

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

INGESTÃO POTENCIAL DE NITRATO E DE NITRITO ATRAVÉS DAS  
REFEIÇÕES OFERECIDAS PELOS RESTAURANTES  
UNIVERSITARIOS DA UNICAMP

Parecer

Este exemplar corresponde ao parecer final  
da Tese defendida por Maria Aparecida  
de Miranda Pedrosa e aprovada pela  
Comissão Julgadora em 09.07.93



MARIA APARECIDA DE MIRANDA PEDROSO <sup>312</sup>  
Bacharel em Química

Prof. Dr. Félix Guillermo Reyes Reyes  
Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos  
da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do  
título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Campinas, S.P., 1993.

## Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes, pela orientação e dedicação.

Aos membros da banca examinadora pelas sugestões apresentadas na redação final do trabalho.

Ao amigo e estatístico Sérgio A. Vera Schneider, da CEMICAMP, pela valiosa presteza e dedicação na avaliação estatística.

À direção dos restaurantes universitários da UNICAMP e especialmente às nutricionistas Lilian C. B. Pierini, Raquel Valle e Edma Maria Araújo pela colaboração e presteza no fornecimento de dados dos restaurantes universitários.

À presença de meus pais em minha alma.

Às amigas Honória de Fátima, Valéria Mlinin, Miriam Terezinha e especialmente à Vera Akinaga, pelo incentivo e apoio.

À Creusa pela correção da bibliografia.

Ao pessoal do laboratório de toxicologia pelo coleguismo.

À Rosana M. Manzo pela colaboração e apoio na realização da pesquisa de campo.

À todos que de alguma maneira contribuíram para a realização da pesquisa de campo.

Agradeço especialmente ao inestimável apoio e orientação da Irmã Josefa, Irmão Justino, Irmã Branca, Elisabeth Bauch Zimmermann, Nahime Scoz.

À CAPES e FAEP pelas bolsas de estudo concedidas.

À Fundação Atlantic pelo prêmio concedido.

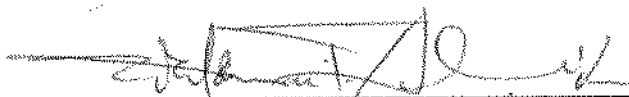
À ABIA, pela colaboração na impressão da tese.

BANCA EXAMINADORA



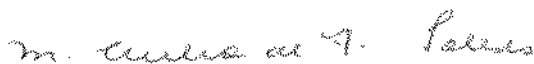
---

Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes  
Orientador



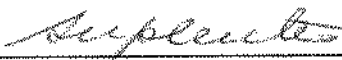
---

Prof. Dr. Waldemar Ferreira de Almeida  
Membro



---

Profa. Dra. Maria Cecilia Figueiredo Toledo  
Membro



---

Profa. Dra. Flávia Maria Neto  
Membro

Campinas, 09 de *julho* de 1993.

Dedico a  
Jose Victor e  
Maria Sirila

## ÍNDICE

|                                                                      |      |
|----------------------------------------------------------------------|------|
| ÍNDICE DE TABELAS .....                                              | iv   |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....                                              | vii  |
| RESUMO .....                                                         | viii |
| SUMMARY.....                                                         | ix   |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                   | 001  |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA.....                                        | 003  |
| 2.1. Propriedades Químicas e Reações de Nitratos e<br>Nitritos ..... | 003  |
| 2.2. Metodologia Analítica.....                                      | 004  |
| 2.3. Ocorrência de Nitrato e Nitrito em Alimentos.....               | 006  |
| 2.3.1. Presença Natural.....                                         | 006  |
| 2.3.2. Uso como Aditivos em Alimentos.....                           | 008  |
| 2.4. Dados de Consumo Alimentar.....                                 | 010  |
| 2.4.1. Métodos para Coleta de Dados.....                             | 010  |
| 2.4.2. Ingestão de Nitrato e de Nitrito através da<br>Dieta .....    | 012  |
| 2.5. Aspectos Toxicológicos.....                                     | 014  |
| 2.5.1. Cinética e Metabolismo de Nitrato e<br>Nitrito.....           | 014  |
| 2.5.2. Síntese Endógena de Nitrato.....                              | 016  |
| 2.5.3. Efeitos Adversos à Saúde.....                                 | 016  |
| 2.5.4. Estudos com Animais de Experimentação.....                    | 020  |
| 2.6. Aspectos da Legislação.....                                     | 022  |

|                                                                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                        | 026 |
| 3.1. Material.....                                                                                                                | 026 |
| 3.1.1. Amostra.....                                                                                                               | 026 |
| 3.1.2. Reagentes Utilizados.....                                                                                                  | 026 |
| 3.1.3. Soluções Reagentes.....                                                                                                    | 027 |
| 3.1.4. Equipamentos.....                                                                                                          | 028 |
| 3.2. Métodos.....                                                                                                                 | 028 |
| 3.2.1. Preparo da Coluna Redutora.....                                                                                            | 030 |
| 3.2.1.1. Preparo de Cádmio Esponjoso.....                                                                                         | 030 |
| 3.2.1.2. Preenchimento da Coluna.....                                                                                             | 030 |
| 3.2.2. Condicionamento da Coluna.....                                                                                             | 032 |
| 3.2.3. Controle da Capacidade Redutora.....                                                                                       | 032 |
| 3.2.4. Regeneração da Coluna.....                                                                                                 | 033 |
| 3.2.5. Extração da Amostra.....                                                                                                   | 033 |
| 3.2.6. Determinação de Nitrito.....                                                                                               | 033 |
| 3.2.7. Determinação de Nitrato.....                                                                                               | 034 |
| 3.2.8. Coleta de Dados de Consumo dos Alimentos<br>Oferecidos nos Restaurantes Universitários....                                 | 034 |
| 3.2.8.1. Dados de Consumo .....                                                                                                   | 034 |
| 3.2.8.2. Amostragem e Coleta de Dados da<br>População .....                                                                       | 035 |
| 3.2.9. Elaboração das Refeições.....                                                                                              | 035 |
| 3.2.10. Cálculo da Estimativa da Ingestão<br>Potencial de Nitrato e de Nitrito.....                                               | 035 |
| 3.2.11. Análise Estatística.....                                                                                                  | 039 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                   | 040 |
| 4.1. - Avaliação da Metodologia Empregada para<br>Determinação de Nitrato e de Nitrito .....                                      | 040 |
| 4.2. - Teores de Nitrato e de Nitrito Presentes nos<br>Alimentos Oferecidos nos Restaurantes Universi-<br>tários da UNICAMP ..... | 044 |

|                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.3. - Avaliação dos Usuários dos Restaurantes Quanto às suas Características e Hábitos Alimentares.....                                                           | 046 |
| 4.4. - Níveis de Nitrato e de Nitrito nas Refeições Elaboradas a Partir dos Alimentos Analisados e nas Refeições Oferecidas pelos Restaurantes Universitários..... | 054 |
| 4.5. - Estimativa da Ingestão Potencial de Nitrato e de Nitrito .....                                                                                              | 059 |
| 5. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                                | 065 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                | 066 |
| 7. ANEXOS .....                                                                                                                                                    | 078 |
| ANEXO I - Refeições Elaboradas a Partir dos Alimentos Comumente Oferecidos pelos Restaurantes Universitários da UNICAMP.....                                       | 078 |
| ANEXO II - Teores de Nitrato e de Nitrito em Alimentos Oferecidos pelos Restaurantes Universitários da UNICAMP .....                                               | 096 |
| ANEXO III - Teor Médio de Nitrito e de Nitrato em cada Refeição, por Horário e na Média dos Três Horários Valores Expressos em mg/kg .....                         | 097 |

## ÍNDICE DAS TABELAS

|                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TABELA 1 - Sistemas Acopladores Usados Comumente para a Determinação de Nitrito por Método Colorimétrico .....                              | 005 |
| TABELA 2 - Métodos Analíticos Utilizados na Determinação de Nitrato e de Nitrito .....                                                      | 007 |
| TABELA 3 - Conteúdo de Nitrato em Vários Alimentos. Concentração de Nitrato Expressa em mg/kg .....                                         | 009 |
| TABELA 4 - Níveis Médios de Nitrato e de Nitrito em Produtos Curados, Expressos em mg/kg.....                                               | 011 |
| TABELA 5 - Estimativa de Ingestão Diária de Nitrato e de Nitrito em Vários Países.....                                                      | 015 |
| TABELA 6 - Níveis de Nitrato e de Nitrito Permitidos em Produtos Cárneos, Segundo Legislação de Diversos Países.....                        | 024 |
| TABELA 7 - Grupos dos Alimentos e Componentes Constituintes das Refeições Oferecidas pelos Restaurantes Universitários.....                 | 036 |
| TABELA 8 - Agrupamento de Refeições em Relação aos Teores de Nitrato e de Nitrito.....                                                      | 038 |
| TABELA 9 - Grupos de Refeições de Estudo Provenientes do Reagrupamento dos 8 Grupos Padrões de Análise.....                                 | 038 |
| TABELA 10 - Massas Médias dos Alimentos Servidos por Pessoa nas Refeições (Almoço e Jantar) nos Restaurantes Universitários da UNICAMP..... | 047 |



|                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TABELA 11 - Sobras (%) dos Alimentos Servidos nos<br>Restaurantes Universitários da UNICAMP.....                                   | 048 |
| TABELA 12 - Massa Média (g) dos Alimentos Consumidos por<br>Horário, nos Restaurantes Universitários<br>da UNICAMP.....            | 049 |
| TABELA 13 - Caracterização, em Relação a Peso e Idade,<br>da População que Frequenta o Restaurante 1<br>no Período do Almoço ..... | 050 |
| TABELA 14 - Caracterização, em Relação a Peso e Idade,<br>da População que Frequenta o Restaurante 2<br>no Período do Almoço ..... | 050 |
| TABELA 15 - Caracterização, em Relação a Peso e Idade,<br>da População que Frequenta o Restaurante 2<br>no Período de Jantar ..... | 051 |
| TABELA 16 - Perfil dos Usuários que Almoçam no<br>Restaurante 1. Valores Expressos em<br>Porcentagens.....                         | 052 |
| TABELA 17 - Perfil dos Usuários que Almoçam no<br>Restaurante 2. Valores Expressos em<br>Porcentagens.....                         | 053 |
| TABELA 18 - Perfil dos Usuários que Jantam no<br>Restaurante 2. Valores Expressos em<br>Porcentagens.....                          | 053 |
| TABELA 19 - Consumo Médio de Alimentos, por Indivíduo,<br>por Refeição, nos Restaurantes Universitários<br>da UNICAMP.....         | 055 |
| TABELA 20 - Níveis de Nitrato (mg/kg) por Refeição,<br>por Horário, em cada Grupo de Refeições<br>de Estudo .....                  | 056 |

|                                                                                                                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TABELA 21 - Níveis de Nitrito (mg/kg) por Refeição,<br>por Horário, em cada Grupo de Refeições<br>de Estudo .....                                                                                                                     | 057 |
| TABELA 22 - Estimativa da Ingestão Potencial de<br>Nitrato em Cada Grupo de Refeições<br>Valores Expressos em mg/kg de Peso<br>Corpóreo .....                                                                                         | 060 |
| TABELA 23 - Estimativa da Ingestão Potencial de<br>Nitrito em cada Grupo de Refeições<br>Valores Expressos em mg/kg de Peso<br>Corpóreo .....                                                                                         | 060 |
| TABELA 24 - Número de Usuários do Restaurante<br>Universitário 1 que Possuem Ingestão de<br>Nitrato, por Refeição, Acima do Valor<br>da IDA, em Cada Grupo de Refeições.<br>Entre Parênteses Valores Expressos em<br>Porcentagem..... | 062 |
| TABELA 25 - Número de Usuários do Restaurante<br>Universitário 2 que Possuem Ingestão de<br>Nitrito, por Refeição, Acima do Valor<br>da IDA, em Cada Grupo de Refeições.<br>Entre Parênteses Valores Expressos em<br>Porcentagem..... | 063 |

