

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE NITRITOS E NITRATOS EM SAIS DE CURA *

Walkyria H. LARA **
Mickiko Y. TAKAHASHI **

RIAL-A/397

LARA, W.H. & TAKAHASHI, M.Y. — Determinação espectrofotométrica de nitritos e nitratos em sais de cura. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 35-39, 1974.

RESUMO: Foi aplicado um método espectrofotométrico para determinação de nitrito e nitrato de sódio, em sais de cura. Baseia-se nas observações de Wetters & Uglum (1970) de que a razão entre as absorvâncias da solução aquosa de nitrito de sódio a 355 e a 302 nm é constante e igual a 2,5 e que nitrato de sódio não absorve a 355 nm, mas tem uma banda característica a 302 nm. O fato de não haver interferência de íons cloreto nestas relações torna o processo apropriado ao controle analítico de nitrito e nitrato em sais de cura, simples, com a vantagem de ser direto.

Trinta amostras conhecidas foram analisadas e os resultados, comparados aos obtidos pelos métodos clássicos, mostraram boa correlação.

DESCRITORES: nitrato, nitrito, determinação espectrofotométrica; sais de cura, determinação de nitrato e nitrito.

I N T R O D U Ç Ã O

O uso de nitrato em *cura* de carnes é bastante antigo e talvez esteja ligado ao tempo da introdução do salitre e da pólvora na Europa, por volta de 1300. Bem mais recentes são as investigações de Haldane em 1901, mostrando que o nitrato é reduzido a nitrito e é este o responsável pela reação com a hemoglobina, produzindo a desejada coloração das carnes curadas, sendo também agente bacteriostático. Por isso, passou-se a empregar diretamente nitritos nos *sais de cura*, mantendo-se, entretanto, uma parte de nitrato, por assegurar

a manutenção de um nível de nitrito por mais tempo.

Os *sais de cura* são misturas de sal (cloreto de sódio) e nitritos e nitratos, de sódio ou de potássio. São aplicados diretamente nas carcaças ou usados em soluções a 25% nas quais as carcaças são mergulhadas. Mais recentemente são feitas injeções desta solução nas paletas e pernis a serem curados. Com a introdução de novos aditivos na tecnologia de alimentos, há hoje uma grande variedade de sais de cura associados a estabilizantes (polifosfatos) açúcares (glicose, sacarose) e ácido ascórbico.

* Realizado na Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

Investigações sobre nitrosaminas e suas possibilidades carcinogênicas^{8, 9}, levaram ao estudo da formação de nitrosaminas a partir de nitritos e aminas secundárias em condições semelhantes às do estômago de mamíferos⁵. Outra possibilidade é a formação de nitrosaminas no próprio alimento, investigações que estão sendo realizadas^{3,10}, mas a metodologia para este tipo de análise é altamente sofisticado e os resultados não são ainda suficientes para conclusões sobre o assunto. Em excelente revisão, SEBRANEK & CASSENS¹¹ chegam à conclusão de que não se pode excluir o uso de nitritos e nitratos pelas informações atuais, à vista dos riscos dessa exclusão, pois os nitritos têm a capacidade de impedir o desenvolvimento de toxinas do *Clostridium botulinum* nas conservas enlatadas.

Há outras razões para se limitar as quantidades de nitratos ingeridos, principalmente por crianças, pois a baixa acidez do estômago das mesmas facilita a transformação de nitrato em nitrito (por bactérias) que, absorvido, age sobre a hemoglobina, causando metahemoglobinemia (oxidação de ferro da hemoglobina ao estado de ferro III) que impede que esta exerça a função normal de transportar oxigênio. Esta correlação foi estabelecida por volta de 1950 por Rosenfield & Huston e uma boa revisão foi feita por LEE⁷, em 1970.

