

NITRATO E NITRITO EM LEITE *IN NATURA* E INGESTA ESTIMADA DESTES COMPOSTOS

JOICE SIFUENTES DOS SANTOS¹
MARLA CRISTINA HECK²
IJONI COSTABEBER³
TATIANA EMANUELLI⁴

1. Farmacêutica, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.
2. Química, Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
3. Farmacêutica, Docente do Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria- UFSM, Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.
4. Farmacêutica. Docente de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

Autor Responsável: J.S. Santos.
E-mail: ijoni@smail.ufsm.br

INTRODUÇÃO

Nitratos e nitritos são compostos usados como aditivos em produtos cárneos para inibir o crescimento do *Clostridium botulinum*, microrganismo produtor de toxinas letais. Além disso, conferem cor aos produtos cárneos curados (Duarte & Mídio, 1996). Também são usados na fabricação de queijos para evitar o chamado estufamento tardio, causado, geralmente, por *Clostridium tyrobutiricum*. Podem, ainda, estar presentes naturalmente nos alimentos de origem vegetal e animal, e mesmo na água, decorrentes do uso de fertilizantes na agricultura (Levallois & Phaneuf, 1994). Também podem aparecer como contaminantes do leite, embora em concentrações pouco elevadas. Os nitratos podem passar do solo para o pasto usado na alimentação bovina, e, após a absorção, podem ser excretados pelo leite. No leite cru os teores de nitrato e de nitrito dependem do local de origem da amostra e estação do ano (Zbikowski et al., 2000).

Em pesquisa realizada por Kammerer et al. (1992), quando foram adicionados 0,180 mg/L de nitrato à água fornecida a vacas leiteiras de uma fazenda, foi observado que este nitrato consumido pelos animais não exerce efeito significativo no conteúdo de nitrato no leite. Pesquisa semelhante foi realizada por Dusdieker et al. (1996), acrescentando-se nitrato a água consumida por mulheres na fase de lactação. Observaram que as mulheres que consumiam água contendo nitrato em concentração de 100 mg/L ou menos não produzem leite com concentrações elevadas de nitrato.

A exposição contínua a nitratos e nitritos pelo homem é preocupante sob o ponto de vista toxicológico, devido à possibilidade de formação de compostos N-nitrosos (nitrosaminas), indutores do câncer (Mídio & Martins, 2000). O

nitrato pode ser convertido em nitrito no trato gastrointestinal pela ação de bactérias redutoras e este pode ser transformado em nitrosaminas no estômago (Levallois & Phaneuf, 1994).

Esta reação de redução de nitratos a nitritos também pode ocorrer no próprio alimento, dependendo das condições que o mesmo oferece. Segundo Vermeer et al. (1998), a ingestão de nitrato dentro dos limites aceitáveis, em combinação com refeições contendo precursores nitrosáveis, como o peixe, demonstrou um incremento na formação de N-nitrosaminas cancerígenas.

Com o objetivo de investigar a extensão da contaminação por nitrato e nitrito em leite, investigou-se os seus níveis em amostras de leite *in natura* produzidas, na Região da Depressão Central do Rio Grande do Sul, Brasil, e se procurou verificar a ingestão diária estimada (IDE) destes compostos, comparando-a à ingestão diária admissível (IDA) estabelecida.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite bovino *in natura* foram coletadas de propriedades envolvidas na cadeia produtiva do leite na Região da Depressão Central do Rio Grande do Sul, durante o mês de julho de 2001. As amostras devidamente identificadas foram congeladas a -20°C até o momento das análises.