## I N D I C E   D A S   F I G U R A S

|                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURA 1 - Distribuição de Nitrato no Organismo Humano.....                                                                      | 017 |
| FIGURA 2 - Diagrama do Sistema de Redução de<br>Metemoglobina à Hemoglobina, Via Fisiol-<br>ógica.....                           | 019 |
| FIGURA 3 - Esquema Postulado da Ligação entre Nitrato<br>e Câncer Gástrico.....                                                  | 021 |
| FIGURA 4 - Fluxograma de Metodologia Utilizada para<br>Extração e Quantificação de Nitrato e de<br>Nitrito em Alimentos.....     | 029 |
| FIGURA 5 - Representação Esquemática da Coluna Redu-<br>tora e do Sistema Redutor Utilizados na<br>Determinação de Nitrato ..... | 031 |
| FIGURA 6 - Curva-padrão para a Determinação de Nitrito<br>por Espectrofotometria a 538 nm.....                                   | 042 |
| FIGURA 7 - Espectro de Extrato de Beterraba sem<br>Tratamento com Carvão Ativo e Após Reação<br>de Diazo-conjugação.....         | 043 |
| FIGURA 8 - Espectro de Extrato de Beterraba sem<br>Tratamento com Carvão Ativo e Após Reação<br>de Diazo-conjugação.....         | 043 |
| FIGURA 9 - Concentração Média de Nitrato e de Nitrito<br>por Alimento.....                                                       | 045 |
| FIGURA 10 - Diagrama das Refeições Elaboradas e das<br>Oferecidas nos Restaurantes Universitários<br>1 e 2 .....                 | 058 |

## RESUMO

A ingestão potencial de nitrato e de nitrito através das refeições oferecidas nos restaurantes universitários da UNICAMP foi estimada com base nos dados de consumo de alimentos e valores das determinações analíticas desses compostos nos alimentos consumidos. Foi feito o perfil dos usuários de acordo com as seguintes características demográficas: sexo idade, atividade profissional e peso corpóreo. Dados de consumo alimentar foram obtidos de trabalho desenvolvido previamente nestes restaurantes. Através de método colorimétrico determinou-se o conteúdo de nitrato e de nitrito em 22 alimentos componentes das refeições dos restaurantes. Os níveis mais altos de nitrato foram encontrados em salada de beterraba crua  $2138,6 \pm 657,5$  mg/kg, salada de acelga  $935,5 \pm 315,6$  mg/kg, salada de repolho  $811,0 \pm 604,3$  mg/kg e laranja  $711,1 \pm 653,3$  mg/kg; enquanto que o conteúdo mais elevado de nitrito foi encontrado em salsicha ao molho de tomate  $19,3 \pm 1,6$  mg/kg, salada de beterraba crua  $9,5 \pm 7,1$  mg/kg e laranja  $1,9 \pm 1,9$  mg/kg. Com base nos dados de peso corpóreo médio da população estudada 65,3 kg, estimou-se a ingestão potencial de nitrato e de nitrito por refeição em 3,3 mg/kg de peso corpóreo e 0,02 mg/kg de peso corpóreo, respectivamente. Para o usuário que consome duas refeições, almoço e jantar, a ingestão potencial estimada para o nitrato estava acima da Ingestão Diária Aceitável IDA, enquanto que para o nitrito, esta representa um quinto do valor máximo recomendado.

## SUMMARY

The potential intakes of nitrate and nitrite in meals offered at UNICAMP's university restaurants were estimated on the basis of average dietary intakes data and values of analytical determinations of these compounds in the food consumed. The individuals were characterized according to the following demographic characteristics: sex, age, professional activity and body weight. Data on food consumption were obtained from previous work developed in these restaurants. The 22 food items that can be used to formulate the composition of the restaurants daily meals were analyzed by colorimetric method to determine the nitrate and nitrite content. The highest levels of nitrate were found in: crude beetroot salad  $2138,6 \pm 657,5$  mg/kg, swiss chard salad  $935,5 \pm 315,6$  mg/kg, crude cabbage salad  $811,0 \pm 604,3$  mg/kg and orange  $711,1 \pm 653,3$  mg/kg; while the highest nitrite contents were in sausage in tomato sauce  $19,3 \pm 1,6$  mg/kg, crude beetroot salad  $9,5 \pm 7,1$  mg/kg and orange  $1,9 \pm 1,9$  mg/kg. Based on the average body weight of the studied population 65,3 kg, the potential intakes estimated for nitrate and nitrite from one meal were 3,3 mg/kg body weight and 0,02 mg/kg body weight, respectively. For the individuals who consumed 2 meals, lunch and dinner, the estimated potential intake for nitrate was above its Acceptable Daily Intake ADI, while for nitrite it represented one fifth of the recommended ADI.

## 1. INTRODUÇÃO

Nitrato e nitrito são substâncias que estão presentes em alimentos tanto de origem vegetal como animal, naturalmente ou adicionados intencionalmente durante o processamento.

Estima-se que aproximadamente 80% do nitrato ingerido pelo homem venham dos vegetais, como produto da planta, enquanto que aproximadamente 10% são proveniente de carnes curadas.

Os nitratos e nitritos estão naturalmente presentes no meio ambiente como consequência do ciclo do nitrogênio, podendo sofrer profundas modificações decorrentes das atividades agrícolas e industriais do homem.

O nitrato é absorvido do solo pelas plantas e parte é convertida em nitrito pela ação enzimática da "nitrato redutase" presente nos vegetais, enzima esta que permanece ativa após a colheita, podendo converter nitrato em nitrito quando a planta é mantida sob condições inadequadas de armazenamento (temperatura elevada e baixa circulação de ar).

O teor de nitrato nas plantas, frequentemente na faixa de 0 a 10 mg/kg, é influenciado pelo uso excessivo de compostos nitrogenados no solo, fatores ambientais como temperatura, luminosidade, deficiência de certos nutrientes no solo (cálcio, enxofre, fósforo, potássio) e fatores biológicos e fisiológicos das plantas, tais como espécie, variedade, parte da planta e estado de manutenção.

O nitrito está presente nos vegetais, normalmente, em concentrações correspondentes a aproximadamente 1% da concentração de nitrato. No homem, o nitrito pode ter origem endógena, pela redução do nitrato por microrganismos presentes na saliva e pela produção gastrintestinal, a partir da amônia gerada por microrganismos. Têm-se estimado que 75% do nitrito que chegam ao estômago originam-se da saliva e 25% de alimentos cárneos processados.

Os efeitos tóxicos mais críticos gerados pela ingestão de nitrato e de nitrito são a metemoglobinemia, em neonatos e em indivíduos com deficiência congênita de metemoglobina-redutase ou deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), e a formação *in vivo* de compostos N-nitrosos, como nitrosaminas, as quais possuem propriedades carcinogênicas. Desta forma, faz-se necessário estimar a ingestão de nitrato e de nitrito pelo homem para poder avaliar o risco da sua exposição a esses compostos através da dieta. Este trabalho teve por objetivo, estimar a ingestão potencial de nitrato e de nitrito, através das refeições oferecidas pelos restaurantes universitários da UNICAMP. Para tanto foram feitas a caracterização da população dos usuários frequentadores destes restaurantes e análises quantitativas de nitrato e de nitrito presentes nos alimentos consumidos por esta população.

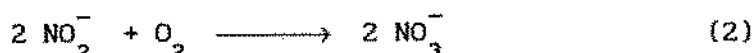
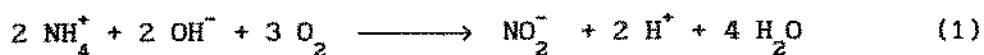
## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Propriedades Químicas e Reações de Nitratos e Nitritos

O íon nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) é a base conjugada do ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ). O ácido nítrico é um ácido forte ( $\text{pK}_a = -1,37$ ) o qual se dissocia em água dando íon nitrato e íon hidroxônio. Sais de ácido nítrico (nitratos) são solúveis em água, exceto os sais básicos de nitrato de mercúrio e de bismuto.

O íon nitrito é a base conjugada do ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), um ácido fraco ( $\text{pK}_a = 3,37$ ) e existe apenas em soluções aquosas diluídas e resfriadas, devido sua rápida decomposição, dando água e trióxido de dinitrogênio ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) ou ácido nítrico, óxido nítrico ( $\text{NO}$ ) e água. Sais de ácido nitroso (nitritos) são muito mais estáveis que o ácido nitroso e são extremamente hidrossolúveis, exceto nitrito de prata.

No meio ambiente, isto é, solo e superfície aquática, tanto o nitrito como o nitrato podem ser formados do íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em duas etapas do processo de oxidação biológica (nitrificação):



Estas duas reações são mediadas por diferentes microrganismos: a reação (1) por *Nitrosomona*, uma bactéria quimiolitotrófica aeróbica, e a reação (2) por *Nitrobacter* que obtém quase toda sua energia da oxidação de nitritos (WHO, 1978).

Plantas superiores assimilam nitrito do solo por: (a) redução do nitrato a nitrito, catalisada pela enzima nitrato redutase na presença de NADPH e (b) redução de nitrito a amônia, catalisada pela nitrito redutase. Várias bactérias podem também reduzir nitrato a nitrito (KEENEY, 1970; BENOITL & CEUSTERMANS, 1988).



## 2.2. Metodologia Analítica

O resultado da determinação de nitratos e nitritos no ambiente e nos meios biológicos pode variar de acordo com o método analítico empregado; espectrofotométrico, espectrofluorométrico, eletrodo seletivo, etc., o que torna difícil a comparação de dados da literatura (PAUL & CARLSON, 1968; WESTCOTT, 1971; WEIL & QUENTIN, 1973; LARA & TAKAHASHI, 1974; USHER & TELLING, 1975; WHO, 1978; NIKOLOVA *et al.*, 1987).

