

Nitrati negli alimenti

Paolo Stacchini

Ilaria Altieri



Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

IX Workshop dei Laboratori Nazionali di Riferimento per i metalli e i composti azotati negli alimenti e nei mangimi, per gli additivi nei mangimi, per i contaminanti da processo - Roma, 28-29 novembre 2019



Nitrato

Additivo alimentare

E 251/Nitrato di sodio
E 252/Nitrato di potassio
(Reg(UE)231/2011)

Categoria funzionale:

Conservanti ad azione secondaria
(Clostridium botulinum)
(Reg(CE)1333/2008 e s.m.)

Categorie alimentari:

- 01. prodotti lattiero-caseari
 - 08.3 Prodotti a base di carne
 - 08.3.1 Prodotti a base di carne non sottoposti –a trattamento termico
 - 08.3.4 Prodotti tradizionali a base di carne ottenuti mediante salatura con disposizioni specifiche riguardanti nitriti e nitrati
 - 09.2 Pesce e prodotti della pesca trasformati, compresi molluschi e crostacei
- Reg(UE)1129/2011 (All.II Reg 1333/2008)**

Contaminante

Vegetali e prodotti vegetali
Reg(CE)1881/2006 e s.m
- Campionamento, preparazione,
analisi campioni per C.U. dei
tenori di Nitrati
Reg.(CE) 1882/2006



NITRATI e NITRITI

Re-evaluation of sodium nitrate (E 251) and potassium nitrate (E 252) as food additives. EFSA Journal 2017;15(6):4787

Re-evaluation of potassium nitrite (E 249) and sodium nitrite (E 250), EFSA Journal 2017;15(6):4786

“Confermata la DGA (dose giornaliera accettabile) per il **nitrato** di 3,7 mg / kg di peso corporeo definita dal SCF (1997) e dal JECFA (2002).

Metabolismo

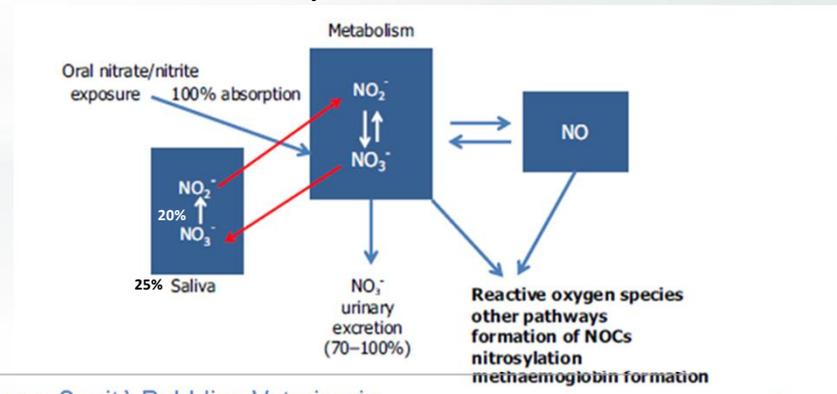
“ 7% dei nitrati assunti con la dieta è convertito in nitriti

“ Nello stomaco il pH acido trasforma il nitrito in acido nitroso che a sua volta si decompone in ossidi di azoto incluso ossido nitrico.

“ I livelli di metaemoglobina prodotti a causa del nitrito ottenuto da questa conversione non sarebbero clinicamente significativi

“ Non destano preoccupazione i livelli teoricamente stimati di composti N-nitroso (ENOC) endogeni che potrebbero formarsi.

“ Studi *in vitro* dimostrano la genotossicità del nitrito di sodio e di potassio, ma non studi *in vivo*



Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

IX Workshop dei Laboratori Nazionali di Riferimento per i metalli e i composti azotati negli alimenti e nei mangimi, per gli additivi nei mangimi, per i contaminanti da processo - Roma, 28-29 novembre 2019



Nitrate in vegetables - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain The EFSA Journal (2008) 689, 1-79

I nitrati e nitriti sono composti intermedi azotati che fanno parte del ciclo dell'azoto.