A desproteïnização das amostras foi feita conforme descrito por Cortas & Wakid (1990), adicionando ao leite ZnSO_4 75mM e NaOH 55mM sob agitação. Após, as amostras são centrifugadas a 3000 r.p.m. durante 4 minutos. O nitrito foi determinado espectrofotometricamente a 474 nm após diazotização com o ácido sulfanílico e alfa-naftol

(Instituto Adolfo Lutz, 1985). O nitrato foi determinado após redução quantitativa a nitrito, utilizando-se grânulos de cádmio revestidos com cobre (Cortas & Wakid, 1990), seguindo uma técnica de adição de padrões, onde são resolvidos problemas de inibidores da redução.

Durante a realização desta técnica, são adicionadas quantidades crescentes de solução padrão de NaNO_3 100 μM aos tubos que continham solução tampão glicina (pH=9,6), água destilada, amostra e grânulos de cádmio revestidos. Após agitação por 90 minutos, o nitrato é reduzido a nitrito e determinado espectrofotometricamente.

Foram aplicados questionários a crianças matriculadas na primeira série do Ensino Fundamental de Escolas particulares, estaduais e municipais de Santa Maria – RS, para obter informações a respeito da idade, do peso corporal e do volume de leite *in natura* consumido diariamente, conforme descrito por Heck et al. (2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência de detecção e a concentração média de nitrato e de nitrito nas amostras de leite *in natura* estão descritas na Tabela 1. Observou-se uma contaminação média de nitrato de 7,30 mg/kg e de nitrito de 1,96 mg/kg. Os compostos estavam presentes em todas as amostras analisadas.

Tabela 1. Frequência de detecção, concentração média e erro padrão de nitrato e nitrito em amostras de leite *in natura*.

Composto	Frequência de detecção (%)	Concentração média (mg/kg)
Nitrato (NO_3)	100,0	7,30
Nitrito (NO_2)	100,0	1,96

Koréneková et al. (2000) detectaram 0,2 mg/kg de nitrito e 0,9 mg/kg de nitrato em leite *in natura*, valores inferiores aos detectados no presente estudo. Em leite fresco, Bintoro (1996) detectou entre 1 e 2,6 mg/kg de nitrato. As amostras de leite *in natura* investigadas por Przyby (1989) continham nitratos em quantidades que inferiores a 2 mg/kg e nitritos em traços ou não detectados. Segundo Walker (1990), os teores de nitrato raramente são maiores que 5 mg/kg.

Níveis entre 2 e 55,7 mg/kg de nitrato foram encontrados nas amostras de leite investigadas por Tsygamenko et al. (1991), sendo que 12% das amostras continham níveis elevados deste composto. A legislação brasileira não estabelece valores máximos para a presença de nitrato e nitrito em leite, no entanto, considera impróprio para o consumo o leite de gado que contenha nitratos (Mídio & Martins, 2000).

Com base nos dados obtidos nos questionários, construiu-se a Tabela 2. Pode-se observar uma grande variação no consumo de leite *in natura* pelos alunos entrevistados (entre 0 e 1428,6 mL/dia). O consumo médio foi de 302,6 mL/dia. A idade média dos alunos foi de 6,7 anos, com peso médio de 27,03 Kg e altura média de 1,25 m.

Tabela 2. Volume de leite *in natura* consumido diariamente, idade, peso e altura de crianças matriculadas na primeira série do Ensino Fundamental de Santa Maria, RS.

	N	Valor médio	Intervalo
Volume de leite <i>in natura</i> (mL/dia)	131	302,6	0 – 1428,6
Idade (anos)	131	6,7	5 – 12
Peso (kg)	18	27,03	19,00 – 35,50
Altura (m)	18	1,25	1,10 – 1,45

n = número de questionários respondidos
Dados previamente publicados por Heck et al., 2002

A partir das concentrações de nitrato e nitrito encontradas nas amostras e dos dados obtidos nos questionários, pôde-se calcular a ingestão diária estimada desses compostos a partir de leite. As IDEs e as IDAs de nitrato e nitrito podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3. Ingestão diária estimada de nitrato e nitrito, a partir de leite *in natura* e ingestão diária admissível destes compostos.