De outro lado, o controle das quantidades de nitrito e nitrato usadas nos sais de cura é da maior importância e apresenta problemas analíticos. O método clássico para determinação de nitrito (Griess Ylosvay) é sensível e de fácil execução; apresenta, entretanto, a desvantagem de usar alfa-naftilamina, um reagente com o qual devem ser tomadas precauções por ser cancerígeno. Para a determinação de nitrato com ácido fenoldissulfônico pelo método introduzido por Sprengel que, após as investigações de Chamot *et alii*, se estabeleceu amplamente, há necessidade de retirada dos íons cloro mediante a precipitação

com íons de prata, um processo trabalhoso e demorado⁶.

Os métodos baseados na redução do nitrito à amônia só dão resultados para macroquantidades. A redução a nitrito, seguida de diazotização, exige agentes redutores bastante uniformes e um grande controle do processo pois, no caso de zinco, cloreto interfere; no uso de cádmio ou cádmio-cobre, valores muito baixos são encontrados pela redução do nitrato a um estado mais baixo que o nitrito^{1, 2, 4}.

WETTERS & UGLUM¹² estudaram os espectros de absorção, na região do ultravioleta, de soluções de nitrato e nitrito, estabelecendo relações entre as bandas características de ambas. Encontraram uma razão igual a $2,5 \pm 0,02$ para as absorbâncias da solução aquosa de nitrito de sódio, a 355 nm e a 302 nm. Como nitrato de sódio não absorve a 355 nm, mas tem uma banda característica a 302 nm, pode-se calcular seu valor diminuindo-se do valor total, a 302 nm, o quociente da divisão da absorbância encontrada a 355 nm por 2,5, quando medidas as absorbâncias de uma mistura de nitrato e nitrito de sódio, a um pH acima de 5.

Procuramos aplicar estas relações e estabelecer método para dosagem de nitratos e nitritos, em presença de cloreto de sódio, nos sais de cura, não só pela facilidade que o mesmo oferece como pelo fato de íons cloreto não interferirem nas medidas. Inicialmente estudamos sais de cura simples, pois são estes os casos mais adequados. Para os produtos de carnes curadas faz-se necessária a preparação de extratos límpidos e a remoção de interferências provenientes do material protéico e outras.

MATERIAL E MÉTODO

Trinta amostras de sais de cura foram preparadas, com teores variáveis de nitrito e nitrato de sódio, segundo a tabela 1:

TABELA 1

Composição das amostras de sais de cura analisadas

Amostras	NaCl	NaNO ₂	NaNO ₃
n.º	%	%	%
01	99,4	0,10	0,50
02	99,4	0,50	0,10
03	98,5	1,00	0,50
04	99,0	0,20	0,80
05	98,5	0,50	1,00
06	98,0	0,80	1,20
07	98,1	0,40	1,50
08	96,8	1,20	2,00
09	96,7	0,80	2,50
10	95,5	1,50	3,00
11	96,9	2,10	1,00
12	97,5	0,50	2,00
13	98,8	0,60	0,60
14	96,7	0,80	2,50
15	97,3	1,20	1,50
16	97,5	2,00	0,50
17	97,8	1,00	1,20
18	98,7	0,50	0,80
19	98,0	1,50	0,50
20	95,9	2,50	1,60
21	99,20	0,50	0,30
22	99,00	0,50	0,50
23	98,20	1,00	0,80
24	99,00	0,40	0,60
25	97,50	1,50	1,00
26	97,60	1,20	1,20
27	97,80	0,80	1,40
28	97,75	0,55	1,70
29	97,70	0,50	1,80
30	97,20	0,80	2,00

Essas amostras foram analisadas para a determinação de nitritos e nitratos, pelo método proposto, comparativamente aos métodos de alfa-naftilamina (nitritos) e do ácido fenol dissulfônico (nitratos), como segue:

Aparelho — Espectrofotômetro U. V. e visível, com células de quartzo de 1 cm*.

Soluções padrão

a) *Solução padrão de nitrito de sódio*: Pesar 1 g de NaNO₂, com precisão de 0,001, e diluir a 100 ml em balão volumé-

trico com água. Diluir alíquotas desta solução de maneira a ter concentrações entre 0,025 e 0,2 g por cento. Fazer as leituras correspondentes a 355nm, usando água como branco.

