

TEOR DE NITRATO E NITRITO EM VEGETAIS CULTIVADOS NO DISTRITO FEDERAL: UM ESTUDO PRELIMINAR

Susanne RATH .
Maria I. N. XIMENES *
Felix G.R. REYES **

RIALA6/775

RATH, S.; XIMENES, M.I.N.; REYES, F.G.R. — Teor de nitrato e nitrito em vegetais cultivados no distrito federal: um estudo preliminar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 54(2): 126-130, 1994.

RESUMO: Amostras de alface, couve e espinafre cultivadas no Distrito Federal foram analisadas quanto ao teor de nitrato e nitrito. A determinação do nitrito foi baseada no método de Follett e Ratcliff, reação com ácido sulfanílico e 1-naftol e determinação espectrofotométrica, em 474 nm, do azo composto formado. O nitrato foi determinado de maneira semelhante após redução a nitrito em coluna de cádmio. De 26 amostras analisadas, 84% apresentaram um teor de nitrato acima de 500 mg/kg e 58% acima de 1000 mg/kg. O maior valor encontrado foi de 2881 mg de nitrato de sódio/kg em uma amostra de couve. Nitrito não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas. O limite de determinação do método foi de 20 e 16 mg/kg de amostra para nitrato de sódio e nitrito de sódio, respectivamente.

DESCRITORES: nitrato e nitrito em vegetais, alface, espinafre e couve.

INTRODUÇÃO

Os nitratos e nitritos encontram-se naturalmente distribuídos no meio ambiente em decorrência do ciclo do nitrogênio. Na decomposição microbiológica de proteínas ocorre a produção do íon amônio, que, por sua vez, pode ser oxidado na presença de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* a nitrito e nitrato, respectivamente. Além disto, as atividades industriais e agrícolas contribuem significativamente para o aumento de compostos nitrogenados, inclusive nitratos, tanto na água, e solo, como ar atmosférico^{1,4,19}.

Os nitratos assimilados pelas plantas, através de compostos nitrogenados, são essenciais para o desenvolvimento das mesmas, pois representam uma fonte de nitrogênio para a síntese de proteínas celulares. O teor de nitrato, além de variar com a genética da espécie vegetal^{1,6,7,16} e com as condições climáticas como intensidade de luz, principalmente no período

de maturação, temperatura²⁰, etc, podem sofrer variações em decorrência da ação do homem sobre o meio ambiente. O uso abusivo de fertilizantes e produtos químicos durante o cultivo contribuem para o aumento do acúmulo de nitratos pelas plantas^{2,4,22}.

A presença de nitritos deve-se principalmente à ação de bactérias nitrificantes sobre o nitrato. Este processo pode ser acelerado durante um armazenamento inadequado dos produtos, onde fatores como temperatura, tempo de estocagem e umidade são determinantes¹⁷. A redução do nitrato a nitrito pode tanto ocorrer nas hortaliças frescas como nas submetidas a um processo de cocção^{14,15}.

Entre os vegetais que podem apresentar elevado teor de nitrato, algumas vezes superior a 3000 mg/kg, destacam-se o espinafre, a beterraba, o rabanete, a beringela, o aipo, o nabo, a cenoura, o alface e a couve⁹. LARA e TAKAHASHI⁶ verificaram a pre-

Departamento de Química, Universidade de Brasília - Brasília/DF

* Instituto de Saúde do Distrito Federal - Brasília/DF

** Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

sença de 5896 mg de nitrato/kg, expressos em nitrato de sódio, em uma amostra de couve coletada no estado de São Paulo.

Além do nitrato ser um componente natural presente em vegetais seu emprego associado ao nitrito, na produção de alimentos é bastante antigo. Os sais de sódio e potássio tem sido largamente utilizados como aditivos alimentares em produtos cárneos curados⁸, seja por suas características antioxidantes e de fixação da cor rósea da carne, seja pelo seu poder antimicrobiano para inibir o crescimento do *Clostridium botulinum* responsável pela toxina que causa o botulismo.

Do ponto de vista toxicológico, os nitratos e nitritos, uma vez ingeridos, contribuem para a formação endógena de N-nitrosaminas, compostos potencialmente carcinogênicos, assim como são capazes de transformar a hemoglobina do sangue em ferriemoglobina, processo esse que leva ao impedimento do transporte do oxigênio dos alvéolos pulmonares para os tecidos. Enquanto este mecanismo é reversível em pessoas adultas, pode levar lactentes à morte, principalmente crianças com menos de três meses de idade, por apresentarem deficiência fisiológica transitória da metemoglobina redutase ou de seu co-fator NADH^{1,12}.