Composto	IDE (mg/kg)	IDA (mg/kg)
Nitrato (NO_3)	0,082	3,70
Nitrito (NO_2)	0,022	0,06

IDE = ingestão diária estimada
IDA = ingestão diária admissível

A IDE de ambos compostos ficou abaixo da sua respectiva IDA, estabelecida pela FAO/OMS (Arnold et al., 1998). A IDE de nitrato correspondeu a apenas 2,21% da sua IDA, a de nitrito correspondeu a 36,6% da IDA. Segundo Ellen et al. (1990), a ingestão média de nitrato na dieta foi de 52 mg/dia, cerca de 25% da IDA. Apenas 16 dietas continham quantidades detectáveis de nitrito.

A maior ingestão de nitrito foi de 0,7 mg/pessoa/dia, menos que 10% da IDA. De acordo com Vaessen & Schothorst (1999), no ano de 1994, a ingestão média de nitrito foi de 0,6 mg/ pessoa/dia e nitrato de 73 mg/pessoa/dia no período da primavera; já no outono, a ingestão de nitrito foi menor que 0,2 mg/pessoa/dia e a de nitrato foi de 87 mg/pessoa/dia. Esses valores foram maiores que aqueles encontrados entre 1984 e 1985, quando a ingestão diária foi de 52 mg de nitrato por pessoa. No estudo realizado por Penttilä et al. (1988), analisando aditivos alimentares, a ingestão de nitrato e nitrito estava acima ou próxima dos valores de sua IDA.

O conteúdo médio de nitrato em porções alimentares na Alemanha foi de 101 mg/pessoa/dia. Esse valor excedeu em 36% o valor médio estabelecido pela FAO (Arnold et al., 1998). Já segundo Wawrzyniak et al. (1999), a ingestão média de nitrato e nitrito foi inferior a IDA. Os vegetais e seus produtos forneceram entre 94-98% dos nitratos, e os produtos cárneos 98% dos nitritos. Resultado semelhante foi observado por Brussaard et al. (1996), onde a ingestão média de nitrato não excedeu a IDA.