I nitrati sono molecole naturalmente presenti nei vegetali ed i livelli :

- dipendono da condizioni di coltivazione (intensità e durata della luce, temperatura, disponibilità di acqua e concimazione)
- variano/aumentano nel caso di coltivazioni sotto copertura (ad es. in serre) e/o in condizioni di illuminazione ridotta.

Valori di nitrato riscontrati in 9 gruppi di ortaggi/vegetali (n =41969 da 21 Stati Membri)

- | | |
|---------------------------------|---|
| 1) <i>Ortaggi Brassicaceae:</i> | 24 (cavoletti di Bruxelles) a 987 mg/kg (cavolo Rapa) |
| 2) <i>Ortaggi a bulbo :</i> | 69 (aglio) a 164 mg/kg (cipolla) |
| 3) <i>Ortaggi a frutto:</i> | 43 (pomodoro) a 894 mg/kg(zucca) |
| 4) <i>Funghi:</i> | 60 mg/kg |
| 5) <i>Erbe:</i> | 958 (prezzemolo) a 2445 mg/kg (coriandolo) |
| 6) <i>Ortaggi a foglia:</i> | 355 (radicchio) a 4677 mg/kg (rucola) |
| 7) <i>Legumi:</i> | 30 (piselli) a 756 mg/kg (fagioli freschi) |
| 8) <i>Ortaggi a stelo:</i> | 209 (asparagi) a 2800 mg/kg (rabarbaro) |
| 9) <i>Radici e tuberi:</i> | 43 (asparago d'inverno) a 1416 mg/kg (ravanello bianco) |



Classificazione di ortaggi/vegetali in base al contenuto di nitrato

Table 4. Classification of vegetables according to NO₃ content (mg kg⁻¹ fm)

Very low (<200)	Low (200–500)	Middle (500–1000)	High (1000–2500)	Very high (>2500)
Artichoke	Broccoli	Cabbage	Celeriac	Celery
Asparagus	Carrot	'Cima di rapa' (broccoli rab)	Chinese cabbage	Chervil
Broad bean	Cauliflower	Dill	Endive	Cress
Brussels sprouts	Cucumber	'Radicchio'	Escarola	Lamb's lettuce
Eggplant	Pumpkin	Savoy cabbage	Fennel	Lettuce
Garlic	'Puntarelle' chicory	Turnip	Kohlrabi	Radish
Onion			Leaf chicory	Red beetroot
Green bean			Leek	Rocket
Melon			Parsley	Spinach
Mushroom				Swiss chard
Pea				
Pepper				
Potato				
Summer squash				
Sweet potato				
Tomato				
Watermelon				

J Sci Food Agric **86**:10. 17 (2006)



Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

IX Workshop dei Laboratori Nazionali di Riferimento per i metalli e i composti azotati negli alimenti e nei mangimi, per gli additivi nei mangimi, per i contaminanti da processo - Roma, 28-29 novembre 2019



REGOLAMENTO (CE) N. 1881/2006 e s.m.

definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari

ALLEGATO

Tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari⁽¹⁾

Sezione I: Nitrato

Prodotti alimentari ⁽¹⁾		Tenori massimi (mg NO ₃ /kg)	
1.1	Spinaci freschi (<i>Spinacia oleracea</i>) ⁽²⁾		3 500
1.2	Spinaci in conserva, surgelati o congelati		2 000
1.3	Lattuga fresca (<i>Lactuca sativa</i> L.) (coltivata in ambiente protetto e in campo aperto), esclusa la lattuga di cui al punto 1.4	Raccolta fra il 1° ottobre e il 31 marzo: lattuga in coltura protetta	5 000
		lattuga coltivata in campo aperto	4 000
		Raccolta fra il 1° aprile e il 30 settembre: lattuga in coltura protetta	4 000
		lattuga coltivata in campo aperto	3 000
1.4	Lattuga di tipo «Iceberg»	lattuga in coltura protetta	2 500
		lattuga coltivata in campo aperto	2 000
1.5	Rucola (<i>Eruca sativa</i> , <i>Diplotaxis</i> sp., <i>Brassica tenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i>)	Raccolta fra il 1° ottobre e il 31 marzo:	7 000
		Raccolta fra il 1° aprile e il 30 settembre:	6 000
1.6	Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽²⁾ ^(*)		200

Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

IX Workshop dei Laboratori Nazionali di Riferimento per i metalli e i composti azotati negli alimenti e nei mangimi, per gli additivi nei mangimi, per i contaminanti da processo - Roma, 28-29 novembre 2019



REGOLAMENTO (CE) 1882/2006

definisce i metodi di campionamento ed analisi per il C.U. dei tenori di nitrati in alcuni prodotti alimentari

Allegato

A. DISPOSIZIONI GENERALI

Oggetto / Definizioni/ disposizioni generali/ precauzioni da prendere durante prelievo e preparazione dei campioni /Confezionamento ed invio dei campioni.

B. METODO DI CAMPIONAMENTO

Campionamento sul campo di lattuga o gli spinaci/Campionamento prodotti reperiti sul mercato (n. minimo di campioni elementari o confezioni)/Campionamento nella fase di distribuzione al dettaglio

Valutazione di Conformità (valutazione della rispondenza alle prescrizioni)

- **positiva** se campione rispetta i limiti massimi, considerando U e il recupero

- **negativa** se il campione supera i limiti massimi dopo aver corretto il risultato per il recupero e sottratta l'incertezza di misura estesa U .

C. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

1. Campione fresco deve essere preparato entro 24 ore dal campionamento, altrimenti congelato fino ad un massimo 6 settimane.
2. Rimozione terra, foglie danneggiate o non idonee al consumo. Non consentito lavaggio campione.
3. Campione omogeneizzato integralmente(per facilitare l'operazione congelare /sminuzzare il campione



REGOLAMENTO (CE) 1882/2006

D. METODO DI ANALISI, RAPPORTI E PRESCRIZIONI IN FATTO DI CONTROLLO DELLE PRATICHE DI LABORATORIO

Definizioni

Disposizioni generali

I **metodi di analisi** utilizzati per il controllo alimentare devono risultare conformi alle disposizioni dei punti 1 e 2 all. III Reg. (CE) n. 882/2004.

Prescrizioni Specifiche

Procedura d'estrazione

Per es. il metodo d'estrazione con acqua calda o quello con una miscela 30/70 di metanolo ed acqua garantiscono un'efficace estrazione dei nitrati.

L'estrazione con acqua fredda può essere utilizzata unicamente se il campione analitico è stato congelato prima dell'estrazione del campione.

Criteri di rendimento

Rapporti relativi ai risultati, stima dell'incertezza di misurazione e calcolo del fattore di recupero

Indicare: il risultato corretto o meno per il fattore di recupero/il fattore di recupero/l'incertezza di misura estesa ($k=2$, 95% livello di fiducia)

Riportare : risultato analitico come $x \pm U$



NORME

UNI EN 12014-5:1998

Foodstuffs - Determination of nitrate and/or nitrite content - Part 5:
Enzymatic determination of nitrate content of vegetable-containing food for
babies and infants

ISO 6635:1984

Fruits, vegetables and derived products -- Determination of nitrite and nitrate
content -- Molecular absorption spectrometric method

EN 12014-7:1998

Foodstuffs - Determination of nitrate and/or nitrite content - Part 7:
Continuous flow method for the determination of nitrate content of
vegetables and vegetable products after Cadmium reduction

UNI EN 12014-2:1998

Alimenti – Determinazione del contenuto in nitrati e/o nitriti. Metodo per
HPLC/IC per la determinazione del contenuto in nitrati nei vegetali e nei
prodotti vegetali

Febbraio 2018 pubblicata nuova versione della Norma UNI EN 12014-2



Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

IX Workshop dei Laboratori Nazionali di Riferimento per i metalli e i composti azotati negli alimenti e nei mangimi, per gli additivi nei mangimi, per i contaminanti da processo - Roma, 28-29 novembre 2019



Norma 12014:2

1998

2018

Campo di applicazione

50-3000 mg/kg

≥ 25 mg/kg

campioni che non rientrano nell'intervallo della curva di taratura devono essere diluiti con acqua