Construir a curva padrão usando os valores das absorvâncias correspondentes.

b) *Solução padrão de nitrato de sódio*: Pesar 1 g de NaNO₃, com precisão de 0,001, e diluir a 100ml em balão volumétrico com água. Diluir alíquotas desta solução de maneira a ter concentrações entre 0,1 e 1,0 g por cento. Fazer as leituras correspondentes a 302 nm, usando água como branco.

Construir a curva padrão usando os valores das absorvâncias correspondentes.

Procedimento

Pesar, com aproximação de 0,001, 20 g de sal de cura. Diluir a 100 ml em balão volumétrico com água. Fazer a leitura em célula de 1 cm, a 302 nm e 355 nm, usando água como branco. Repetir o procedimento a partir de 10 g da amostra, se as leituras não coincidirem na curva padrão.

Cálculo

a) Com o valor da absorvância encontrada a 355 nm, procurar a concentração correspondente ao nitrito de sódio na curva padrão de nitrito de sódio (A).

b) Dividir o valor da absorvância a 355 nm por 2,5 e subtrair este resultado do valor encontrado a 302 nm.

Procurar na curva padrão de nitrato o valor correspondente a essa diferença (B).

c) Relacionar, pela fórmula abaixo, ao peso (P) da amostra empregada na determinação:

$$\frac{100 \times A}{P} = \text{nitrito, em nitrito de sódio por cento}$$

$$\frac{100 \times B}{P} = \text{nitrito, em nitrito de sódio por cento}$$

* Hitachi-Perkin-Elmer, Coleman 139.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Comparando os valores obtidos para nitritos com os valores pareados das amostras e os determinados pelo método da alfa-naftilamina (tabelas 2 e 3), verificou-se altíssima correlação ($r = 1,00$ e $r' = 0,99$, respectivamente). Para nitratos, a comparação dos valores obtidos, em confronto com os das amostras e com os determinados pelo método do ácido difenoisulfônico, acusou alta correlação ($r'' = 0,99$ e $r''' = 0,98$).

TABELA 2

Valores obtidos na determinação de nitritos, pelo método clássico e pelo método proposto

Amostra	NaNO ₂	Método alfa-naftilamina	Método Proposto
n.º	%	%	%
01	0,10	0,09	0,12
02	0,50	0,46	0,57
03	1,00	1,07	1,02
04	0,20	0,20	0,22
05	0,50	0,49	0,54
06	0,80	0,82	0,85
07	0,40	0,47	0,45
08	1,20	1,26	1,32
09	0,80	0,82	0,80
10	1,50	1,60	1,50
11	2,10	2,30	2,15
12	0,50	0,55	0,53
13	0,60	0,65	0,57
14	0,80	0,90	0,83
15	1,20	1,35	1,30
16	2,00	1,90	2,12
17	1,00	1,10	1,05
18	0,50	0,57	0,52
19	1,50	1,64	1,54
20	2,50	2,74	2,56
21	0,50	0,57	0,56
22	0,50	0,47	0,52
23	1,00	1,10	1,00
24	0,40	0,46	0,44
25	1,50	1,65	1,60
26	1,20	1,15	1,21
27	0,80	0,90	0,85
28	0,55	0,58	0,60
29	0,50	0,55	0,55
30	0,80	0,87	0,85

TABELA 3

Valores obtidos na determinação de nitratos, pelo método clássico e pelo método proposto

Amostra	NaNO ₃	Método Ácido dife- noisulfônico	Método Proposto
n.º	%	%	%
01	0,50	0,63	0,52
02	0,10	0,09	0,09
03	0,50	0,54	0,45
04	0,80	0,92	0,82
05	1,00	0,85	1,05
06	1,20	1,16	1,20
07	1,50	1,54	1,32
08	2,00	2,16	1,95
09	2,50	2,40	2,20
10	3,00	3,36	3,00
11	1,00	0,86	0,95
12	2,00	2,04	1,85
13	0,60	0,56	0,60
14	2,50	2,40	2,35
15	1,50	1,44	1,40
16	0,50	0,54	0,35
17	1,20	1,06	1,15
18	0,80	0,78	0,75
19	0,50	0,68	0,45
20	1,60	1,60	1,50
21	0,30	0,32	0,30
22	0,50	0,46	0,45
23	0,80	0,71	0,80
24	0,60	0,56	0,60
25	1,00	0,94	1,00
26	1,20	1,10	1,25
27	1,40	1,28	1,35
28	1,70	1,60	1,55
29	1,80	1,92	1,70
30	2,00	2,08	1,95

