

SÔNIA APARECIDA VIANA CÂMARA

**FATORES DE RISCO PARA CÂNCER DE ESTÔMAGO:
AVALIAÇÃO DOS TEORES DE NITRATO E NITRITO EM LINGÜIÇAS.**

**CAMPO GRANDE
2006**

SÔNIA APARECIDA VIANA CÂMARA

**FATORES DE RISCO PARA CÂNCER DE ESTÔMAGO:
AVALIAÇÃO DOS TEORES DE NITRATO E NITRITO EM LINGÜIÇAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Curso de Mestrado em Saúde Coletiva da
Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul, para obtenção do Grau de Mestre.

Orientação: Prof^a: Dr^a. Dulce Lopes
Barboza Ribas.

**CAMPO GRANDE
2006**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Coordenadoria de Biblioteca Central – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

Câmara, Sônia Aparecida Viana

C649f

Fatores de risco para câncer de estômago : avaliação dos teores de nitrato e nitrito em lingüiças /
Sônia Aparecida Viana Câmara. -- Campo Grande, MS, 2006.
106 f. ; 30 cm.

Orientador: Dulce Lopes Barboza Ribas
Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

1. Estômago – Câncer – Fatores de risco. 2. Embutidos
(Alimentos) – Análise. I. Ribas, Dulce Lopes Barboza. II.
Título.

CDD (22) –
614.99433

A dissertação intitulada FATORES DE RISCO PARA CÂNCER DE ESTÔMAGO: AVALIAÇÃO DOS TEORES DE NITRATO E NITRITO EM LINGÜIÇAS, apresentada por SÔNIA APARECIDA VIANA CÂMARA, como exigência para a obtenção do grau de Mestre em Saúde Coletiva, à banca examinadora, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, MS, obteve APROVAÇÃO.

BANCA EXAMINADORA

Dulce Lopes Barboza Ribas – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

José Roberto Zorzatto – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

José Antônio Braga Neto – Universidade Católica Dom Bosco – UCDB

Campo Grande, 25 de maio de 2006.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus, por ter me fortalecido para superar todas as dificuldades transcorridas durante o período do mestrado.

À minha família pelas ausências.

À coordenadora do Laboratório Central de Saúde Pública Maria Cândia Nunes Cunha, pelo incentivo, apoio e disponibilização do uso do laboratório.

À colega, amiga e companheira Tatiane Nantes de Almeida, pela colaboração prestada junta à gerência de bromatologia e química, permitindo o meu afastamento.

Às profissionais do setor de físico-química, Celina Aparecida Dias, Dirce Martins de Oliveira (Químicas mestres em Recursos Hídricos) e Dayse Christiane Todescato Freire, pela validação da metodologia e realização das análises laboratoriais.

Ao professor Dr. José Roberto Zorzatto, pela contribuição na análise estatística dos dados.

E por último, à Dr^a Dulce Lopes Barboza Ribas, que não foi apenas orientadora, mas também, uma grande amiga que muito me ajudou e ensinou. Obrigada, por me permitir realizar um grande sonho.

A todos vocês, muito obrigada.

Deixe que a alimentação seja o seu remédio,
e o remédio sua alimentação.

(Hipócrates)

RESUMO

A dieta alimentar rica em nitrato e nitrito pode estar associada com câncer de estômago. Nitrato e nitrito são aditivos químicos utilizados como conservantes, principalmente em produtos cárneos curados, com a finalidade de inibir o crescimento do *Clostridium botulinum*, produtor da toxina que causa botulismo. A presença desses aditivos nos alimentos é preocupante devido combinação com aminas, formando nitrosaminas, as quais apresentam atividade carcinogênica em animais de experimentação. O objetivo deste trabalho foi avaliar o teor residual de nitrato e nitrito de sódio em lingüiças comercializadas no município de Campo Grande, MS, com o propósito de subsidiar ações de vigilância sanitária em relação à prevenção de doenças e promoção da saúde. Foram coletadas pela vigilância sanitária 207 amostras em estabelecimentos comerciais localizados nos cinco distritos sanitários: norte, sul, leste, oeste e central. O método empregado para determinação de nitrato envolveu redução a nitrito através da coluna de cádmio esponjoso. A determinação de nitrito foi feita através da reação com ácido sulfanílico e alfa naftol com formação do azo-composto colorido, medido em 474nm, segundo Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Através do teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis, as medianas dos teores de nitrato foram não significativas ($p=0,1104$) entre os quatro tipos de lingüiças, e significativas entre os distritos sanitários ($p=0,0030$), sul e central e entre oeste e central. Para nitrito foram estatisticamente significativos entre os distritos sanitários ($p = 0,0045$), entre os tipos de lingüiças ($p = 0,0292$), com diferenças entre o distrito sul e central e entre as lingüiças bovinas e mistas. Pelo teste paramétrico Z, os teores de nitrato ($p=0,2888$) e de nitrito ($p=0,6390$) no processamento artesanal e não-artesanal não foram estatisticamente significativos. De acordo com os resultados obtidos, 9 amostras para nitrato (4,3%) e 1 para nitrito (0,5%) apresentaram valores acima do máximo permitido pela Portaria nº.1004 de 11/12/1998/ANVISA-MS. Segundo as recomendações para ingestão diária aceitável, três (1,4%) amostras apresentaram teores de nitrato e treze (6,3%) de nitrito acima dos limites permitidos, podendo oferecer risco à saúde do consumidor e tornando necessária intervenção da vigilância sanitária para garantir alimentos seguros. Estudos adicionais são necessários, especialmente os de consumo alimentar que incluam alimentos fontes de nitrato, nitrito e antioxidantes.

Palavras-chave: câncer de estômago, nitrato, nitrito, nitrosaminas, lingüiças.

ABSTRACT

Stomach cancer may be associated with a diet rich in nitrate and nitrite. Nitrates and nitrites are chemical additives used as conserving agents, mainly in cured meat products, to avoid the growth of *Clostridium botulinum*, which produces botulism toxin. The presence of these additives in food is preoccupying due to their combination with amines, forming nitrosamines, which show carcinogenic activity in experimental animals. The objective of this study was to evaluate the residual levels of nitrate and nitrite in sausages sold in the Municipality of Campo Grande, Mato Grosso do Sul State, Brazil, as support for sanitary surveillance activities in the prevention of diseases and in health promotion. The Sanitary Surveillance Department collected 207 samples from different commercial localities in the five sanitary districts: northern, southern, western, eastern and central, from March 2004 to March 2005. Nitrate levels were established by nitrite reduction in a spongy cadmium column. The level of nitrite was determined by the reaction with sulphanilic acid and alpha-naphthol with the formation of colored azo compounds, measured at 474nm, according to the analytic procedures of the Adolfo Lutz Institute. According to the Kruskal-Wallis no-parametric statistic test, the nitrate levels median were not statistically significant between sausage types ($p = 0,1104$) however, they were statistically significant between sanitary districts ($p=0,0030$) with differences between the southern and central districts and between the eastern and central districts. The nitrite levels median were statistically significant between sanitary districts ($p=0,0045$) and between sausage types ($p=0,0292$), with differences between the southern and central districts, and between the sausage made of beef and those of mixed beef and pork meat. According to parametric statistic test Z, the non-industrial process and industrial process nitrate ($p=0,2888$) and nitrite levels ($p=0,6390$) were not statistically significant. The results included nine samples (4,3%) with nitrate level and one sample (0,5%) with nitrite level above the maximum allowed by Resolution N. 1004 of the National Agency of Sanitary Surveillance Health Ministry. According to recommendations for Acceptable Daily Ingestion, three (1,4%) samples showed nitrate levels and thirteen (6,3%) nitrite levels above the allowed limits, which may suggest risk to consumer health, introducing the necessity of the Sanitary Surveillance intervention to guarantee food safety. Additional study is necessary, especially that of food intake which includes food sources of nitrate, nitrite and antioxidants.

Key words: stomach cancer, nitrate, nitrite, nitrosamines, sausages.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Distribuição de freqüência das amostras de lingüiças estudadas segundo características por região de coleta. Campo Grande, MS, 2005.	47
TABELA 2 -	Distribuição de freqüência das amostras de lingüiças artesanais e produtores segundo região de produção. Campo Grande, MS, 2005.....	48
TABELA 3 -	Distribuição de freqüência e percentual das amostras de lingüiças segundo a região de coleta, processo de produção e tipo, de acordo com os teores de nitrato e nitrito acima do permitido. Campo Grande, MS, 2005.....	51
TABELA 4 -	Caracterização das amostras com valores acima do máximo permitido para nitrato e nitrito. Campo Grande, MS, 2005....	52
TABELA 5 -	Estatística descritiva dos teores de nitrato segundo o tipo das amostras de lingüiça. Campo Grande, MS, 2005.....	53
TABELA 6 -	Distribuição do percentil dos teores de nitrato encontrados nas amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	54
TABELA 7 -	Estatística descritiva dos teores de nitrato por região de produção das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	55
TABELA 8 -	Estatística descritiva dos teores de nitrato segundo a forma de processamento das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	56

TABELA 9 -	Relação entre os valores acima do limite permitido e a ingestão diária aceitável para nitrato, nas amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	57
TABELA 10 -	Estatística descritiva dos teores de nitrito segundo tipo das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	58
TABELA 11 -	Distribuição do percentil dos teores de nitrito encontrados nas amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	58
TABELA 12 -	Estatística descritiva dos teores de nitrito por região de produção das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	59
TABELA 13 -	Estatística descritiva dos teores de nitrito segundo a forma de processamento das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.....	60
TABELA 14 -	Correspondência entre os teores de nitrito e a ingestão diária aceitável, nas amostras de lingüiças analisadas. Campo Grande, MS, 2005.....	60

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Reações do nitrito no pH ácido do estômago.....	25
FIGURA 2 -	Reações de formação de nitrosamina no estômago.....	27
FIGURA 3 -	Fluxograma do roteiro analítico.....	44
FIGURA 4 -	Distribuição dos produtores artesanais em relação ao cadastro no Serviço de Inspeção Municipal (SIM). Campo Grande, MS, 2005.....	48
FIGURA 5 -	Distribuição das amostras de lingüiças do processamento não-artesanal segundo região de produção. Campo Grande, MS, 2005.....	49
FIGURA 6 -	Percentagem das amostras de lingüiças segundo a informação sobre uso de antioxidante. Campo Grande, MS, 2005.....	50
FIGURA 7 -	Percentagem das amostras com teores de nitrato acima do valor máximo permitido. Campo Grande, MS, 2005.....	54

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
BA	Boletim Analítico
CDC	Control Disease Center
CE	Câncer de Estômago
CV	Coeficiente de Variação
DANT	Doenças e Agravos Não Transmissíveis
DBQ	Divisão de Bromatologia e Química
DC	Distrito Central
DL	Distrito Leste
DN	Distrito Norte
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
DO	Distrito Oeste
DS	Distrito Sul
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food Drug Administration
GM	Gabinete Ministerial
IDA	Ingestão Diária Aceitável
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IARC	International Agency for Research on Cancer
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública

NDEA	Nitrosodietilamina
NDMA	Nitrosodimetilamina
NMOR	Nitrosomorfolina
NOC	Composto N-Nitrosos
NO	Óxido Nítrico
NPIP	Nitrosopiperidina
NPIR	Nitrosopirrolidina
NPRO	Nitrosoprolina
NTHZ	Nitrosotiazolidina
NOEL	No Effect Level
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
OR	Odds Ratio
ppm	Partes por milhão
RCME	Recibo de Coleta de Material para Exame
RR	Risco Relativo
SIM	Serviço de Inspeção Municipal
SUS	Sistema Único de Saúde
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
WHO	World Health Organization
YLL	Years of Life Lost

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2. 1 Câncer de estômago	19
2. 2 Nitrato e nitrito	24
2. 3 Quimioprevenção do câncer	32
3 OBJETIVOS	38
3. 1 Objetivo geral	38
3. 2 Objetivos específicos	38
4 METODOLOGIA	39
4. 1 Amostra	39
4. 2 Variáveis estudadas	39
4. 3 Procedimento de análise	40
4. 3. 1 Desproteínização da amostra.....	41
4. 3. 2 Preparo da coluna de cádmio e verificação de sua eficiência.....	41
4. 3. 3 Construção de curva-padrão de nitrato e nitrito de sódio.....	42
4. 3. 4 Método de determinação de nitrito e nitrato.....	43
4. 3. 5 Cálculos.....	44
4. 4 Análise dos dados	45
4. 5 Aspectos éticos	46
5 RESULTADOS	47
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÕES	67
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	69

REFERÊNCIAS.....	71
APÊNDICE A – LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO.....	82
APÊNDICE B – VERIFICAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA COLUNA ATRAVÉS DOS PADRÕES P₁, P₃ E P₅.....	84
APÊNDICE C – CURVA PADRÃO DEFINITIVA DA COLUNA 3.....	91
APÊNDICE D – FOTOS DAS ETAPAS DA METODOLOGIA ANALÍTICA.....	100
ANEXO A – TERMO DE RETIRADO DO COMITÊ DE ÈTICA EM PESQUISA DA UFMS.....	105

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, nas últimas quatro décadas do século XX, experimentou uma significativa mudança no seu perfil epidemiológico, com uma progressiva queda na morbimortalidade por doenças infecciosas transmissíveis e elevação progressiva da morbimortalidade pelas doenças e agravos não-transmissíveis (MOURA, 2003).

Tais alterações têm como fatores contribuintes a transição nutricional, o processo de globalização, urbanização, a migração da população entre as diversas regiões do país e o envelhecimento populacional (OPAS, 2004).

A transição nutricional é a alteração nos padrões de distribuição dos problemas nutricionais de uma dada população no tempo, onde as modificações no consumo alimentar da população brasileira, com baixa frequência de alimentos ricos em fibras, aumento da proporção de gorduras saturadas e açúcares na dieta, associadas a um estilo de vida sedentário compõem um dos principais fatores etiológicos para doenças crônicas (MONTEIRO et al., 2000).

O processo da globalização, a demografia, tecnologia, economia e fatores ambientais têm fortes efeitos sobre o suprimento alimentar. Estas forças aliadas à urbanização acelerada têm influenciado os padrões de consumo e o estilo de vida de grupos populacionais tradicionais no mundo. Há evidências de que estas trocas estão contribuindo para o aumento da prevalência das doenças crônicas, como as doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, hipertensão e câncer (OPAS, 2004).

São vários os impactos dessa transição epidemiológica para o Sistema Único de Saúde (SUS), inclusive com uma importante repercussão no financiamento das ações assistenciais. A oferta da assistência a essas doenças e agravos tem elevado,

significativa e progressivamente, os gastos do sistema de saúde no Brasil e em todo o mundo (BRASIL, 2005).

A carga das doenças não-transmissíveis no Brasil e na região Centro Oeste foi quantificada através do indicador YLL (Years of Life Lost – Anos de vida perdidos por morte prematura), em 10.311.329 e 553.585 pessoas de ambos os sexos, representando 59% e 55% da carga total das doenças registradas pelo sistema de informação de mortalidade para o ano de 1998 (SHRAMM et al., 2004).

As doenças e agravos não-transmissíveis (DANT) são responsáveis por 60% das mortes e incapacidades em todo o mundo, numa escala progressiva, podendo chegar a 73% de todas as mortes em 2020. No Brasil, em 2001, foram responsáveis por 62% de todas as mortes e 39% de todas as hospitalizações registradas no SUS (OPAS, 2004). Em 2003 significaram mais de 400 mil mortes, com um custo em torno de R\$ 11 bilhões por ano em consultas, internações e cirurgias (BRASIL, 2005).

O Ministério da Saúde, através da Portaria nº 1359/GM, de 21 de julho de 2003, considera que a redução da morbimortalidade das doenças e agravos não-transmissíveis é condição essencial na promoção da saúde no País, tornando-se necessária uma intervenção articulada sobre o conjunto de fatores de risco (BRASIL, 2003).

Dentre as DANT, destaca-se o câncer e o fator de risco dieta alimentar, visto que os tipos de câncer que se relacionam aos hábitos alimentares estão entre as seis primeiras causas de mortalidade, ocupando o segundo lugar de mortalidade entre homens, o câncer de estômago (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003).

A informação sobre mortalidade da Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul, em 2005, registrou 143 óbitos por neoplasias do estômago,

representando o terceiro lugar entre as neoplasias (MATO GROSSO DO SUL, 2006).

A dieta alimentar rica em nitrato pode estar associada com o câncer de estômago. O nitrato se reduz a nitrito, o qual produz agentes nitrosantes, que reagem com as aminas secundárias oriundas da dieta, formando as nitrosaminas, que são potentes carcinógenos, além de apresentarem ação teratogênica e mutagênica (MARTINS e MÍDIO, 2000).

O uso de aditivos alimentares, como o nitrato e nitrito, não é controlado rigorosamente no Brasil, como acontece em países como os Estados Unidos, Canadá, e Europa. No Brasil há inúmeros alimentos típicos, assim como situações diferenciadas de processamento de alimentos que propiciam a formação de n-nitrosaminas, como o processamento caseiro de bacon e a elaboração de lingüiças de preparo artesanal (ANDRADE, 2004).

Este estudo teve como objetivo principal avaliar o teor de nitrato e nitrito em lingüiças consumidas no município de Campo Grande, comparando-os com a portaria nº 1004/1998/ANVISA e a ingestão diária aceitável (IDA) estabelecida pelo JECFA/FAO/OMS (Joint Expert Committee on Food Additives/Food and Agriculture Organization/Organização Mundial de Saúde), visando identificar se o produto pode oferecer riscos para a saúde do consumidor, com o propósito de subsidiar ações de prevenção na saúde pública.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Câncer de estômago

Câncer é definido como uma enfermidade multicausal crônica caracterizada por um crescimento desordenado de células, que pode afetar alguns tecidos e órgãos de nosso corpo, apresentando mais de cem diferentes tipos de doenças, incluindo tumores malignos, em diferentes sítios, tais como: mama, próstata, estômago, colon, reto, pulmão e boca. Outros exemplos de câncer são leucemia, sarcomas e doença de Hodgkin (WHO, 2003).

O câncer de estômago (CE) surge com alterações da mucosa gástrica, que sob ação de vários fatores, adquire um fenótipo progressivamente regressivo, com substituição das células normais por aquelas que existem naturalmente no intestino, no sentido inverso ao que ocorre durante o desenvolvimento fetal. Esse processo de transmutação da mucosa gástrica ocorre em longo prazo e, sugere que os fatores de risco para CE atuam desde a mais tenra idade e por muito tempo (BRITO, 1997).

As possíveis causas do CE são: infecção pela *helicobacter pylori*, cirurgia gástrica, úlcera péptica, dieta pobre em frutas e verduras, consumo excessivo de sal, dieta rica em nitrato e nitrito, exposição à radiação ionizante e fatores genéticos (KELLEY e DUGGAN, 2003; KOIFMAN e KOIFMAN, 1997).

Para o desenvolvimento do CE é necessária a exposição do indivíduo a agentes carcinogênicos através da alimentação, do meio ambiente e a apresentação de predisposição genética. A suscetibilidade genética tem sido sugerida por vários estudos epidemiológicos. Bakir et al. (2003), encontraram um odds ratio (OR) de 3,35, $p < 0,001$, para o risco de câncer gástrico, em pacientes que apresentaram a

história familiar de câncer gástrico ou de outro órgão. Suas taxas também se alteram com a movimentação das populações entre países, se adaptando a diferentes padrões de consumo (WHO/FAO, 2003a).

A associação com os padrões de consumo foi constatada no Japão, através de recordatório alimentar de três dias, sendo observado que a variação das taxas de mortalidade do câncer gástrico, em cinco distritos, era decorrente das diferenças de consumo de sódio, caroteno e ácido ascórbico (TSUBONO et al., 1997).

A cada ano que passa, o câncer se configura e se consolida como um problema de saúde pública de dimensões internacionais. O câncer causa 7,1 milhões de mortes anualmente, o que representa 12,5% do total global. Dieta inadequada é responsável por cerca de 30% de todos os cânceres nos países do oeste americano e, aproximadamente, acima de 20% nos países em desenvolvimento (WHO/FAO, 2003a).

Há cerca de 20 milhões de pessoas vivendo com câncer, e, para 2020 estimam-se 30 milhões de novos casos, sendo que 60% destes ocorrerão em países menos desenvolvidos do mundo, mesmo existindo conhecimento, de que pelo menos de um a três casos de câncer poderia ser evitado (WHO/FAO, 2003a).

Na segunda metade do século XX, as taxas de incidência e prevalência de câncer gástrico declinaram severamente em muitos países no mundo. Na Austrália, as taxas de mortalidade, padronizadas por idade, em homens, caíram de 25,9/100.000, em 1950, para 6,7/100.00 em 1994. Porém este declínio não é observado nos países em desenvolvimento (IARC, 2002).

O CE é o terceiro tumor maligno mais freqüente no mundo, com aproximadamente 870 mil casos novos por ano, sendo que dois terços dos casos ocorrem em países em desenvolvimento. Em homens, a incidência é duas vezes

maior do que em mulheres. O país com maior incidência é o Japão (77,9/100.000 em homens e 33,3/100.000 em mulheres), mas taxas elevadas também são observadas na América Central, América do Sul e leste da Ásia (MINISTERIO DA SAÚDE, 2003).

Estudos epidemiológicos sugerem que o ambiente tem papel importante na incidência deste câncer, pois, migrantes tendem a adotar o nível de risco dos países para onde emigram e o risco aumenta com baixas condições socioeconômicas (KELLEY e DUGGAN, 2003).

Modificação na dieta e atividade física regular são elementos significativos na prevenção e controle do câncer, uma vez que, o excesso de peso e a obesidade são sérios fatores de risco. Dieta rica em frutas e vegetais pode reduzir o risco para vários tipos de câncer, enquanto alto consumo de carnes curadas e ou carnes vermelhas estão associados com aumento de risco para o câncer (WHO, 2003a).

A dieta e os fatores ambientais estão fortemente relacionados com o câncer gástrico. Estudos indicam que uma dieta adequada poderia prevenir de três a quatro milhões de casos novos de cânceres a cada ano, portanto as frutas e as hortaliças têm assumido posição de destaque nos estudos que envolvem a prevenção do câncer (GAROFALO et al., 2004).

Estudo de caso-controle da população do oeste de Nebraska, associando padrão alimentar com o risco de carcinoma de esôfago e de estômago, concluiu que dieta elevada em frutas e vegetais pode diminuir o risco de câncer, e a dieta rica em carnes pode aumentar o risco destes carcinomas (CHEN et al., 2002).