Metodo di purificazione

colonnine C18/Carrez

eliminato

Matrice

Spinaci/prodotti a base spinaci
Prodotti a base carota
Succo di barbabietola

insalata Iceberg
succo barbabietola
puree di carota

Parametri di prestazioni validati

matrici naturalmente contaminate

matrici addizionate

Condizioni cromatografiche

HPLC UV

Colonne NH2
F.M. tampone fosfato/CH₃CN

C18
≠(oc²lammina/CH₃CN)

Indicazioni nel rapporto di prova

NO

SI

- Identificazione campione, data e tipologia di campionamento, data ricevimento e di analisi, risultato e relativa unità di misura, informazioni aggiuntive che possono avere influenza sul risultato)



Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

IX Workshop dei Laboratori Nazionali di Riferimento per i metalli e i composti azotati negli alimenti e nei mangimi, per gli additivi nei mangimi, per i contaminanti da processo - Roma, 28-29 novembre 2019



ISS

L'analisi per la determinazione dei nitrati viene effettuata utilizzando un *metodo interno*, sviluppato a partire dalla Norma UNI EN 12014-2:1998.

Le *modifiche* apportate al metodo normato sono:

- Colonna cromatografica LC-NH₂ 15 x 3 mm, 3 µm
- Fase mobile : 6 g K₂HPO₄ with 80 ml of acetonitrile
- Estrazione: carrez II solfato di zinco
- MRC in soluzione acquosa CPA Chem CRM NO₃⁻ (1000 mg/L)

Questo metodo è stato utilizzato per la partecipazione ai seguenti PT:

1. Fapas Food chemistry Proficiency Test 15124: Nitrate in Rocket (rucola) Purée – October/December 2017.

Assigned value 5080 mg/kg ; lab. result: 4944 mg/kg (z-score : -0.6) ,

N. partecipanti 43

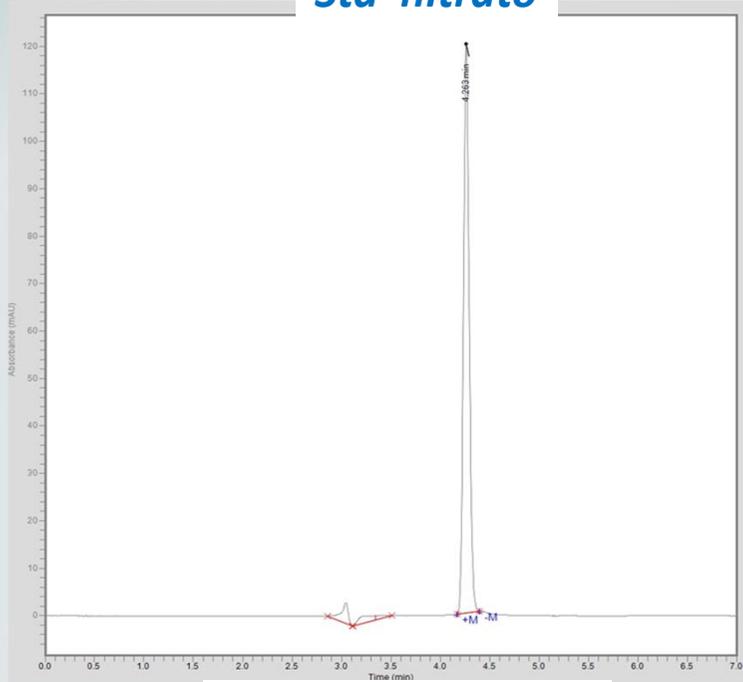
2. Test Veritas – Progetto Trieste VF1772: Lyophilized lettuce- 3/1/2018.

