

NÍVEIS DE NITRATOS EM HORTALIÇAS **

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

RIALA6/546

LARA, W.H. & TAKAHASHI, M.Y. — Níveis de nitratos em hortaliças. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1/2):53-57, 1982.

RESUMO: Para avaliar a variação dos níveis de nitratos existentes em hortaliças frescas, como alface, batata, cenoura, couve e espinafre, foram analisadas amostras dessas hortaliças, coletadas ao acaso em feiras livres da cidade de São Paulo. As amostras de espinafre apresentaram consistentemente níveis altos de nitratos, com um mínimo de 545 mg/kg e um máximo de 4136 mg/kg, com uma média de 2030 mg/kg e um 90.^o percentil de 3306 mg/kg, enquanto que algumas amostras de batata não apresentaram nitratos, havendo um máximo de 748 mg/kg, uma média de 145 mg/kg e 90.^o percentil de 370 mg/kg. As amostras de alface, cenoura e couve apresentaram variações consideráveis, não sendo encontrados nitratos em algumas amostras ou atingindo, por vezes, valor bastante alto, como o de uma amostra de couve, o mais alto encontrado neste estudo, 5896 mg/kg.

DESCRITORES: nitratos em hortaliças frescas, determinação; hortaliças frescas, determinação de nitratos.

INTRODUÇÃO

As plantas possuem um teor natural de nitratos que constitui uma fonte do nitrogênio necessário ao seu desenvolvimento. Esta presença de nitratos, principalmente em hortaliças, pode-se constituir, em alguns casos, em contribuição apreciável na ingestão diária de nitratos. WALKER⁹ chegou a fazer uma estimativa da ingestão média de nitratos por semana, mostrando que, para um consumidor normal, os vegetais representam um quarto do total de nitratos ingeridos.

LEE⁶ relata os estudos de Miyasaki sobre a influência de fertilizantes no acúmulo de nitratos nos vegetais, e de Sobdeva que, em estudos com vários vegetais cultivados com ou sem fertilizantes, mostrou que os cultivados sem fertilizantes tinham níveis de nitratos de 3 a 12 vezes menores que os cultivados com fertilizantes.

Nitratos por si mesmo não representam o maior problema do ponto de vista toxicológico,

mas sim os nitritos que se formam a partir dos nitratos. PHILLIPS⁷ considera que, se um alimento contém um nível bastante alto de nitratos, isto representa um risco pois, nas condições de processamento ou armazenamento, a conversão dos nitratos é maior.

O risco toxicológico da ingestão de nitratos também tem sido amplamente investigado, assim como a formação de nitrosaminas⁸, e a possível metaemoglobinemia em crianças de tenra idade⁶.

Uma ingestão diária aceitável (IDA) de 0 a 5 mg/kg de peso corpóreo foi estabelecida pelo Grupo de Peritos da FAO/OMS, conhecido como JECFA².

Na tecnologia de alimentos, o uso de nitratos na produção de queijos ou conservas de carnes está regulamentado, não podendo exceder a 200 mg/kg, calculados em nitrato de sódio, no produto a ser consumido¹.

Além dos alimentos processados, a água potável e hortaliças representam outra fonte

* Realizado na Seção de Aditivos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

de nitratos na dieta usual, tornando-se necessário controlar os níveis de nitratos nestes últimos alimentos.

O nível de nitratos existentes em hortaliças frescas é susceptível de variações; a fim de avaliá-lo, foram analisadas várias amostras coletadas, ao acaso, em feiras-livres na cidade de São Paulo.

Neste primeiro levantamento foram escolhidas as hortaliças mais comuns na dieta usual da população, como alface, batata, cenoura, couve e espinafre, e comparados os valores encontrados com os de outros estudos em outros países.

MATERIAL

Foram analisadas 100 amostras de hortaliças adquiridas nas feiras-livres da cidade de São Paulo, sendo 20 de alface, 20 de batata, 20 de cenoura, 20 de couve e 20 de espinafre.

MÉTODO

Foi usado o método descrito por LARA *et alii*⁴, que consiste no seguinte:

Reagentes

Para obtenção do extrato

Solução de cloreto de cádmio: dissolver 50 g de $CdCl_2$ e 50 g de $BaCl_2$ em água destilada e completar o volume de um litro, em balão volumétrico. Ajustar o pH = 1,0, com ácido clorídrico.

