

## DETERMINAÇÃO DE NITRATO E NITRITO EM PAPINHAS PARA BEBÊS E AVALIAÇÃO DE EXPOSIÇÃO DA POPULAÇÃO INFANTIL

**Palavras-Chave:** Papinha, Nitrato, Nitrito, Espectroscopia no ultravioleta visível

**Autores(as):**

**CAMILA AKEMI AKIYAMA, FEA – UNICAMP**

**DAVID SILVA DA COSTA, FEA – UNICAMP**

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. ADRIANA PAVESI ARISSETO BRAGOTTO, FEA – UNICAMP**

---

### INTRODUÇÃO:

A nutrição adequada durante a primeira infância é crucial para o desenvolvimento saudável das crianças, sendo necessária a introdução de alimentos complementares, como as papinhas, aos seis meses de vida (WHO, 2023). Contudo, além dos aspectos nutricionais, é essencial considerar a presença de substâncias potencialmente tóxicas, como nitrato e nitrito, encontradas naturalmente em diversos vegetais (SANTAMARIA, 2006; DE PAIVA et al., 2023).

É amplamente reconhecido que a presença de nitratos em vegetais, assim como em outros alimentos e na água, é uma preocupação à saúde humana. Na realidade, os nitratos são altamente estáveis e não tóxicos nas quantidades consumidas habitualmente, mas podem representar um risco à saúde quando são reduzidos a nitritos. Aproximadamente 25% do nitrato ingerido é secretado na saliva e cerca de 20% do nitrato da secreção salivar é então convertido em nitrito por microrganismos na cavidade oral. Assim, para indivíduos normais, cerca de 5 a 7% do nitrato ingerido pode ser detectado como nitrito na saliva (PANNALA et al., 2003; CHAN, 2011).

Os nitritos, que são muito mais instáveis que os nitratos, oxidam a hemoglobina dos glóbulos vermelhos para formar a metemoglobina, a qual não é capaz de transportar oxigênio. Altas concentrações de metemoglobina podem aumentar o risco de metemoglobinemia, patologia que pode levar à morte. Os bebês são muito sensíveis a este tipo de patologia, que nesta população também é conhecida por “síndrome do bebê azul”, pois, ao contrário dos adultos, o pH do estômago dos bebês é mais elevado, o que favorece a redução do nitrato a nitrito, e o sistema enzimático que catalisa a redução da metemoglobina à hemoglobina ainda não se encontra plenamente desenvolvido. Além da metemoglobinemia, a presença de nitrito também pode envolver a formação de vários compostos N-nitrosos (nitrosaminas e nitrosamidas) por reação com aminas e amidas secundárias presentes nos alimentos (PANNALA et al., 2003).

Entretanto, o número de estudos recentes sobre os teores de nitrato e nitrito em alimentos infantis, como as papinhas, é bastante limitado (CHETTY & PRASAD, 2016; COVIELLO et al., 2020). No Brasil, Betta et al. (2013) avaliaram a presença de nitrato e nitrito em 14 amostras de papinhas comerciais e encontraram teores de nitrato variando de 8,84 mg/kg a 244,41 mg/kg, estando dentro do limite estabelecido pela ANVISA (250 µg/g). Nitrito não foi detectado em nenhuma amostra. Além disso, nenhuma avaliação de exposição foi realizada pelos

autores (BRASIL, 1998; BETTA, 2013). Atualmente, há uma gama variada e diferenciada de produtos para bebês que necessitam de investigação quanto aos níveis de nitratos e nitritos. Diante do exposto, espera-se que esse estudo forneça dados atualizados sobre os níveis de nitrato e nitrito presentes em alimentos infantis, contribuindo para uma avaliação de exposição para caracterizar potenciais riscos à saúde.