Assigned value 1005 mg/kg ; lab. result: 1099 mg/kg (z-score : 1.6) ,

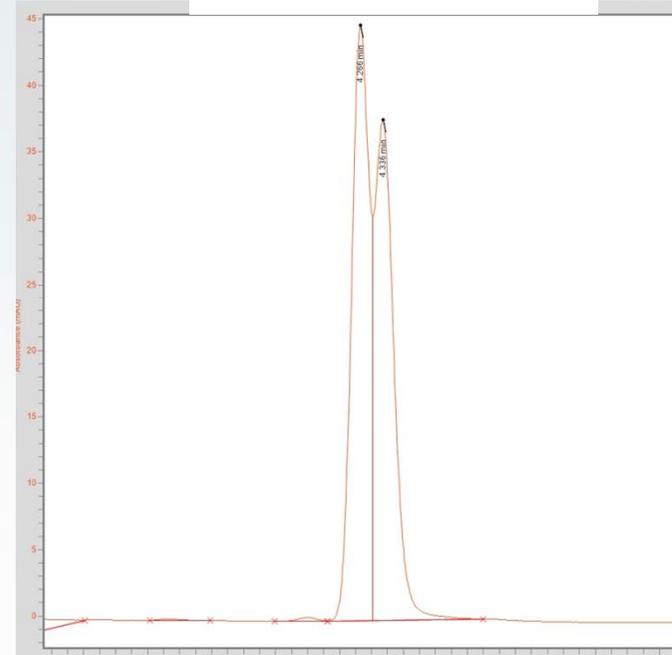
N. partecipanti 20



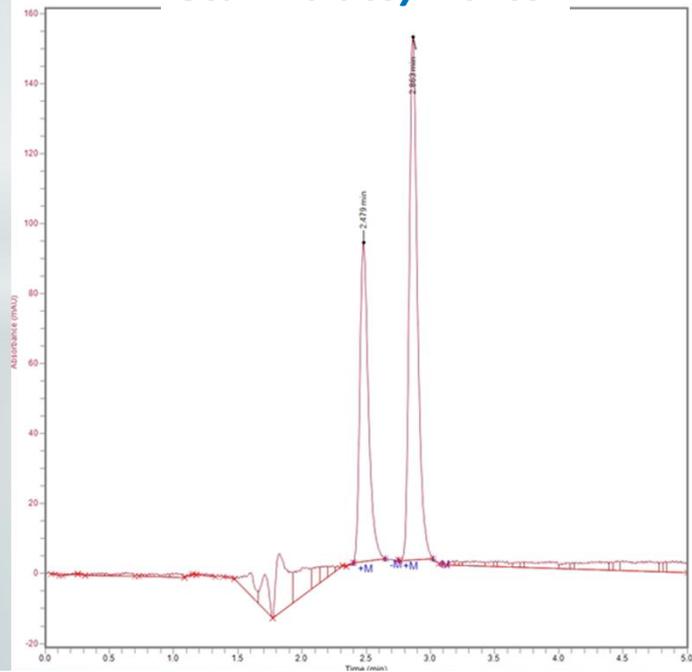
Std nitrato



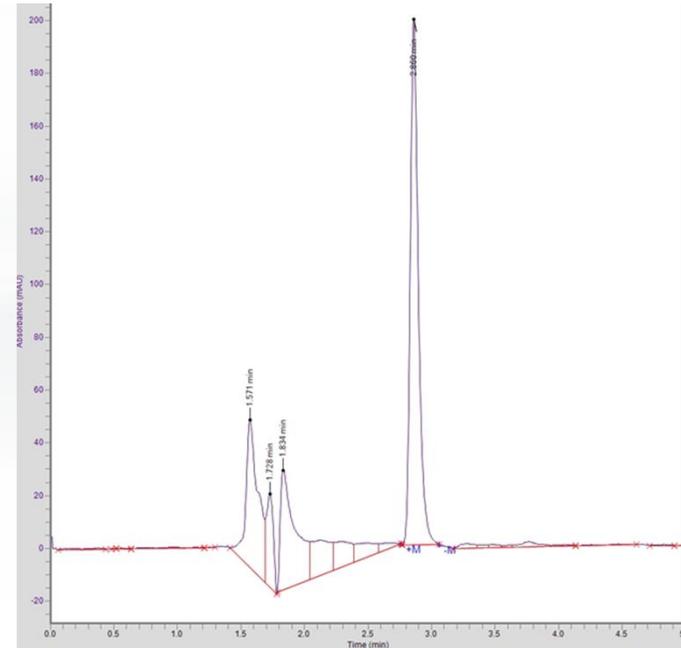
Std nitrato/nitrito



Std nitrato/nitrito



Campione di rucola FAPAS TC15100QC



Valutazione dell'esposizione ai nitrati nella popolazione

La valutazione dell'esposizione totale ai **NITRATI naturali** e come **AA** nella popolazione italiana è stata stimata prendendo in considerazione differenti contributi:

” quantità di nitrati assunti attraverso alimenti contenenti nitrati da additivazione

” quantità di nitrati naturali assunta attraverso il consumo di:

- **VEGETALI FRESCHI** Consumo medio NO_3^- = 440 mg/die
- **ACQUA** Consumo medio NO_3^- = 7,6 mg/die
- **PRODOTTI CARNEI FRESCHI**

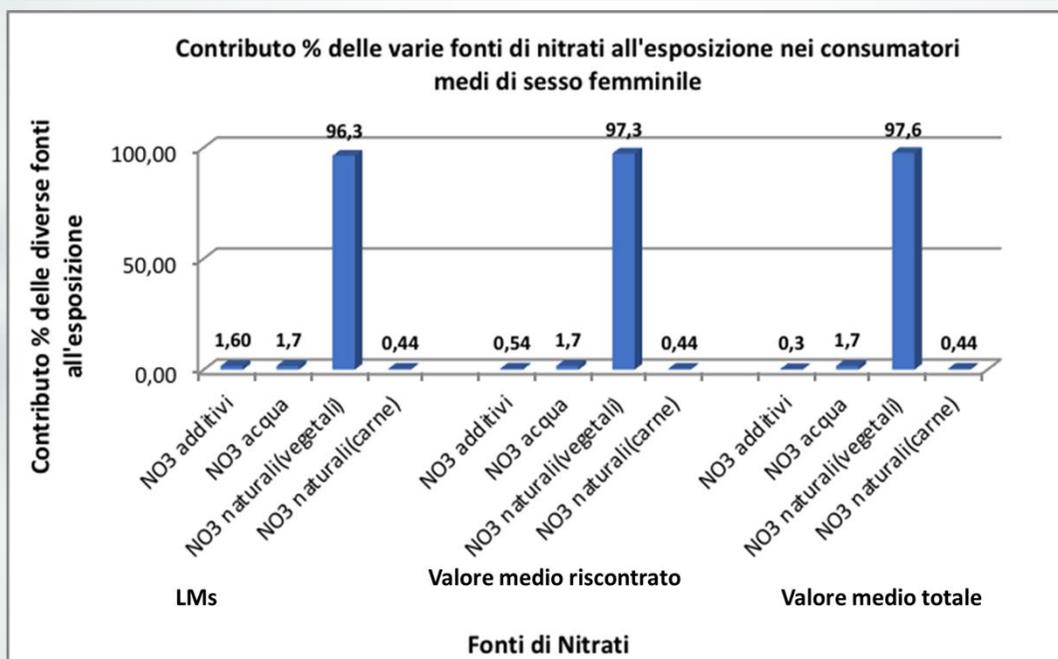
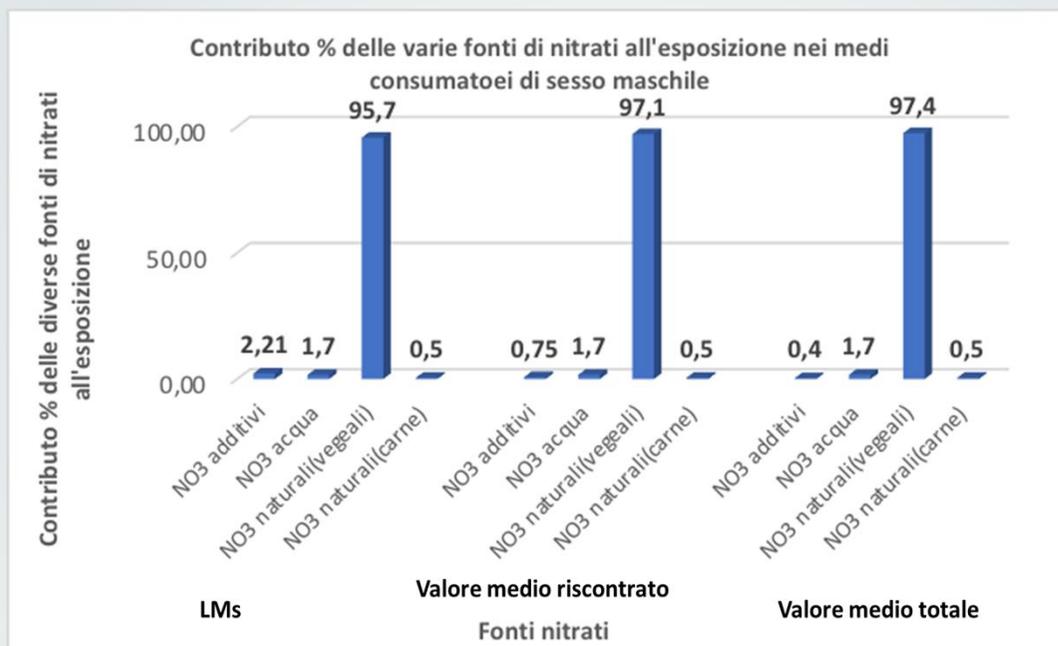
Categoria alimentare	Alimento	Sesso	Contenuto in nitrati mg/kg	Consumo medio g/dd	Consumo medio 95° g/dd	Consumo medio di nitrati mg/dd	Consumo medio di nitrati al 95 th mg/dd
Carne fresca	Beef, veal, pork, poultry and game, other meats not preserved	F	40	49,9	102,9	2,00	4,12
Carne fresca	Beef, veal, pork, poultry and game, other meats not preserved	M	40	55,8	119,7	2,23	4,79