Singh, Sabaté e Fraser (2003) concluíram que na América do Norte e Europa, o padrão de estilo de vida, incluindo baixo consumo de carne, estão associados a maior longevidade.

As regiões geográficas do Brasil, por suas heterogeneidades culturais, demográficas, sociais e políticas, têm suas populações submetidas a fatores de risco diferentes. Também, é diferente nas diversas regiões a qualidade da assistência prestada, a capacidade diagnóstica e a qualidade das informações fornecidas. Por isso, o quadro das principais neoplasias também difere regionalmente, muitas vezes refletindo o quadro da desigualdade observado no país (MINISTERIO DA SAUDE, 2002).

O câncer no Brasil e na região Centro Oeste foi quantificado através do indicador YLL (Years of Life Lost - Anos de vida perdidos por morte prematura), em 2.169.420 e 113.083 pessoas de ambos os sexos, correspondendo a 12% e 11% respectivamente, da carga total das doenças não-transmissíveis estimadas pelo sistema de informação de mortalidade para o ano de 1998 (SHRAMM et al., 2004).

As taxas de mortalidade absoluta e mortalidade proporcional para o câncer, no Brasil em 2000, foram de 10.955 óbitos, com 9,42% , ocupando o segundo lugar entre as neoplasias (MINISTERIO DA SAUDE, 2003).

Em uma série histórica do período de 1980 a 1989, em Mato Grosso do Sul, observou-se que as neoplasias ocupavam o quarto lugar como causa morte, com 8,91% das mesmas, sendo que na primeira posição se encontrava o câncer de estômago, com 18,27% em homens e 4,04% em mulheres. No período de 1990 a 1999, as neoplasias passam para a terceira colocação com 10,88% de todas as mortes, com o câncer de estômago em segundo lugar com 13,49% para o sexo masculino e, para as mulheres em quinto, com 3,72% (MATO GROSSO DO SUL, 2004a).

No Estado de Mato Grosso do Sul, para 2003, o INCA estimou 350 casos novos de câncer de estômago, sendo 230 para o sexo masculino com incidência de

20,99 por 100.000, e 120 para mulheres com incidência de 10,85 por 100.000. Para óbitos, 90 casos em homens com 8,33/100.000 e 40 para mulheres com 4,08/100.000 (MINISTERIO DA SAUDE, 2003).

Porém, segundo o sistema de informação de mortalidade da Secretaria de Estado de Saúde, foram registrados 151 óbitos de câncer de estômago, ocupando a segunda posição entre as neoplasias no estado em 2003, superando as estimativas do INCA (MATO GROSSO DO SUL, 2004b).

Para Campo Grande, em 2003, foram estimados 120 casos novos sendo 80 para o sexo masculino e 40 para o feminino, com incidência de 23,74 e 12,73 por 100.000. A estimativa de óbitos foi de 30 para homens e 20 para mulheres com incidência de 9,42 e 4,79 por 100.000 (MINISTERIO DA SAUDE, 2003).

De acordo com o sistema de informação de mortalidade da Secretaria de Estado de Saúde, em Campo Grande foram notificados 50 óbitos, sendo o câncer de estômago a terceira causa óbito na capital, confirmando as estimativas do INCA (MATO GROSSO DO SUL, 2004b).

No Estado em 2005, ocorreram 143 óbitos de CE, com o terceiro lugar entre as neoplasias (MATO GROSSO DO SUL, 2005), para 2006, o INCA estimou 300 casos novos, sendo 210 para o sexo masculino e 90 para o feminino (Ministério da Saúde, 2006)

O câncer gástrico é considerado uma doença da população idosa, com maior ocorrência acima dos 50 anos de idade, e, menos de 5% dos casos ocorrem abaixo dos 40 anos (MAUAD et al., 2000).

É importante lembrar que o CE leva aproximadamente 20 anos para evoluir de uma lesão pré-cancerosa para a forma grave. Sendo assim, a retirada dos fatores

promotores e a introdução da dieta saudável e de meios para a diminuição dos riscos devem ser tomadas precocemente, ainda na infância.

2.2 Nitrato e nitrito

Nitratos e nitritos são aditivos alimentares, classificados como conservantes de acordo com a Legislação Brasileira de Alimentos, ou seja, são substâncias adicionadas aos alimentos que visam evitar sua deterioração, principalmente causada por microrganismos. Além do papel de conservante, os nitritos são utilizados em misturas para curar carnes com a finalidade de retardar o processo de oxidação dos lipídios evitando a rancidez, fixar e desenvolver cor, devido formação de nitrosomioglobina, de coloração rósea. Durante esta reação, ocorre acúmulo de peróxido de hidrogênio, ao qual alguns microrganismos, como *Clostridium botulinum*, são muito sensíveis (ALMUDENA e LIZANO, 2001; PETENUCI et al., 2004).

Os nitratos estão amplamente distribuídos, no solo, água e vegetais. A exposição diária da população em geral ao nitrato e nitrito é influenciada tanto pelos hábitos culturais, como pelo estilo de vida e localização geográfica (ANDRADE, 2004). A dieta ocidental é rica em peixes salgados e queijos que contribuem com valores altos de nitritos (WALKER, 1990). Já os vegetarianos consomem, de 50% a 100% mais vegetais do que outros consumidores, conseqüentemente ingerindo alto teor de nitrato (ANDRADE, 2004).

O nitrito é encontrado no meio ambiente somente em nível de traços. Porém, aproximadamente 25% do nitrato, oriundo da dieta é recirculado na cavidade oral, e 20% deste, se reduz em nitrito na superfície da língua, através da ação de bactérias anaeróbias facultativas (DUNCAN et al., 1995).

Esta síntese endógena tem sido comprovada em vários estudos. Lee, Greger e Consaul (1986), através de um estudo experimental, mediram o balanço do nitrato por dezessete dias, em nove homens, com uma dieta diária fixada com carne acrescida de nitrato e nitrito, constataram excesso de nitrato e nitrito na urina.

Nas condições ácidas do estômago, o nitrito dá origem aos agentes nitrosantes, através da sua decomposição em ácido nitroso (HNO_2) e este em vários óxidos de nitrogênio espontaneamente, conforme demonstrado na Figura 1 (MCKNIGHT et al., 1999).

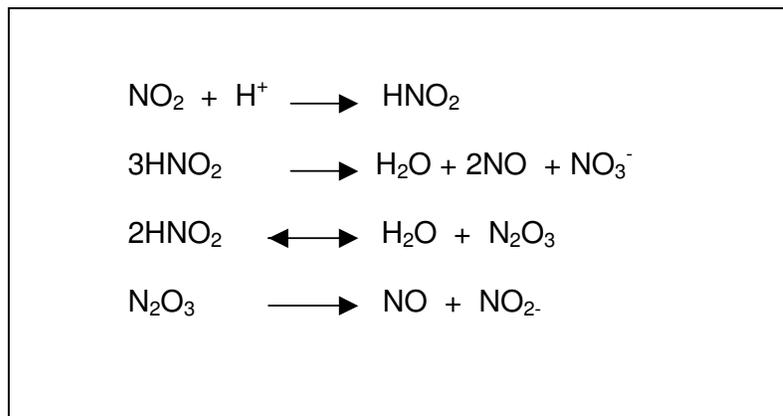


FIGURA 1. Reações do nitrito no pH ácido do estômago.

A principal preocupação do uso de nitratos em alimentos é decorrente de efeitos tóxicos por excesso na dieta, e, pela formação endógena de nitrosaminas, que apresenta efeitos cancerígenos, teratogênicos e mutagênicos (MARTINS e MÍDIO, 2000).

Nitrosaminas são compostos N-nitrosos (NOC), formados pela interação entre um grupo de nitrogênio secundário (amina, amida, alquil-uréia ou um anel peptídico), com um agente nitrosante. Aproximadamente trezentos diferentes NOC foram

avaliados para carcinogenicidade e mais de 90% apresentaram positividade (BRITTO, 1997; MIRVISH, 1994; WALKER, 1990). Seus efeitos carcinogênicos foram observados mesmos em baixas concentrações (PETENUCCI et al., 2004), em mais de 40 espécies de animais testados, inclusive no macaco (BARTSCH e MONTESANO, 1984; HILL, 1999).

A exposição humana a compostos NOC ocorre através de duas vias, exógena e endógena. A exposição exógena pode ser decorrente do consumo de alimentos contendo nitrosaminas formadas durante o processamento (WALKER, 1990). Esta produção exógena de NOC nos alimentos curados tem sido minimizada por uma tecnologia apropriada, através da utilização de baixas concentrações de nitrito, e, uso de inibidores de nitrosação, como vitamina C, A, e, E (ANJOS e RIBEIRO, 1997; WALKER, 1990).

A exposição endógena resulta da reação de agentes nitrosantes com um número de precursores da alimentação, no ambiente estomacal, o qual é muito favorável para esta reação de catalização ácida (JAKSZYN et al., 2004).

As nitrosaminas são absorvidas principalmente no trato gastrointestinal e também através da pele, não são bioacumulados, mas sofrem biotransformação no organismo (SWANN, 1975). São formadas em vários tecidos e órgãos no corpo humano ou in vitro sob condições fisiológicas com baixo pH. Sua produção depende da concentração, da estrutura química e do valor do pKa da amina, e, da concentração de nitrito. Água e alimentos são fontes de nitrato, nitrito e aminas (NIELSEN e LINGS, 1994).

Entre os alimentos apontados como os que elevam o risco, estão principalmente as carnes curadas. No processo de cura adiciona-se nitrato e nitrito de sódio ou de potássio, com a função de conservantes, os quais podem elevar

consideravelmente o nível de nitrosaminas, entre as quais se destacam a nitrosodimetilamina (NDMA), nitrosopirrolidina (NPIR), nitrosodietilamina (NDEA), nitrosopiperidina (NPIP), nitrosomorfolina (NMOR), nitrosotiazolidina (NTHZ) e nitrosoprolina (NPRO). A concentração residual de nitrito controla a formação de N-nitrosaminas em alimentos (ANDRADE, 2004).

Nitrato e nitrito são produtos de oxidação e fontes de agentes nitrosantes, sendo os mais importantes, o óxido nítrico (NO), e ácido nitroso (HNO₂), pois participam na formação de nitrosaminas. Os agentes nitrosantes reagem rapidamente com superóxido para formar peróxido de nitrito (ONOO⁻), o qual é altamente reativo e responsável pelos efeitos celulares adversos no câncer (CHOW e HONG, 2002). A Figura 2 demonstra a formação de nitrosamina no estômago, o ácido nitroso, a partir de nitrito de sódio, reage com a amina secundária oriunda da dieta, resultando nitrosamina.

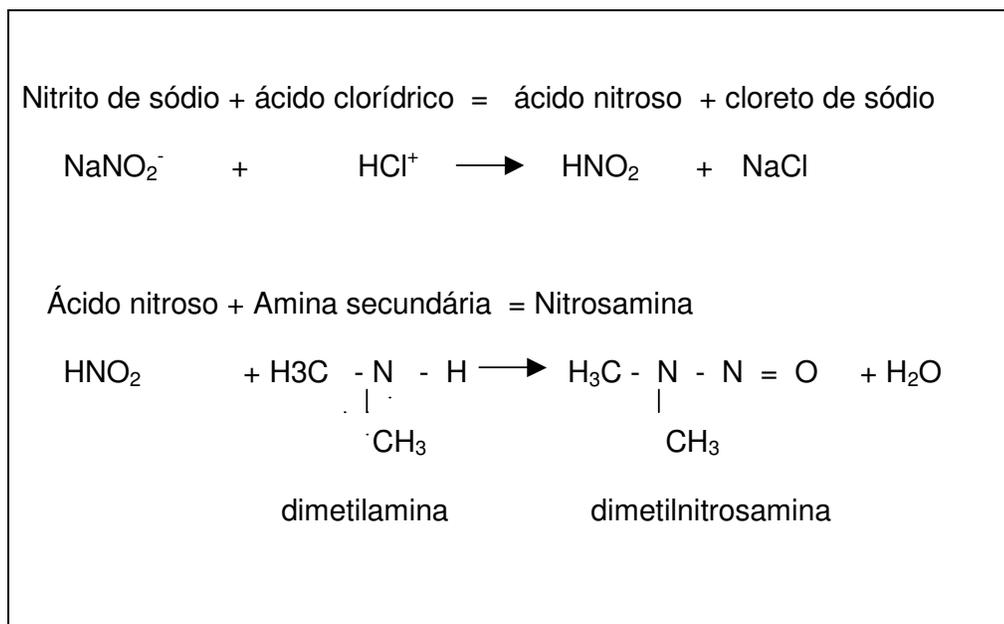


FIGURA 2. Reações de formação de nitrosamina no estômago.

Rywotycki (2002), estudou a influência de alguns aditivos funcionais na formação de nitrosamina em carnes e produtos cárneos, concluindo que a adição de polifosfatos juntamente com nitrito de sódio aumenta o nível de nitrosaminas, o qual pode ser minimizado com a introdução de ascorbato nas salmouras.

Estudos epidemiológicos sugerem que a alta ingestão de precursores de agentes nitrosantes e a formação intragástrica de N-nitrosaminas podem estar associadas com um alto risco de câncer nasofaríngeo, esofágico e gástrico (ALMUDENA e LIZANO, 2001; KIM et al., 2002; STEFANI et al., 2000; WU et al., 1993). Por outro lado, evidência indireta indica, através de estudos epidemiológicos e nutricionais, que dietas ricas em vegetais, embora importantes fontes de nitrato, são associadas com a diminuição do risco do câncer (PALMER, 1985; WHO, 1996). Fatores protetores, tais como ácido ascórbico e alfa-tocoferol, presentes nestes alimentos são conhecidos como inibidores da formação de NOC (MIRVISH, 1994).

Estudos têm comprovado que o processo de nitrosação endógena pode ser bloqueado pela ação de antioxidantes. O Instituto de Pesquisa em Câncer, em Omaha, demonstrou que reações de nitrosação não acontecem na presença de ácido ascórbico (vitamina C), o qual bloqueia a conversão de nitrato e nitrito (MIRVISH, 1994).

Bednar e Kies (1994), determinaram a excreção de nitrato e nitrito em 12 indivíduos, submetidos a uma dieta contendo diferentes concentrações de nitrato e nitrito, e, de frutas e vegetais com diferentes teores de vitamina C, durante sete dias. Detectaram uma relação inversa entre o consumo de vitamina C e a excreção urinária de nitrato e nitrito, confirmando a inibição da nitrosação endógena pela vitamina C.

Na Espanha, um estudo de caso-controle entre consumo de nutrientes e câncer gástrico, no período de setembro de 1986 a março de 1989, encontrou para o consumo de vitamina C um OR de 0,3 com 95% de CI (0,1-0,8), demonstrando seu efeito protetor na carcinogênese gástrica (RAMON et al., 1993).

Na China, estudo epidemiológico em população com alto risco para câncer de esôfago, confirmou evidências de que tanto dieta com alto consumo de nitrosaminas e seus precursores (nitratos e nitritos) e com baixo nível de inibidores de nitrosação (vitamina C e E), são grandes fatores de risco (YANG, 1992).

Alguns estudos têm demonstrado a relação entre hipocloridria ($\text{pH} > \text{quatro}$) e, alta concentração de nitritos no suco gástrico de pacientes com gastrite atrófica crônica, e com lesões displásica gástrica (JASKIEWICZ et al., 1990).

Dados a respeito da exposição a nitrosaminas são escassos e ou incompletos. Alguns países os apresentam, como a Suécia, Alemanha, França e outros, porém no Brasil, praticamente não existem dados disponíveis da exposição através de alimentos (LEVALLOIS et al., 2000).

São poucos os países nos quais existe regulamentação específica para nitrosaminas. Nos EUA, o FDA recomenda para produtos cárneos curados, valores de no máximo 10 μg de nitrosaminas voláteis totais por Kg do produto (HAVERY e FAZIO, 1985).

A Agência de Inspeção de Alimentos do Canadá estabeleceu níveis máximos de nitrosaminas (NDMA, NDEA, NDPA, NDBA, NPIP e NMOR) de 10mg Kg^{-1} , e, para NPYR de 15mg Kg^{-1} em carnes curadas (CANADA, 2003).

Nos países em desenvolvimento e, em particular, na América Latina, não existe uma legislação definida para nitrosaminas.

A ocorrência do câncer de estômago vem sendo associada à exposição a fatores relacionados com a dieta de nitrato, pois ingestão de grandes quantidades de nitrato e nitrito nos alimentos, ou em baixas concentrações e alta frequência, pode representar um risco à saúde humana (MARTINS e MIDIO, 2000).

Diante destes riscos, o comitê FAO/WHO estabeleceu para nitrito uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0-0,07 mg kg⁻¹ de peso corpóreo (WHO/FAO, 2003b). Para nitrato, o comitê manteve a IDA de 0 - 3,7 mg kg⁻¹ de peso corporal e proibiu o emprego de nitrito como aditivo em alimentos infantis para crianças menores de três meses (WHO/FAO, 1996).

A IDA é definida como a quantidade de uma substância expressa em mg /Kg de peso corpóreo, que pode ser ingerida diariamente na alimentação, por toda a vida, sem danos à saúde humana, com base em informações toxicológicas disponíveis na época da avaliação. É estabelecida através de ensaios toxicológicos, a partir dos quais se determina um nível de dose sem efeito adverso observável (NOEL – No Effect Level), utilizado no cálculo da IDA, pela divisão do valor do mesmo por um fator de segurança arbitrário, que procura considerar a diferença de sensibilidade entre espécies animais e o homem, a heterogeneidade da população humana e a possibilidade de sinergismo entre substâncias químicas. Seus valores são utilizados na avaliação de limites de tolerância, os quais são determinados a partir da necessidade tecnológica e da ingestão diária potenciais decorrentes de todas as fontes, de forma a garantir ingestões abaixo da recomendação (WHO, 1996).

A formação de nitrosaminas carcinogênicas foi constatada a partir do consumo de nitrato, dentro dos níveis de ingestão diária aceitável, combinado com uma dieta

rica em peixe, o qual tem alto teor em aminas precursoras de NOC (VERMEER et al., 1998).

O limite tolerado de nitrito e nitrato como aditivo alimentar depende do produto alimentício e da legislação vigente em cada país. No Brasil, a Portaria nº. 1.004/ANVISA /MS de 11 de dezembro de 1998, define como limite máximo de 0,03g/100g (300ppm) para nitrato e 0,015g/100g (150ppm) para nitrito de sódio e potássio em produtos cárneos curados industrializados ou frescos, exceto para o charque (BRASIL, 1999).

Alguns estudos de avaliação dos teores de nitrato e nitrito em lingüiças têm sido realizados no Brasil. Manhoso e Rudge (1999) constataram que 10% das amostras de lingüiças clandestinas, comercializadas em Marília, São Paulo excederam o limite legal.

Fernandez, Castro e Becker (2000), encontraram 26,7% das amostras de lingüiças clandestinas com quantidades excessivas de nitrito, sendo os maiores teores encontrados capazes de causar intoxicação grave (565,63; 534,94; e 780,45 ppm) no município de Petrópolis, Rio de Janeiro.

Guimarães e Pena (2002) analisaram lingüiças industrializadas tipo calabresa, comercializadas na cidade de Belém no Pará, verificando que nenhuma amostra analisada apresentou teores de nitrato e nitrito superiores aos permitidos pela legislação em vigor.

Estudos no Distrito Federal também encontraram todas as amostras de lingüiças com teores de nitrato e nitrito dentro dos padrões vigentes (MARTINS, 2002; XIMENES et al., 1998). Em Belo Horizonte, Campos et al. (1993) encontraram 13,6% das amostras analisadas, em desacordo com a legislação vigente.

Inclusive em Campo Grande, MS, também foi realizada uma pesquisa, onde Denadai et al. (1995) encontraram 17% das lingüiças com limites acima da legislação brasileira.

2.3 Quimioprevenção do câncer

Carcinogênese é um termo genérico que compreende vários mecanismos que participam do desenvolvimento de neoplasias. Pode ser considerado um processo ativo induzido por agentes físicos, químicos, biológicos, genéticos ou pode ocorrer de forma espontânea, sem nenhuma intervenção intencional ou ativa (PITOT e DRAGAN, 1991).

O processo de carcinogênese se classifica em três estágios: iniciação, promoção e progressão. A fase de iniciação é caracterizada por alteração do material genético, que pode ou não resultar em mutação. Embora a mutação não necessariamente resulte no desenvolvimento do câncer, indica risco aumentado para neoplasia. A fase de promoção, caracterizada pela conversão da célula iniciada em célula pré-maligna, é um processo reversível e que apresenta longo período de latência, sendo este um ponto estratégico para ação de agentes quimiopreventivos do câncer. A progressão da célula pré-maligna para maligna é um processo irreversível e que ocorre em conseqüência de dano adicional ao cromossomo, resultando em divisão celular incontrolada devido à reduzida dependência dessas células aos fatores de crescimento (GERSTER, 1995).

A carcinogênese pode ser causada por reações de oxidação induzidas pelos radicais livres, que são espécies livres, independentes que contêm um ou mais elétrons não pareados, o que aumenta sua reatividade química. O oxigênio é o

principal fornecedor de radicais livres, porém, destacam-se o superóxido, os radicais de hidroxila, e o óxido nítrico oriundo da L-arginina (LEITE e SARNI, 2003)

A quimioprevenção do câncer resulta da ação de uma substância que possa bloquear o início do processo neoplásico, deter ou reverter a progressão das células transformadas para fenótipos malignos. A vitamina A, carotenóides, vitamina C, vitamina E, e, elementos traços selênio e zinco são considerados quimiopreventivos, porque inibem, principalmente, a iniciação e promoção da carcinogênese, através dos mecanismos de proteção, que incluem o aumento da função imunológica, dos canais de comunicação intercelular e da atividade antioxidante (PERES et al., 2003).

Durante a resposta imune os fagócitos ativados, fibroblastos e linfócitos produzem espécies reativas de oxigênio, e superprodução de radicais livres, que resulta em dano oxidativo aos leucócitos e às células de tecidos circunvizinhos ao processo inflamatório, podendo levar ao dano oxidativo do DNA, resultando em mutação genética (GERSTER, 1995).