## **METODOLOGIA:**

As amostras foram adquiridas no comércio da cidade de Campinas, SP, nos anos de 2023/2024. Foram analisadas um total de 40 amostras comerciais de alimentos infantis, sendo 10 amostras do tipo snacks, nos seguintes sabores: tomate e manjericão (lote 2509233); beterraba e grão-de-bico (lotes 612232, 3001242 e 0504243); brócolis e maçã (lote 2610231); ervilha e brócolis (lote 2208234); grão-de-bico e cenoura (lote 310231); banana e cenoura (lote 3108231); lentilha, arroz e brócolis (lote 2410234) e beterraba e morango (lote 1803243). Outras 27 amostras do tipo papinha, nos sabores: Maçã e ameixa (lotes 25092023 e 19112023); Manga (lotes 30092023 e 19112023); Banana, mirtilo e quinoa (lote 06082023); Maçã, cenoura e batata doce (lotes 06082023 e 03022023); Lentilha, carne e legumes (lote 1127312); Arroz, feijão, carne e legumes (lote 1128311); Arroz, quinoa, frango e legumes (lote 1212310); Arroz com feijão vegano (lote G3523); Creme de batata roxa, milho e ora pro nobis (lote 09012024); batata doce, feijão e frango (lote 091123); Moranga e grão de bico (lote 101123); creme de milho com feijão rajado (lote 03523); Lentilha, carne e legumes (lote 71123); Risotinho de cogumelos e alho poró (lote 50224); Creme de milho, frango e inhame (lote 111223); Moranga, grão de bico e carne (lote 061023); Moranga com feijão e beterraba (lote 33923); Moranga, feijão e legumes (lote 220224); Batata doce, feijão, carne e couve (lote 260224); Moranga, carne e legumes (lote 260124); Arroz, cenoura e carne (lote 28923); Banana e maçã (lote 081123); Pêra, uva e maçã (lote 081123) e Pêra, espinafre e abobrinha (lote 4020). Além de 1 amostra de biscoito para denteção de vegetais (lote 22102023), 1 amostra de granola sabor shake de morango (lote 02324) e 1 amostra de aveia integral no sabor morango e beterraba (lote 240220).

A determinação de nitrato e nitrito foi baseada no método Oficial Físico-Químico para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes – Sal e Salmoura estabelecido pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA, 2022), tendo sido adaptado para papinhas visando à redução de reagentes e resíduos químicos. Resumidamente, o método incluiu a pesagem da amostra, desproteíntização, redução de nitrato a nitrito usando cádmio esponjoso (para análise de nitrato), diazotação e acoplamento. Os extratos obtidos a partir do preparo das amostras foram distribuídos em uma placa de 96 poços e analisadas em um espectrofotômetro a 540 nm. O espectrofotômetro utilizado foi o modelo FLUOstar Omega da marca BMG LABTECH, fabricado na Alemanha. A concentração de nitrato foi obtida por diferença (nitrito total – nitrito).

A validação do método ocorreu em dois dias distintos, sendo utilizada uma amostra comercial de papinha orgânica, destinada para bebês, sabor “pera, espinafre e abobrinha” (amostra branca). Os parâmetros avaliados incluíram linearidade, especificidade, precisão (repetibilidade e reprodutibilidade intermediária), exatidão (recuperação), limite de quantificação (LOQ) e limite de detecção (LOD). A linearidade do método foi avaliada a partir de curvas analíticas com 7 pontos (0,1; 0,15; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 µg/mL) coincidentes com a matriz na faixa de 12,5 a 75 µg/g. Para a precisão e exatidão, a amostra foi fortificada com diferentes concentrações de nitrato e nitrito (12,5 µg/g, 37,5 µg/g e 75 µg/g), sendo realizada 6 repetições para cada uma das concentrações.