Em geral, nitrito pode ser determinado rapidamente e com precisão e exatidão, ao passo que determinações de nitrato têm mostrado grande variabilidade nos resultados.

Os métodos analíticos para a determinação de nitrito podem ser agrupados em três categorias gerais: 1. nitração de um composto tipo fenólico; 2. oxidação de um composto orgânico pelo nitrito, 3. reações de diazotização (WEST & LYLES, 1968).

Os métodos baseados na nitração utilizam ácido cromatotrópico, 4-metilumbeliferona, ácido salicílico, ácido fenoldissulfônico, 2,4-xilenol, 2,6-xilenol, 3,4-xilenol; e os de oxidação: brucina, difenilamina, estriquinina, estriquinidina. Contudo, quando utilizados na análise de amostras que contêm matéria orgânica hidrossolúvel e baixos níveis de nitrato, estas técnicas levam a resultados errôneos devido a:

- a) redução do nitrato pela matéria orgânica na presença de ácidos fortes;
- b) considerável intensificação da cor devido à presença de matéria orgânica;
- c) presença de ânions orgânicos.

Os métodos mais comumente utilizados para a determinação de nitrito em solução aquosa são os que envolvem reações de diazotização. Estes baseiam-se na interação do nitrito com uma amina primária aromática em solução ácida para formar um sal diazônio. O sal diazônio reage com um composto aromático produzindo um azo composto colorido, o qual é quantificado espectrofotometricamente. Na Tabela 1 estão apresentados as aminas e os agentes acopladores mais utilizados.

TABELA 1 - Sistemas Acopladores Usados Comumente para a  
Determinação de Nitrito por Método Colorimétrico

| AMINA AROMÁTICA   | REAGENTE ACOPLADOR          | t <sup>1</sup> (min) | AUTOR/ANO                     |
|-------------------|-----------------------------|----------------------|-------------------------------|
| Ácido sulfanílico | 1-Naftilamina               | 25-60                | GRIESS-ILOSVAY<br>(1969)      |
| Ácido sulfanílico | N-(1-Naftol) etilenodiamino | 10                   | BRATTON &<br>MARSHALL (1939)  |
| Sulfanilamida     | N-(1-Naftil) etilenodiamino | 10                   | SHINN (1941)                  |
| Ácido sulfanílico | 1-Naftol                    | 34                   | FOLLET &<br>RATCLIFF (1963)   |
| 1-Naftilamina     | 1-Naftilamina               | 120                  | KAMM <i>et al.</i><br>(1965)  |
| Ácido sulfanílico | 1-Naftol ácido sulfônico-7  | 25                   | ADRIAANSE &<br>ROBBERS (1969) |

1 - Tempo para formação de cor

Fonte: USHER & TELLING, 1975

O íon nitrato é normalmente determinado como nitrito, após a sua redução quantitativa pela passagem através de coluna de cádmio esponjoso (A.O.A.C., 1990).

Na Tabela 2 estão relacionados os métodos mais comumente utilizados na determinação de nitratos e nitritos.

## 2.3. Ocorrência de Nitrato e Nitrito em Alimentos

### 2.3.1. Presença Natural

Nitratos e nitritos são compostos que estão presentes naturalmente em alimentos ou são adicionados intencionalmente (CASSENS *et al.*, 1979; AURAND *et al.*, 1987).

Trabalhos de revisão sobre a ocorrência natural de nitrato em alimentos têm mostrado que altas concentrações são frequentemente encontradas em vegetais (KILGORE *et al.*, 1963; OLMEDO & BOSC, 1988a e 1988b; WALKER, 1990 ; TOLEDO & REYES, 1990). De um modo geral, o tronco possui menos nitrato que a folha e a raiz do vegetal, e a maioria dos frutos contém quantidades ainda menores. Tem sido verificado que espinafre, alface e águas de zona agrícola apresentam altas concentrações de nitrato (BODIPHALA & ORMROD, 1971; ETREIBY & LAUDELOUT, 1988; OHTA *et al.*, 1990; ZEISEL *et al.*, 1988).

Em 1980, LARA *et al.* realizaram determinações de nitrato em 85 amostras de alimentos infantis (sucos, cremes, frutas, pudins, sopas). Neste trabalho verificou-se que os produtos a base de espinafre apresentavam altas concentrações desse íon. Os autores recomendaram que lactantes não devem consumir produtos alimentares infantis a base de espinafre.

TABELA 2 - Métodos Analíticos Utilizados na Determinação de Nitrato e de Nitrito.

| MÉTODO                        | MATERIAL / ION                                                              | AUTOR/ANO                                 |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Espectrofotometria            | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )                                | JOHNSON & ULRICH<br>(1950)                |
| Eletrodo de ion-seletivo      | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | VOOGT<br>(1965)                           |
| Espectrofotométrico: UV       | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | WETTERS & UGLUM<br>(1970)                 |
| Colorimétrico                 | Água<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )      | MARCULESCU (1973)<br>(apud WHO, 1978)     |
| Espectrofluorométrico         | Queijos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )                                  | RAMMEL & JOERIN<br>(1972)                 |
| Eletrodo de ion-seletivo      | Pastagem<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )                                 | WEIL E QUENTIN (1973)<br>(apud WHO, 1978) |
| Espectrofotométrico           | Carnes<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )    | MIRNA<br>(1974)                           |
| Espectrometria da massa       | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | UNGER & HEUMANN<br>(1985)                 |
| Espectrofotometria: vis, UV   | Plantas secas<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )                            | NIKOLOVA <i>et al.</i><br>(1987)          |
| CLAE*                         | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | DENNIS <i>et al.</i><br>(1987)            |
| CLAE*                         | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | LOOKABAUGH & KRULL<br>(1988)              |
| Polarografia por pulso        | Águas e bebidas<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )                          | POLAK <i>et al.</i><br>(1989)             |
| Cromatografia de troca iônica | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | DONHAUSER <i>et al.</i><br>(1989)         |
| Polarografia                  | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | GAO <i>et al.</i><br>(1990)               |
| Quimioluminescência           | Alimentos<br>(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) | WALTERS <i>et al.</i><br>(1990)           |

\* Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

LARA & TAKAHASHI (1982) avaliaram a variação dos níveis de nitrato existente em hortaliças frescas e tubérculos como alface, batata, cenoura, couve e espinafre; sendo o valor mínimo encontrado em batata (35 mg/kg) e o valor máximo encontrado em couve (5896 mg/kg). CATTANEO & ARLOTTI (1988) também determinaram o conteúdo de nitrato em vegetais frescos e plantas comestíveis na Itália (Tabela 3).

LOVINO (1989) determinou as concentrações de nitrato presentes no mosto e no vinho produzido de uvas cultivadas em regiões quentes e áridas e verificou que as concentrações de nitrato eram bem mais elevadas do que aquelas encontradas em uvas cultivadas em diferentes condições climáticas e com práticas agrícolas diferentes.

Na Tabela 3, estão apresentados os níveis de nitrato relatados por vários autores, tanto no Brasil como no exterior, em diversos alimentos.

Concentrações muito baixas de nitrito são usualmente encontradas em vegetais frescos, frutos e água potável (WALKER, 1975).

### 2.3.2. Uso como Aditivos em Alimentos

Nitratos e nitritos são adicionados intencionalmente aos alimentos por atuarem como conservadores, além de conferirem sabor, aroma e cor avermelhada desejáveis aos produtos cárneos curados (PEARSON, 1970; AHN & MAURER, 1990; ARAUJO, 1990).

De um modo geral, a cura é realizada pela adição de uma mistura de sais, nitrito, açúcar, especiarias e temperos, e usualmente um agente redutor, como ascorbato ou eritorbato para carnes (HOTCHKISS, 1987).

Embora o emprego de nitrato e nitrito em processos de cura não seja recente, somente nos últimos anos a sua presença em alimentos tem despertado maior interesse na comunidade científica (FILERA JR, 1986; GRUNER & SHUVAL, 1973; SHAW & WILEY, 1969).

TABELA 3 - Conteúdo de Nitrato em Vários Alimentos. Concentração de Nitrato Expressa em mg/kg

| Autor            | 1    | 2    | 3    | 4    | 5        | 6    | 7        | 8       | 9  | 10     | 11     |
|------------------|------|------|------|------|----------|------|----------|---------|----|--------|--------|
| Alimento         |      |      |      |      |          |      |          |         |    |        |        |
| Acelga           | -    | 57   | -    | -    | -        | 120  | -        | -       | -  | -      | -      |
| Alface           | 1109 | 664  | -    | 753  | 396-5735 | 1210 | 673-1703 | 63-3294 | -  | -      | 2330   |
| Batata           | 63   | -    | 279  | 186  | 10-15    | -    | -        | 0-764   | -  | 56-717 | 150    |
| Beterraba        | 333  | 1654 | 2428 | 2658 | 682-8000 | 3010 | -        | -       | -  | 4-226  | 3288   |
| Carne Bovina     | -    | -    | -    | -    | -        | -    | -        | -       | 13 | 9-33   | -      |
| Carne de Galinha | -    | -    | -    | -    | -        | -    | -        | -       | 18 | 7-106  | -      |
| Chicória         | -    | -    | -    | -    | 80-150   | -    | 80-150   | -       | -  | -      | -      |
| Feijão           | -    | 248  | -    | -    | -        | -    | -        | -       | -  | -      | 18     |
| Molho de Tomate  | -    | 72   | -    | -    | -        | -    | -        | -       | -  | -      | -      |
| Ovo              | -    | -    | -    | -    | -        | -    | -        | -       | 9  | -      | -      |
| Salsicha em Lata | -    | -    | -    | -    | 185      | -    | -        | -       | -  | -      | 19-670 |
| Salsicha Fresca  | -    | -    | -    | -    | 247      | -    | -        | -       | -  | -      | -      |
| Tomate           | -    | -    | -    | 89   | -        | -    | -        | -       | -  | -      | 80     |

Autor:

- 1 - WILSON, 1949 (apud WALKER, 1975)
- 2 - JADESON, et al., 1967 (apud WALKER, 1975)
- 3 - LEE et al., 1967 (apud WALKER, 1975)
- 4 - MAYORD & BERKER, 1972 (apud WALKER, 1975)
- 5 - WALKER, 1975
- 6 - SICILIANO et al., 1975

- 7 - LARA et al., 1980
- 8 - LARA & TAKAHASHI, 1982
- 9 - DUTT et al., 1987
- 10 - CATTANEO & ARLOTTI, 1988
- 11 - WALKER, 1990

As razões para o uso do nitrito na produção de alimentos têm sido revisadas por vários autores (ARAUJO, 1990; CONCAF, 1982b; INGRAN, 1974). Uma concentração de nitrito de aproximadamente 5 mg/kg de carne é suficiente para se obter as características sensoriais de carne curada; contudo, recomenda-se que para a comercialização da mesma seja adicionado, aproximadamente, 50 mg/kg, para atuar como conservador (WHO, 1978).