Confronto tra DGA dei nitrati e stima dell'esposizione per **NITRATI TOTALI: NATURALI (VEGETALI, ACQUA E PRODOTTI CARNEI FRESCHI) ed ADDITIVO ALIMENTARE** nella popolazione adulta

				Consumatori medi			Forti consumatori		
				I scenario mg/die (limiti consentiti per dati di consumo)	II scenario mg/die (valore medio riscontato per dati di consumo)	III scenario mg/die (valore medio totale per dati di consumo)	I scenario mg/die (limiti consentiti per dati di consumo)	II scenario mg/die (valore medio riscontato per dati di consumo)	III scenario mg/die (valore medio totale per dati di consumo)
Fascia di età (anni)	Peso corporeo (kg)	Sesso	DGA (mg/die di nitrati)	Consumo medio giornaliero (mg/die) LMs	Consumo medio giornaliero (mg/die) Valori riscontrati	Consumo medio giornaliero (mg/die) Valori totali	Consumo medio giornaliero al 95 th (mg/die) LMs	Consumo medio giornaliero al 95 th (mg/die) Valori riscontrati	Consumo medio giornaliero al 95 th (mg/die) Valori totali
18-64.9	62.2	F	230,14	457,51 198,8 % della DGA	452,64 196,7% della DGA	451,41 196,1% della DGA	470,31 204,4% della DGA	458,33 199,2% della DGA	455,32 197,8% della DGA
18-64.9	78.4	M	290,08	460,60 158,8% della DGA	453,82 156,4% della DGA	452,12 155,9% della DGA	477,20 164,5% della DGA	461,08 158,9% della DGA	457,03 157,6 della DGA



CONTRIBUTO % DELLE VARIE FONTI DI NITRATI ALL'ESPOSIZIONE



Risultati dell'attività di controllo ufficiale dei nitrati sui prodotti vegetali Anno 2018

Flusso VIGAL prodotti vegetali per i quali esiste un limite REG (CE) 1881/2006

Flusso VIGMON prodotti vegetali per i quali non esiste un limite

Alimento	n.campioni	Nitrati (mg/kg)	NC
Spinaci	108	76-5401	1
Lattuga	241	40-4076	0
Rucola	58	381-6730	0
Alimenti per l'infanzia	60	60-210	2
Alimenti non inclusi nel Reg (CE) 1881/2006	31(VIGAL) 173 (VIGMON)	9-3578	