Os nutrientes antioxidantes apresentam a propriedade de interceptar certos radicais livres e desativar moléculas reativas de oxigênio singlete, inibindo danos oxidativos no DNA, reduzindo o risco de câncer, sendo, portanto considerados como agentes potencialmente quimiopreventivos (BONNE, KELLOFF e MALLONE, 1990).

Os canais de comunicação intercelular permitem a passagem de moléculas informacionais, que regulam o crescimento celular normal. As células tumorais são deficientes em junções comunicantes, o que permite que as mesmas escapem do mecanismo normal de regulação de crescimento celular e progridam para neoplasia (PERES et al., 2003).

A vitamina C é o principal antioxidante hidrossolúvel, disponível tanto no meio intra como no extracelular da maior parte dos órgãos. Elimina diretamente os radicais livres de oxigênio e de óxido nítrico (LEITE e SARNI, 2003).

Estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que vitamina C, A e carotenóides apresentam baixo risco para câncer de estômago, pois são inibidores da produção das nitrosaminas em humanos (BLOCK, 1993; KONO e HIROHATA, 1996; PALMER, 1985; RIBOLI e NORAT, 2003).

A vitamina C é um importante antioxidante, que pode inibir a carcinogênese no estômago pela neutralização das espécies de oxigênio reativa que podem danificar o DNA, ou pela inibição da formação de nitrosaminas carcinogênicas (JACOBS et al., 2002).

Há evidências epidemiológicas consistentes entre a associação da suplementação de vitamina C em altas doses com a redução no risco de câncer de estômago (JACOBS et al., 2002).

Porém, existe muita controvérsia na função quimiopreventiva da vitamina C, a análise de quarenta e quatro estudos in vivo, publicados, trinta e oito confirmou a função antioxidante, quatorze não apresentou nenhuma proteção e, seis relatou aumento das alterações oxidativas no DNA celular (LEE et al., 2003).

As multivitaminas não foram associadas com risco de câncer em estudos de caso-controle nos Estados Unidos, pois contêm baixas doses de vitamina C, A, e, E (JACOBS et al., 2002).

Botterweck, Brandt e Goldbohm (2000), em um estudo prospectivo de 6,3 anos, observaram que pacientes que usaram suplementação de vitamina A, apresentaram baixo risco para carcinoma gástrico em relação aos não usuários (RR = 0,4; 95% CI, 0,2-0,9).

Suplementação com vitaminas antioxidantes foram associadas com diminuição de riscos de câncer de estômago ou regressão de lesões pré-cancerosas do estômago, em áreas de alto risco da China e Colômbia (JACOB et al., 2002).

Porém, foi evidenciado que baixa concentração plasmática e gástrica de vitamina C em pacientes com gastrite atrófica crônica, mostrou a relação inversa com a hipocloridria e a propriedade antioxidante das vitaminas (JASKIEWICZ et al., 1990).

Os carotenóides são compostos amplamente encontrados na natureza, que não são sintetizados pelos animais, mas por plantas e microrganismos. Cerca de mil carotenóides naturais já foram identificados, porém os que contribuem em 90% dos carotenóides circulantes em humanos são o beta-caroteno, licopeno, luteína, beta-criptoxantina e alfa-caroteno. As fontes dietéticas importantes são frutas e vegetais verdes escuros, amarelos, alaranjados ou vermelhos (PAULA, PERES e CARMO, 2004).

Estudos epidemiológicos têm mostrado que indivíduos que consomem grandes quantidades de frutas e vegetais fontes de carotenóides têm menor risco de câncer em vários órgãos (PAULA, PERES e CARMO, 2004).

Recentemente a ação quimiopreventiva potencial do licopeno, carotenóide encontrado no tomate, foi demonstrada sua relação inversa com carcinoma gástrico, através da indução experimental de câncer de estômago pela administração da nitrosamina N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidina em ratos wistar, os quais mostram similaridade com o tumor gástrico humano (VELMURUGAN, BHUVANESWARI e NAGINI, 2002).

Resultados do estudo de caso-controle sobre dieta e câncer gástrico no Uruguai, no período de 1997 a 1999, com 120 casos e 360 controles, revelou que

consumo de vitamina A e C, alfa-caroteno e licopeno foram associados com baixo risco para câncer de estômago. Encontraram OR para consumo de alfa-caroteno de 0,34, 95% CI 0,17-0,65; e consumo de alfa-caroteno e vitamina C, OR 0,11, 95% CI 0,03-0,36 (STEFANI et al., 2000).

Através de um estudo de base em 1959, Stahelin et al. (1991), dosaram no plasma de 2.974 homens, os teores de caroteno e a maioria das vitaminas antioxidantes. Durante um período de observação de doze anos, registrou 553 óbitos, sendo 204 de câncer. Os níveis de caroteno foram baixos para todos os óbitos de câncer, com $p < 0,01$, comparados com os 2.421 sobreviventes. Concluíram que, baixos níveis de caroteno e retinol (vitamina A) refletem o consumo, e, estão associados com o aumento do risco de câncer.

A proteção contra os efeitos adversos de nitratos e nitritos pela vitamina E, é atribuída a sua habilidade de limitar a produção de peróxido de nitrito (ONOO-); enquanto que o selênio reduz o peróxido de nitrito (ONOO-) formado (CHOW e HONG, 2002).

O efeito protetor de frutas e vegetais sobre o risco de câncer de estômago foram avaliados através da meta-análise de estudos de cohort, encontrando um risco relativo RR igual a 0.89 (0,73 – 1,09) para consumo de 100g/dia de frutas, e RR igual a 0.89 (0.75 – 1,05) para consumo de 100g/dia de vegetais (RIBOLI e NORAT, 2003).

Estudos populacionais têm mostrado que o baixo risco para câncer está mais relacionado a uma dieta rica em antioxidantes do que uma dieta de um único antioxidante. Os efeitos preventivos dos vegetais e frutas sobre o câncer podem ser resultados de um múltiplo efeito combinado de vários nutrientes fito-químicos fenólicos, vitaminas, fibras, compostos de alho e selênio (LEE et al., 2003).

A promoção de tumor está ligada a processos oxidativos e inflamatórios, sendo um processo longo e reversível, alimentos ricos em antioxidantes, como as frutas, verduras, e grãos podem suprimir o processo da carcinogênese. Logo o consumo de cinco porções de frutas e vegetais contendo 200 -280 mg de vitamina C por dia pode ser recomendado (LEE et al., 2003).

A Organização Mundial da Saúde sugere um consumo diário mínimo de 400 g de frutas e hortaliças, como uma estratégia de prevenção de doenças crônicas, especialmente o câncer (OMS, 1990).

A suplementação de vitaminas e minerais está preconizada somente no caso de aporte insuficiente na alimentação, não excedendo às quantidades recomendadas (SILVA e NAVES, 2001).

Bumberg (1995) sugere o consumo de cerca de 150 mg, para se alcançar concentrações plasmáticas de vitamina C associadas com um menor risco de doenças crônicas. Ao contrário, o consumo de vitamina C em doses mais elevadas pode ser deletério para o organismo, conforme observado através do aumento de lesões potencialmente mutagênicas em indivíduos saudáveis suplementados com 500mg/dia durante seis meses (PODMORE et al., 1998).

Portanto, como estratégia de prevenção de câncer preconiza-se o consumo de dietas ricas em frutas e hortaliças, que contenham cerca de 150 mg de vitamina C, 30 mg de vitamina E, e 4 mg de carotenóides. A ingestão de quantidades mais elevadas, na forma de suplementos, não está recomendada (SILVA e NAVES, 2001).

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Avaliar os teores de nitrato e nitrito em lingüiças produzidas e ou comercializadas no município de Campo Grande, MS.

3.2 Objetivos específicos

a) avaliar as médias e medianas dos teores de nitrato e nitrito entre os diferentes tipos de lingüiças, os cinco distritos sanitários, e a produção artesanal e não-artesanal;

b) comparar os teores de nitrato e nitrito encontrados com os valores máximos permitidos pela portaria nº 1004/1998/ANVISA/MS).

c) avaliar o risco para saúde do consumidor através da comparação dos teores de nitrato e nitrito com a respectiva Ingestão Diária Aceitável estabelecida pelo JECFA (Joint Expert Committee on Food Additive).

4 METODOLOGIA

4.1 Amostra

Trata-se de um estudo transversal analítico e quantitativo, com um total de 207 amostras de lingüiças analisadas, sendo 127 de produção artesanal oriundas de 60 estabelecimentos produtores cadastrados ou não no Serviço de Inspeção Municipal (SIM) e 80 de produção não-artesanal distribuídas em 23 marcas. Foram coletadas nos cinco distritos sanitários com a seguinte distribuição: 38 no distrito norte, 46 no sul, 42 no leste, 39 no oeste e 42 no central, localizados no município de Campo Grande, no período de março de 2004 a março de 2005.

As amostras foram coletadas aleatoriamente durante a inspeção para renovação do Alvará Sanitário, pelas unidades de vigilância sanitária dos distritos sanitários, sendo estabelecida a quantidade mínima de 300g para as de produção caseira ou artesanal, vendidas a granel e considerado o conteúdo da embalagem original para industrializadas. Foram transportadas em caixas isotérmicas sob refrigeração até o Laboratório Central de Saúde Pública Estadual (LACEN), onde foram analisadas no setor de físico-química de alimentos da divisão de bromatologia e química (DBQ).

4.2 Variáveis estudadas

Do recibo de coleta do material para exame (RCME) que acompanhou cada amostra, foram coletadas as seguintes variáveis: tipo de lingüiça, forma de

processamento e, região de produção; e a partir do boletim analítico (BA), os teores de nitrato e nitrito.

O tipo de lingüiça foi determinado de acordo com a matéria prima utilizada, sendo classificada em quatro tipos: bovina, suína, mista e aves.

A forma de processamento foi classificada em artesanal para as de fabricação caseira, e, não-artesanal para as de produção industrial. As amostras de fabricação artesanal não apresentaram rótulo e nem embalagem padronizada.

A região foi classificada de acordo com os distritos sanitários, nos quais foram realizadas as coletas de amostras: norte (DN), sul (DS), leste (DL), oeste (DO) e central (DC).

A avaliação do risco para saúde do consumidor foi realizada através da comparação dos teores de nitrato e nitrito com a respectiva IDA.

4.3 Procedimento de análise

O procedimento de análise consistiu na metodologia colorimétrica segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, com as seguintes etapas: desproteinização da amostra, preparo da coluna de cádmio esponjoso, verificação de sua eficiência, construção de curva-padrão de nitrato e nitrito de sódio, determinação de nitrato e nitrito e cálculos (SÃO PAULO, 1985).

Quanto ao controle de qualidade do método, foi construído cartas controle dos padrões e determinado o limite de detecção do método por coluna, através de leituras do branco, com aplicação da seguinte fórmula (APÊNDICE A):

Limite de detecção = média do branco + 3 x desvio padrão.

4.3.1 Desproteínização da amostra

Devido ao alto teor de proteína existente em produtos de origem animal, as amostras foram submetidas, inicialmente, a uma desproteínização, sem a destruição do nitrito (APÊNDICE D).

Pesou-se 10 g da amostra devidamente homogenizada, e se adicionou 5,0 ml da solução de tetraborato de sódio decahidratado a 5% e 40 ml de água destilada, em temperatura acima de 70°C. A solução foi aquecida em banho-maria a 100°C por 15 minutos, e resfriada até a temperatura-ambiente, 2,0 ml da solução de ferrocianeto de potássio trihidratado a 10,6% e 2,0 ml da solução de acetato de zinco dihidratado a 22% em ácido acético 3%, foram adicionados com agitação após cada adição, e transferida para um balão volumétrico de 100 ml e deixado em repouso por 30 minutos. O volume final foi completado com água destilada e, a partir desta solução, foram realizadas as determinações dos teores de nitrato e nitrito.

4.3.2 Preparo da coluna de cádmio e verificação de sua eficiência

Foram colocados três bastões de zinco em 100 ml de solução de sulfato de cádmio a 20%. Após três horas, o depósito esponjoso formado foi removido e colocado num becker contendo água destilada. O cádmio formado foi transferido para um liquidificador contendo 200 ml de água e triturado. Foi passado em peneira de 20 – 40 mesh. A coluna de cádmio esponjoso foi montada do seguinte modo: na parte afunilada da coluna de Jones, foi colocado um pouco de lã de vidro seguida de uma camada de um cm de areia. O cádmio foi transferido até uma altura de doze

centímetros e, completado o volume com água, para impedir entrada de ar e secagem da coluna.

Foram passados 25 ml de ácido clorídrico 0,1 N, em seguida 50 ml de água e finalmente 25 ml de solução-tampão diluída 1:9, para ativarem a coluna de cádmio antes da passagem da amostra.

Como a atividade da coluna de cádmio esponjoso decresce depois de 24 horas, logo foi necessário determinar a eficiência da mesma e regenerá-la com passagens sucessivas de porções de ácido clorídrico 0,1 N, água e solução tampão.

A verificação da eficiência da coluna foi realizada através de passagens de soluções-padrão de nitrato de sódio e a quantidade de nitrito formado foi determinada. O procedimento de regeneração da coluna sempre foi realizado quando a recuperação foi inferior a 90%, sendo verificado periodicamente antes do início de uma bateria de amostras (APÊNDICE B).

4.3.3 Construção de curva-padrão de nitrato e nitrito de sódio

A curva-padrão foi elaborada contendo seis pontos para cada coluna de cádmio esponjoso, sendo que a cada bateria de amostras, três padrões foram testados diariamente, como apresentado no Apêndice B com os dados da coluna 3.

A curva-padrão para nitrato foi construída a partir da solução padrão (P) principal de nitrato de sódio de 0,1000 g e diluída até 100 ml em balão volumétrico (1000 mg/L). As soluções de trabalho de nitrato de sódio foram preparadas a partir de 10 ml da solução padrão principal diluída em balão volumétrico de 100 ml, com água deionizada. A partir desta solução foram preparados o P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ e P₆ com 2, 4, 6, 10, 16 e 20 µg, respectivamente.

A curva-padrão para nitrito foi elaborada a partir da solução padrão (P) principal de nitrito de sódio de 0,1000 g do sal em 1000 ml de água deionizada (100 mg/L). As soluções de trabalho foram preparadas a partir de 10 ml da solução principal e diluída para 100 ml, com água deionizada (10 mg/L), a partir desta solução foram preparados o P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ e P₆ com 1, 3, 5, 7, 8 e 10 µg, respectivamente.

4.3.4 Método para determinação do nitrito e nitrato

Para determinação do nitrito de sódio, em 10 ml da solução desproteïnizada e clarificada, foram adicionados 5,0 ml de solução tampão e 10 ml de solução de alfa-naftol em balão volumétrico de 25 ml. Após 30 minutos em banho-maria à temperatura de 25-30°C para o desenvolvimento de cor, resfriou-se e mediu a absorvância do azo-composto formado na região do visível com a utilização de um branco (5 ml de solução tampão + 10 ml de solução de alfa naftol + 10 ml de água), no comprimento de onda 474 nm, no espectrofotômetro ultravioleta marca CELM, modelo E205.

Para determinação do nitrato de sódio, em 20 ml da solução desproteïnizada e clarificada, foram adicionados 5,0 ml de solução tampão para serem eluídos pela coluna redutora de cádmio-esponjoso devidamente ativada, até recolher 100 ml do eluato, do qual foram retirados 10 ml, para proceder como na determinação do nitrito.

O Fluxograma do roteiro analítico está demonstrado na Figura 3.

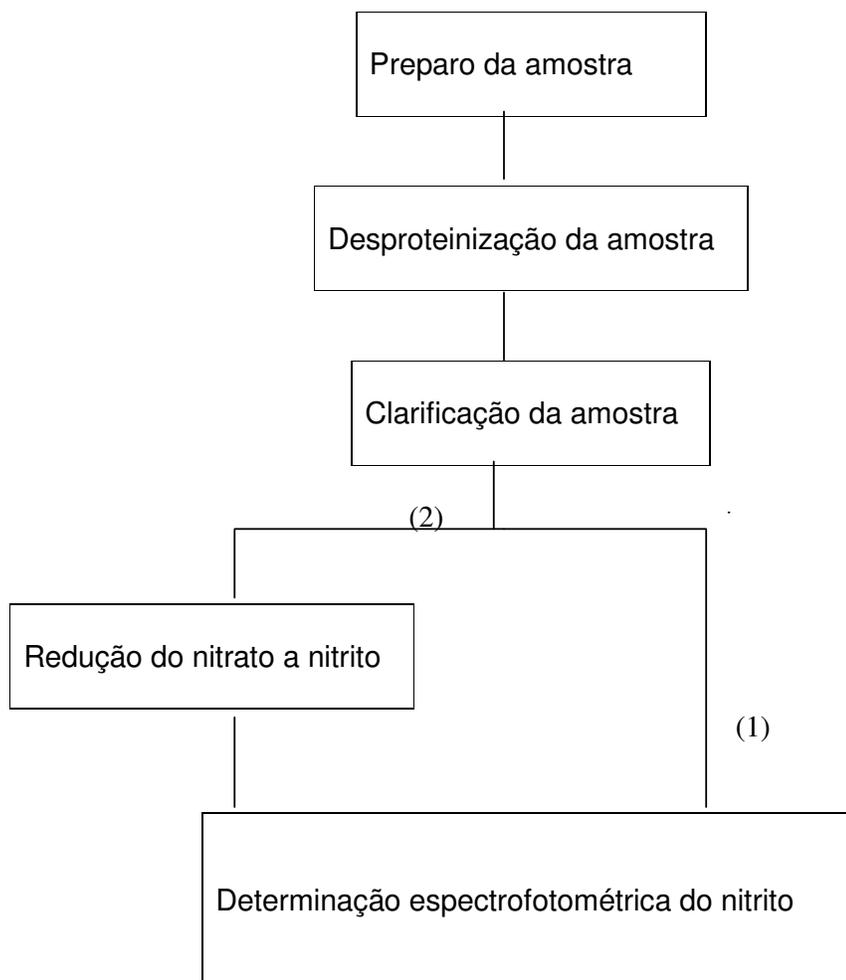


FIGURA 3 – Fluxograma do roteiro analítico.

(1) Determinação de nitrito

(2) Determinação de nitrato e nitrito na forma de nitrito total.

4.3.5 Cálculos

Através das curvas-padrão de nitrito e nitrato de sódio, geradas rotineiramente, foram obtidas as equações da reta, onde foram lançados os valores médios encontrados durante a leitura da absorbância de cada determinação. Foi construída a curva definitiva ao final das 207 análises, realizando a estatística da regressão da linearidade da mesma (APÊNDICE C)

Os valores encontrados para nitrato de sódio foram expressos em nitrito total, por isso para seu cálculo foi necessário subtrair os valores de nitrito anteriormente obtido e multiplicar pelo fator 1,231. Foi construída uma planilha de cálculo para nitratos e outra para nitritos, no Excel. Na planilha para cálculo de nitratos contemplou: a massa da amostra, absorbância da amostra, absorbância do branco, fator de diluição, a massa na alíquota de 10 ml, de 100 ml e 20 ml, as diluições, as conversões de unidades e o fator de conversão 1,231, o resultado de nitrito, o valor resultante da subtração (nitrato – nitrito) e resultado do nitrato.

Na planilha de cálculo para nitrito foi considerada a massa da amostra, absorbância da amostra, absorbância do branco, fator de diluição, conversão de unidades e resultado em g /100 g.

4.4 Análise dos dados

Os dados foram processados no programa Epi Info versão 3.2 (CDC, 2004), apresentados através de tabelas e figuras, e analisados pelo programa BioEstat 3.0 e Minitab 12.1, com cálculos de estatísticas descritivas: média, mediana, variância, desvio padrão, coeficiente de variação, percentil, e quartil; e de inferência estatística, ao nível de significância $\alpha = 5\%$, para o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e Teste de Dunn, e o teste paramétrico Z (AYRES et al., 2000; DORIA, 1999; MOTTA e WAGNER, 2003).

4.5 Aspectos éticos

O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética e Pesquisa Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, obtendo o Termo de Retirado (ANEXO A).

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização das amostras

As 207 amostras de lingüiças coletadas nos cinco distritos sanitários do município de Campo Grande, no período de março de 2004 a março de 2005, foram distribuídas quanto ao tipo e forma de processamento por região de produção (TABELA1).

TABELA 1 – Distribuição de freqüência das amostras de lingüiças estudadas segundo características por região de coleta. Campo Grande, MS, 2005.

Características	REGIÃO DE COLETA					TOTAL
	Central	Leste	Norte	Oeste	Sul	
Tipo de Matéria prima						
Bovina	18	15	18	10	34	95
Mista	10	18	15	6	10	59
Suína	10	8	4	21	2	45
Aves	4	1	1	2	-	8
Processamento						
Artesanal	31	31	17	18	30	127
Não-artesanal	11	11	21	21	16	80
TOTAL	42	42	38	39	46	207

As 127 amostras artesanais analisadas, representaram 60 estabelecimentos produtores com dois comercializados em mais de um distrito (TABELA 2).

TABELA 2- Distribuição de freqüência das amostras de lingüiças artesanais e estabelecimentos produtores segundo a região de produção. Campo Grande, MS, 2005.

REGIÃO DE PRODUÇÃO	AMOSTRAS	ESTABELECEMENTOS PRODUTORES
Distrito Norte	17	14
Distrito Sul	30	11
Distrito Leste	31	17
Distrito Oeste	18	14
Distrito Central	31	9
TOTAL	127	65*

NOTA: * 2 produtores comercializados em mais de um distrito

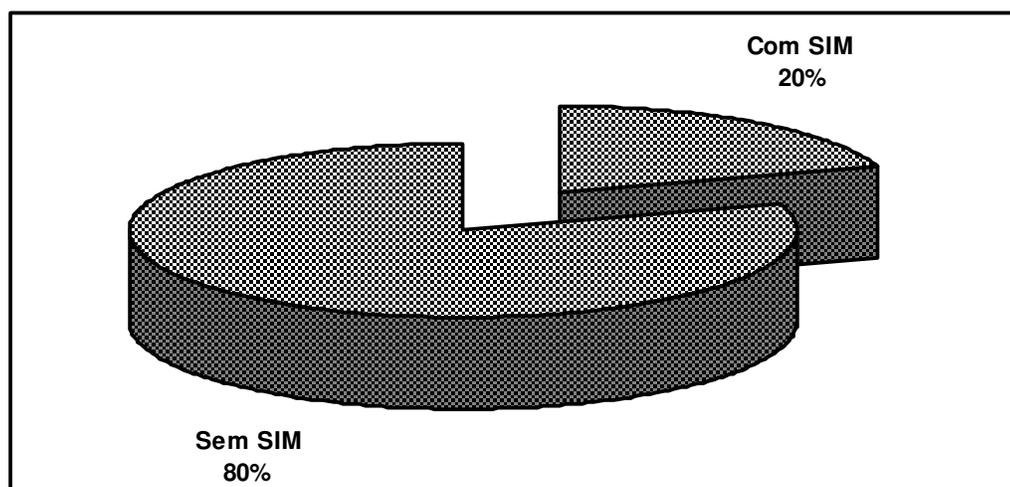


FIGURA 4 - Distribuição dos produtores artesanais em relação ao cadastro no Serviço de Inspeção Municipal (SIM). Campo Grande, MS, 2005.