A cura da carne é importante na prevenção do desenvolvimento do *Clostridium botulinum* responsável pelo botulismo e de outras bactérias como *Clostridium welchii* e estafilococos (MIWA & MARSURA, 1983).

NAGUIB *et al.* (1985) estudaram o uso de nitrito de potássio como conservador de alimentos. Foram determinadas as diferentes concentrações de nitrito necessárias para inibir o crescimento dos seguintes microrganismos: *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus lactis*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium*.

Na Tabela 4 estão apresentados dados da literatura a respeito das concentrações de nitrato e nitrito presentes em produtos curados.

## 2.4. Dados de Consumo Alimentar

### 2.4.1. Métodos Para Coleta de Dados

Avaliações de consumo alimentar são indispensáveis como parte da avaliação do risco à saúde por substâncias presentes nos alimentos, uma vez que muitas doenças são resultados de hábitos alimentares inadequados.

Vários métodos são empregados na coleta de dados de consumo alimentar. Os métodos mais adequados para avaliar a ingestão de alimentos são:

TABELA 4 - Níveis Médios de Nitrato e de Nitrito em Produtos Curados, Expressos em mg/kg

| PRODUTOS         | NaNO <sub>3</sub> | NaNO <sub>2</sub> | AUTOR/ANO                   |
|------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|
| Produtos cárneos |                   |                   |                             |
| Bacon            | 130.0             | 73.0              | MAFF (1992)                 |
| Bacon            | 43.0              | 24.0              | MAFF (1992)                 |
| Mortadela        | 137.4             | 38.3              | SOUZA <i>et al.</i> (1990)  |
| Presunto         | 120.4             | 35.3              | LARA <i>et al.</i> (1978)   |
| Presunto         | -                 | 26.0              | MAFF (1992)                 |
| Presunto         | 22.0              | 49.0              | MAFF (1992)                 |
| Salame           | -                 | 8.0               | GRAMER <i>et al.</i> (1983) |
| Salsicha         | 142.0             | 50.2              | LARA <i>et al.</i> (1978)   |
| Salsicha         | 132.1             | 48.4              | SOUZA <i>et al.</i> (1990)  |
| Queijo tipo      |                   |                   |                             |
| alemão           | 22.0              | -                 | MAFF (1987)                 |
| Cheddar          | 2.8               | -                 | MAFF (1987)                 |
| Edam             | 7.5               | 0.4               | MAFF (1987)                 |

- a) conhecimento dos cardápios e das massas ingeridas;
- b) estudos baseados na duplicação da refeição;
- c) anamnésia da refeição.

A escolha do método depende, acima de tudo, do objetivo da pesquisa, do tamanho da amostra, e dos recursos e disponibilidade de pessoal.

Segundo GUNNER & KIRKPATRICK (1979), o primeiro passo na aplicação destas técnicas é a determinação de quais alimentos são representativos da dieta e quais os níveis de ingestão. Os alimentos devem ser agrupados de acordo com a composição da dieta. Cada grupo pode conter vários alimentos. O agrupamento de alimentos permite o uso do método analítico para gerar diferentes refeições. A determinação da substância química é realizada para cada alimento ou para cada grupo de alimentos. Posteriormente,



utilizando-se a ingestão figurada pela composição da dieta, estima-se a ingestão da substância em questão, em mg/indivíduo/dia.

A variabilidade intrínseca da ingestão alimentar dos indivíduos depende de fatores tais como: idade, sexo, nível sócio-econômico e época do ano, de forma que nenhum procedimento de determinação de ingestão pode produzir mais do que uma estimativa aproximada da ingestão real de alimentos a longo prazo. Há métodos mais exatos que outros, desta forma, à medida que hajam recursos disponíveis, deve-se combinar vários métodos compatíveis com a estimativa do consumo alimentar (GUNNE & KIRPATRICK, 1979; OMS, 1985; PEKKARINEN, 1970; MARR, 1971).

#### 2.4.2. Ingestão de Nitrato e de Nitrito através da Dieta

Na Inglaterra e em muitos outros países, a dieta representa a principal fonte de nitrato, seguida pela água (MAFF, 1987).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0 - 5 e 0 - 0,2 mg/kg de peso corpóreo para nitrato e nitrito, respectivamente (WHO, 1976). Com base nestes valores, a ingestão de nitrato por um indivíduo com peso de 60 kg não deve ultrapassar 300 mg/dia e a de nitrito 12 mg/dia.

A ingestão semanal de nitrato para um indivíduo na Inglaterra ou nos Estados Unidos tem sido estimada em 400-500 mg, mas estes valores não podem ser aplicados genericamente por causa das variações nos hábitos alimentares e nas concentrações de nitrato nos alimentos e água (WHO, 1978).

Diversos autores têm sugerido a necessidade de realizar pesquisas para o estabelecimento do risco potencial da presença de nitritos, nitratos e compostos N-nitrosos em alimentos (WOLF & WASSERMAN, 1972; BORONAT *et al.*, 1982; DUTT & LIN, 1987; ROVIRA & CANOVES, 1987; SHEPARD *et al.*, 1987; LICHT *et al.*, 1988; OLMEDO & BOSCH, 1988a, 1988b; BELLANDER *et al.*, 1988).

WALKER (1975) verificou que vegetais e água têm uma grande contribuição na ingestão semanal de nitrato, maior que carnes curadas.

WHITE (1975) fez uma estimativa da ingestão de nitrato e de nitrito utilizando valores médios do consumo per capita de várias categorias de alimentos e bebidas. A ingestão de nitrato e de nitrito relatadas por este autor são muito similares àquelas estimadas por JAGERSTAD & NORDEN (1981) na Suíça, utilizando amostras em duplicata. Os autores estimaram que 80% do nitrato ingerido provém de vegetais, e menos de 20% de carnes curadas. Aproximadamente 65% do nitrito presente no estômago originam-se da saliva e menos de 35% provém de carnes curadas.

Baseado em dados analíticos fornecidos pela "Finnish Food Quality Control", USA, PENTILLA *et al.* (1990) estimaram a ingestão diária de nitrato, nitrito e compostos N-nitrosos. Os valores de ingestão diária de nitrito indicaram que a população adulta ingere aproximadamente 1,88 mg/dia e a população de crianças e adolescentes 1,07 mg/dia, ao passo que para nitratos os valores são de 55 mg/dia para adultos e 54,6 mg/dia para crianças e adolescentes.

DUTT *et al.*, (1977) determinaram a concentração de nitrato presente em uma ampla variedade de vegetais, frutas e carnes comercializadas em Singapura. Com estes dados estimou-se em 215,3 mg/indivíduo a ingestão diária de nitrato. Experimentos posteriores, em ratos, utilizando o nível de ingestão verificado apontou uma possível associação entre a ingestão de nitrato e câncer do aparelho digestivo.

PENTTILA *et al.* (1988) estimaram a ingestão de 30 aditivos alimentares na Finlândia. Os resultados indicaram que a maioria dos valores médios de ingestão de aditivos calculados foi bem abaixo dos valores da IDA e dos níveis internacionalmente aceitos; contudo, a ingestão de nitratos, nitritos, sacarina e ciclamato estava acima ou no limite dos valores de IDA.

BOSH *et al.* (1990) determinaram o conteúdo de nitrato e nitrito em alimentos desidratados reconstituídos (sopas, cremes, purês de vegetais com e sem produtos cárneos). Neste estudo, verificou-se que a maioria das amostras analisadas introduzia na

dieta quantidades de nitrato inferiores ao da IDA, apenas 4 amostras levaram a um valor de ingestão superior ao da IDA.

ROCHE *et al.* (1988), determinaram o conteúdo de nitratos e nitritos em 181 amostras de 6 espécies de pescado cru e em 64 amostras de 3 tipos de produtos pesqueiros e observaram que os níveis encontrados não representavam aporte relevante na ingestão diária destes aditivos alimentares.

Na Tabela 5 estão apresentados dados de estimativa da ingestão diária de nitrato e nitrito em vários países.

O Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) recomenda que o governo de cada país verifique periodicamente o consumo de cada aditivo, com base em estudos da dieta a nível nacional, para determinar se a ingestão total do aditivo não ultrapassa a IDA (WHO, 1978).

## 2.5. Aspectos Toxicológicos

### 2.5.1. Cinética e Metabolismo de Nitrato e Nitrito

Em humanos, nitrato e nitrito são rapidamente absorvidos pelo trato gastrointestinal. O nitrito absorvido reage com a hemoglobina e forma a metemoglobina a qual, é rapidamente convertida em oxihemoglobina pela redução no sistema NADH-metamoglobina redutase, contudo em organismos com sistema enzimático não desenvolvido, a metemoglobina formada pode aumentar sua concentração no sangue resultando em metemoglobinemia, levando à intoxicação e em alguns casos à morte (WHO, 1978; WISE *et al.*, 1988; OLMEDO BOSCH; 1988a, 1988b; BORONAT *et al.*, 1982).

TABELA 5 - Estimativa de Ingestão Diária de Nitrato e de Nitrito em Vários Países

| País                     | $\text{NO}_3^-$<br>mg/pessoa/dia | $\text{NO}_2^-$<br>mg/pessoa/dia | Autor/Ano                 |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| Alemanha Ocidental       | 75                               | -                                | MAFF, 1987                |
| China (Singapura)        | 215                              | -                                | DUTT et al., 1987         |
| E.E.U.U.                 | 75                               | -                                | MAFF, 1987                |
|                          | 53                               | 0.5                              | WALKER, 1990              |
|                          | 106                              | 12.7                             | WHITE, 1975               |
|                          | 137 <sup>1</sup>                 | 3.9 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990 <sup>1</sup> |
| França                   | 151 <sup>1</sup>                 | > 3 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990 <sup>1</sup> |
| Holanda                  | 180 <sup>1</sup>                 | 7.7 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990 <sup>2</sup> |
| Itália                   | 245 <sup>1</sup>                 | -                                | WALKER, 1990 <sup>1</sup> |
|                          | 160 <sup>1</sup>                 | 2.8 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990              |
| Noruega                  | 52                               | -                                | MAFF, 1987                |
|                          | 43                               | 1.8 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990              |
| Países Baixos            | 71 <sup>1</sup>                  | 0.6 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990 <sup>1</sup> |
| Polônia                  | 178 <sup>1</sup>                 | -                                | WALKER, 1990 <sup>1</sup> |
| Rep. Federal da Alemanha | 68 <sup>1</sup>                  | 2.6 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990 <sup>1</sup> |
|                          | 59 <sup>1</sup>                  | 3.6 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990 <sup>2</sup> |
| Reino Unido              | 61                               | -                                | MAFF, 1987                |
|                          | 149 <sup>1</sup>                 | 2.1 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990              |
| Suécia                   | 50                               | -                                | MAFF, 1987                |
|                          | 65 <sup>1</sup>                  | 4.5 <sup>1</sup>                 | WALKER, 1990              |
| Suíça                    | 91                               | -                                | MAFF, 1987                |
|                          | 125 <sup>1</sup>                 | -                                | WALKER, 1990 <sup>1</sup> |

1 - Estimativa de ingestão diária de nitrato e nitrito por análise e cálculo

2 - Estimativa de ingestão diária de nitrato e nitrito pela técnica de duplicação

### 2.5.2. Síntese Endógena de Nitrato

A formação de nitrato por bactérias no intestino grosso (nitrificação heterotrófica) tem sido postulada como um mecanismo para explicar a diferença da ingestão e excreção urinária de nitrato, no homem. Contudo, estudos recentes sugerem que tecidos mamários sintetizam nitrato e estes podem ser parcialmente verificados pelo excesso de nitrato excretado pela urina (CONCAF, 1982a; MAFF, 1987).