Como conclusão, o método espectrofotométrico direto proposto oferece vantagens sobre os métodos clássicos pela maior facilidade de sua execução e pela sua exatidão.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Dr. José Lopes Neto pela análise estatística dos valores encontrados, a fim de estabelecer as correlações existentes, neste trabalho.

RIAL-A/397

LARA, W.H. & TAKAHASHI, M.Y. — Spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in curing brines. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 35-39, 1974.

SUMMARY: A direct spectrophotometric method for detecting sodium nitrites and nitrates in curing brines is presented. The method is based on Wetter's and Uglum's observations (1970) by which a) there is a ratio between the absorbance rate of sodium nitrite aqueous solution at 355 nm and that at 302 nm, which is constant and equal to 2.5; b) sodium nitrate has no absorbance at 355 nm although it has a well characterised band at 302 nm. The fact that no interference chlorine ions comes up in these relations turns out this process very suitable for the analysis control of sodium nitrites and nitrates in curing brines.

Thirty known samples were analysed and the results compared with those obtained through classic methods, showing good correlation.

DESCRIPTORS: nitrate, nitrite, spectrophotometric determination; curing brines, nitrate and nitrite determination.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BRABSON, J.A. & BURCH JR., W.G. — Reduction of nitrates in acid medium with Raney catalyst powders. *J. Ass. off. agric. Chem.*, 47: 1035-40, 1964.
2. ELLIOTT, R.J. & PORTER, A.G. — A rapid cadmium reduction method for the determination of nitrate in bacon and curing brines. *Analyst* (Lond.), 96: 522-7, 1971.
3. FAZIO, T.; WHITE, R.H. & HOWARD, J. W. — Analysis of nitrite and/or nitrate — processed meats for N-nitrosodimethylamine. *J. Ass. off. agric. Chem.*, 54: 1157-9, 1971.
4. FOLLETT, M.J. & RATCLIFF, P.W. — Determination of nitrite and nitrate in meat products. *J. Sci. Fd Agric.*, 14: 138-44, 1963.
5. HAWKSWORTH, G. & HILL, M.J. — The formation of nitrosamines by human intestinal bacteria. In: MEETING OF THE BIOCHEMICAL SOCIETY, 511 th, London, 1970. *Proceedings*. London, 1971. Apud *Biochem. J.*, 122: 28p-29p, 1971.
6. HORA, F.B. & WEBBER, P.J. — A source of serious error in the determination of nitrates by the phenoldisulphonic acid method and its remedy. *Analyst* (Lond.), 85: 567-9, 1960.
7. LEE, D.H.K. — *Environmental review n.º 2. Nitrates, nitrites, and methemoglobinemia*. North Carolina, Research Triangle Park, 1970.
8. LIJINSKI, W. & EPSTEIN, S.S. — Nitrosamines as environmental carcinogens. *Nature* (Lond.), 225: 21-23, 1970.
9. MAGEE, P.N. & BARNES, J.M. — Carcinogenic nitroso compounds. *Adv. Cancer Res.*, 10: 163-246, 1967.
10. PANALAKS, T.; IYENGAR, J.R. & SEN, N.P. — Nitrate, nitrite, and dimethylnitrosamine in cured meat products. *J. Ass. off. agric. Chem.*, 56: 621-5, 1973.
11. SEBRANEK, J.G. & CASSENS, R.G. — Nitrosamines: a review. *J. Milk Fd Technool.*, 36: 76-91, 1973.
12. WETTERS, J.H. & UGLUM, K.L. — Direct spectrophotometric simultaneous determination of nitrite and nitrate in the ultraviolet. *Analyt. Chem.*, 42: 335-40, 1970.

Recebido para publicação em 15 de maio de 1974.