O limite tolerado de nitrito e nitrato como aditivo alimentar depende, em particular, do produto alimentício, assim como da legislação vigente de cada país. Segundo a legislação brasileira o uso de nitrato e nitrito de sódio ou potássio é permitido até um valor máximo de 0,05 g/100g, sendo que no produto a ser consumido não poderá remanescer mais de 0,02 g/100g de nitrito (expresso em fon nitrito)⁸.

O Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) estabeleceu para o nitrato uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0-5 mg/kg de peso corpóreo (calculada como nitrato de sódio)²³ e uma IDA temporária de 0-0,2 mg/kg de peso corpóreo para o nitrito (como nitrito de sódio)^{23,24}. Tendo recomendado não adicionar nitrito nos alimentos destinados a crianças com menos de seis meses de idade²⁴.

Segundo KNIGHT et alii⁵, as fontes principais de ingestão de nitrato pelo homem são os vegetais, chegando a representar 90% do total ingerido. Este valor varia de acordo com os hábitos alimentares característicos de cada região.

Uma vez que, em geral, as hortaliças desempenham um papel importante na dieta alimentar, principalmente na dieta infantil, e considerando a complexidade da interação de fatores, ainda não totalmente esclarecidos, que propiciam o acúmulo de nitratos nos vegetais, surge a necessidade do estudo e controle de nitratos nos locais de cultivo, afim de

que sejam produzidos vegetais com baixos teores de nitratos, minimizando assim o potencial de risco à saúde pela exposição a essas substâncias. O presente estudo teve como propósito determinar os níveis de nitrato e nitrito em amostras de alface, couve e espinafre cultivados na região do Distrito Federal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 26 amostras, sendo 9 de couve, 9 de alface e 8 de espinafre, no período de março a abril de 1993. As amostras foram coletadas, a acaso, em locais de venda do Distrito Federal. A metodologia utilizada segue o esquema da figura 1.

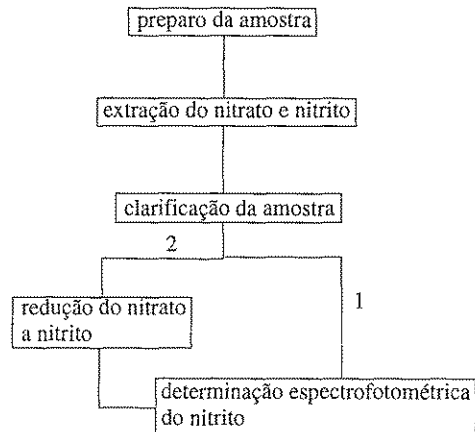


FIGURA 1

Fluxograma do roteiro analítico. (Página 6)

1. Determinação de nitrito
2. Determinação de nitrato e nitrito na forma de nitrito total

Preparo da amostra

Apenas as partes comestíveis de cada espécie foram analisadas. Para tanto, as folhas foram lavadas em água corrente, secadas com papel absorvente e posteriormente trituradas até a obtenção de uma massa homogênea.

Extração do nitrato e nitrito

5,0 g do homogêneo foram misturados com 80 ml de NaCl 0,9%. A solução foi aquecida em banho maria a 100°C por um período de 30 minutos. O volume final foi levado a 100 ml com água destilada.

Clarificação da amostra

A solução foi filtrada e clarificada com 25 ml de creme de alumina. Após este procedimento a amostra foi novamente filtrada.

Determinação do nitrato e nitrito

A determinação do nitrato foi realizada após a sua redução a nitrito. Para tanto, 5,0 a 40,0 ml do extrato clarificado, dependendo do teor de nitrato na amostra original, foram passados por uma coluna de cádmio⁷, cuja eficiência foi testada previamente. O eluído da coluna foi levado a 100 ml com água destilada. O nitrito formado foi determinado espectrofotometricamente segundo FOLLETT & RATCLIFF³. A determinação do nitrito seguiu o mesmo procedimento, porém utilizando 5,0 a 40,0 ml do extrato clarificado sem a sua passagem na coluna redutora (rota I, fig. 1). O teor de nitrato foi calculado pela diferença dos valores de nitrito obtidos com e sem o emprego da coluna de cádmio.

Análise espectrofotométrica

A 10,0 ml da solução anteriormente obtida foram adicionados 5,0 ml de tampão amoniacal pH 9,6 e 10,0 ml de ácido sulfanílico com 1-naftol. A solução foi deixada em repouso por 30 min a uma temperatura de 30°C. A concentração de nitrito e nitrato, na forma de nitrito de sódio, foi determinada através de uma curva de calibração, medindo-se a absorbância do azo composto formado na região do visível em 474 nm.

