maturing cheese produced in Poland. *Przem. Spozyw*. 1986; 40(7/8/9):166-7.
31. Su HP, Tien CH, Lin CW. A survey of the composition of commercial cheese products. *J. of the Chinese Society of Animal Science* 1992; 21(3):317-325.
32. Diraman H. - A research on nitrite determination of cheese produced in Thrace region. *Gida*. 18(5):293-295. 1993.
33. Nabrzycki M, Gajewska R. The content of nitrate and nitrite in some other foodstuffs. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny* 1994; 45(3):167-180.
34. Kozhev S, Kozhev A. Potassium nitrate residues in hard and semihard cheeses. *Khramitelna Promishlenost* 1994; 43(3):18-19.
35. Glaesser H. Use of nitrite in cheese production. *Dairy Industries Internacional* 1989; 54(11),19,21-23.
36. Abo-Elnaga IG, Abdel-Mottaleb L, El-Gendy SM. Effect of some late-blowing inhibitors on bacteriological and chemical changes in Swiss cheese. *Sudan J Food Sci Technol*. 1974; 6:32-35.

Recibido: 14-12-1998

Aceptado: 02-06-1999