CONCLUSÕES

Os compostos nitrato e nitrito foram detectados no leite *in natura* em concentrações médias de 7,30 e 1,96 mg/kg, respectivamente. A Ingestão Diária Estimada (IDE) foi de 0,082 mg/kg para o nitrato e de 0,022 mg/kg para o nitrito, valores abaixo da Ingestão Diária Admissível (IDA) estabelecida pela FAO/OMS. Como os valores das IDEs calculadas estavam dentro dos limites da IDA estabelecida, conclui-se que o leite *in natura* produzido na Região da Depressão Central do Rio Grande do Sul, Brasil, não representa um risco toxicológico, sob o aspecto avaliado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNOLD, R.; KIBLER, R.; BRUNNER, B. Alimentary intake of selected pollutants and nitrate – results of a duplicate study in Bavarian homes for youth and seniors. *Zeitschrift Fur Ernährungswissenschaft*, v.37, n.4, p.328-335, 1998.
- BINTORO, V.P.; CANTIN-ESNAULT, D.; ALARU, J. A survey of nitrate contents in Indonesian milk by enzymic analysis. *Food Additives and Contaminants*, v.13, n.1, p.77-87, 1996.
- BRUSSAARD, J.H.; van DOKKUM, W.; van der PAAUW, C.G.; DE VOS, R.H. DE KORT, W.L. LÖWIK, M.R. Dietary intake of food contaminants in The Netherlands (Dutch Nutrition Surveillance System). *Food Additives and Contaminants*, v.13, n. 5, p. 561-573, 1996.
- CORTAS, N. K.; WAKID, N. W., Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine By a Kinetic Cadmium – Reduction Method. *Clinical Chemistry*, v. 36, n. 8, p. 1440-1443, 1990.
- DUARTE, M.; MÍDIO, A.F. Nitratos e nitritos em alimentos. *Cadernos de Nutrição*, v.12, p.19-30, 1996.
- DUSDIEKER, L.B.; STUMBO, P.J.; KROSS, B.C.; DUNGY, C.I. Does increased nitrate ingestion elevate nitrate levels in human milk? *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*, v.150, n.3, p.311-314, 1996.
- ELLEN, G.; EGMOND, E.; van LOON, J.W.; SAHERTIAN, E.T.; TOLSMA, K. Dietary intakes of some essential and non-essential trace elements, nitrate, nitrite and N-nitrosamines, by Dutch adults: estimated via a 24-hour duplicate portion study. *Food Additives and Contaminants*, v.7, n.2, p.207-221, 1990.
- HECK, M.C.; ROSSATO, S.; SANTOS, J.S.; BOGUSZ JÚNIOR, S.; COSTA-BEBER, I.; EMANUELLI, T. Fatores que influenciam o consumo de leite por crianças da 1ª série do ensino fundamental do município de Santa Maria (RS). *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v. 24, p. 21-32, 2002.
- KAMMERER, M.; PINAULT, L.; POULIQUEN, H. Content of nitrate in milk. Relationship with its concentration in the water supply for livestock. *Annales de Recherches Veterinaires*, v.23, n.2, p.131-138, 1992.
- KORÉNEKOVÁ, B.; KOTTĚROVÁ, J.; KORÉNEK, M. The fat of added nitrate used in the manufacture of Emmental cheese. *Food Additives and Contaminants*, v. 17, n.5, p.373-377, 2000.
- LEVALLOIS, P., PHANEUF, D. Contamination of drinking water by nitrates: analysis of health risks. *Canadian Journal of Public Health*, v. 85, n. 3, p. 192-196, 1994.
- MÍDIO, A.F.; MARTINS, D.I. *Toxicologia de alimentos*. 1. São Paulo: Varela, 2000. Cap. IV: Agentes tóxicos contaminantes indiretos de alimentos: p. 163-252.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. p.94-102. 1985.
- PENTILA, P.P.; SALMINEN, S.; NIEMI, E. Estimates on the intake of food additives in Finland. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung Und – Forschung*, v.186, n.1, p.11-15, 1988.
- PRZYBY, P.; KISZA, J.; JANICKA, B.; SAJKO, W. Presence of nitrates and nitrites in raw milk as subject to the system of milk purchasing. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, v.40, n.1, p.6-15, 1989.
- TSYGAMENKO, O.I.; EMCHENKO, N.L.; LAPCHENKO, V.S.; TSYPKO, M.I.; MIKLALIUK, E.N.; STAKHURSKAIA, L.V.; STADNICHUK, N.A.; VEZIKA, S.S. Nitrates in cow's milk and in various milk products in the Ukraine. *Voprosy Pitaniia*, n.3, p.45-49, 1991.
- VAESSEN, H.A.; SCHOTHORST, R.C. The oral nitrate and nitrite intake in The Netherlands: evaluation of the results obtained by HPLC analysis of duplicate 24-hour diet samples collected in 1994. *Food Additives and Contaminants*, v.16, n.5, p.181-188, 1999.
- VERMEER, I.T.; PACHEN, C.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. *Environmental Health Perspectives*, v.106, n.8, p.459-463, 1998.
- WALKER, R. Nitrates, nitrites and n-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Additives and Contaminants*, n.7 v.6, p.717-768, 1990.
- WAWRZYNIAK, A.; GRONOWSKA-SENGER, A.; GÓRECKA, K. The evaluation of nitrates and nitrites food intake among Polish households in 1991-1995. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, v.50, n.3, p.269-287, 1999.
- ZBIKOWSKI, Z.; ZBIKOWSKA, A.; BARANOWSKA, M. Content of nitrates and nitrites in raw milk in different regions of the country. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, v.51, n.1, p. 29-35, 2000.