O preparo da amostra e a extração do nitrato e nitrito foram realizados segundo a metodologia proposta por LIN e YEN¹⁰, com a seguinte modificação: no processo de clarificação usou-se o creme de alumina conforme sugerido pelo Instituto Adolfo Lutz¹³ para a análise de nitritos, em substituição a coluna de alumina como proposta pelos autores, uma vez que na coluna foi verificada a coeluição de pigmentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A recuperação de nitrato foi avaliada mediante a adição padrão de nitrato em amostras de alface. Em cinco replicatas obteve-se um valor médio de 91,6 ± 1,1%. A recuperação não total do nitrato, provavelmente ocorreu devido a perda na etapa de clarificação. Segundo USHER & TELLING²¹ pode ocorrer a oclusão do nitrato com a alumina do agente clarificante, sendo que a extensão da oclusão depende da quantidade de alumina utilizada.

O limite de determinação¹¹ do método foi de 20 mg de nitrato de sódio/kg de amostra fresca, para 5,0 g de amostra inicial, equivalente a 0,0397 µg de nitrito de sódio/ml de solução na curva de calibração espectrofotométrica. No caso no nitrito o mesmo foi de 16 mg/kg de amostra.

Os resultados das análises de amostras de alface, couve e espinafre, expressos em nitrato de sódio, estão apresentados na tabela 01.

TABELA 01.
Teores de nitrato, expressos como nitrato de sódio, em amostras frescas de couve, espinafre e alface

Vegetal	NaNO ₃ /mg.Kg-1					
	Alface		Couve		Espinafre	
Amostra	x	d _r	x	d _r	x	d _r
1	2223	6,25	1144	3,51	856	7,53
2	1131	5,88	993	9,28	917	1,76
3	783	2,51	1109	4,88	813	1,81
4	401	0,59	782	6,70	1276	2,97
5	2554	2,56	445	0,53	1115	1,09
6	2485	1,07	590	3,62	1009	8,64
7	2824	0,78	368	1,54	1100	6,41
8	2595	3,04	2881	3,52	1249	2,58
9	1389	0,88	nd			...
x de todas as determinação	1820		924		1042	

x̄: Valor médio de 3 determinações;
d_r: Desvio médio relativo em partes por cem;
nd: Abaixo do limite de detecção do método;

Enquanto que para o alface, de 9 amostras 5 apresentaram um teor de nitrato de sódio acima de 2000 mg/kg, de 9 amostras analisadas de couve apenas uma amostra superava este valor. Já para o espinafre nenhuma das amostras analisadas continha um teor de nitrato de sódio superior a 1500 mg/kg. O maior valor de nitrato, 2881 mg/kg, foi encontrado em uma amostra de couve.

Os valores médios de nitrato encontrados nas amostras de couve e espinafre são menores do que aqueles relatados por LARA & TAKAHASHI⁶ em amostras coletadas em 1982 em São Paulo (1975 mg/kg e 2030 mg/kg para couve e espinafre, respectivamente). Já as amostras de alface coletadas no Distrito Federal apresentaram teores mais elevados (valor médio de 1820 mg/kg) quando comparados com os valores obtidos em São Paulo (valor médio de 1245 mg/kg)⁶.

Nas hortaliças frescas analisadas não foi detectada a presença de nitrito (limite de detecção 4,8 mg de nitrito de sódio/kg de amostra). No entanto, quando a amostra homogeneizada, era deixada em repouso, à temperatura ambiente, por um período de 24 horas, pode-se verificar a conversão do nitrato a nitrito em todas as espécies sob estudo, chegando a 30% nas amostras de alface, 50% nas de couve e até 80% nas amostras de espinafre. A redução do nitrato a nitrito pode ser explicada tanto pela atividade da enzima nitrato-redutase quanto pela presença de microorganismos nitrificantes presentes no homogenizado do vegetal em questão.

As variações de nitrato nas amostras analisadas,

indicam a necessidade de um estudo sobre a correlação dos teores de nitrato com fatores externos, principalmente no que se refere ao uso de fertilizantes empregados no cultivo das hortaliças consumidas na região.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto de Saúde do Distrito Federal pelo apoio técnico e financeiro a esse trabalho.

RIALA6/670

RATH, S.; XIMENES, M.I.N.; REYES, F.G.R. — Nitrate and Nitrite in vegetable cultivated at Distrito Federal: preliminary study. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(2): 126-130, 1994.

ABSTRACT: Nitrate and nitrite were determined in samples of lettuce, cabbage and spinach produced at the region of the Distrito Federal. Nitrite was determined by the method of Follett & Ratcliff, spectrophotometric determination at 474 nm of the diazo compound formed after reaction of nitrite with sulphamic acid and 1-naphthol. Nitrate was similarly determined after its reduction to nitrite by using a cadmium column. Of 26 samples analyzed, 84% presented a level of nitrate over than 500 mg/kg and 58% greater than 1000 mg/kg. The highest value of nitrate was 2881 mg/kg obtained in a sample of cabbage. Nitrite was not detected in any of the samples analyzed. The limit of determination of the method was 20 mg/kg and 16 mg/kg for sodium nitrate, respectively.