Certas condições clínicas, como acloridria gástrica e infecções urinárias, podem aumentar significativamente a possibilidade da redução bacteriana de nitrato a nitrito. Contudo, em pessoas com acidez gástrica normal, nitrato é convertido a nitrito principalmente pela microflora salivar. Aproximadamente 25% do nitrato ingerido recirculam na saliva, e destes 20% são reduzidos a nitrito. É conveniente ressaltar que alterações químicas que ocorrem na saliva ou no trato gastrointestinal superior afetam a exposição endógena a este composto. Redução de nitrato por bactérias bucais são responsáveis pela maior parte de nitrito presente no estômago, principal fonte para reações de nitrosação *in vivo* (Figura 1) (CONCAF, 1982a).

### 2.5.3. Efeitos Adversos à Saúde

Os sinais clínicos, no homem e em animais, são similares para nitrato e para o nitrito. A administração de doses elevadas provoca cianose, dispnéia, cefaléia, taquicardia, tontura, náuseas, vômitos, dor abdominal, confusão mental, colápsio e coma, enquanto que a administração de doses baixas provoca descoloração da pele ("cianose chocolate"), especialmente nas unhas lábios, orelhas e extremidades, desconforto e cefaléia. (SIQUEIRA, 1985; CONCAF, 1982a; BLANC, 1990).

A ingestão de grande quantidade de nitrato leva a metemoglobinemia, principalmente em crianças.

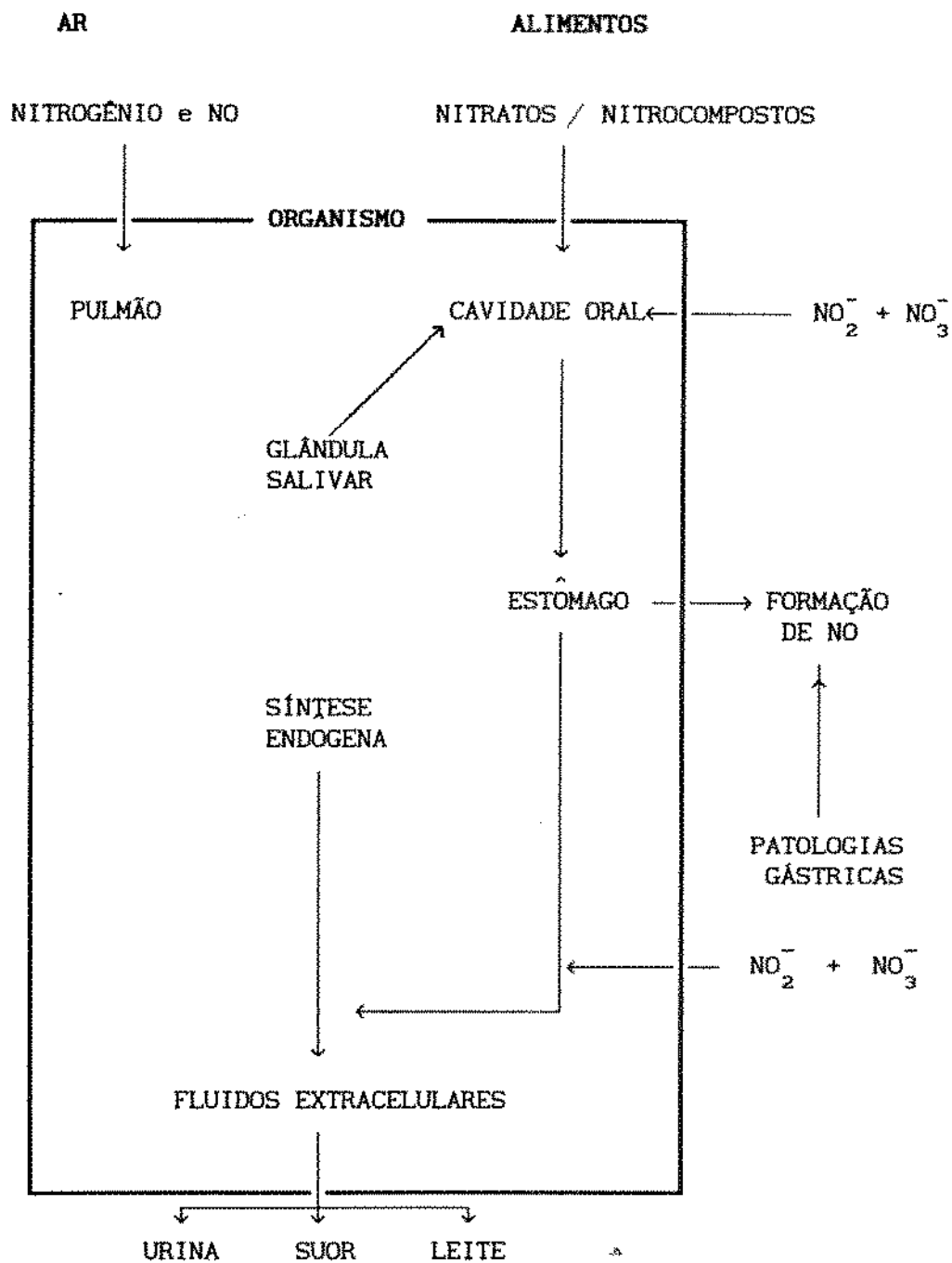
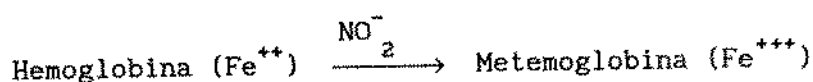
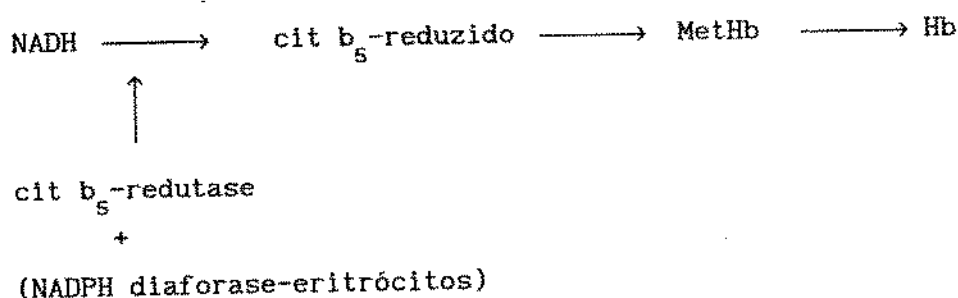


FIGURA 1 - Distribuição de Nitrato no Organismo Humano  
 Fonte: TANNENBAUM, 1984.

Na metemoglobinemia, o ferro do grupo heme da molécula está no estado férrico, incapaz de se combinar reversivelmente com o oxigênio. O sinal clínico mais evidente é a cianose. (THOMPSON, 1988).



Em eritrócitos de um indivíduo saudável, o processo de formação de metemoglobina e sua redução são contínuos (Figura 2). O teor médio de metemoglobina em um indivíduo saudável é normalmente mantido em 2% da concentração total de hemoglobina (CONCAF, 1982a; GOBBI & GRISLER, 1974;), devido à ação da enzima metemoglobina redutase (citocromo  $b_5$ -redutase) (BOTRONAT *et al.*, 1982).



A metemoglobinemia também pode originar-se por um mecanismo completamente diferente, através da deficiência da própria metemoglobina redutase, determinada geneticamente através de herança autossômica recessiva (THOMPSON, & THOMPSON, 1988).

BORONAT *et al.* (1982) observaram que as mulheres grávidas e os indivíduos carcinomatosos também fazem parte da população alvo da metemoglobinemia; contudo, após o parto ou depois da extirpação da neoplasia, tais indivíduos deixam de pertencer à população de risco. Os mesmos autores fizeram ainda um estudo sobre o risco da ingestão de nitrato e nitrito por crianças, através da alimentação infantil. Da população infantil, os lactentes são os mais susceptíveis à metemoglobinemia, devido a:

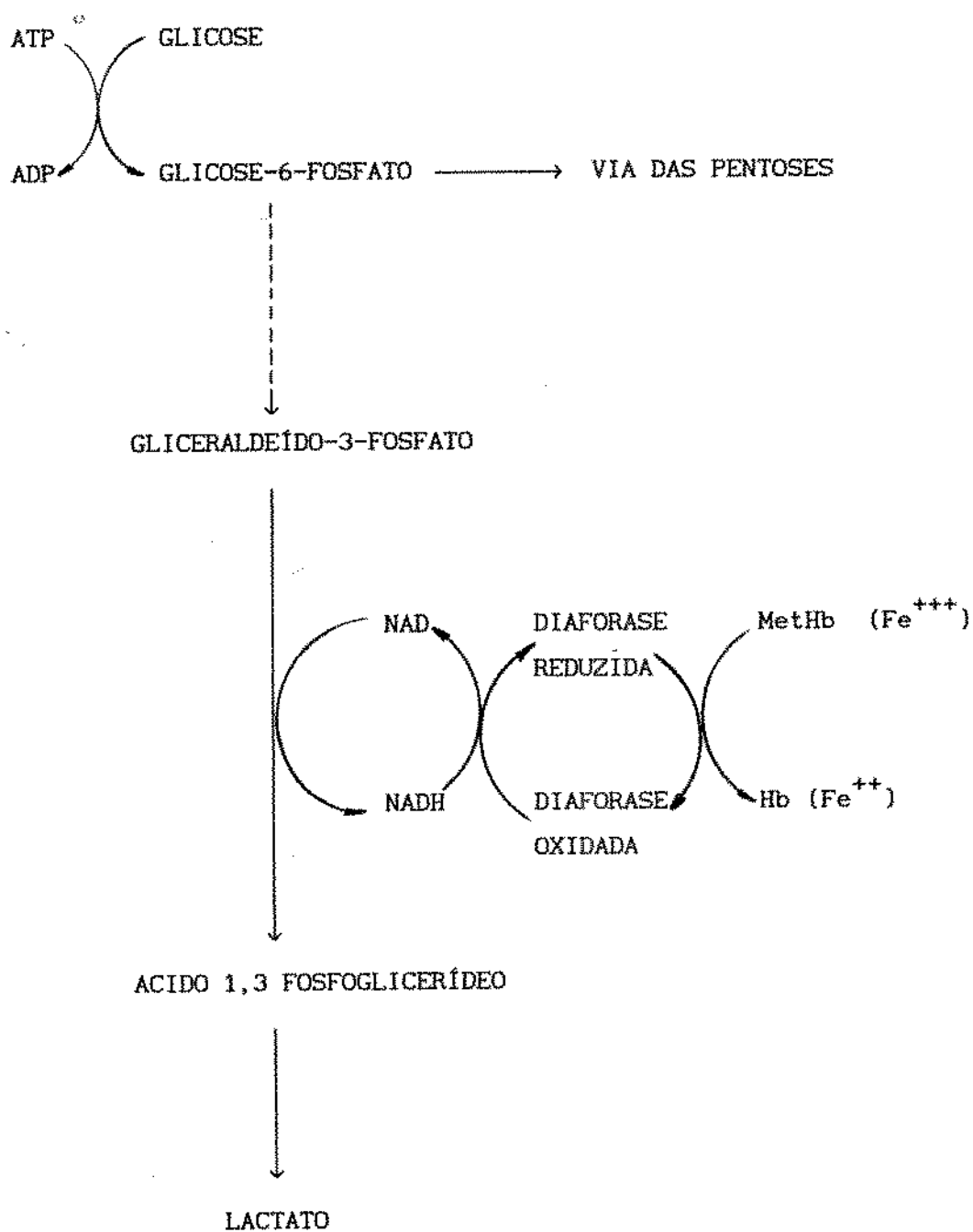


FIGURA 2 - Diagrama do Sistema de Redução de Metemoglobina à Hemoglobina, via fisiológica



- a) baixa acidez gástrica, que favorece a proliferação de microrganismos redutores de nitrato a nitrito, antes de sua total absorção;
- b) considerando-se o peso e a quantidade de água ingerida por um lactente, esta é 10 vezes superior à ingerida por um adulto;
- c) o neonato tem de 60% a 80% de hemoglobina fetal, a qual passa mais facilmente a metemoglobina do que a hemoglobina do adulto;
- d) nas crianças o sistema NADH-metemoglobina-redutase se desenvolve tardiamente, após o terceiro ou quarto mês de idade.

Contudo, é conveniente, no caso de metemoglobinemia em crianças, verificar se esta se origina pela ingestão de nitrato e nitrito ou de enzimopatias congênitas tais como déficit de metemoglobina-redutase, ou déficit de NADPH-diaforase.

Na maioria dos casos de metemoglobinemia em crianças, constatou-se o uso de água contendo altas concentrações de nitrato (teores acima de 90 mg/l) utilizada no preparo de mamadeiras. Contudo tem-se verificado casos de metemoglobinemia na concentração de 50 mg/l de água. Têm sido também relatados casos de metemoglobinemia em bebês que ingeriram suco de cenoura e purê de espinafre (WHO, 1978, BOSCH & OLMEDO, 1988).

Estudos epidemiológicos têm sugerido a associação entre exposição a altos níveis de nitrato e nitrito e alta incidência de câncer de estômago e esôfago (Figura 3) (DUTT, 1987; HERRADOR & ASUERO, 1986; OLMEDO & BOSCH, 1988a; TEYARATMAM *et al.*, 1987; HARTMAN, 1983; SHANMUGARATMAN *et al.*, 1983).

#### 2.5.4. Estudos com Animais de Experimentação

O principal efeito de nitratos e nitritos é a indução de metemoglobinemia, observada principalmente em animais jovens. A maioria dos trabalhos experimentais tem sido associada com este problema à medida que, em ratos, resulta em efeito embriotóxico com mortalidade pré-natal, reabsorção e decréscimo do peso do neonato cujas mães receberam água potável contendo nitrito de sódio. Ratos adultos, expostos durante 24 meses a água potável contendo nitrito, apresentaram elevados níveis de metemoglobina,

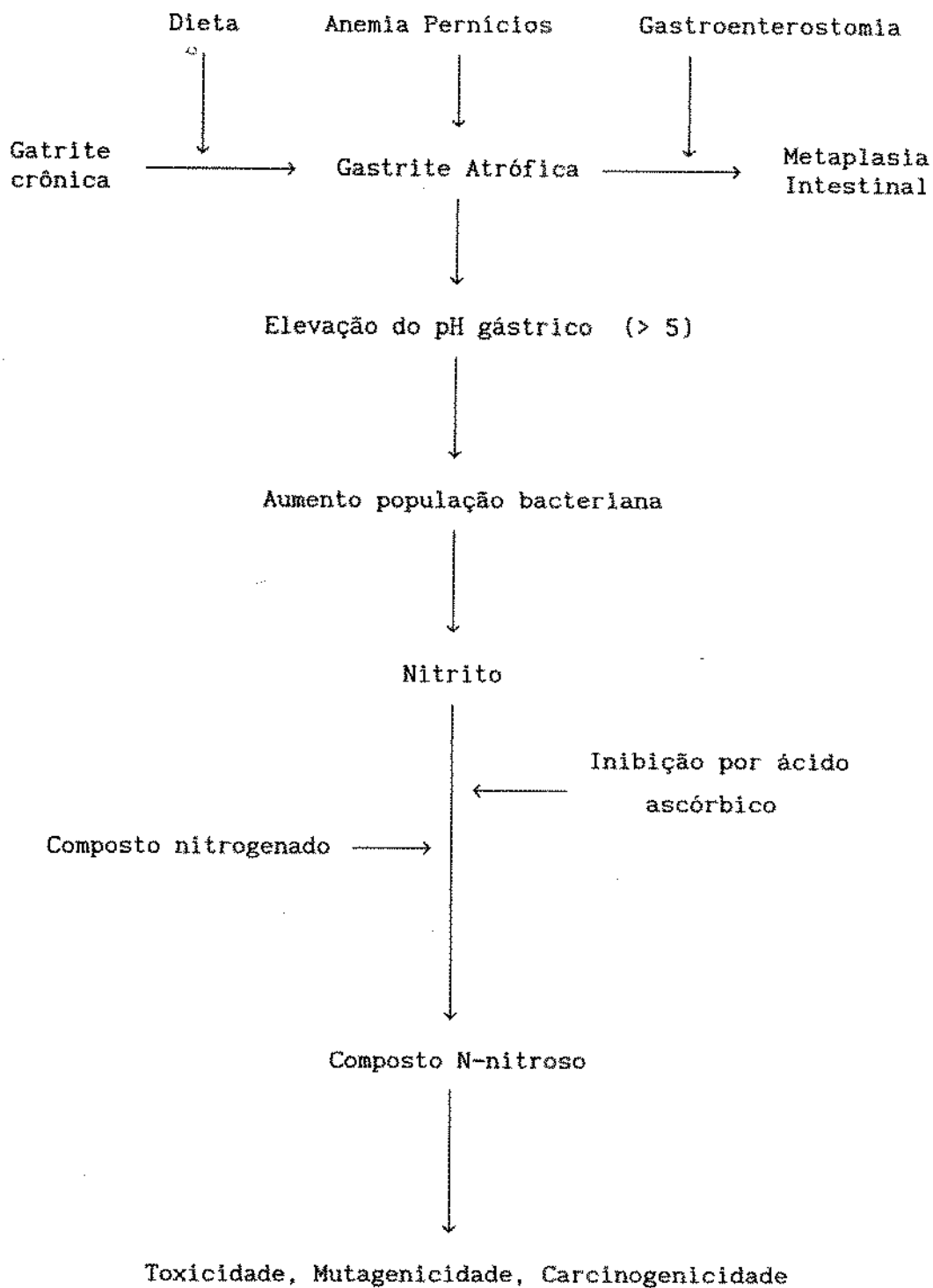


FIGURA 3 - Esquema Postulado da Ligação entre Nitrato e Câncer Gástrico

porém não a ponto de causar efeito tóxico. Em estudos realizados em camundongos, não foram evidenciadas propriedades associadas ao nitrato e nitrito. Nitrito tem apresentado mutagenicidade em alguns testes (WHO, 1978; WALKER, 1990).

GRUNER & SHUVAL (1973) estudaram os efeitos tóxicos de nitrito em ratos e observaram aumento de metemoglobina e alterações patológicas no pulmão e coração. Verificaram ainda que quando o nitrito é transferido, via placenta, também gera metemoglobinemia no feto, e que a administração regular de nitrito de sódio através da água provoca mudanças na atividade elétrica cerebral.

ROTH & SMITH (1988) verificaram que quando se administra água contendo nitrito a ratas grávidas, e durante lactação, a prole sofre de anemia microcítica, crescimento retardado e alta mortalidade, assim como deficiência de ferro. As mães de ratos anêmicos também são anêmicas. O leite destas mães contém ferro reduzido.

Para avaliar o efeito embriotóxico do nitrito de sódio, em camundongos, SHIMADA (1989) administrou água contendo nitrito de sódio (100 a 1000 mg/l) do sétimo ao décimo oitavo dia de gestação. Não se verificaram diferenças significativas quanto ao desenvolvimento da prole (tamanho, peso fetal, número de abortos ou fetos mortos) entre o grupo controle e o que recebeu água tratada. A incidência de má formação externa e no esqueleto de fetos de grupos tratados e controle não foi significativa. Efeitos teratogênicos e mutagênicos decorrentes do uso de nitrito de sódio não foram verificados em camundongos, nas doses utilizadas.

## 2.6. Aspectos da Legislação

Aditivos são substâncias químicas adicionadas aos alimentos com a finalidade de impedir alterações, manter, conferir ou intensificar alguma propriedade sensorial desejável, modificar ou manter seu estado físico geral ou auxiliar no processamento do alimento. Os aditivos são substâncias adicionadas deliberadamente

pelo fabricante para facilitar o preparo, melhorar a aparência e manter a qualidade do alimento.

A tolerância, ou quantidade máxima de um aditivo permitido em um produto alimentício, tem como base o emprego destas substâncias de acordo com a boa tecnologia de fabricação, observados os aspectos toxicológicos relacionados com o aditivo.

Devido principalmente à atividade antimicrobiana do nitrito, a adição de nitratos e nitritos em alimentos é oficialmente regulamentada na maioria dos países, alguns dos quais também permitem a adição destes sais em pescados (ROCHE & LOMBARD, 1988; PEARSON, 1970; CONCAF, 1982b).