Solução de hidróxido de sódio a 10%, p/v

Para obtenção da coluna

Solução de sulfato de cádmio a 20%
Zinco em bastão

Para determinar nitrato

Solução tampão (pH 9,6-9,7): adicionar 20 ml de ácido clorídrico concentrado a 500 ml de água destilada. Agitar e adicionar 50 ml de hidróxido de amônia concentrado e completar o volume de 1.000 ml.

Para desenvolvimento da cor

Solução de alfa-naftol: aquecer 360 ml de água destilada e 50 ml de ácido acético a 50°C e transferir para um frasco escuro contendo 0,25 g de ácido sulfanílico. Agitar até dissolver e adicionar 0,20 g de alfa-naftol, agitando bem. Esfriar à temperatura ambiente e adicionar 90 ml de solução de NH_4OH a 10%. O pH desta solução deve ser $4,0 \pm 0,5$.

Preparação da coluna

Preparar uma coluna estirando uma das pontas de um tubo de vidro de 1,5 cm de diâmetro e 12 cm de comprimento. Adaptar ao topo da coluna um funil de separação de 50

ml, com haste de 1 mm de diâmetro interno e 25 cm de comprimento.

Colocar de 2 a 3 bastões de zinco em um béquer contendo cerca de 100 ml da solução de sulfato de cádmio a 20%. Remover, com uma vareta de vidro, o depósito esponjoso formado depois de 2 a 3 horas, e colocá-lo em um béquer contendo água destilada. Transferir o cádmio formado para o copo de liquidificador, com o auxílio de aproximadamente 200 ml de água destilada, e triturar durante 1 a 2 segundos. Passar na peneira de 20 a 40 malhas. Colocar na extremidade afilada da coluna um pouco de lã de vidro seguida de uma camada de 1 cm de areia e transferir o cádmio para até quase o topo da mesma, mantendo-a sempre com água. Adaptar o funil de separação à coluna através de uma rolha de cortiça, para prevenir a entrada de ar na coluna, mantendo-a sempre com água.

Antes da determinação do nitrato, lavar a coluna com 25 ml de HCl 0,1 N; em seguida, com 50 ml de água destilada e, finalmente, com 25 ml de solução tampão diluída a 1:9 com água destilada.

Quando o cádmio esponjoso é mantido de baixo d'água, sua atividade decresce depois de 24 horas. A eficiência de redução da coluna deve ser sempre controlada. Esta pode ser regenerada por passagens sucessivas de porções de HCl 0,1 N, água e tampão, como descrito acima.

Eficiência da coluna: testar a eficiência da coluna passando soluções padrões de $NaNO_2$ através da mesma, determinar a quantidade de nitrato, de acordo com o procedimento descrito adiante e calcular a porcentagem de recuperação (os dados obtidos com a coluna por nós usada estão configurados na tabela 1). Quando a recuperação for inferior a 90%, regenerar a coluna da seguinte maneira: desmontar a coluna, transferir o cádmio para um béquer contendo HCl 2N e deixar por um minuto. Em seguida, montar a coluna novamente, passar 50 ml de água destilada e 25 ml da solução tampão diluída 1:9.

Curva padrão de nitrato de sódio

Pesar 0,46 g de $AgNO_2$ e dissolver em 100 ml de água destilada quente. Transferir a solução obtida e as águas de lavagem correspondentes às três lavagens com 30 ml de água destilada para um balão volumétrico de 1.000 ml. Pesar 0,25 g de NaCl e adicionar ao balão, completando o volume com água destilada; agitar. Deixar decantar. Pipetar 5 ml do sobrenadante e transferir para um balão volumétrico de 100 ml, completando o volume com água destilada. Um mililitro desta solução corresponde a 10 microgramas de $NaNO_2$.

Pipetar alíquotas (de 0,25 a 10 ml) desta solução para balões volumétricos de 25 ml. Adicionar 5 ml da solução tampão e 10 ml do reagente para desenvolver cor. Completar o volume com água. Colocar os balões à temperatura de 25 a 30°C durante 30 minutos para

TABELA 1

Eficiência da coluna na recuperação de nitritos e nitratos

Quantidade de NaNO ₃ passada na coluna μg	Valor teórico de NaNO ₂ correspondente a NaNO ₃ μg	Valor encontrado em NaNO ₂ μg	Recuperação %
4	3,24	3,33	102,7
8	6,48	6,66	102,7
12	9,72	9,66	99,3
20	16,20	16,60	102,4
40	32,40	32,66	101,7
56	45,36	46,32	102,1

desenvolvimento da cor. Esfriar à temperatura ambiente e ler em espectrofotômetro em cela de 1 cm a 474 nm usando como branco a solução contendo 10 ml do reagente para desenvolver cor, 5 ml da solução tampão, e 10 ml de água destilada.