DESCRIPTORS: Nitrite and Nitrite in vegetable; Lettuce; Spinach and Cabbage.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAUJO, A.C.P. & MIDIO, A.F. Nitratos, Nitritos e Compostos N-nitrosos em Alimentos: Onde está o Problema? *Ciencia e Cultura* 40: 947-956, 1989.
2. BERESNIEWICZ, A. DUDEK, K. & NOWOSIELSKI, O. The Use of Triamide Phosphoryl (TAP) as NP Fertilizer for Nitrate Level Control in Lettuce and Tomato Transplants. *Acta Hort.* 222: 207-211, 1988.
3. FOLLETT, M.J. & RATCLIFF, P.W. Determination of Nitrite and Nitrate in Meat Products. *J. Sci. Food Agric.* 14:138-144, 1963.
4. GRYLLS, J.P. Effect of Nitrogen Fertilizer type and Nitrification Inhibitor on the Nitrate Content of Glasshouse Lettuce. *Acta Hort.* 222:189-181, 1988.
5. KNIGHT, T.M.; FORMAN, D.; AL-DABBAGH, S.A. & DOLL, P. Estimation of Dietary Intake of Nitrate and Nitrite in Great Britain. *Ed. Chem. Toxic.* 25:277-85, 1987.
6. LARA, W.H. & TAKAHASHI, M.Y. Níveis de Nitratos em Hortaliças. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1-2): 53-57, 1982.
7. LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y. & YABIKU, H.Y. Níveis de Nitratos em Alimentos Infantis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40:147-152, 1980.
8. LARA, W. H.; TAKAHASHI, M.I. & SILVEIRA, N. Determinação de Nitrito e Nitrato em Conservas de Carnes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:161-6, 1978.
9. LEDERER, J., *Enciclopédia Moderna de Higiene Alimentar - Intoxicações Alimentares*, Vol. 4, Editora Manole Dois Ltda., São Paulo, 1991.
10. LIN, J.K. & YEN, J.Y. Changes in the Nitrate and Nitrite Contents of Fresh Vegetables During Cultivation and Post-harvest Storage. *Food. Cosmet. Toxicol.* 18:597-603, 1980.
11. MILLER, J.C. & MILLER, J.N., *Statistics for Analytical Chemistry*, New York, John Wiley & Sons, 1984, 96-100.
12. MUTSCHLER, E. *Arzneimittelwirkung, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 5. Aufl., Stuttgart, Wissenschaftlicheverlagsgesellschaft mbH, 1986.
13. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 3 ed., São Paulo, Editora Débora D. Estrela Rebocho, 1985, 101.
14. OLMEDO, R.G. & BOSCH, N.B. Aspectos Toxicológicos da Presença de Nitratos y Nitritos en los Productos Horticolas Cocidos y en su Agua de Coccion. *Alimentaria*, 25:71-75, 1988.
15. OLMEDO, R.G. & BOSCH, N.B. Ingestion de Nitratos Procedentes de Productos Horticolas y su Incidencia Toxicologica. *Alimentaria*, 25:76-78, 1988.
16. OMS/OPAS Criterios de Salud Ambiental, vol. 5 Nitrates, Nitrites y Compuestos de N-Nitroso, 1980.
17. PHILLIPS, W.E.J. Changes in the Nitrate and Nitrite Contents of Fresh and Processed Spinach During Storage. *J. Agr. Food Chem.* 1:88-91, 1968.

18. Resolução nº 04 de 24 de Nov. 1988 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.
19. STRAUSS, D. *Chemie für die Pharmazeutische Praxis*, 4 ed., Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1985, 104-107.
20. TACHIBANA, S. The influence of Root Temperature on Nitrate Assimilation by Cucumber and Fiddleleaf Gourd. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 57:440-447, 1988.
21. USHER, C.D. & TELLING, G.M. Analysis of Nitrate and Nitrite in Foodstuffs: A Critical Review *J. Sci. Food Agric.* 2:1793-1805, 1975.
22. VAN DER BOON, J. STEENHUIZEN, J. & STEIN-GROVER, G. Growth and Nitrate concentration of Lettuce as Affected by Total Nitrogen and Chloride Concentration, NH₄/NH₃ ratio and Temperature of the Recirculating Nutrient Solution *J. Hort. Sci.* 65: 309-321, 1990.
23. WHO. Seventeenth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Food Additives series*, 5: 92-96, 1974.
24. WHO. Twentieth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Food Additives series*, 10: 86-99, 1976.

Recebido para publicação: 12.09.94.