Os resultados obtidos quanto às concentrações encontradas foram utilizados para calcular a ingestão diária estimada (EDI) de nitrato e nitrito pelo consumo de uma porção da amostra. Os cálculos foram realizados empregando-se modelo determinístico e peso corpóreo referente à faixa etária da indicação de consumo segundo a *World Health Organization* (WHO, 2023). A caracterização do risco foi baseada na comparação dos valores de IDE com os valores de ingestão diária aceitável (IDA) dos compostos estabelecidos pelo Joint FAO/WHO *Expert Committee on Food Additives* - JECFA (FAO/WHO, 2002a; 2002b). A EDI foi expressa em % IDA de acordo com a equação:  $\% \text{IDA} = (100 \times \text{EDI}) / \text{IDA}$ . O risco pode existir se a EDI for superior à IDA (ou estiver acima de 100% da IDA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os parâmetros de validação analisados (especificidade, linearidade, precisão, exatidão, LOQ e LOD) são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Parâmetros de validação interdia e intradia para papinha destinada para bebês.

Parâmetros	Especificações		Nitrato		Nitrito	
Especificidade	Sem interferência		Sem interferência		Sem interferência	
Linearidade	$r \geq 0,98$		$y = 0,5728x + 0,0108$ $r = 0,997$		$y = 0,5728x + 0,0108$ $r = 0,997$	
Precisão intradia n=6	Concentração de analito (µg/g)	CV (%)	Concentração de analito (µg/g)	CV (%)	Concentração de analito (µg/g)	CV (%)
	100	5,3	12,5	3,6	12,5	2,0
			37,5	3,6	37,5	3,6
			75	3,7	75	5,2
Precisão interdia n=6	Concentração de analito (µg/g)	CV (%)	Concentração de analito (µg/g)	CV (%)	Concentração de analito (µg/g)	CV (%)
	100	8	12,5	8,0	12,5	6,5
			37,5	6,0	37,5	6,9
			75	8,0	75	6,7
Exatidão	Concentração de analito (µg/g)	Recuperação (%)	Concentração de analito (µg/g)	Recuperação (%) ± Desvio Padrão	Concentração de analito (µg/g)	Recuperação (%) ± Desvio Padrão
	100	80 a 107	12,5	95 ± 7,8	12,5	84 ± 1,7
			37,5	86 ± 4,11	37,5	98 ± 3,5
			75	102 ± 6,2	75	96 ± 5,1
LOQ	n = 12		12,5 µg/g		12,5 µg/g	
LOD	n = 12		6,25 µg/g		6,25 µg/g	

Fonte: Autoral.

A curva de calibração mostrou boa linearidade, com coeficiente de correlação (r) superior a 0,99. A precisão intra-dia (CV = 3,6%) e inter-dia (CV = 7,3%) para nitrato e intra-dia (CV = 3,6%) e inter-dia (CV = 6,7%) para nitrito ficaram dentro dos valores recomendados pelo INMETRO (2020). Em relação à exatidão, os valores de recuperação para nitrato foram de 95%, 86% e 102% para 12,5 µg/g, 37,5 µg/g e 75 µg/g,

respectivamente. Enquanto para nitrito os valores foram de 84%, 98% e 96% para 12,5 µg/g, 37,5 µg/g e 75 µg/g, respectivamente. O LOD e o LOQ foram determinados com base na recuperação. Para concentrações a partir de 6,25 µg/g a recuperação foi inferior a 70%, já para concentrações a partir de 12,5 µg/g, foi observado uma recuperação acima de 80%, valor mínimo especificado pelo INMETRO (2020). Dessa forma, o LOD e LOQ foram determinados como sendo 6,25 µg/g e 12,5 µg/g, respectivamente. Dentre todas as amostras analisadas, foram quantificados níveis de nitrato apenas nas amostras que continham beterraba na formulação. Nitrito não foi detectado (<LOD) em nenhuma das amostras analisadas. A EDI foi calculada e os resultados variaram de 0,031 a 0,325 mg/kg de pc, que representa 0,62 e 6,3%, respectivamente, da sua Ingestão Diária Aceitável (5 mg/kg de pc, expresso como nitrato de sódio) estabelecida pelo JECFA. Os resultados estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 2** – Resultados da avaliação de risco de consumo para as amostras que apresentaram níveis de nitrato > LOQ.