O Serviço de Inspeção Municipal (SIM) da Secretaria de Saúde do município de Campo Grande tem 27 estabelecimentos cadastrados. Dos 60 produtores artesanais analisados, 12 (20%) eram cadastrados no SIM (FIGURA 4).

As seis amostras artesanais com limites acima do permitido são de quatro estabelecimentos produtores (6,7%), sendo três cadastrados no SIM, representando 25% dos estabelecimentos com SIM analisados.

As 80 amostras de lingüiças do processamento não-artesanal (FIGURA 5), foram distribuídas em 23 marcas, com duas marcas com limites de nitrato fora do permitido, sendo uma amostra mista no D. Norte e duas amostras bovinas da mesma marca no D. Sul, totalizando 3% das amostras, e 8,7% das marcas analisadas. Quanto ao teor de nitrito, nenhum distrito apresentou amostra fora do limite máximo permitido pela legislação.

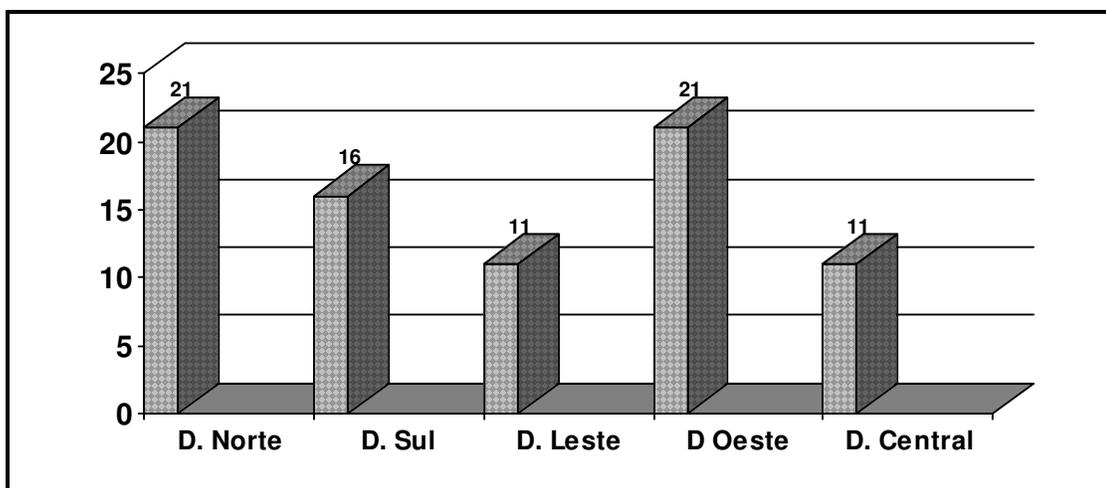


FIGURA 5 – Distribuição das amostras de lingüiças do processamento não-artesanal segundo região de produção. Campo Grande, MS, 2005.

Através do rótulo do produto ou do recibo de material de coleta para exame (RMCE), documento utilizado pela vigilância sanitária, as 207 amostras foram quantificadas quanto à presença da informação do uso de antioxidante (FIGURA 6), sendo observado 82 amostras (40,0 %) com informação e 125 amostras (60,0%) sem informação sobre o uso de antioxidante no processo de fabricação.

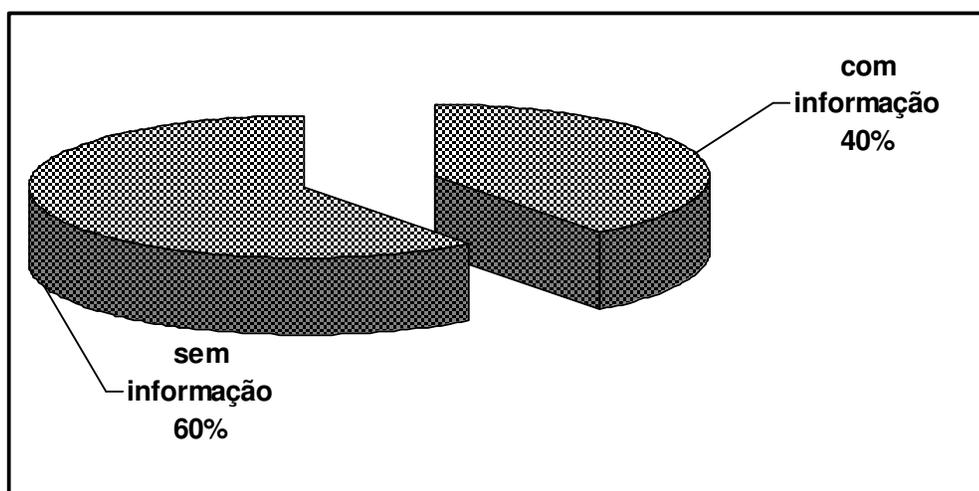


FIGURA 6 - Percentagem das amostras de lingüiças segundo a informação sobre uso de antioxidante. Campo Grande, MS, 2005.

De acordo com a região de produção, as amostras de lingüiças com os teores de nitrato acima do valor máximo permitido pela legislação, apresentaram a seguinte distribuição: 1 (2,6 %) lingüiça mista não-artesanal no DN, 4 amostras no DS (8,7%) sendo 3 bovinas (2 não-artesanais e 1 artesanal), e 1 mista artesanal, 2 (4,8%) no DL, com 1 mista e 1 bovina artesanais, nenhuma no oeste, e 2 (4,8%) mistas artesanais no DC. Porém, no DL, uma das amostras artesanal mista apresentou os

dois aditivos fora do parâmetro legal. Em relação ao processo de produção, o artesanal apresentou maior número de amostras de lingüiças (6) com teores de nitrato acima do valor máximo permitido do que as não-artesanais (3), representando duas marcas diferentes. (Tabela 3). Do total de amostras analisadas, nove amostras para nitrato (4,0%) e uma para nitrito (0,5%), ultrapassaram os limites estabelecidos pela portaria n°. 1004, do Ministério da Saúde (BRASIL, 1999).

TABELA 3- Distribuição de freqüência e percentual das amostras de lingüiças segundo a região de coleta, processo de produção e tipo, de acordo com os teores de nitrato e nitrito acima do permitido. Campo Grande, MS, 2005.

Variáveis	n	Nitrato acima do VMP		Nitrito acima do VMP	
		f	%	f	%
Região					
Distrito Norte	38	1	2,6	0	0,0
Distrito Sul	46	4	8,7	0	0,0
Distrito Leste	42	2	4,8	1	2,4
Distrito Oeste	39	0	0,0	0	0,0
Distrito Central	42	2	4,8	0	0,0
Processo					
Artesanal	127	6	4,7	1	0,8
Não-artesanal	80	3	3,7	0	0,0
Tipo					
Bovina	95	4	4,2	0	0,0
Mista	59	5	8,5	1	1,7
Suína	45	0	0,0	0	0,0
Aves	08	0	0,0	0	0,0
TOTAL	207	9	4,0	1	0,5

NOTA: VMP = Valor Máximo Permitido.

Na Tabela 4, observa-se que as amostras com valores acima do permitido estão distribuídas em diferentes distritos sanitários, sendo que quatro não apresentam informação sobre a adição de antioxidante, e cinco são cadastradas no Serviço de Inspeção Municipal (SIM).

TABELA 4 - Caracterização das amostras com valores acima do máximo permitido para nitrato e nitrito. Campo Grande, MS, 2005.

REGIÃO DE PRODUÇÃO	PROCESSO	TIPO	MARC / PROD	INF. ANTIO.	SIM	NO ⁻³	NO ⁻²
D. NORTE	N- artesanal	Mista	A	S	N	0,0691	-
D. SUL	N- artesanal	Bovina	B	S	S	0,0373	-
		Bovina	B	N	S	0,2300	-
	Artesanal	Bovina	C	N	S	0,0687	-
		Mista	C	N	S	0,6780	-
D. LESTE	Artesanal	Mista	D	S	N	0,0315	0,0151
	Artesanal	Bovina	E	N	S	0,0303	-
D.CENTRAL	Artesanal	Mista	F	S	N	1,1930	-
	Artesanal	Mista	F	S	N	0,0381	-

Nota: N = não; S= Sim ; SIM = Serviço de Inspeção Municipal;
 NO⁻² = Nitrito; NO⁻³ = Nitrato
 A e B = Codificação das marcas
 C, D, E e F = Codificação dos estabelecimentos produtores
 INF. ANTIO. = Informação sobre antioxidante

5.2 Nitrato

Na Tabela 5 observa-se que os teores de nitrato entre os tipos de lingüiças apresentaram uma grande variabilidade, com CV= 664,8%.

Através da comparação das medianas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, verificou-se que as diferenças das medianas dos teores de nitrato entre os quatro tipos de lingüiças, não são estatisticamente significativas ($p = 0,1104$).

TABELA 5 – Estatística descritiva dos teores de nitrato segundo o tipo das amostras de lingüiça. Campo Grande, MS, 2005.

TIPO	n	MÉDIA g /100 g	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	COEFICIENTE de VARIAÇÃO %
BOVINA	95	0,0067	0,0250	0,0001	373,1
AVES	08	0,0035	0,0037	0,0024	105,7
MISTA	59	0,0371	0,1767	0,0019	476,3
SUÍNA	45	0,0032	0,0033	0,0016	103,1
TOTAL	207	0,0145	0,0964	0,0021	664,8

Os valores de nitrato encontrados nas amostras em desacordo com a legislação foram: 0,0303, 0,0315, 0,0373, 0,0381, 0,0687, 0,0691, 0,2300, 0,0678, e 1,930 g para cada 100g do produto, o que corresponde a 9 amostras (4,0%) do total analisado (FIGURA 7).

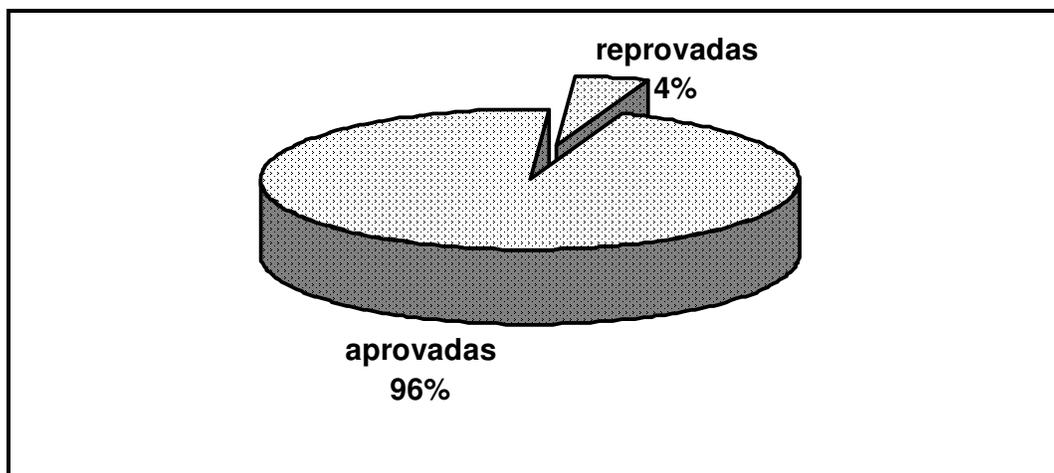


FIGURA 7 – Percentagem das amostras com teores de nitrato acima do valor máximo permitido. Campo Grande, MS, 2005.

Observou-se a utilização de baixas concentrações de nitrato na grande maioria das amostras, através da distribuição do percentil apresentado na Tabela 6.

TABELA 6 – Distribuição do percentil dos teores de nitrato encontrados nas amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.

PERCENTIL	POSIÇÃO	TEOR DE NITRATO (g /100 g)
10	22	0,0001
20	42	0,0005
30	62	0,0009
40	83	0,0013
50	104	0,0021
60	125	0,0026
70	145	0,0033
80	165	0,0047
90	186	0,0088
100	207	1,1930

A grande variabilidade dos teores de nitrato encontrados nos distritos do município de Campo Grande indica falta de padronização. Através da distribuição dos teores de nitrato pelo percentil, observou-se que no distrito central teve as menores concentrações, porém apresentou maior dispersão em relação à média, caracterizando influência dos teores máximos (TABELA 7).

Através do teste de Kruskal-Wallis, as medianas dos teores de nitratos das amostras apresentaram diferenças significativas entre os distritos sanitários ($p=0,0030$). O teste de Dunn mostrou, com $p<0,05$, que as diferenças ocorreram entre os distritos sul e central e entre oeste e central.

TABELA 7 – Estatística descritiva dos teores de nitrato por região de produção das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.

REGIÃO (Distrito)	N	MÉDIA (g /100 g)	DESVIO PADRÃO	MEDIANA (g /100 g)	CV (%)	P₂₅	P₇₅
Norte	38	0,0050	0,0116	0,0023	232,0	0,0010	0,0045
Sul	46	0,0259	0,1044	0,0025	403,0	0,0010	0,0046
Leste	42	0,0040	0,0067	0,0018	167,5	0,0007	0,0051
Oeste	39	0,0041	0,0047	0,0027	114,6	0,0016	0,0038
Central	42	0,0307	0,1838	0,0007	598,7	0,0001	0,0024
TOTAL	207	0,0139	0,0968	0,0021	693,0	0,0007	0,0042

NOTA: CV = Coeficiente de Variação

A forma de processamento não-artesanal apresentou menor dispersão em relação à média do que o artesanal, porém, ambos apresentaram grande variabilidade dos teores utilizados (TABELA 8).

Como os dois grupos apresentam tamanho de amostras superiores a 30, o teste Z foi aplicado e encontrou o valor de $p= 0,2888$, indicando que não existe diferença significativa entre as médias.

TABELA 8 – Estatística descritiva dos teores de nitrato segundo a forma de processamento das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.

PROCESSO	N	MEDIA (g/100 g)	DESVIO PADRÃO	MEDIANA (g /100 g)	CV (%)	P ₂₅	P ₇₅
Artesanal	127	0,0191	0,1211	0,0021	635,5	0,0006	0,0045
Não- artesanal	80	0,0072	0,0269	0,0021	372,6	0,0009	0,0037

NOTA: CV = Coeficiente de Variação

Na Tabela 9, são apresentados os teores de nitrato acima do limite permitido, encontrados nas lingüiças, e a sua correspondência com a ingestão diária aceitável.

TABELA 9 - Relação entre os valores acima do limite permitido e a ingestão diária aceitável para nitrato, nas amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.

Valores Acima do Limite (VMP=0,0300 g /100 g)	Nº de Vezes da IDA (IDA=0 - 0,0037g /kg)
0,0303	8,2
0,0315	8,5
0,0373	10,1
0,0381	10,3
0,0687	18,6
0,0691	18,7
0,2300	62,2
0,6780	183,2
1,1930	322,4

NOTA: IDA = Ingestão Diária Aceitável.
VMP = Valor Máximo Permitido

5.3 Nitrito

Observa-se na Tabela 11, que 50% das amostras apresentaram teores de nitrito não detectável. Além disso, os coeficientes de variação são extremamente altos, mostrando a falta de padronização do processo (TABELA 10).

Através do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, foi comparado as medianas dos teores de nitrito entre os diferentes tipos de lingüiças, encontrando valores de $p=0,0292$, havendo diferença estatisticamente significativa entre os valores medianos das lingüiças bovina e mista.

TABELA 10 – Estatística descritiva dos teores de nitrito segundo tipo das amostras de lingüiças produzidas. Campo Grande, MS, 2005.

TIPO	N	MÉDIA g /100 g	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	CV (%)
BOVINA	95	0,0009	0,0025	0,0000	277,8
AVES	08	0,0001	0,0002	0,0000	200,0
MISTA	59	0,0013	0,0033	0,0000	253,8
SUÍNA	45	0,0003	0,0009	0,0000	300,0
TOTAL	207	0,0008	0,0025	0,0000	312,5

NOTA: CV = Coeficiente de Variação

Na Tabela 11, através da distribuição do percentil, observa-se a utilização de baixas concentrações de nitrito no processo de fabricação das lingüiças.

TABELA 11 – Distribuição do percentil dos teores de nitrito encontrados nas amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.

PERCENTIL	POSIÇÃO	TEOR DE NITRITO (g /100 g)
10	22	ND
20	42	ND
30	62	ND
40	83	ND
50	104	ND
60	125	0,0001
70	145	0,0002
80	165	0,0004
90	186	0,0015
100	207	0,0151

NOTA: ND = Não detectado.

Observou-se a utilização de baixas concentrações de nitrito e alta variabilidade das mesmas, em todos os distritos sanitários (TABELA 12).

Através de comparação de medianas dos teores de nitrito pelo teste de Kruskal-Wallis, as mesmas foram consideradas estatisticamente significativas ($p=0,0045$). O Teste de Dunn com $p<0,05$ detectou que a diferença ocorreu entre os distritos sul e central.

TABELA 12 –Estatística descritiva dos teores de nitrito por região de produção das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.

REGIÃO (Distrito)	N	MÉDIA (g /100 g)	DESVIO PADRÃO	MEDIANA (g /100 g)	CV (%)	P₂₅	P₇₅
NORTE	38	0,0006	0,0017	0,0002	283,3	0,0000	0,0003
SUL	46	0,0018	0,0034	0,0004	188,9	0,0000	0,0015
LESTE	42	0,0006	0,0025	0,0000	416,7	0,0000	0,0002
OESTE	39	0,0003	0,0009	0,0000	300,0	0,0000	0,0002
CENTRAL	42	0,0008	0,0028	0,0000	350,0	0,0000	0,0001
TOTAL	207	0,0008	0,0025	0,0000	288,3	0,0000	0,0004

NOTA: CV = Coeficiente de Variação

Os processos, artesanais e não-artesanal, apresentaram alta dispersão em relação às médias dos teores de nitrito, com CV= 291,4 e 315,6%. Através do percentil observou-se que os dois processos utilizaram as mesmas concentrações (TABELA 13). A média dos teores de nitrito entre os dois processos não foi considerada estatisticamente significativa, pelo teste Z ($p=0,6390$).

TABELA 13 – Estatística descritiva dos teores de nitrito segundo a forma de processamento das amostras de lingüiças. Campo Grande, MS, 2005.

PROCESSO	N	MEDIA (g /100)	DESVIO PADRÃO	MEDIANA (g /100 g)	CV (%)	P ₂₅	P ₇₅
Artesanal	127	0,0009	0,0026	0,0000	291,4	0,0000	0,0003
Não-artesanal	80	0,0007	0,0023	0,0001	315,6	0,0000	0,0003

NOTA: CV = Coeficiente de Variação; P₂₅ = Percentil 25; P₇₅ = Percentil 75.

Na Tabela 14, observa-se a correspondência entre os teores de nitrito e a ingestão diária aceitável, nas amostras de lingüiças analisadas.

TABELA 14 – Correspondência entre os teores de nitrito e a ingestão diária aceitável, nas amostras de lingüiças analisadas. Campo Grande, MS, 2005.

Teores	Nº de Amostras	Nº de Vezes da IDA (IDA=0 – 0,00007 g /Kg)
ND	107	-
0,0001 – 0,0006	67	1,4 a 8,6
0,0007 – 0,0011	06	10,0 – 15,7
0,0012 – 0,0016	08	17,1 – 22,8
0,0017 – 0,0031	06	24,3 – 44,3
0,0050 – 0,0075	06	71,4 – 107,1
0,0081 – 0,0151	07	115,7 – 215,7

NOTA: ND = Não Detectado.

IDA = Ingestão Diária Aceitável

6 DISCUSSÃO

O delineamento transversal apresenta limitações no que se refere às inferências causais, pois as informações sobre exposição e desfecho são coletadas em um mesmo momento. Outras limitações envolvem a qualidade da produção das amostras, pois as mesmas foram coletadas em datas pré-estabelecidas para renovação do alvará sanitário e dos estabelecimentos comerciais, pois os mesmos não eram clandestinos.

Os resultados obtidos foram nove amostras (4,0%) com teores de nitrato acima do permitido, e uma com nitrito (0,5%). Estes resultados apresentam uma evolução positiva quanto às boas práticas de fabricação no município de Campo Grande, quando comparados aos de Denadai et al. (1995), que obtiveram 17% acima da legislação vigente. Estão acima dos encontrados por Ximenes et al. (1998) e Martins (2002), no Distrito Federal, e Guimarães & Pena (2002) em Belém, os quais encontraram os níveis de nitrato e nitrito dentro dos padrões vigentes.

Porém, estão abaixo dos resultados de Oliveira (2003), Fernandez et al. (2000), Campos et al. (1993) Manhoso & Rudge (1999), Brígido et al. (2002), que encontraram 7,14%, 26,7%, 13,6%, 10% e 50% em Brasília, Petrópolis (RJ), Belo Horizonte, Marília (SP) e São Paulo, respectivamente. E o inverso de Ruela et al. (2005), em Minas Gerais, onde uma amostra para nitrato (0,4%), e nove para nitrito (22%) excederam o limite legal.

As amostras com valores acima dos padrões recomendados (TABELA 4) podem ser decorrentes da utilização excessiva de aditivos para inibir crescimento bacteriano na matéria prima de má qualidade, homogeneização deficiente no procedimento de fabricação ou erro de cálculo e pesagem do aditivo, o que

caracterizam não conformidade com as boas práticas de fabricação, conforme estabelecido pela portaria n.º 326 de 30 de setembro de 1997 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 1997).

De acordo com a distribuição do percentil para os teores de nitrato apresentados na Tabela 6, indicam utilização de baixas concentrações, ou sugere redução do mesmo ao íon nitrito. Por ser precursor de nitrito, sua concentração tende a diminuir (PEREZ, 2004).