No Brasil, a resolução número 4, de 24 de novembro de 1988, do Ministério da Saúde, fixa para produtos cárneos curados limites de 500 mg/kg de nitrato, associado ou não a nitrito, sendo que no produto a ser consumido não deverá remanescer mais que 200 mg/kg de nitrito, expresso como ion nitrito (BRASIL, 1988).

Na França, existem leis que estabelecem limites quanto à presença de nitrato em alimentos infantis industrializados, sendo o valor de tolerância igual a 50 ppm de  $\text{KNO}_3$  (OLMEDO & BOSCH, 1988a).

O Departamento Federal de Saúde Pública da Suíça fixou uma tolerância de 4.000 mg de  $\text{NO}_3^-$ /kg para o alface (OLMEDO & BOSCH, 1988a).

Na Tabela 6 estão apresentadas as tolerâncias para o nitrato e nitrito segundo a legislação de vários países.

TABELA 6 - Níveis de Nitrato e de Nitrito Permitidos em Produtos  
Cárneos, Segundo a Legislação de Diversos Países

| Produto                                                   | Aditivo                                                                                | Órgão ou País                | Recomendação                                                                                 | Referência              |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Bacon                                                     | Nitrato e nitrito                                                                      | USDA                         | Adição de 120 mg/Kg nitrito,<br>eliminação de nitrato, adi-<br>ção de ascorbato (500 mg/ Kg) | IFT, 1987               |
| Bacon                                                     | Nitrito de sódio                                                                       | USDA<br>(1986)               | Adição de 166 mg/Kg ou 40 mg/Kg<br>em algumas circunstâncias <sup>(a)</sup>                  | IFT, 1987               |
| Linguiça<br>fermentada                                    | Nitrito                                                                                | FRG<br>(1980)                | Adição de 125 mg/Kg <sup>(b)</sup>                                                           | LESTNER, 1981           |
| Linguiça<br>fermentada<br>cura longa                      | Nitrato de potássio                                                                    | FRG<br>(1980)                | Adição de 300 mg/Kg <sup>(c)</sup>                                                           | LESTNER, 1981           |
| Carne curada<br>empacotada e<br>esterilizada              | Nitrato e nitrito<br>de sódio                                                          | UK<br>(1982)                 | 150 mg/Kg <sup>(d)</sup>                                                                     | MAFF, 1987              |
| Produto de<br>carne curada<br>fermentada e<br>acidificada | Nitrato e nitrito<br>de sódio                                                          | UK<br>(1982)                 | 400 mg/Kg <sup>(d)</sup>                                                                     | MAFF, 1987              |
| Bacon e<br>presunto                                       | Nitrato e nitrito<br>de sódio                                                          | UK<br>(1982)                 | 500 mg/Kg <sup>(e)</sup>                                                                     | MAFF, 1987              |
| Carne curada<br>sub-produto                               | Nitrito de sódio                                                                       | CANADA<br>(1975)             | Adição de 20mg/Kg<br>eliminação de<br>nitrato <sup>(f)</sup>                                 | GRAY & RANDALL,<br>1979 |
| Bacon                                                     | Nitrito de sódio<br>ou potássio                                                        | CANADA<br>(1975)             | Adição de 150 mg/Kg                                                                          | GRAY & RANDALL,<br>1979 |
| Carne curada                                              | Nitrato (nitrato de<br>sódio ou de potássio)<br>associado ou não<br>a nitrito de sódio | BRASIL<br>(1976g)<br>(1988h) | 500 mg/Kg nitrato<br>ou 200 mg/Kg<br>de nitrito de sódio                                     | BRASIL, 1976 e<br>1988  |

Fonte: TOYOHARA, 1989

- (A) Adição de 100 mg/kg de  $\text{Na NO}_2$  no produto, desde que exista na indústria um controle de qualidade durante o processamento ou 40 a 80 mg/kg de  $\text{NaNO}_3$  em combinação com cultura de ácido láctico.
- (B) No produto a ser consumido, a concentração residual de nitrito mais nitrato (expressos em nitrito de sódio), não deverá ser maior do que 100 mg/kg.
- (C) No produto a ser consumido, a concentração residual de nitrito mais nitrato (expressos em nitrato de potássio), não deverá ser maior do que 100 mg/kg.
- (D) No produto a ser consumido, não poderá remanescer mais de 50 mg/kg de nitrito (expressos como  $\text{NaNO}_2$ )
- (E) No produto a ser consumido, não poderá remanescer mais de 200 mg/kg de nitrito de sódio
- (F) Adição de 200 mg/kg de nitrato de sódio ou de potássio e unicamente permitida em produtos secos ou de cura longa
- (G) No produto a ser consumido, não poderá remanescer mais de 200 mg/kg de nitrito (expressos como  $\text{NaNO}_2$ )
- (H) No produto a ser consumido, não poderá remanescer mais de 200 mg/kg de nitrito (expressos como íon nitrito)

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Amostra

Foram analisadas amostras de alimentos oferecidos nas refeições dos restaurantes universitários da UNICAMP, durante o almoço e o jantar, no período de maio a outubro de 1991.

Para a escolha dos alimentos a serem analisados, fez-se uma triagem para verificar quais eram os mais frequentemente servidos pelos restaurantes. Desta triagem, foram escolhidos 22 alimentos: arroz, feijão, 6 pratos principais, 6 saladas, 3 guarnições, 2 sobremesas, pão francês e refrescos de frutas.

Os alimentos eram preparados em cozinha do tipo industrial, e no seu preparo foram utilizados; cebola, alho, sal de cozinha e óleo de soja; para as carnes, além do tempero comum, utilizam-se os temperos preparados pela Nestlé: Grill e Fondor.

##### 3.1.2. Reagentes Utilizados

- Ácido clorídrico; Merck, art. 317
- Carvão ativo; Merck, art. 2186
- Ferrocianeto de potássio tri-hidratado; Merck art. 4984
- Hidróxido de amônia: Merck art. 5432
- Idranal III; Riedel de Haen, art. 34549
- N-(1-naftil)-etilenodiamina dicloridrato; Merck art. 6237
- Nitrato de potássio; Reagen, Lot 811.035
- Nitrato de sódio; Merck art. 6549
- Polivinil polí-pirolidona; Sigma Chemical Co., Lot P-6755
- Sulfanilamida'; Ecibra Reagentes Analíticos, 11.854
- Sulfato de cádmio octa-hidratado; Merck art. 2027
- Sulfato de cobre penta-hidratado; Riedel de Haen, DAB 7 (R 253)
- Sulfato de zinco hepta-hidratado; Ecibra Reagentes Analíticos, 2030

### 3.1.3. Soluções Reagentes

- Solução de ácido clorídrico 2N
- Solução de ácido clorídrico 45%
- Solução de ácido clorídrico 0.1N
- Solução de ferrocianeto de potássio tri-hidratado 172 mg/ml
- Solução de IDRANAL III (EDTA) 33,5 mg/ml
- Solução de N-(1-naftil) etilenodiamina dicloridrato 0,1%
- Solução de sulfanilamida 0,5%: colocou-se 0,5 g de sulfanilamida em uma mistura de 75 ml de água e 5 ml de ácido clorídrico concentrado, e levou-se ao banho com ultra-som até a completa solubilização. Elevou-se o volume a 100 ml, com água destilada.
- Solução de sulfato de cádmio 20%
- Solução de sulfato de cobre penta-hidratado 2%
- Solução de sulfato de zinco hepta-hidratado 535 mg/ml
- Solução Tampão Amoniacal - pH 9.6 - 9.7: diluiu-se 20 ml de ácido clorídrico a 500 ml, com água destilada, previamente fervida e resfriada, e adicionou-se 50 ml de hidróxido de amônio; em seguida diluiu-se a 1000 ml e homogenizou-se. Conferiu-se o pH e faz-se ajuste quando necessário.
- Solução padrão estoque de nitrito de sódio 0,15 mg/ml
- Solução padrão estoque de nitrato de potássio 1,5 mg/ml
- Solução padrão de uso de nitrito de sódio 1,5 µg/ml
- Solução padrão de uso de nitrato de potássio 7,35 µg/ml

Obs.:

- todos os reagentes utilizados foram de grau de pureza P.A.
- as soluções padrão estoque podem ser armazenadas durante uma semana, desde que conservadas sob refrigeração e protegidas da luz
- as soluções de N-(1-naftil)-etilenodiamina dicloridrato foram conservadas sob refrigeração, em frasco de vidro âmbar, no máximo, por uma semana.



### 3.1.4. Equipamentos

- Balança AM 5500 Automarte;
- Balança eletrônica - Instrumentos Científicos CG Ltda - Libror EL-200;
- Ultra-som - Thornton Mod. T 14;
- Chapa aquecedora - Marconi - Mod. TE 085;
- Contador de minutos - Herweg;
- Espectrofotômetro UV - Varian - Visível DMS-80;
- Espectrofotômetro UV - Perkin Elmer - Visível 6;
- Liquidificador - Wallita - 8 velocidades;
- Medidor de pH - Digimed - DMPH-1;

### 3.2. Métodos

O nitrato foi quantificado após ter sido reduzido à nitrito.

Para quantificação de nitrito utilizou-se de método colorimétrico com determinação espectrofotométrica no visível. A quantificação foi feita em meio ácido a 538 nm (A.O.A.C. 976.14/1990). Todas as análises foram feitas em duplicata.

Na Figura 4 apresenta-se o fluxograma da metodologia utilizada na determinação de nitrato e de nitrito em alimentos.