Com os valores obtidos construir a curva padrão.

Procedimento

Preparo da amostra

Pesar 10 g da amostra, transferir para o copo do liquidificador e triturar com auxílio de 25 ml de água (batata e cenoura devem estar descascadas). Transferir para um balão volumétrico de 200 ml com auxílio de 50 ml de água, lavar o copo do liquidificador e adicionar 50 ml da solução de cloreto de cádmio. Agitar e deixar descansar por uma hora, agitando ocasionalmente. Adicionar 10 ml de solução de hidróxido de sódio. Completar o volume com água e filtrar imediatamente em papel de filtro isento de nitrito. O filtrado está pronto para ser passado na coluna de cádmio.

Determinação de nitrato

Pipetar 20 ml da solução desproteïnizada para um bquer de 150 ml e adicionar 5 ml da solução tampão. Colocar o conteúdo no funil de separação e passar pela coluna de cádmio a uma velocidade de 5 ml/min rejeitando os primeiros 10 ml. Passar água destilada através da coluna até recolher 100 ml do eluado em balão volumétrico, tomando cuidado para que a coluna não seque. Pipetar 10 ml do eluado para balão volumétrico de 25 ml, adicionar 5 ml da solução tampão, 10 ml do reagente para desenvolver cor. Deixar em banho-maria a 25 — 30°C durante 30 min. Esfriar à temperatura ambiente, fazer a medida em cela de 1 cm em espectrofotômetro, usando como branco uma solução contendo

10 ml do reagente para desenvolver cor, 5 ml da solução tampão e água destilada.

Calcular o valor de nitrito, usando a curva padrão. Para se obter o valor de nitrato na amostra, multiplicar o valor encontrado pelo fator 1,231.

RESULTADOS

Os resultados estão relacionados pelo número da amostra, tipo de hortaliça, e são expressos em nitrato de sódio (tabela 2). Por esses resultados pode-se ver que as amostras de espinafre apresentaram consistentemente níveis altos de nitratos, com um mínimo de 545 mg/kg e um máximo de 4136 mg/kg, com uma média de 2030 mg/kg e um 90.^o percentil de 3306 mg/kg, enquanto que algumas amostras de batata não apresentaram nitratos, havendo um máximo de 748 mg/kg, uma média de 145 mg/kg e um 90.^o percentil de 370 mg/kg. As amostras de alface, cenoura e couve apresentaram consideráveis variações no nível de nitrato, não sendo encontrado em algumas amostras, ou atingindo, por vezes, valores bastante altos como o da amostra n.^o 15, de couve, o mais alto encontrado neste estudo, 5.896 mg/kg (tabela 3).

DISCUSSÃO

Comparados os valores obtidos por outros autores, como os relacionados por WALKER⁹, pode-se ver que a média de 317 mg/kg encontrada por Jackson *et alii*, em 1976, e a de 352 mg/kg encontrada por Rantur *et alii*, em 1972, em amostras de couve, são bem menores que aquela por nós encontrada, que foi de 1975 mg/kg. Nas amostras de alface, Sobdeva, em 1969, e Lemieszch-Chodorowskan, em 1972, encontraram máximos de 3547 mg/kg, respectivamente⁹, enquanto que, nas amostras por nós analisadas, a média foi de 1.245 mg/kg.

TABELA 2

Níveis de nitratos, em nitrato de sódio, em hortaliças diversas, provenientes de feiras livres na cidade de São Paulo

NaNO ₃ em mg/kg					
Amostras	Alface	Batata	Cenoura	Couve	Espinafre
1	129	—	—	822	1613
2	248	748	317	2137	1081
3	409	74	—	2447	729
4	1525	132	74	952	3306
5	577	—	312	658	2973
6	1804	35	354	323	545
7	1595	55	52	1898	1587
8	194	61	431	652	1948
9	63	—	240	857	1102
10	882	188	263	683	1922
11	1159	—	136	775	831
12	2091	63	420	1594	1057
13	1361	139	371	2203	1625
14	1419	78	245	1989	2732
15	3294	46	726	5896	3782
16	2076	200	331	4350	3151
17	339	94	525	3891	4136
18	3076	379	675	4631	2273
19	1260	249	355	1911	2278
20	1728	370	240	830	1947

O sinal (—) indica: não desenvolvimento de cor.