Amostra		Concentração média de nitrato	Porção descrita na embalagem	Faixa etária indicada	Peso corpóreo (pc) médio	IDA	EDI	% IDA
Tipo	Sabor/ lote							
Snack	Beterraba e grão de bico (612232)	23,95 µg/g	20g	A partir de 8 meses	10,7 kg (8-12 meses)	5 mg/kg de pc	0,045 mg/kg de pc	0,9
Aveia integral	Morango e beterraba (240220)	14,95 µg/g	21g	A partir de 6 meses	10,3 kg (6-12 meses)	5 mg/kg de pc	0,031 mg/kg de pc	0,62
Papinha	Moranga com feijão e beterraba (33923)	16,85 µg/g	200mL	A partir de 8 meses	10,7 kg (8-12 meses)	5 mg/kg de pc	0,315 mg/kg de pc	6,3
Snack	Beterraba e grão de bico (3001242)	32,60 µg/g	20g	A partir de 8 meses	10,7 kg (8-12 meses)	5 mg/kg de pc	0,061 mg/kg de pc	1,22
Snack	Beterraba e grão de bico (0504243)	73,48 µg/g	20g	A partir de 8 meses	10,7 kg (8-12 meses)	5 mg/kg de pc	0,137 mg/kg de pc	2,74

Fonte: Autoral.

Notas: Ingestão Diária Aceitável (IDA)  
Ingestão Diária Estimada (EDI)  
A IDA foi expressa como nitrato de sódio

## CONCLUSÕES:

Conclui-se que o método proposto apresenta linearidade, precisão e exatidão satisfatórias para a quantificação de nitrato e nitrito em papinhas para bebês e pode ser aplicado para fins de monitoramento, uma vez que a legislação preconiza um valor máximo de nitrato de 250 µg/g nestes alimentos. As amostras analisadas não apresentam risco à saúde para as faixas etárias indicadas, considerando o consumo de uma porção do produto por dia.

## BIBLIOGRAFIA

BETTA, Fabiana Della et al. Determinação de nitrato e nitrito em alimentos infantis utilizando eletroforese capilar. Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 8, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 34, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento técnico referente a alimentos de transição para lactentes e crianças de primeira infância**. Brasília, 1998.

- CHAN, Thomas YK. Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. **Toxicology letters**, v. 200, n. 1-2, p. 107-108, 2011.
- CHETTY, Adrian A.; PRASAD, Surendra. Flow injection analysis of nitrate and nitrite in commercial baby foods. *Food chemistry*, v. 197, p. 503-508, 2016.
- COVIELLO, Donatella et al. Validation of an analytical method for nitrite and nitrate determination in meat foods for infants by ion chromatography with conductivity detection. *Foods*, v. 9, n. 9, p. 1238, 2020.
- DE PAIVA, Esther Lima et al. Aluminium intake through the consumption of selected baby foods and risk characterization in a population of Brazilian infants aged 0 to 36 months. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 115, p. 105013, 2023.
- FAO/WHO. **Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds)**. Food and Agriculture Organization / World Health Organization, 2002a. FAS 50-JECFA 59/75.
- FAO/WHO. **Nitrite (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds)**. Food and Agriculture Organization / World Health Organization, 2002b. FAS 50-JECFA 59/49.
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008. Revisão 08 – abril/2020.
- MAPA. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. (2022). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.
- PANNALA, Ananth S. et al. The effect of dietary nitrate on salivary, plasma, and urinary nitrate metabolism in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 34, n. 5, p. 576-584, 2003.
- SANTAMARIA, Pietro. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 1, p. 10-17, 2006.
- WHO. World Health Organization. **Infant and young child feeding**. 2023. Disponível em:<[Infant and young child feeding](#)>.