A constatação de que em 50% das amostras não foi detectado nitrito (TABELA 11), é preocupante sob o ponto de vista de conservação e segurança sanitária, pois uma de suas funções é ter ação bacteriostática retardando o crescimento de microrganismos e evitando o desenvolvimento de esporos, principalmente o *Clostridium botulinum* causador do botulismo, que é uma intoxicação alimentar letal. O nível residual de nitrito detectado em carnes curadas é bastante reduzido em relação ao teor adicionado, pois o mesmo reage com radicais aminas da carne durante o processamento e a estocagem (JAY, 1978). Em torno de 50% do nitrito adicionado inicialmente (75ppm) foi encontrado por Pérez-Rodriguez (1996), em amostras de salsichas defumadas armazenadas por 120 dias; enquanto Amin e Oliveira (2005), encontraram 29% dos 200ppm adicionados em lingüiça bovina curada, sem adição de ascorbatos, estocada por 44 dias, apresentando inibição bacteriana.

A ação preventiva do nitrito é dependente da concentração e de outros fatores como o pH e a presença de ascorbatos. A utilização de ascorbatos permite o uso de baixas concentrações de nitrito, pois o mesmo potencializa a ação antimicrobiana dos nitritos e oferecem grande proteção contra as reações de nitrosação, minimizando a exposição aos composto N-nitrosos (CASSENS, 1997; JEREZ, 2004;

WAKER,1990). Atualmente nos Estados Unidos o conteúdo residual de nitrito é em torno de 10 ppm com adição de ascorbato (CASSENS,1997).

Por outro lado, esta ausência de nitrito pode ser indicativa de utilização de baixos teores, ou que os mesmos deram origem as nitrosaminas, considerando a não informação da utilização de antioxidantes em 60,0% das amostras (FIGURA 6), pois as mesmas não tinham rótulo e nem informação sobre os ingredientes utilizados no processamento, através do documento da vigilância sanitária, que as acompanhou.

Apesar da utilização de baixas concentrações, detectou-se grande variabilidade nos teores adicionados, através de coeficientes de variação extremamente altos, mostrando falta de padronização dos processos produtivos, tanto o artesanal quanto o não-artesanal (TABELA 5, 7, 8, 10, 12 e 13). Para nitrato as maiores diferenças ocorreram entre os distritos sul e central e entre oeste e central, e para nitrito entre o distrito sul e central, nos tipos de lingüiça bovina e mista.

Em 2003 foi realizada uma revisão da IDA para nitrito, definindo um novo limite (0 – 0,07 mg) por kg de massa corporal, como a portaria nº. 1004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária foi estabelecida em 1998, o valor máximo permitido corresponde a 214,3 vezes a IDA (BRASIL, 1999), oferecendo alto risco à saúde do consumidor, caracterizando a necessidade de recomendação dos teores com base na IDA atual publicada pelo JECFA.

Para definição dos limites de tolerância na legislação, são considerados os valores das IDA e a necessidade tecnológica. Como a exposição a estes aditivos não está restrita aos produtos curados, deve-se levar em conta a ingestão diária potencial de todas as fontes (alimentos, água, cosméticos, pesticidas, cigarro,

drogas e medicamentos), e a redução de 20% dos 25% do nitrato consumido em nitrito (SILVESTRE e GLORIA, 1989).

A verificação do risco que o produto pode oferecer à saúde do consumidor foi realizada considerando que a Ingestão Diária Aceitável (IDA) máxima para o nitrato é de 3,7 mg / Kg ($=0,0037\text{g / Kg}$) de peso corporal, e, o peso médio padronizado pela FAO / OMS é de 60 Kg, um adulto pode consumir $0,0037\text{ g} \times 60 = 0,222\text{ g}$ de nitrato por dia. O valor máximo permitido para nitrato em produtos cárneos é de 0,0300 g /100 g de produto. Sendo assim, para as duas maiores concentrações de nitrato (0,6780 e 1,1930 g/ 100 g), um indivíduo adulto poderia consumir no máximo 32,7 e 18,6 g de lingüiça, para não ultrapassar a IDA.

O peso médio encontrado para o gomo das lingüiças amostradas foi de 112,52 g, logo um único gomo já continha estes teores demonstrados nas Tabelas 6 e 11.

Levando-se em conta que indivíduos de diferentes faixas etárias podem vir a consumir estes produtos e que as três maiores concentrações correspondem a valores da IDA acima do peso médio de 60 Kg, padronizado pela FAO, o consumo destes alimentos pode representar riscos à saúde, tanto para crianças quanto para adultos. Principalmente para as crianças, cuja baixa acidez do estômago facilita a transformação de nitrato em nitrito através de bactérias, o qual quando absorvido, converte a hemoglobina em metahemoglobina, impedindo a mesma de efetuar o transporte normal do oxigênio (DENADAI et al., 1995).

Considerando a mesma relação para nitrito, um indivíduo adulto poderia consumir 0,0042 g de nitrito por dia, o que corresponde a 28 g de lingüiça para não ultrapassar a IDA. Na Tabela 14, observa-se que 32 amostras, com teores de nitrito

abaixo do valor máximo permitido pela portaria, apresentaram valores expressivos em relação à IDA, com treze (6,3%) acima da mesma.

Apesar do nitrito ser mais tóxico que o nitrato, sua dose letal para adultos está em torno de uma grama, porém há relatos de surtos de metahemoglobinemia com o consumo de 460 mg / litro. 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 (CDC, 1997). Além da formação de metahemoglobina, produz vasodilatação, relaxamento da musculatura lisa em geral, e formação de composto n-nitroso (MIRVISH, 1994).

Quanto ao risco para câncer de estômago, somente é possível dimensioná-lo através do consumo alimentar, conhecendo a frequência e a quantidade de todas as fontes destes aditivos e dos antioxidantes, pois ingestão de 120 mg de vitamina C com uma dieta contendo 360 mg de nitrato por dia, pode reduzir significativamente a formação de nitrosaminas in vivo (MIRVISH et al., 1998).

Segundo a análise da evolução de consumo de alimentos no Brasil, entre os períodos de 1974-1975 e 2002-2003, realizada pelo IBGE (2004), os embutidos são um grupo de alimentos, cuja participação na dieta aumentou em 300%, e a quantidade de frutas e verduras corresponde a um terço das 400 g diárias recomendadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1990).

Considerando que as escolhas alimentares são determinadas nem sempre pela preferência individual, mas muito mais pelo sistema de produção, abastecimento de alimentos e informações adequadas, o Estado pode garantir, por meio de suas funções regulatórias e ações de promoção da saúde, melhor qualidade da alimentação dos indivíduos.

A promoção da qualidade sanitária dos alimentos deve ser uma prioridade na agenda da saúde pública, uma vez que a disponibilidade de alimentos seguros, além de melhorar a saúde das pessoas e a produtividade de um país, é um direito básico dos cidadãos.

7 CONCLUSÕES

Através dos resultados observou-se que as amostras de lingüiças apresentaram grande variabilidade tanto para os teores de nitrato quanto para nitrito sugerindo a não padronização dos níveis adicionados aos produtos durante o processo de fabricação.

Os teores de nitrato adicionados apresentaram diferenças significativas entre os distritos sul e central e entre oeste e central, e para nitrito as diferenças foram entre os distritos sul e central, nas lingüiças bovinas e mistas de produção artesanal e não-artesanal.

Dentre os quatros tipos de lingüiças analisadas, as bovinas e mistas tiveram amostras com teores de aditivos acima dos limites legais.

Os dois processos: artesanal e não-artesanal, apresentaram grande variabilidade dos teores de nitrato e nitrito adicionados, indicando que a falta de padronização no processo de fabricação de lingüiças, independe do tipo de processo produtivo.

As três maiores concentrações de nitrato acima do VMP pela legislação vigente, correspondem a valores da IDA acima do peso médio de 60 Kg, padronizado pela FAO, oferecendo risco à saúde tanto da população infantil quanto adulta.

Considerando os teores de nitrato e nitrito encontrados em relação à IDA, apesar do desconhecimento da quantidade e da frequência de consumo e a ausência de nitrito na metade das amostras, os produtos analisados podem oferecer risco aos consumidores, tornando necessária intervenção da vigilância sanitária para garantir alimento seguro.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção artesanal devido ao desconhecimento tecnológico e a não apresentação de rótulo identificando sua composição sugere a presença exógena de nitrosaminas no produto, o que implica na necessidade de intervenção do serviço de vigilância sanitária e realização de estudos destas substâncias nestes produtos.

Considerando a variabilidade dos teores, a necessidade da adição de antioxidantes para impedir a formação exógena de nitrosaminas e o limite para nitrito da portaria acima da IDA, é necessário que o serviço de vigilância sanitária crie protocolos de produção contendo teores de nitrato e nitrito e antioxidantes em relação à quantidade de lingüiça a ser fabricada, objetivando uma padronização, que possibilitará o fornecimento de produto com maior qualidade e segurança aos seus consumidores, pois a garantia da qualidade sanitária dos alimentos implica na adoção de medidas preventivas e de controle em toda cadeia produtiva, desde sua origem até o consumo do alimento no domicílio.

Diante a exposição por nitrato e nitrito de várias fontes, possibilitando a formação endógena de nitrosaminas, a grande estratégia de quimioprevenção está no bloqueio da reação de nitrosação, através do consumo de antioxidantes pela dieta rica em frutas e verduras, fazendo-se necessária a difusão das diretrizes nacionais sobre alimentação saudável definida no Guia de Alimentação Saudável para a População Brasileira, com uma parceria entre governo, profissionais de saúde, setor produtivo e as famílias, pois evidências científicas apontam de forma

inequívoca e consistente, o impacto da alimentação saudável na prevenção de alguns tipos de câncer (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Como o rótulo é uma ferramenta efetiva para a escolha de alimentos mais saudáveis pela população, torna-se necessário informar na rotulagem do produto, a quantidade de aditivo utilizado e sua percentagem em relação à ingestão diária aceitável.

Para melhor estimativa do risco, são imprescindíveis estudos que caracterizam a dieta habitual dos indivíduos, e a sua relação com a saúde, especialmente os de consumo alimentar que incluam alimentos fontes de nitratos, nitritos e vitamina C, para identificação da dieta local e desta forma contribuir para prevenção e reduzir riscos de câncer.

REFERÊNCIAS

- ALMUDENA, A.; LIZANO, J. **Nitritos, nitratos y nitrosaminas**. Madrid: Fundacion Ibérica para La Seguridad Alimentaria, 2001.
- AMIN, M.; OLIVEIRA, J. V. **Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de *Clostridium perfringens* tipo A em lingüiça bovina curada**. Campo Grande: Departamento de Tecnología da Alimentos e Saúde Pública, 2005. Disquete.
- ANDRADE, R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de nitrato e nitrito e N-nitrosaminas em produtos cárneos**. 2004. 201f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- ANJOS, A. C.; RIBEIRO, P. O. O nitrito em carnes curadas: vantagens, desvantagens e recursos tecnológicos para reduzir os níveis de nitrosaminas no bacon. **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 50, p. 8-10, 1997.
- AYRES, M.; AYRES, M. J.; AYRES, D. L. SANTOS, A. S. **BioEstat 2.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Brasília. Sociedade Civil Mamirauá – CNPq. 2000.
- BAKIR, T.; CAN, G.; SIVILOGLU, C.; ERKUL, S. Gastric cancer and other organ cancer history in the parents of patients with gastric cancer. **European Journal of cancer Prevention**, v. 12, n. 3, p. 183-189, 2003.
- BARTSCH, H.; MONTESANO, R. Relevance of nitrosamines to human câncer. **Carcinogenesis**, v. 5, p. 1381-1393, 1984.
- BEDNAR, C.; KIES, C. Nitrate and vitamin C from fruit and vegetables: impact of intake variations on nitrate and nitrite excretions of humans. **Plant Foods Human Nutrition**, n. 45, v. 1, p. 71-80, 1994.
- BLOCK, G. Epidemiologic evidence regarding vitamin C and câncer. **American Journal Clinical Nutrition**, n. 4, v.57, p. 598-599, 1993.
- BONNE, C. W.; KELLOFF, G. J.; MALONE, W.E. Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 50, n. 1, p. 2-9, 1990.

BOTTERWECK, A. A.; BRANDT, P. A.; GOLDBOHM, R. A. Vitamins, carotenoids, dietary fiber, and risk of gastric carcinoma: results from a prospective study after 6,3 years of follow-up. **American Cancer Society**, n. 88, v. 4, p. 737-748, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. OPAS. A vigilância, o controle e a prevenção das doenças crônicas não transmissíveis: DCNT no contexto do Sistema Único de Saúde brasileiro, Brasil, Brasília, 2005, 80p.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria nº. 326 de 30 de julho de 1997. Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores / industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 de ago. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria nº 1.004 de 11 de dezembro de 1998. Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos e seus limites máximos para carne e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 de mar. 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde/GM. **Portaria nº. 1359 de 21 de jul. 2003**. Define que a redução da morbimortalidade das doenças e agravos não transmissíveis é condição essencial para a promoção da saúde no Brasil. Brasília, 2003.

BRIGIDO, B. M.; FREITAS, V. P. S.; MAZON, E. M. A.; BADOLATO, M. I. C. Avaliação da qualidade dos alimentos contemplados pelo programa paulista 2002. **Boletim do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 10-15, 2002.

BRITTO, A. V. Câncer de estômago: fatores de risco. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.13, p.1-12, 1997.

BUMBERG, J. B. Considerations of the scientific substantiation for antioxidant vitamins and beta carotene in disease prevention. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p.1521S-1526S, 1995.

CDC – CONTROL DISEASE CENTER. **EPI INFO versão 3.2**. Atlanta, 2004.

CDC – CONTROL DISEASE CENTER. Methemoglobinemia attributable to nitrite contamination of potable water through boiler fluid additives. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 49, n. 9, p. 202-210.

CAMPOS, G.; SAMPAIO, M. E.; LIESELOTTE, J.; GLORIA, M. B. A.; CUNHA, M. R. R.; NAVEIRA, R. M. L. P. Redução de nitrato e nitrito através do cádmio pelo método de coluna e de agitação mecânica. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, VIII, 1993, Porto alegre. **Anais**. Porto Alegre, 1993, p.88.

CANADA. Canadian Food Inspection Agency. **Animal products food of animal origin: livestock and meat processing: nitrosamines**. Data Modifical: 02 jul. 2003. Disponível em: <<http://www.inspection.gc.ca/english/anima/meavia/mmopmmhv/chap5/5.4-7e.shtml>>. Acesso em: 15 jul. 2005.

CASSENS, R. G. Residual nitrite in cured meat. **American Journal of Food Technology**, USA, v. 51, p. 51-55, 1997.

CHEN, H.; WARD, M. H.; GRAUBARD, B. I.; HEINEMAN, E. F.; MARKIN, R. M.; POTISCHMAN, N. A.; RUSSELL, R. M.; WEISENBURGER, D. D.; TUCKER, K. L. Dietary patterns and adenocarcinoma of the esophagus and distal stomach. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, n. 1, p. 137-144, 2002.

CHOW, C. K.; HONG, C. B. Dietary vitamin E and selenium and toxicity of nitrite and nitrate. **Toxicology**, Lenxington, v.180, p.195-207, 2002.

DENADAI, J. M.; DENADAI, S. M. S.; COSTA, D. C.; BRAGA NETO, J. A. Determinação dos níveis de nitrito e nitrato em embutidos na cidade de Campo Grande, MS. **Revista Científica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**, v. 2, n. 1, p. 29-32, 1995.

DORIA FILHO, U. **Introdução à bioestatística para simples mortais**. 1 ed. São Paulo: Negócio, 1999.

DUNCAN, C.; DOUGALL, H.; JOHNSTON, P.; GREEN, S.; BROGAN, R.; LEIFERT, C.; SMITH, L. M.; GOLDEN, M.; BENJAMIN, N. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. **Nature Medicine**, n. 1, p. 546-551, 1995.

Excel. Microsoft Corporation, United State American, 2000.

FERNANDEZ, A. T.; CASTRO, F.; BECKER, C. M. **Avaliação do teor de nitritos e da comercialização de lingüiças clandestinas obtidas no município de Petrópolis** – RJ, 2000. Disponível em:

<<http://www.unigranrio.br/veterinaria/nitritosemlinguiças.doc.html>>. Acesso em: 10 dez. 2004.

GAROFOLO, A.; AVESANI, C. M.; CAMARGO, K. G.; BARROS, M. E.; SILVA, S. R. J.; TADDEI, J. A. A. C.; SIGULEM, D. M. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. **Revista de Nutrição**. Campinas, n. 4, v. 17, p. 491-505, out./dez. 2004.

GERSTER. H. Beta carotene, vitamin E and vitamin C in different stages of experimental carcinogenesis. **European Journal Clinical Nutrition**, n. 49, p. 155-168, 1995.

GUIMARÃES, J. T. C.; PENA, R. S. Determinação do padrão de qualidade de lingüiças tipo calabresa na cidade de Belém (PA). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2002, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre, 2002, p. 150.

HAVERY, D. C.; FAZIO, T. Human exposure to nitrosamines from feeds. **Food Technology**. v. 79, p. 80-83, 1985.

HILL, J. M. Nitrate toxicity: myth or reality? **British Journal of Nutrition**, n. 81, p. 343-344, 1999.

IARC – International Agency for Research on Cancer. Unit of Descriptive Epidemiology. WHO cancer mortality databank. **Cancer Mondial**, 2002. Disponível em: <<http://www.dep.iarc.fr/dataava/globocan/who.html>>. Acesso em: 25 may. 2005.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Rio de Janeiro, 2004.

JACOBS, E. J.; CONNELL, C. J.; MCCULLOUGH, M. L.; CHAI, A.; JONAS, C. R.; RODRIGUEZ, C.; CALLE, E. E.; THUN, M. J. Vitamin C, Vitamin E, and multivitamin supplement use and stomach cancer mortality in cancer prevention study II cohort. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 11, n. 1, p. 35-41, 2002.

JAKSZYN, P., AGUDO, A., IBÁÑEZ, R., GARCIA-CLOSAS, R., PERA, G., AMIANO, P., GONZÁLEZ, C. A. Development of a food database of nitrosamines, heterocyclic amines, and polycyclic aromatic hydrocarbons. **American Journal Nutrition**, v. 134, n. 8, p. 2011-2014, 2004.

JASKIEWICZ, K.; VAN HELDEN, P. D.; WIID, I. J.; STEENKAMP, H. J.; VAN WYK, M. J. Chronic atrophic gastritis, gastric pH, nitrites and micronutrient levels in a population at risk for gastric carcinoma. **Anticancer Research**, v. 10, n. 3, p. 833-836, 1990.

JAY, J. M. Microbiologia moderna de los alimentos.2. ed. Zaragoza: Acribia, 1978. cap. 9, p. 176-181.

JEREZ, J. J. R. Nitratos, nitritos y botulismo. **Diário Dela Seguridad Alimentaria**, v. 21, p. 11-15, 2004.

KELLEY, J. R.; DUGGAN, J. M. Gastric cancer epidemiology and risk factors. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 56, p. 1-9, 2003.

KIM, H. J.; CHANG, W. K.; KIM, M. K.; LEE, S. S.; CHOI, B. Y. Dietary factors and gastric cancer in Korea: A case-control study. **International Journal of Cancer**, v. 97, p. 531– 535, 2002.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R. J. Stomach cancer incidence in Brazil: an ecologic study selected risk factors. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 13, p. 1-12, 1997.

KONO, S.; HIROHATA, T. Nutrition and stomach cancer. **Cancer Causes Control**, v. 7, n. 1, p. 41-55, 1996.

LEE, K. W.; LEE, H. J.; SURH Y.J.; LEE, C. Y. Vitamin C and cancer chemoprevention: reappraisal. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 78, p. 1074-1078, 2003.

LEE, K., GREGER. J. L., CONSAUL, J. R. Nitrate, nitrite balance, and synthesis of nitrate in humans consuming cures meats. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 44, p.188-194, 1986.

LEITE, H. P.; SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 18, n. 2, p. 87-94, 2003.

LEVALLOIS, P.; AYOTTE, P.; VAN MAANEN, J. M. S.; DESROSIERS, T.; GINGRAS, S.; DALLINGA, J. W.; VERMEER, I. T. M.; ZEE, J.; POIRIER, G. Excretion of volatile nitrosamines in a rural population in relation to food and drinking water consumption. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 1013-1019, 2000.

MANHOSO, F. F. R.; RUDGE, A. C. Aspectos microbiológicos, físico-químicos e histológicos das lingüiças tipo frescal comercializadas no município de Marília- SP. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 61, p. 44, 1999.

MARTINS, D. I.; MÍDIO, A. F. **Toxicologia de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2000.

MARTINS, V. A. **Determinação dos teores de nitrato e nitrito em lingüiças calabresas defumadas industrializadas e comercializadas no Distrito Federal**. 2002. 26 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília, Brasília, 2002.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado de Saúde. **Sistemas de informação de mortalidade**: coeficiente de mortalidade, 2005 Disponível em: <http://www.saude.ms.gov.br/Saude/Informacoes_em_saude/SIMMsAno2003.html>. Acesso em: 13 fev. 2006.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado de Saúde. **Sistemas de informação de mortalidade**: coeficiente de mortalidade, 2004b Disponível em: <http://www.saude.ms.gov.br/Saude/Informacoes_em_saude/SIMMsAno2003.html>. Acesso em: 18 out. 2004.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado de Saúde. **Sistemas de informação de mortalidade**: câncer no Mato Grosso do Sul - A nossa realidade, 2004a. Disponível em: <<http://www.saude.ms.gov.br/externo/downloads/MortalidadeBoletim1980-1999.doc>>. Acesso em: 10 out. 2004.

MAUAD, E. C.; NOGUEIRA, J. L.; SOUZA, J. M. P. S.; WOHRNATH, D. R.; OLIVEIRA, A. T. T.; COLLI, G.; COSTA, A. M. Câncer gástrico em adultos jovens. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 43, p. 299-304, 2000.