TABELA 3

Variação dos níveis de nitratos, em nitrato de sódio, nas amostras analisadas

Nitratos, em nitrato de sódio mg/kg				
Amostras	Valores			
	Máximo	Mínimo	Média aritmética	90. ^o percentil
Alface	3294	63	1261	2091
Batata	748	0	145	370
Cenoura	726	0	303	525
Couve	5896	323	1975	4631
Espinafre	4136	545	2030	3306

Nas amostras de espinafre, a média de 1910 mg/kg, obtida por Richardson, em 1907⁹, é próxima àquela por nós encontrada, isto é, 2030 mg/kg. Ainda para o espinafre, Lemieszeg-Chodorowska, em 1972, relataram um máximo de 3413 mg/kg⁹.

CONCLUSÃO

Apesar do pequeno número de amostras, os níveis de nitratos encontrados nas diversas

hortaliças analisadas, quando comparados aos encontrados por outros autores, mostram variações, sendo consistentemente altos apenas para o espinafre.

É necessário um estudo maior da possível correlação entre os níveis de nitratos encontrados nas hortaliças e os diferentes tipos de solo, fertilizantes, migração, e outros fatores que podem alterar esses níveis.

RIAL6/546

LARA, W.H. & TAKAHASHI, M.Y. — Nitrate levels in fresh vegetables sold in São Paulo City, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1/2):53-57, 1982.

ABSTRACT: Samples of lettuce, carrot, cabbage, spinach, and potato were collected in free markets of São Paulo City, Brazil. High levels of nitrates were consistently found in spinach samples and they ranged from 545 to 4136 mg per kg (mean: 2030 mg, and 90th percentile: 3306 mg/kg). Several samples of potatoes showed from 0 to 748 mg/kg. The samples of lettuce, carrot and cabbage showed considerable variation which ranged from no nitrates to very high values such as 5896 mg/kg found in one sample.

DESCRIPTORS: nitrate in fresh vegetables, determination; vegetables, fresh, nitrate determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução normativa n.º 08-79 da Câmara Técnica de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, DF, 1.º jun. 1979. Seção I, pt. I, p. 7843. Revoga a Resolução n.º 9-76 da CNNPA.
2. COMITÉ MIXTE FAO/OMS D'EXPERTS DES ADDITIFS ALIMENTAIRES. Genève, 1973. *Evaluation toxicologique de certains additifs alimentaires; examen des principes généraux et des normes*. 17 ème rapport. Genève, OMS, 1974. p. 37. [OMS Sér. Rapp. techn. n.º 539]
3. HAMILTON, J.E. — Collaborative study of the colorimetric determination of nitrate and nitrite in cheese. *J. Assoc. off. Agric. Chem.*, 59:284-8, 1976.
4. LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y. & YABIKU, H.Y. — Níveis de nitratos em alimentos infantis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40: 147-52, 1980.
5. LEE, C.Y.; SHALLENBERGER, R.S.; DOWNING, D.L.; STOLWSAND, G.S. & PECK, N.M. — Nitrate and nitrite nitrogen in fresh stored and processed table and spinach from different levels of field nitrogen fertilisation. *J. Sci. Food Agric.*, 22:90-2, 1971.
6. LEE, D.H.K. — *Nitrates, nitrites and methaemoglobinemia*. Environmental review n.º 2. North Carolina, National Institute of Environmental Health Sciences, 1970.
7. PHILLIPS, W.E.J. — Changes in the nitrite contents of fresh and processed spinach during storage. *J. agric. Food Chem.*, 16: 88-91, 1968.
8. SEBRANEK, J.G. & CASSENS, R.G. — Nitrosamines: a review. *J. Milk Food Technol.*, 36:76-91, 1973.
9. WALKER, R. — Naturally occurring nitrate/nitrite in foods. *J. Sci. Food Agric.*, 26: 1735-42, 1975.

Recebido para publicação em 30 de março de 1982.