MCKNIGHT, G. M.; DUNCAN, C. W.; LEIFERT, C.; GOLDEN, M. H. Dietary nitrate in man: friend or foe? **British Journal of Nutrition**, n. 81, p. 349-358, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil**, 2002. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/rbc/n_48/v02/editorial.html>. Acesso em: 19 out. 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil, 2003.** Disponível em: <http://www.inca.gov.br/rbc/n_48/v02/editorial.html>. Acesso em: 06 jun. 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA. **Estimativas da incidência de câncer no Brasil, 2006.** Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2006/index.asplink=tabelaestados.asp&uf=MS.htm>>. Acesso em: 21 fev. 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. COORDENAÇÃO GERAL DA POLÍTICA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO. **Guia alimentar para a População Brasileira: promovendo a alimentação saudável.** Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

MIRVISH, S. S. The diet cancer story. Oxford. **Health News**, v. 12, n. 2, p. 6, 1994..

MIRVISH, SS., GRANDJEAN, A. C., REIMERS, K.J., CONNELLY, B. J., CHEN, S. C., MORRIS, C. R., WANG, X., HAORAH, J ., LYDEN, B. J. Effect of ascorbic acid dose taken with a meal on nitrosoproline excretion in subjects ingesting nitrate and praline. Oxford. **Journal of Nutrition and Cancer**,v. 31, p. 106-110, 1998.

MONTEIRO, C. A; MONDINI, L.; SOUZA, A. L. M; POPKIN, B. M. Da desnutrição para a obesidade: A transição nutricional no Brasil. In: Monteiro, C. A. (Org.). **Velhos e novos males da saúde no Brasil.** 2 ed. São Paulo: Hucitec, 2000. p. 247-255.

MOTTA, V. T. ; WAGNER, M. B. **Bioestatística.** 1.ed. Caxias do Sul: EDUCS, 2003.

MOURA, L. **Política nacional de doenças e agravos não transmissíveis.** In: Seminário Sul mato-grossense em DANT, 2003. Campo Grande. Disponível em: <<http://www.saude.ms.gov.br>>. Acesso em: 15 set. 2003.

NIELSEN, J. B.; LINGS, S. Nitrosamine formation via non-prescription drugs? **Medical Hypotheses**, n. 42, p. 265-268, 1994.

OLIVEIRA, M. J. **Quantificação de nitrato e nitrito, avaliação físico-química, análise de rotulagem e riscos químicos em lingüiças do tipo frescal comercializadas em Brasília, DF.** 2003. 94 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade Nacional de Brasília, Brasília, 2003.

OMS - ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. **Dieta, nutrition y prevencion de enfermedades crônicas**. Genebra, 1990, p. 97-132. (Série de informes técnicos, 797).

OPAS – ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Combate às doenças não transmissíveis. Brasil, 2004, p. 1-3.

PALMER, S. Diet, nutrition, and câncer. **Program Food Nutrition Science**, v. 9, n. 3-4, p. 283-341, 1985.

PAULA, T. P.; PERES, W. A. F.; CARMO, M. G. T. Os carotenóides no tratamento e prevenção do câncer. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 19, p. 100-108, 2004.

PERES, W. A. F.; PAULA, T. P.; SILVA, R. A. R. N.; COELHO, H. S. M. A atuação da vitamina A e carotenóides na hepatocarcinogênese. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 49, p. 113-120, 2003.

PÉREZ-RODRIGUEZ, M. L.; BOSCH-BOSCH, N.; GARCÍA-MATA, M. Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage. **Meat Science**, v. 44, n. 1, p. 65-73, 1996.

PETENUCCI, M. E.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Nitratos e nitritos na conservação de carnes. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 333, p.1-2, 2004.

PITOT, H. C.; DRAGAN, Y. P. Facts and theories concerning the mechanisms of carcinogenesis. **Faseb Journal**, v. 5, p. 2280-2286, 1991.

PODMORE, I. D.; GRIFFITHS, H. R.; HERBERT, K. E.; MISTRY, N.; MISTRY, P.; LUNEC, J. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. **Nature**, London, v. 392, n. 6676, p. 559, 1998.

RAMON, J. M.; SERRA, M. L.; CERDO, C.; OROMI, J. Nutrient intake and gastric câncer risk: a case-control study in Spain. **International Journal Epidemiology**, v. 22, n. 6, p. 983-988, 1993.

RIBOLI, E.; NORAT, T. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. **American Journal Clinical Nutrition**, USA, v.78, p. 559-569, 2003.

RUELA, I. C. A.; ANDRIOTO, D. S. M.; MACHADO, F. L. C.; LOURENÇO, M.; MARQUES, F. R.; MOREIRA, M. C.; BISPO, G. L. Avaliação do teor de nitrato e nitrito em lingüiças comercializadas no Estado de Minas Gerais em 2004. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, VIII, 2005, Búzios. **Anais**. Búzios, 2005. p.155.

RYWOTYCKI, R. The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. **Meat Science**, v. 60, p. 335-339, 2002.

SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz - **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: O Instituto, 1985.

SHRAMM, J. M. A.; OLIVEIRA, A. F.; LEITE, I. C.; VALENTE, J. G.; GADELHA, A. M. J.; PORTELA, M. C.; CAMPOS, M.R. Transição epidemiológica e o estudo de carga de doença no Brasil. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 897-908, out/dez. 2004.

SILVA, C. R. M.; NAVES, M. M. V. Suplementação de vitaminas na prevenção do câncer. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 2, 2001.

SILVESTRE, M. P. C.; GLORIA, M. B. A. N-nitrosaminas não voláteis em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3 / 4, p. 209 – 219, 1989.

SINGH, N. P.; SABATÉ, J.; FRASER, G. E. Does low meat consumption increase life expectancy in humans? **American Journal of Clinical Nutrition**, Loma Linda, v. 78, n. 3, p. 526-532S, set. 2003.

SWANN, P. F. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitrosos compounds. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 26, p. 1761 – 1770, 1975.

STAHELIN, H. B.; GEY, K. F.; EICHHOLZER, M.; LUDIN, E. Beta-caroteno and cancer prevention: the Basel Study. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 53, n. 1 p. 265-269, 1991.

STEFANI, E.; BOFFETTA, P.; BRENNAN, P.; DENERO, P. H.; CARZOGLIO, J. C.; RONCO, A.; MENDILAHARSU, M. Dietary carotenoids and risk of gastric câncer: a case-control study in Uruguay. **European Journal Cancer Prevention**, v. 9, n. 5, , p. 329-334, 2000.

TSUBONO, Y.; TAKAHASHI, T.; IWASE, Y.; LITOI, Y.; AKABANE, M.; TSUGANE, S. Nutriente consumption and gastric cancer mortality in five regions of Japan. **Nutrition Cancer**, v. 1, n. 5, p. 405-407, 1997.

VELMURUGAN, B.; BHUVANESWARI, V.; NAGINI, S. Antiperoxidative effects of lycopene during N- methyl-Nnitro-Nnitrosoguanidine: induced gastric carcinogenesis. **American Fitoterapia Society**, n. 73, p. 604-611, 2002.

VERMEER, I. T.; PACHEN, D. M.; DALLINGA, J. W.; KLEINJANS, J. C.; VAN MAANEN, J. M. Volatile N- nitrosamine formation after intake of nitrate at the ADI level in combination with an amine rich diet. *Environment Health Perspect*, v. 106, n. 8, p. 459-463, 1998.

WALKER, R. Nitrate, nitrites and N-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implication. **Food Additive Contaminants**, v. 7, n. 6, p. 717-768 Nov.- Dec. 1990.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION .**Cancer: diet and physical activity's impact.** 2003. Disponível em: <<http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/cancer/en/html>>. Acesso em: 04 jun. 2004.

WHO/FAO - WORLD HEALTH ORGANIZATION/ FOOD ADMINISTRATION ORGANIZATION. Food Additives Series No 35. **Toxicological evaluation of Certain Food Additives.** Forty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 1996.

WHO/FAO - WORLD HEALTH ORGANIZATION/ FOOD ADMINISTRATION ORGANIZATION. Food Additives Series No 50. **Safety Evaluation of Certain Food Additives.** Fifty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 2003b. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htm>>. Acesso em: 26 ago. 2005.

WHO/FAO - WORLD HEALTH ORGANIZATION/ FOOD ADMINISTRATION ORGANIZATION. **Expert report on diet, nutrition and the prevention of chronic disease**, 2003a.

WU, J.; CHEN, J.; OHSHIMA, H; PIGNATELLI, B.; BOCHAM, J.; LI, J.; CAMPBELL, T. C.; PETO, R.; BARTSCH, H. Geografic Association between urinary excretion of N-nitroso compounds and oesophageal câncer mortality in China. **International Journal of Cancer**, v. 54, p. 713-719, 1993.

XIMENES, M. I. N.; RODRIGUES, G. M.; MARQUES, S. R. M. N. Teor residual de nitrato e nitrito em produtos cárneos curados, comercializados no Distrito Federal. **Revista de Saúde do Distrito Federal**, Brasília, v. 9, n.2, p. 53-55, 1998.

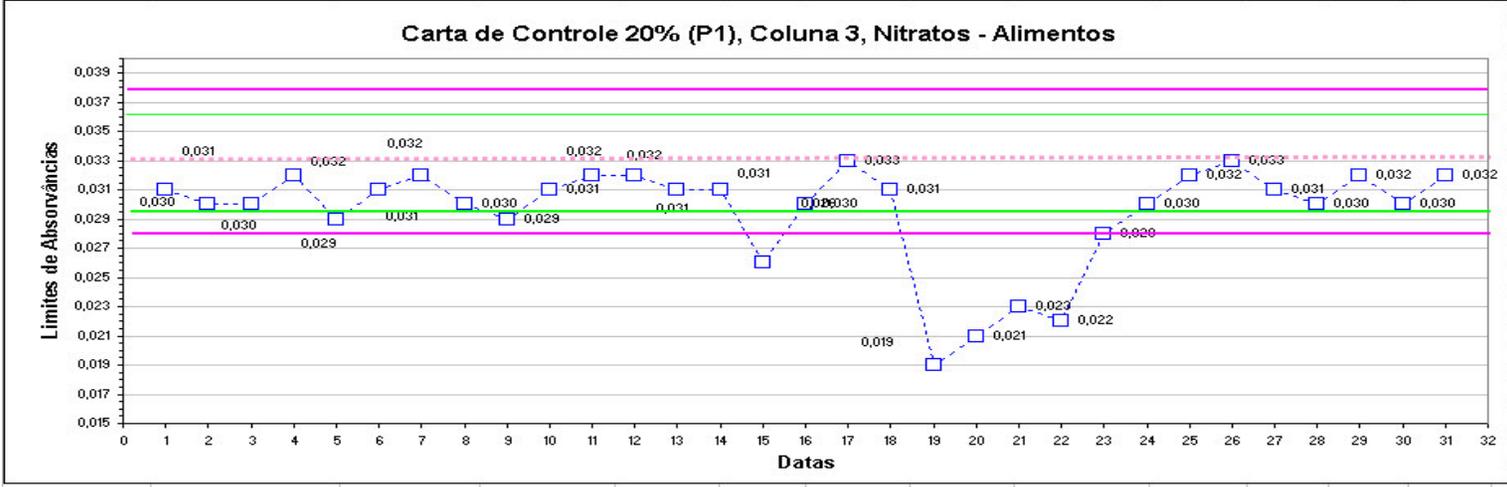
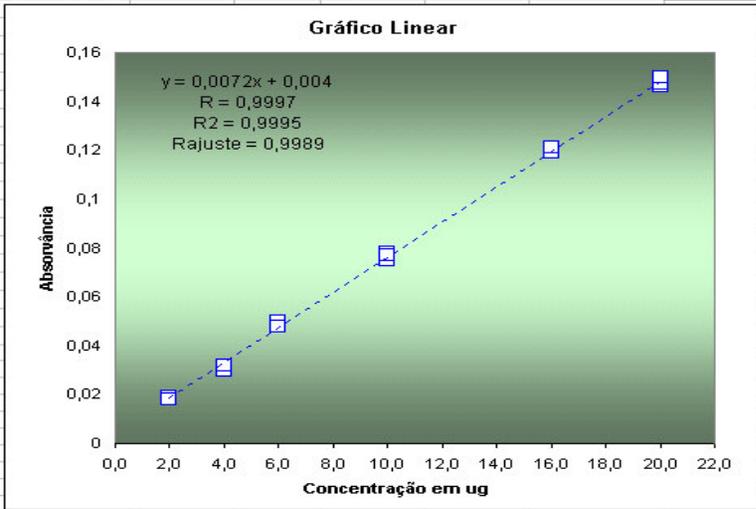
YANG, M. S. Cancer Information. **Journal of the National Cancer**, 1992.

APÊNDICE A - LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO

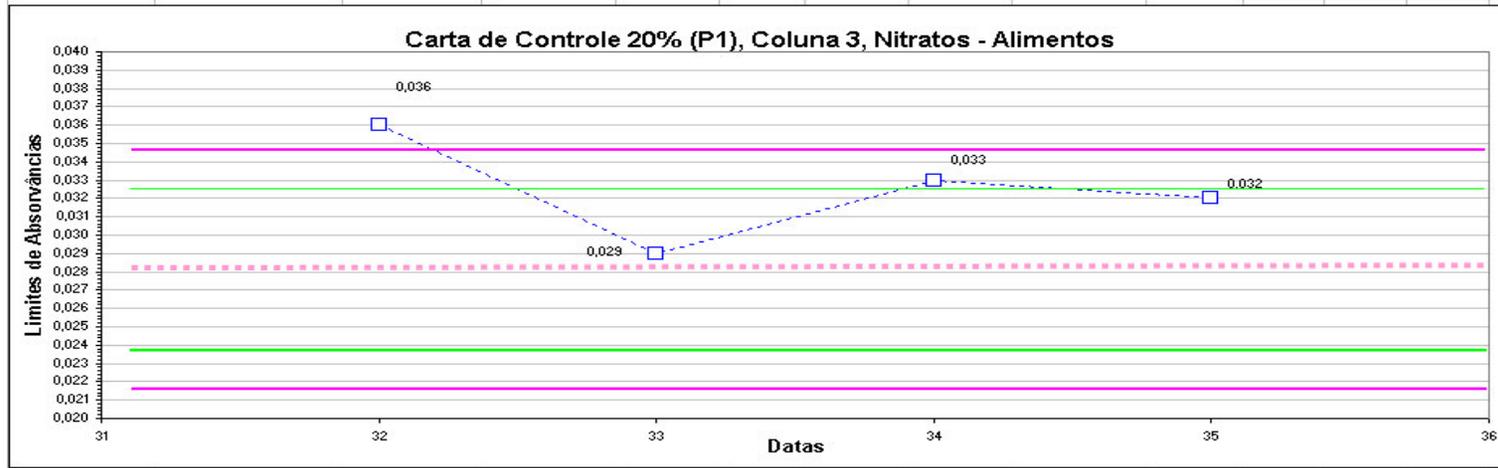
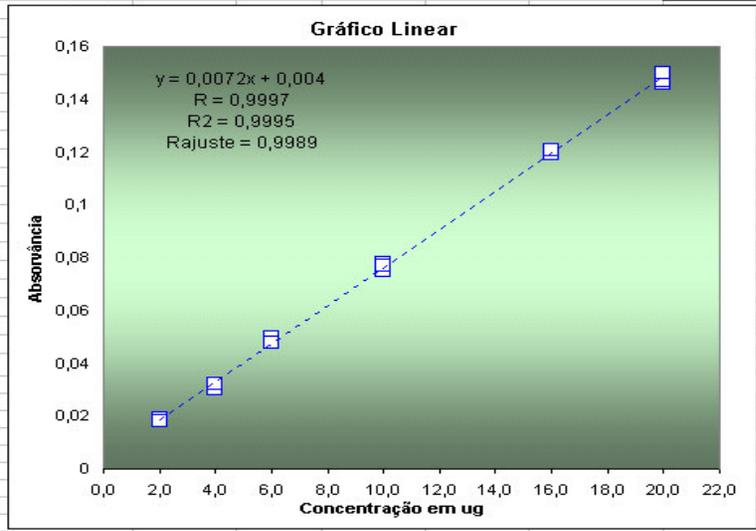
Nitrito									
Ordem	Data	Absorvância	ug/10 mL	linearidade	Média BRANCO μg	Limite de detecção= média Br + 3 x desvio padrão			
					0,0997	LD=	0,4946	$\mu\text{g}/10\text{mL}$	
1	9/2/04	0,001	0,2371	0,9996	desvio padrão amostral 0,1317				
2	10/2/04	0,000	0,0000	0,9999			0,4846	10	mL
3	11/2/04	0,000	0,0842	1,0000			x	100	mL
4	12/2/04	0,001	0,1443	1,0000					
5	13/2/04	0,001	0,0000	0,9999			x =	4,8460	$\mu\text{g}/100\text{g}$
6	18/2/04	0,002	0,3814	0,9997					
7	1/3/04	0,002	0,0947	0,9996			x =	0,00000485	$\text{g}/100\text{g}$
8	15/3/04	0,001	0,0538	0,9998				$4,85 \times 10^{-10}$	$\text{g}/100\text{g}$
9	6/4/04	0,002	0,1758	0,9996					
10	7/4/04	0,001	0,1170	0,9998					
11	7/4/04	0,001	0,268	0,9997					
12	8/4/04	0,000	0,0000	0,9999					
13	26/4/04	0,000	0,0000	0,9994					
14	25/5/04	0,001	0,0000	0,9999					
15	1/6/04	0,001	0,0000	0,9998					
16	14/6/04	0,000	0,0000	0,9998					
17	24/6/04	0,000	0,1500	0,9999					
18	5/7/04	0,000	0,0000	0,9998					
19	13/7/04	0,001	0,1735	0,9999					
20	21/7/04	0,000	0,0000	0,9995					
21	2/8/04	0,001	0,0000	0,9996					
22	11/8/04	0,001	0,4706	0,9997					
23	20/8/04	0,000	0,0000	0,9998					
24	30/8/04	0,002	0,0000	0,9979					
25	8/9/04	0,000	0,0000	0,9970					
26	13/9/04	0,000	0,0500	1,0000					
27	20/9/04	0,001	0,2500	0,9999					
28	29/9/04	0,001	0,1881	0,9998					
29	4/10/04	0,001	0,0000	0,9999					
30	9/11/04	0,000	0,0000	0,9978					
31	29/11/04	0,000	0,3505	0,9989					
32	6/12/04	0,000	0,0000	0,9997					
Média BR Abs =		0,001							

**APÊNDICE B - VERIFICAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA COLUNA ATRAVÉS DOS
PADRÕES P1, P3 E P5.**

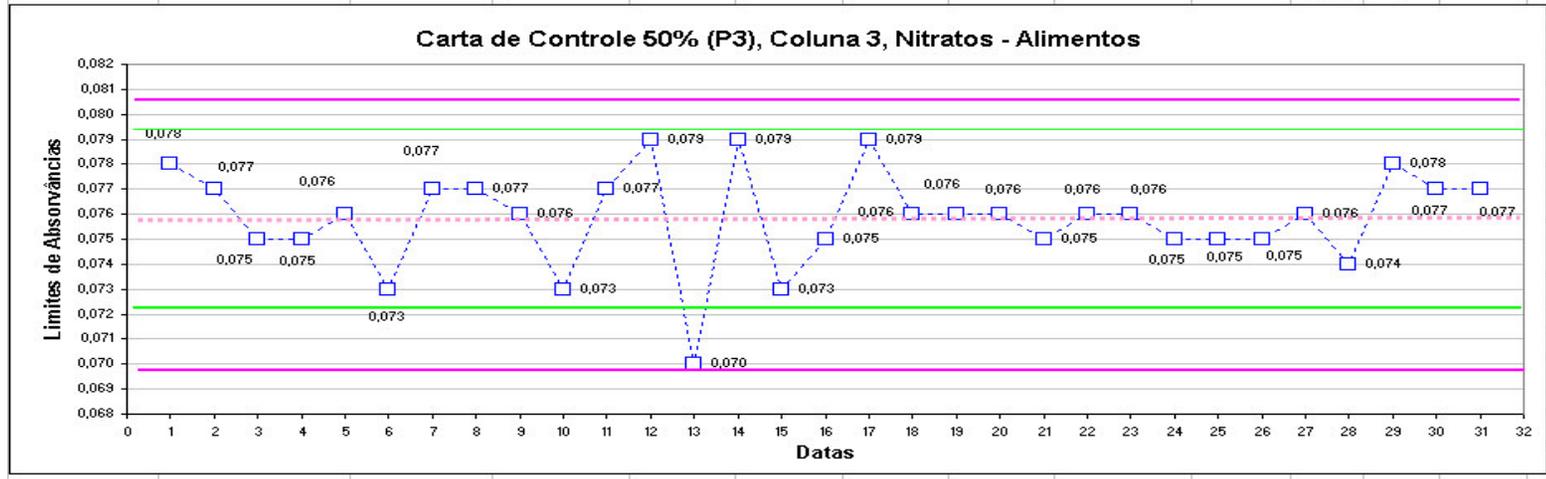
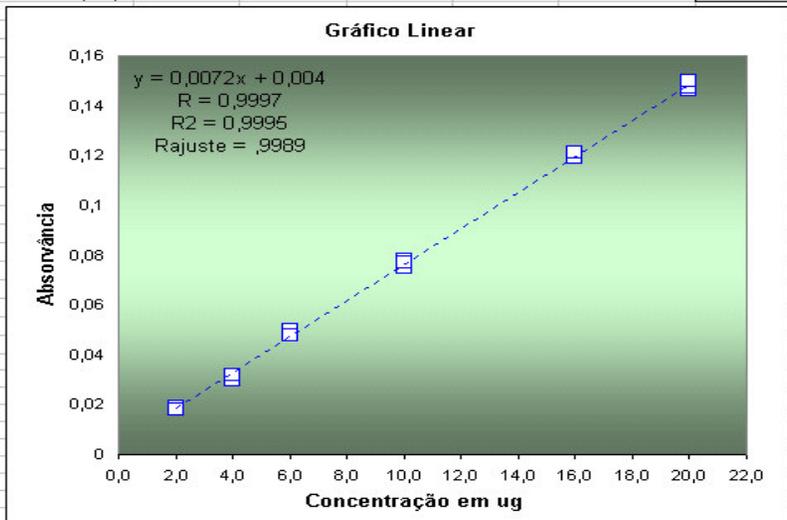
Pontos	X=Conc.	Y=Resp.	Coluna 3	Conc. mg/L	Datas	Pontos	Dados	Abs.	Conc.	Eficiência	
							CC 3	Br.	µg	%	
1	2,0	0,019	Média Y (20%) + 3xDesvio Padrão Y (20%)	0,034	Limite Superior de Alerta =			0,031	1,3301	100,00	
2	2,0	0,019	Média Y (20%) + 2xDesvio Padrão Y (20%)	0,033	Limite Superior de Controle =			0,030	1,2816	96,35	
3	2,0	0,018	Média Y (20%) + Desvio Padrão Y (20%)	0,029	Limite Inferior de Alerta =			0,030	1,2816	96,35	
4 (20%)	4,0	0,031	Média Y (20%) - Desvio Padrão Y (20%)	0,028	Limite Inferior de Controle =			0,032	1,3786	103,65	
5 (20%)	4,0	0,030	Média Y (20%) - 2xDesvio Padrão Y (20%)	0,031				0,029	1,2330	92,70	
6 (20%)	4,0	0,032	Média Y (20%) - 3xDesvio Padrão Y (20%)					0,031	1,3301	100,00	
7	6,0	0,050						0,032	1,3786	103,65	
8	6,0	0,048						0,030	1,2816	96,35	
9	6,0	0,048						0,029	1,2330	92,70	
10 (50%)	10,0	0,078						0,031	1,3301	100,00	
11 (50%)	10,0	0,075						0,032	1,3786	103,65	
12 (50%)	10,0	0,077						0,030	1,2816	96,35	
13 (80%)	16,0	0,119						0,029	1,2330	92,70	
14 (80%)	16,0	0,119						0,031	1,3301	100,00	
15 (80%)	16,0	0,121						0,032	1,3786	103,65	
16	20,0	0,146						0,031	1,3301	100,00	
17	20,0	0,147						0,031	1,3301	100,00	
18	20,0	0,150						0,026	1,0874	81,75	
Desvio Padrão Y =			0,0475	4,75E-02							
R =			0,9997								
R² =			0,9995								
Rajuste =			0,9989								
Média Branco =			0,001								
		Média Y (20%)	0,031								
		Desvio Padrão Y (20%)	0,0010								
L	Limite superior e inferior de alerta										
e	Média										
g	Limite superior e inferior de controle										
e											
n											
d											
a											



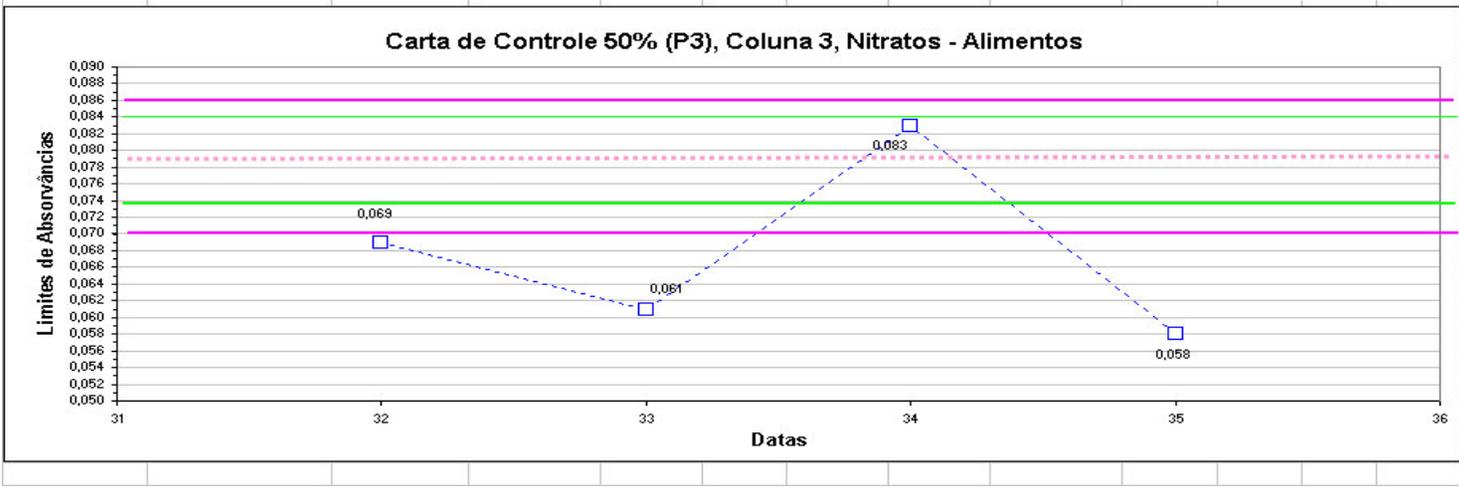
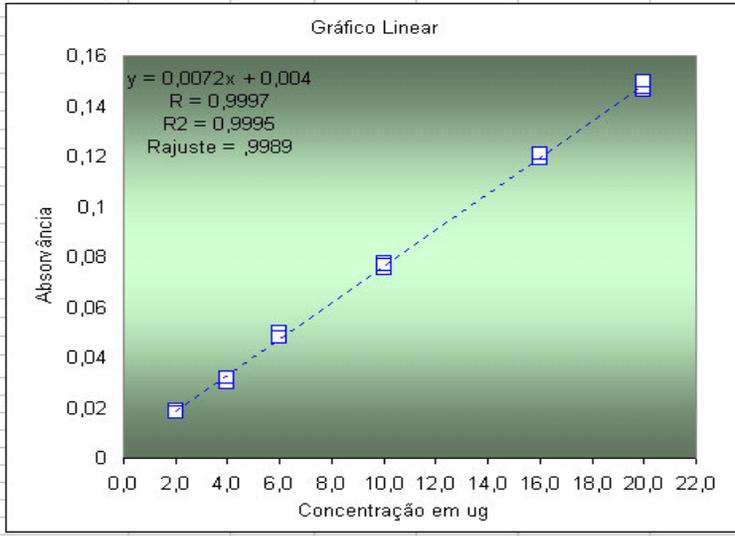
Pontos	X=Conc.	Y=Resp.	Coluna 3	Conc. mg/L	Datas	Pontos	Dados	Abs. Br.	Conc. µg	Eficiência %
1	2,0	0,019	Média Y (20%) + 3xDesvio Padrão Y (20%) =	0,034	Limite Superior de Alerta =					
2	2,0	0,019	Média Y (20%) + 2xDesvio Padrão Y (20%) =	0,033	Limite Superior de Controle =					
3	2,0	0,018	Média Y (20%) - 2xDesvio Padrão Y (20%) =	0,029	Limite Inferior de Alerta =					
4 (20%)	4,0	0,031	Média Y (20%) - 3xDesvio Padrão Y (20%) =	0,028	Limite Inferior de Controle =					
5 (20%)	4,0	0,030	Média Y(20%) =	0,031		9/11/04	32	0,036	1,5728	118,25
6 (20%)	4,0	0,032				6/12/04	33	0,029	1,2330	92,70
7	6,0	0,050				10/1/05	34	0,033	1,4272	107,30
8	6,0	0,048				3/2/05	35	0,032	1,3786	103,65
9	6,0	0,048								
10 (50%)	10,0	0,078								
11 (50%)	10,0	0,075								
12 (50%)	10,0	0,077								
13 (80%)	16,0	0,119								
14 (80%)	16,0	0,119								
15 (80%)	16,0	0,121								
16	20,0	0,146								
17	20,0	0,147								
18	20,0	0,150								
Desvio Padrão Y =	0,0475	4,75E-02								
R =	0,9997									
R ² =	0,9995									
R _{ajuste} =	0,9989									
Média Branco =	0,001									
		Média Y								
L	Limite superior e inferior de alerta	20%								
e		0,031								
g	Média	Desvio Padrão Y (20%)								
n		0,0010								
d	Limite superior e inferior de controle									
a										



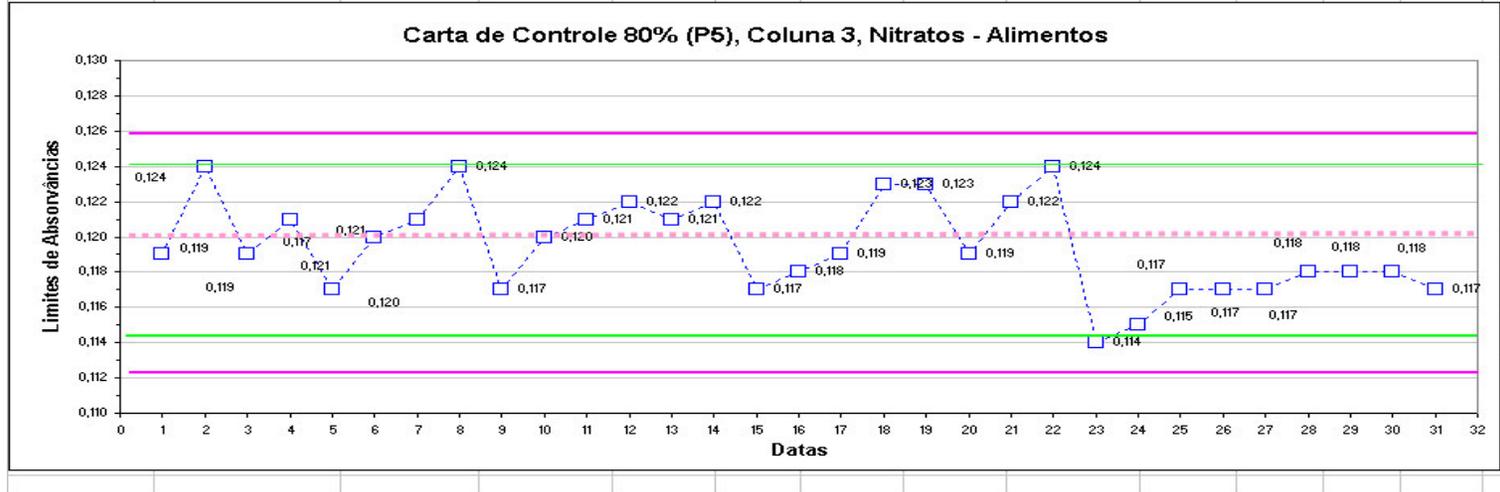
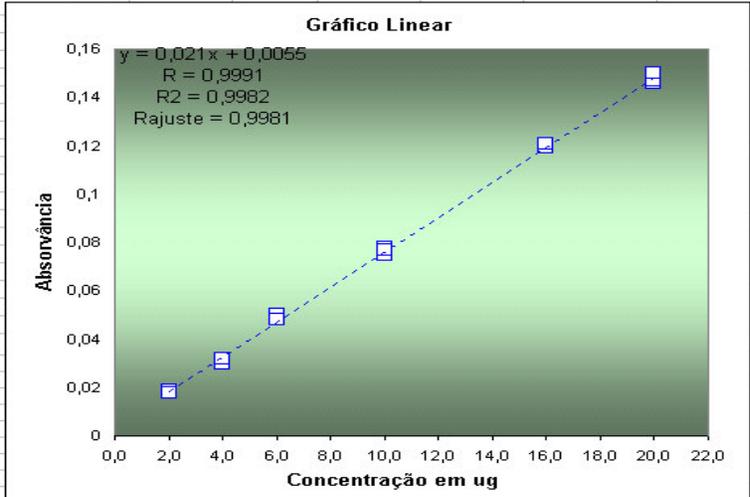
Pontos	X=Conc.	Y=Resp.	Coluna 3	Conc. mg/L	Datas	Pontos	Dados CC 3 P3 (50%)	Abs. Br.	Conc. µg	Eficiência %
1	2,0	0,019	Média Y (50%) + 3xDesvio Padrão Y (50%)	3,7694				0,078	3,6117	101,83
2	2,0	0,019	Média Y (50%) + 2xDesvio Padrão Y (50%)	3,6952				0,077	3,5631	100,46
3	2,0	0,018	Média Y (50%) + 1xDesvio Padrão Y (50%)	3,3986				0,075	3,4660	97,72
4 (20%)	4,0	0,031	Média Y (50%)	3,3245				0,075	3,4660	97,72
5 (20%)	4,0	0,030	Média Y (50%) - 1xDesvio Padrão Y (50%)	3,5469				0,076	3,5146	99,09
6 (20%)	4,0	0,032	Média Y (50%) - 2xDesvio Padrão Y (50%)					0,073	3,3689	94,98
7	6,0	0,050						0,077	3,5631	100,46
8	6,0	0,048						0,077	3,5631	100,46
9	6,0	0,048						0,077	3,5631	100,46
10 (50%)	10,0	0,078						0,077	3,5631	100,46
11 (50%)	10,0	0,075						0,077	3,5631	100,46
12 (50%)	10,0	0,077						0,076	3,5146	99,09
13 (80%)	16,0	0,119						0,073	3,3689	94,98
14 (80%)	16,0	0,119						0,077	3,5631	100,46
15 (80%)	16,0	0,121						0,079	3,6602	103,19
16	20,0	0,146						0,070	3,2233	90,88
17	20,0	0,147						0,079	3,6602	103,19
18	20,0	0,15						0,076	3,5146	99,09
Desvio Padrão Y =	0,0475	4,75E-02						0,076	3,5146	99,09
R =	0,9997							0,076	3,5146	99,09
R2 =	0,9995							0,076	3,5146	99,09
Rajuste =	0,9989							0,075	3,4660	97,72
Média Branco =	0,001							0,079	3,6602	103,19



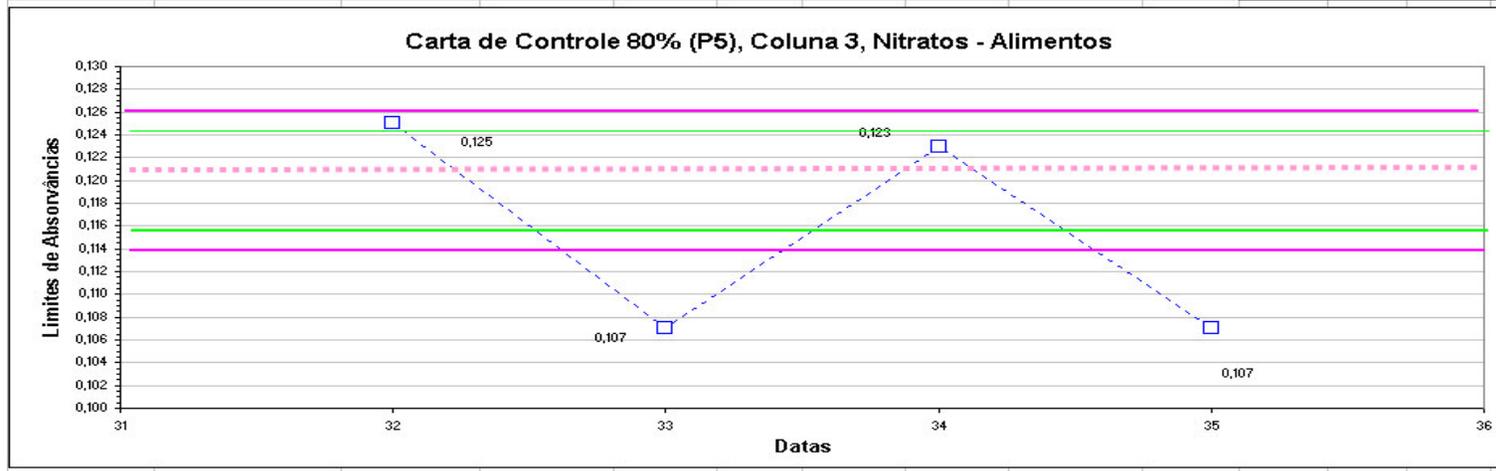
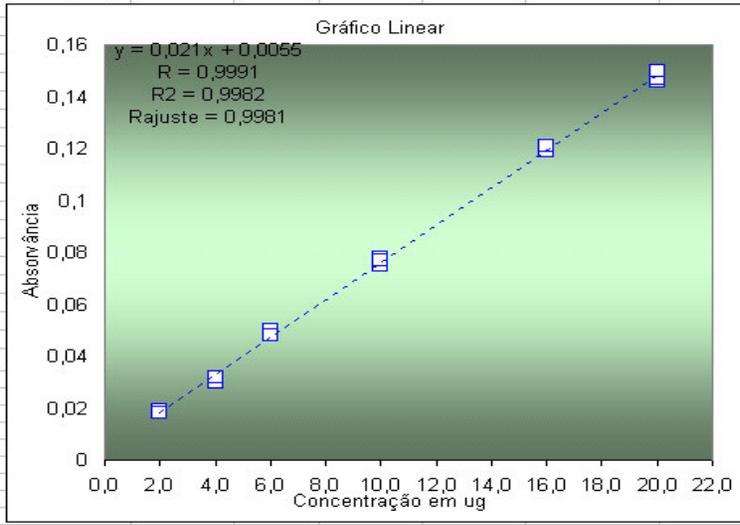
Pontos	X=Conc.	Y=Resp.	Coluna 3	Conc. mg/L	Datas	Pontos	Dados	Abs. Br.	Conc. µg	Eficiência %
1	2,0	0,019	Média Y (50%) + 3xDesvio Padrão Y (50%) =	0,081	Limite Superior de Alerta =					
2	2,0	0,019	Média Y (50%) + 2xDesvio Padrão Y (50%) =	0,080	Limite Superior de Controle =					
3	2,0	0,018	Média Y (50%) - 2xDesvio Padrão Y (50%) =	0,074	Limite Inferior de Alerta =					
4 (20%)	4,0	0,031	Média Y (50%) - 3xDesvio Padrão Y (50%) =	0,072	Limite Inferior de Controle =					
5 (20%)	4,0	0,030	Média Y (50%) =	0,077		9/11/04	32	0,069	3,1748	89,51
6 (20%)	4,0	0,032				6/12/04	33	0,061	2,7864	78,56
7	6,0	0,050				10/1/05	34	0,083	3,8544	108,67
8	6,0	0,048				3/2/05	35	0,058	2,6408	74,45
9	6,0	0,048								
10 (50%)	10,0	0,078								
11 (50%)	10,0	0,075								
12 (50%)	10,0	0,077								
13 (80%)	16,0	0,119								
14 (80%)	16,0	0,119								
15 (80%)	16,0	0,121								
16	20,0	0,146								
17	20,0	0,147								
18	20,0	0,15								
Desvio Padrão Y =	0,0475	4,75E-02								
R =	0,9997									
R2 =	0,9995									
Rajuste =	0,9989									
Média Branco =	0,001									
		Média Y								
		50%								
		0,077								
		Desvio Padrão Y (50%)								
		0,0015								
L		Limite superior e inferior de alerta								
e										
e		Média								
n		Limite superior e inferior de controle								
d										
a										



Pontos	X=Conc.	Y=Resp.	Coluna 3	Conc. mg/L	Datas	Pontos	Dados	Abs. Br.	Conc. µg	Eficiência %
1	2,0	0,019	Média Y (80%) + 3xDesvio Padrão Y (80%) = 0,123	5,8025				0,119	5,6019	99,43
2	2,0	0,019	Média Y (80%) + 2xDesvio Padrão Y (80%) = 0,122	5,7464				0,124	5,8447	103,73
3	2,0	0,018	Média Y (80%) - 2xDesvio Padrão Y (80%) = 0,117	5,5222				0,119	5,6019	99,43
4	4,0	0,031	Média Y (80%) - 3xDesvio Padrão Y (80%) = 0,116	5,4661				0,121	5,6990	101,15
5	4,0	0,030	Média Y(80%) = 0,120	5,6343				0,117	5,5049	97,70
6	4,0	0,032				1		0,120	5,6505	100,29
7	6,0	0,050				2		0,121	5,6990	101,15
8	6,0	0,048				3		0,124	5,8447	103,73
9	6,0	0,048				4		0,117	5,5049	97,70
10 (50%)	10,0	0,078				5		0,120	5,6505	100,29
11 (50%)	10,0	0,075				6		0,121	5,6990	101,15
12 (50%)	10,0	0,077				7		0,124	5,8447	103,73
13 (80%)	16,0	0,119				8	10/2/04	0,117	5,5049	97,70
14 (80%)	16,0	0,119				9	13/2/04	0,120	5,6505	100,29
15 (80%)	16,0	0,121				10	18/2/04	0,121	5,6990	101,15
16	20,0	0,146				11	1/3/04	0,122	5,7476	102,01
17	20,0	0,147				12	15/3/04	0,121	5,6990	101,15
18	20,0	0,15				13	7/4/04	0,124	5,8447	103,73
Desvio Padrão Y =	0,0475	4,75E-02				14	8/4/04	0,117	5,5049	97,70
R =	0,9997					15	27/4/04	0,120	5,6505	100,29
R2 =	0,9995					16	25/5/04	0,118	5,5534	98,56
Rajuste =	0,9989					17	1/6/04	0,119	5,6019	99,43
Média Branco =	0,001					18	14/6/04	0,123	5,7961	102,87
						19	24/6/04	0,123	5,7961	102,87
						20	1/7/04	0,119	5,6019	99,43
						21	13/7/04	0,122	5,7476	102,01
						22	21/7/04	0,124	5,8447	103,73
						23	2/8/04	0,114	5,3592	95,12
						24	11/8/04	0,115	5,4078	95,98
						25	20/8/04	0,117	5,5049	97,70
						26	30/8/04	0,117	5,5049	97,70
						27	8/9/04	0,117	5,5049	97,70
						28	13/9/04	0,118	5,5534	98,56
						29	20/9/04	0,118	5,5534	98,56
						30	29/9/04	0,118	5,5534	98,56
						31	4/10/04	0,117	5,5049	97,70



Pontos	X=Conc.	Y=Resp.	Coluna 3	Conc. mg/L	Datas	Pontos	Dados CC 3	Abs. BR	Conc. µg	Eficiência %
1	2,0	0,019	Média Y (80%) + 3xDesvio Padrão Y (80%) =	5,8025	9/11/04	32		0,125	5,8932	104,60
2	2,0	0,019	Média Y (80%) + 2xDesvio Padrão Y (80%) =	5,7464	6/12/04	33		0,107	5,0194	89,09
3	2,0	0,018	Média Y (80%) - 2xDesvio Padrão Y (80%) =	5,5222	10/1/05	34		0,123	5,7961	102,87
4	4,0	0,031	Média Y (80%) - 3xDesvio Padrão Y (80%) =	5,4661	3/2/04	35		0,107	5,0194	89,09
5	4,0	0,030	Média Y(80%) =	5,6343						
6	4,0	0,032								
7	6,0	0,050								
8	6,0	0,048								
9	6,0	0,048								
10 (50%)	10,0	0,078								
11 (50%)	10,0	0,075								
12 (50%)	10,0	0,077								
13 (80%)	16,0	0,119								
14 (80%)	16,0	0,119								
15 (80%)	16,0	0,121								
16	20,0	0,146								
17	20,0	0,147								
18	20,0	0,15								
Desvio Padrão Y =	0,0475	4,75E-02								
R =	0,9997									
R2 =	0,9995									
Rajuste =	0,9989									
Média Branco =	0,001									
L e g e n d a	Limite superior e inferior de alerta	Média Y 80% 0,120								
	Média	Desvio Padrão Y (80%) 0,0012								
	Limite superior e inferior de controle									



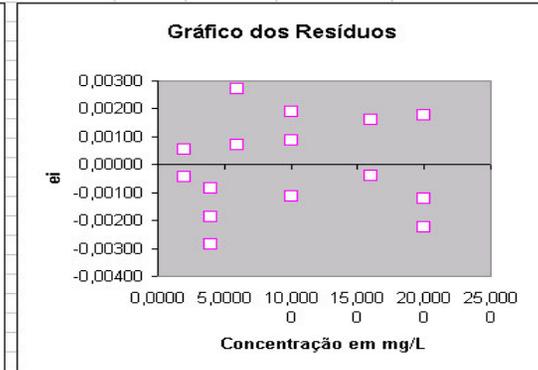
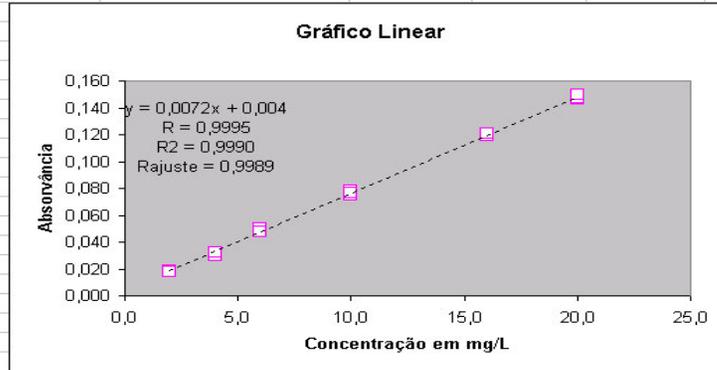
APÊNDICE C - CURVA PADRÃO DEFINITIVA

Verificação de linearidade (n = 18; 6 níveis; 3 replicatas por nível)

Coluna 3

Tabela de dados originais

Pontos	X=Conc.	Y=Resp.
1	2,0	0,019
2	2,0	0,019
3	2,0	0,018
4	4,0	0,031
5	4,0	0,030
6	4,0	0,032
7	6,0	0,050
8	6,0	0,048
9	6,0	0,048
10	10,0	0,078
11	10,0	0,075
12	10,0	0,077
13	16,0	0,119
14	16,0	0,119
15	16,0	0,121
16	20,0	0,146
17	20,0	0,147
18	20,0	0,150



Teste para outliers baseado no resíduo Jacknife - J_i

n	Preditor	Resposta	Resíduo	Jacknife	Student	Leverage	D. Cook
Pontos	X_i	Y_i	e_i	J_i	t_i	h_i	D_i
1	2,0000	0,019	0,0006	0,368	0,3781	0,134	0,011
2	2,0000	0,019	0,0006	0,368	0,3781	0,134	0,011
3	2,0000	0,018	-0,0004	-0,295	-0,3039	0,134	0,007
4	4,0000	0,031	-0,0019	-1,271	-1,2472	0,098	0,085
5	4,0000	0,030	-0,0029	-2,113	-1,9157	0,098	0,200
6	4,0000	0,032	-0,0009	-0,566	-0,5787	0,098	0,018
7	6,0000	0,050	0,0027	1,938	1,7903	0,073	0,127
8	6,0000	0,048	0,0007	0,459	0,4712	0,073	0,009
9	6,0000	0,048	0,0007	0,459	0,4712	0,073	0,009
10	10,0000	0,078	0,0019	1,246	1,2246	0,056	0,044
11	10,0000	0,075	-0,0011	-0,724	-0,7354	0,056	0,016
12	10,0000	0,077	0,0009	0,559	0,5713	0,056	0,010
13	16,0000	0,119	-0,0004	-0,252	-0,2592	0,109	0,004
14	16,0000	0,119	-0,0004	-0,252	-0,2592	0,109	0,004
15	16,0000	0,121	0,0016	1,092	1,0857	0,109	0,072
16	20,0000	0,146	-0,0022	-1,661	-1,5769	0,197	0,305
17	20,0000	0,147	-0,0012	-0,861	-0,8683	0,197	0,093
18	20,0000	0,150	0,0018	1,282	1,2574	0,197	0,194
Valor Crítico =				2,131	2,120	0,222	0,724

Linhas do zero e do intervalo $\pm t^*(QMRes)$				Ordem de sequência ei
X	Zero	B+	B-	
0	0			zero
1,00	0			B+
				B-
				ei outlier
				Consultar

X	Y	ei Outlier

Atenção: para cada outlier retirado,
 1 - Colar o valor de X correspondente
 2 - Colar o valor de Y correspondente
 3 - Calcula-se ei usando a e b atuais

Xmédio =	9,6667	SC _{resíduo} =	0,0000397	3,97E-05	n =	18
Ymédio =	0,074	SC _{resíduo} =	0,0000397	3,97E-05	Níveis =	6
Nº parâmetros =	2	MQ _{resíduo} =	0,0000025	2,48E-06	Entre níveis =	5
Estadística de Regressão		Estadísticas auxiliares				
r =	0,9995	Número de Outliers retirados =	0	Sxy =	5,4363	5,44E-00
R² =	0,9990			Sxx =	754,0000	7,54E-02
R² ajuste =	0,9989			Syy =	0,0392	3,92E-02
EP(Y) =	1,58E-03			t _{0,975} =	2,120	-
N =	18			J _{0,975} =	2,131	-

ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)

Fonte de variação			Soma Quadrática	Média Quadrática	Teste F	Valor-P	Significância
F.V.	G.L.	Graus de Liberdade	S.Q.	Q.M.	F	p	Sign.
Regressão	1	1	3,92E-02	3,92E-02	15798,50		p < 0,001
Resíduo	16	[n - 2 parâmetros]	3,97E-05	2,48E-06			99,90
FaltaAjuste	4	[entre níveis-2]	1,84E-05	4,59E-06	2,582		p < 0,05
Ent.Níveis	5	[níveis - 1]	3,92E-02			0,0000	0,10
Erro puro	12	[n - níveis]	2,13E-05	1,78E-06			
Total	17	[n - 1]	3,92E-02				
Significância explicada por					99,90 %	pela Regressão	
Significância explicada por					0,10 %	pela Falta de Ajuste	

Estimativas dos parâmetros, significância e intervalos de confiança

Coefic.	Valor	EP	Stat t	p	IC 95% inf	IC 95% sup
Linear	0,0040	0,0007	6,033	1,74E-05	0,002611	0,005
Angular	0,0072	0,00006	125,692	1,71E-11	0,007051	0,007

Teste de Normalidade dos resíduos

n = 18				
i	p _i	b _i	e _i	e _i (ordem crescente)
1	0,0342	-1,8217	0,00055	-0,00287
2	0,0890	-1,3467	0,00055	-0,00223
3	0,1438	-1,0632	-0,00045	-0,00187
4	0,1986	-0,8465	-0,00187	-0,00123
5	0,2534	-0,6638	-0,00287	-0,00113
6	0,3082	-0,5009	-0,00087	-0,00087
7	0,3630	-0,3504	0,00271	-0,00045
8	0,4178	-0,2075	0,00071	-0,00039
9	0,4726	-0,0687	0,00071	-0,00039
10	0,5274	0,0687	0,00187	0,00055
11	0,5822	0,2075	-0,00113	0,00055
12	0,6370	0,3504	0,00087	0,00071
13	0,6918	0,5009	-0,00039	0,00071
14	0,7466	0,6638	-0,00039	0,00087
15	0,8014	0,8465	0,00161	0,00161
16	0,8562	1,0632	-0,00223	0,00177
17	0,9110	1,3467	-0,00123	0,00187
18	0,9658	1,8217	0,00177	0,00271

R = 0,0000

Os resíduos seguem a Normal

Valores Críticos de R

Rcrit (α: 0,10) = 0,9567
 Rcrit (α: 0,05) = 0,9461
 Rcrit (α: 0,01) = 0,9228

Atenção, ao retirar outliers:

- 1 - Copiar os resíduos (D31:D48)
- 2 - Colar valores no intervalo D62:D79
- 3 - Classificar este intervalo, sem expandir a seleção D62:D79, em ordem crescente

Teste de Normalidade de Ryan-Joiner

Coefficiente para interpolação

α	0,01	0,05	0,10
a	0,9963	1,0063	1,0071
b	-0,0211	-0,1288	-0,1371
c	-1,4106	-0,6118	-0,3682
d	3,1791	1,3505	0,778

R crítico (R_c)

Se R < R_c rejeita-se H₀ e os resíduos não seguem a Normal

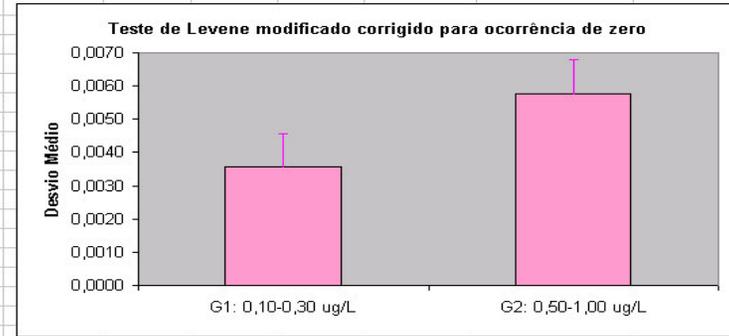
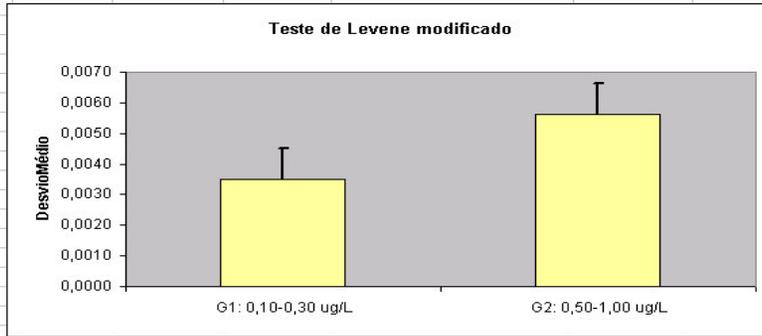
H₀: {e₁, e₂, ..., e_n} seguem a distribuição Normal
 H_a: {e₁, e₂, ..., e_n} seguem outra distribuição

Grupo 1	Grupo 2	d1	d2	d1 *	d2 *
-0,00240	0,00022	0,0000	0,0000	0,0013	0,0000
-0,00540	-0,00478	0,0030	0,0030	0,0030	0,0050
-0,00540	-0,00778	0,0030	0,0080	0,0030	0,0080
0,00226	0,00918	0,0047	0,0090	0,0047	0,0090
-0,00474	0,01118	0,0023	0,0110	0,0023	0,0110
-0,00374	0,00118	0,0013	0,0010	0,0013	0,0010
0,01191	0,00349	0,0143	0,0033	0,0143	0,0000
0,00291	-0,00751	0,0053	0,0077	0,0053	0,0077
0,01191	-0,01251	0,0143	0,0127	0,0143	0,0127

igualar ao menor valor do mesmo grupo
igualar ao menor valor do mesmo grupo

			*Corrigido para ocorrência de zero		
Estatística	Grupo 1	Grupo 2	Estatística	Grupo 1	Grupo 2
n	9	9	n	9	9
Mediana	-2,40E-03	2,20E-04	Mediana	-2,40E-03	2,20E-04
dm	5,36E-03	6,40E-03	dm	5,51E-03	6,04E-03
SQD	2,26E-04	1,54E-04	SQD	2,13E-04	1,84E-04
Var	2,37E-05		Var	2,48E-05	
t*	-0,452		t _L *	-0,224	
t _{0,975}	2,120		t _{0,975}	2,120	
p	0,6572	p > 0,05	p	0,8258	p > 0,05

Não há evidência para rejeitar Ho
Há homoscedasticidade



G1: 0,10-0,30 ug/L	G2: 0,50-1,00 ug/L	t*EP	Consultar
0,0054	0,0064		
dm G1	dm G2		

G1: 0,10-0,30 ug/L	G2: 0,50-1,00 ug/L	t*EP	Consultar
0,0055	0,0060		
dm G1	dm G2		

Análise de Regressão Linear (Modelo: Y = a + bX)

Estat. da Regressão		Estat. auxiliares	
r	0,9984	Sxy	1,48E+01
R ²	0,9969	Sxx	7,54E+02
R ² ajust.	0,9967	Syy	2,93E-01
EP(Y)	7,57E-03	t _{0,975}	2,120
N	18	J _{0,975}	2,131

ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)							
<i>F.V.</i>	<i>G.L.</i>	<i>S.Q.</i>	<i>Q.M.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>Sign.</i>	
Regressão	1	3,92E-02	3,92E-02	15798,50	0,00E+00	p < 0,001	Consultar
Resíduo	16	3,97E-05	2,48E-06				
FaltaAjuste	4	1,84E-05	4,59E-06	2,582	0,00E+00	p < 0,05	Consultar
Ent.Níveis	5	3,92E-02					
Erro puro	12	2,13E-05	1,78E-06				
Total	17	3,92E-02					
A regressão é significativa p < 0,001				Consultar			
Há desvio de linearidade p < 0,05				Consultar			
Estimativas dos parâmetros, significância e intervalos de confiança							
<i>Coefic.</i>	<i>Valor</i>	<i>EP</i>	<i>Stat t</i>	<i>p</i>	<i>IC 95% inf</i>	<i>IC 95% sup</i>	
Linear	0,0040	0,0007	6,033	1,74E-05	0,003	0,005	
Angular	0,0072	0,00006	125,692	1,71E-11	0,007	0,007	

Regressão Linear

Equação da reta						Lançar os dados de leitura par aos padrões descontados do branco		concentração µg			
X	Y	X ²	Y ²	X.Y			Br				
1	2,0	0,019	4,000000	0,0003610	0,0380000		P1	0,019	0,019	2,0769	
2	2,0	0,019	4,000000	0,0003610	0,0380000		P2	0,019	0,019	2,0769	
3	2,0	0,018	4,000000	0,0003240	0,0360000		P3	0,018	0,018	1,9382	
4	4,0	0,031	16,000000	0,0009610	0,1240000		P4	0,031	0,031	3,7412	
5	4,0	0,030	16,000000	0,0009000	0,1200000		P5	0,030	0,030	3,6026	
6	4,0	0,032	16,000000	0,0010240	0,1280000		P6	0,032	0,032	3,8799	
7	6,0	0,050	36,000000	0,0025000	0,3000000		P7	0,050	0,050	6,3765	
8	6,0	0,048	36,000000	0,0023040	0,2880000		P8	0,048	0,048	6,0991	
9	6,0	0,048	36,000000	0,0023040	0,2880000		P9	0,048	0,048	6,0991	
10	10,0	0,078	100,000000	0,0060840	0,7800000		P10	0,078	0,078	10,2600	
11	10,0	0,075	100,000000	0,0056250	0,7500000		P11	0,075	0,075	9,8439	
12	10,0	0,077	100,000000	0,0059290	0,7700000		P12	0,077	0,077	10,1213	
13	16,0	0,119	256,000000	0,0141610	1,9040000		P13	0,119	0,119	15,9465	
14	16,0	0,119	256,000000	0,0141610	1,9040000		P14	0,119	0,119	15,9465	
15	16,0	0,121	256,000000	0,0146410	1,9360000		P15	0,121	0,121	16,2239	
16	20,0	0,146	400,000000	0,0213160	2,9200000		P16	0,146	0,146	19,6913	
17	20,0	0,147	400,000000	0,0216090	2,9400000		P17	0,147	0,147	19,8300	
18	20,0	0,150	400,000000	0,0225000	3,0000000		P18	0,150	0,150	20,2461	
somatório	174	1,327	2436,000000	0,1370650	18,2640000						
DesvQ (SS)	754,000	0,039	381640,000	0,001	5,436						
somatório y = a0 . N + a1 . Somatório de x						R = linearidade =		0,9995			
somatório de x.y = a0 . Somatório de x + a1 . Somatório x ²						y =		0,00403 + 0,00721 x			
						a		b			
1,327	= a0 .	18	+	a1 .	174,0000	a0 =	1,3270	-	a1 .	174,0000	
18,2640	= a0 .	174,0000	+	a1 .	2436,0000				18		
soma						a0 = a0					
19,5910	= a0 .	192,0000	+	a1 .	2610,0000				192,0000		
1,327	-	a1 .	174,0000	=	19,591	-	a1 .	2610,0000	a0=	19,591	
		18					192,0000			192,0000	
254,784	-	33408	a1	=	352,638	-	46980	a1	a0=	0,7729	
										192,00	
46980	a1	-	33408	a1	=	352,638	-	254,784	a0=	0,004	
			13572	a1	=	97,854					
				a1	=	0,007					
equação da reta: y = a0 + a1x						y =		0,004 + 0,007 x		coeficiente de linearidade r	
r	=	somatório xy / ((somatório x ²) . (Somatório y ²)) ^{1/2}				r =		5 / (754,0000 . 0,0392) ^{1/2}		r =	0,9995
										R ² =	0,9990

APÊNDICE D - FOTOS DAS ETAPAS DA METODOLOGIA ANALÍTICA



FOTO 1 - AMOSTRAS DE LINGÜIÇAS PARA SEREM ANALISADAS



FOTO 2 - HOMOGENIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LINGÜIÇAS

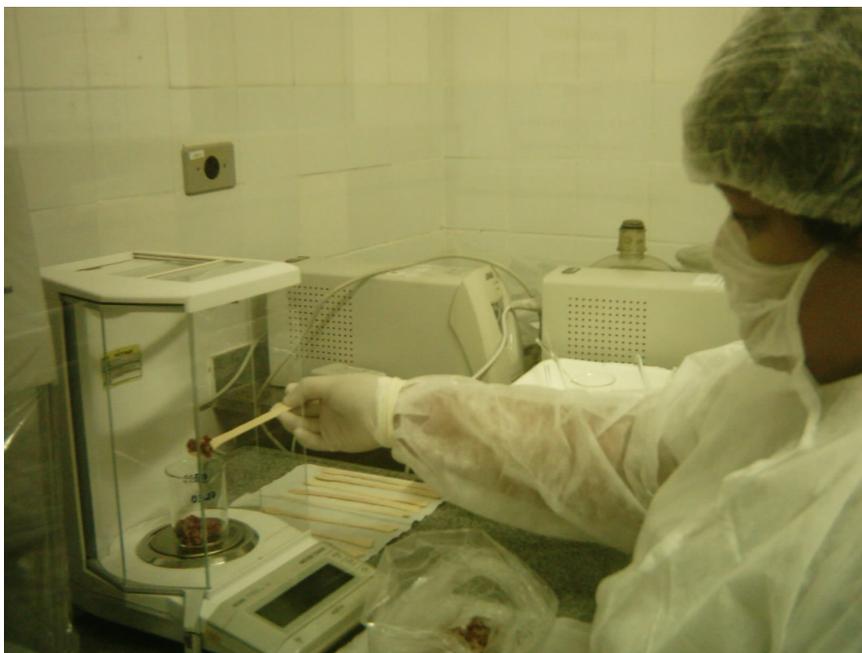


FOTO 3 - PESAGEM DA AMOSTRA DE LINGÜIÇA HOMOGENIZADA



FOTO 4 - DESPROTEINIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LINGÜIÇAS



FOTO 5 - PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LINGÜIÇAS



FOTO 6 - PROCESSO DE REDUÇÃO NA COLUNA DE CÁDMIO

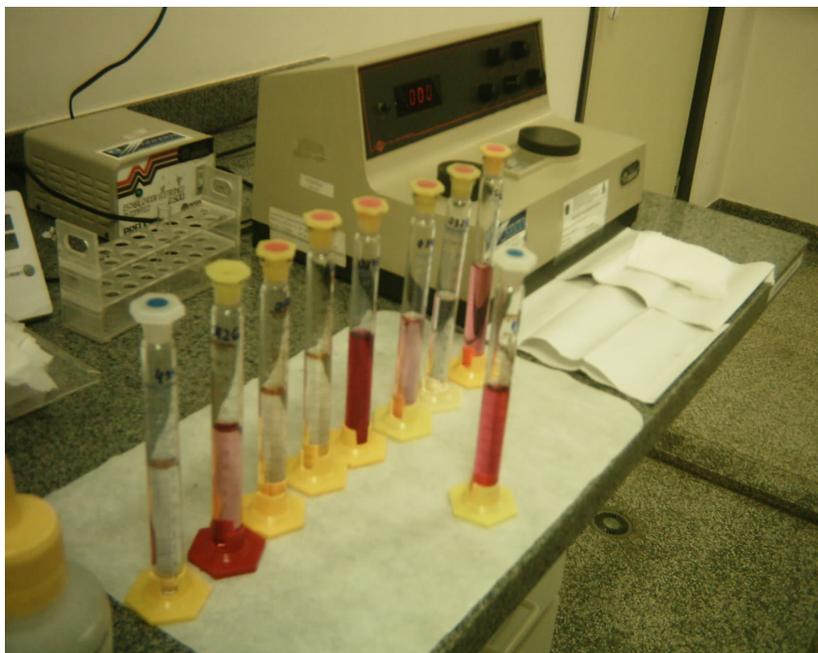


FOTO 7 - LEITURA DO NITRITO NO ESPECTOFOTÔMETRO



FOTO 8 - EQUIPE TÉCNICA QUE REALIZOU A VALIDAÇÃO E EXECUÇÃO DA METODOLOGIA

**ANEXO A – TERMO DE RETIRADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA
UFMS**



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**

Termo de Retirado

Protocolo nº:721/2006

Data: 30/05/2006

Pesquisadora: Dulce Lopes Barbosa Ribas

Prezado(a) Pesquisador(a),

O Projeto intitulado "Fatores de risco para câncer de estômago: teores de nitrato e nitrito em lingüiças comercializadas em Campo Grande-MS", foi retirado por não haver necessidade de uma análise do Comitê de Ética em Pesquisa/CEP.

Atenciosamente,



Prof. Odair Pimentel Martins
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa/CEP/UFMS