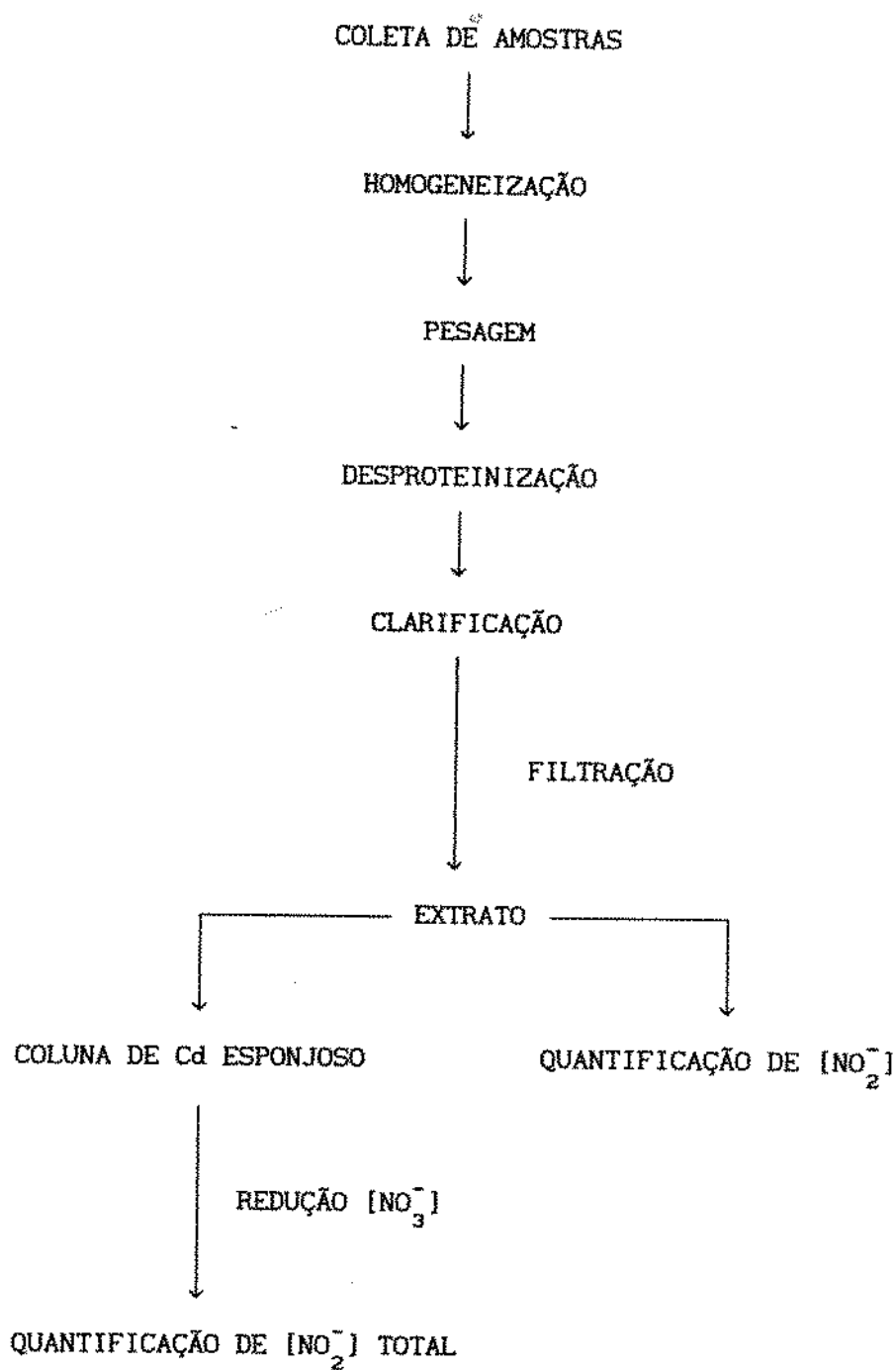


FIGURA 4 - Fluxograma de Metodologia Utilizada para Extração e Quantificação de Nitrato e de Nitrito em Alimentos

### 3.2.1. Preparo da Coluna Redutora

#### 3.2.1.1. Preparo de Cádmiio Esponjoso

Lâminas de folha zincada, nas dimensões 2 cm x 15 cm, foram mergulhadas em tubos de vidro contendo solução de sulfato de cádmio 20%. À medida que ocorria a deposição do cádmio nas lâminas, a cada 15 min, fez-se a sua renovação com o auxílio de uma espátula transferindo-o para um béquer que continha a mesma solução. Obtida a quantidade necessária de cádmio metálico precipitado, procedeu-se a sua passagem por peneira de aço de abertura 1.68 mm, para se obter uma granulação uniforme. Em seguida, o metal granulado foi lavado intensamente com água destilada, evitando-se sempre o contato com o ar. Adicionou-se HCl 2N até cobrir o material e agitou-se suavemente a mistura deixando-a em seguida decantar. Posteriormente, o material foi lavado com várias porções de água destilada. Procedeu-se ao cobreamento pela adição de 2,5 ml de solução de sulfato de cobre 2% para cada grama de metal úmido. A mistura foi agitada por alguns minutos e o material cobreado foi lavado com água destilada até que não houvesse mais partículas em suspensão nas águas de lavagem. Até o momento de preenchimento da coluna, manteve-se o metal granulado imerso em água destilada.

#### 3.2.1.2. Preenchimento da Coluna

Fez-se a coluna de vidro pírex (Figura 5) conforme recomendação 976.14 da A.O.A.C., 1990. Com o auxílio de um bastão de vidro, colocou-se lã de vidro previamente muflada na base da coluna. Adicionou-se água destilada na coluna até o equilíbrio hidrostático, evitando-se a presença de bolhas de ar na lã de vidro. Em seguida, transferiram-se 20 gramas de cádmio esponjoso para a coluna, evitando a formação de bolhas de ar, e enchendo-a até 1 cm abaixo do nível da água, de maneira que os grânulos de metal não ficassem expostos ao ar.

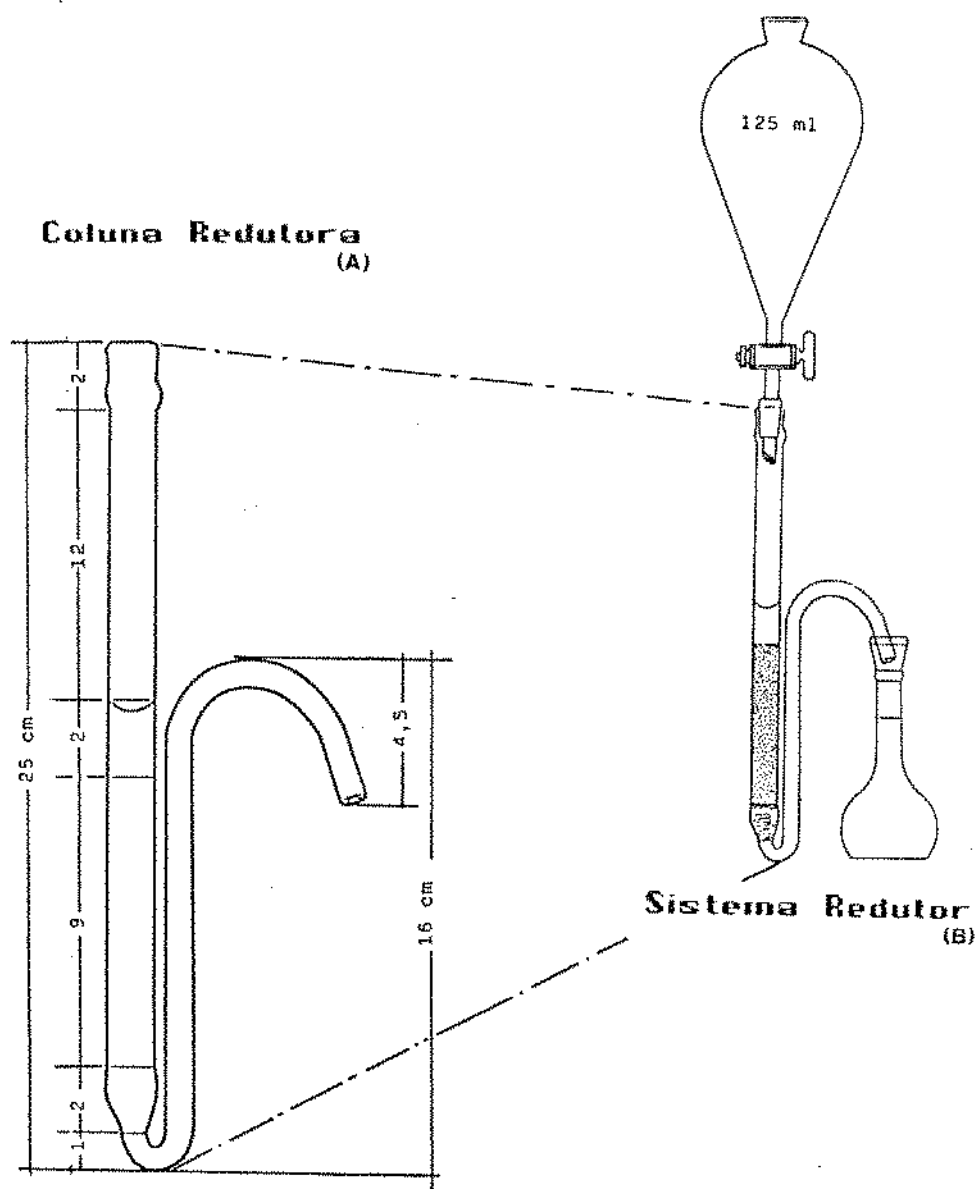


FIGURA 5 - Representação Esquemática da Coluna Redutora e do Sistema Redutor, Utilizados na Determinação de Nitrato

### 3.2.2. Condicionamento da Coluna

Para o condicionamento da coluna redutora preparou-se em um balão volumétrico de 1000 ml a seguinte mistura: 750 ml de água destilada, 210 ml de solução padrão de nitrato de potássio e 20 ml de solução de IDRANAL III. Com o auxílio de um funil de separação, passou-se esta mistura através da coluna previamente empacotada, a um fluxo que não ultrapassasse a 6 ml/min., desprezando o eluato. Posteriormente, lavou-se a coluna com 45 ml de água destilada e adicionaram-se 10 ml de solução de IDRANAL III.

Sempre que a coluna esteve fora de uso foi mantida com solução de IDRANAL III.

### 3.2.3. Controle da Capacidade Redutora da Coluna

Ao sistema redutor (Figura 5) adicionaram-se 5 ml de solução tampão amoniacal e 20 ml de solução padrão de nitrato de potássio mantendo-se a torneira do funil de separação fechada. Feita a mistura no funil de separação, abriu-se a torneira com uma vazão de aproximadamente 6 ml/min., recolhendo-se o eluato em um balão volumétrico de 100 ml. Ao final da eluição, procedeu-se a três lavagens consecutivas, com 15 ml de água destilada cada, mantendo-se o fluxo de aproximadamente 6 ml/min., em seguida, passou-se água destilada com fluxo máximo, até que o balão volumétrico tivesse seu volume completado.

Homogeneizou-se o eluato recolhido no balão volumétrico e transferiram-se, com o auxílio de pipeta volumétrica, 25 ml para balão volumétrico de 100 ml, adicionaram-se 40 ml de água destilada e procedeu-se a determinação de nitrito.

A capacidade redutora da coluna foi verificada a cada duas amostras eluidas.

#### 3.2.4. Regeneração da Coluna

Ao final da eluição de cada amostra, passaram-se pela coluna, em fluxo máximo, 30 ml de solução IDRANAL III, deixando-se a coluna nessa solução. Procedeu-se desta maneira para evitar a perda da eficiência da coluna e a necessidade de recondicionamento da mesma. A mistura para a regeneração da coluna foi preparada através da adição de 5 ml de solução de IDRANAL III a 2 ml de uma solução de ácido clorídrico 0.1N, completando-se o volume a 100 ml com água destilada.

#### 3.2.5. Extração da Amostra

As amostras analisadas, de cada alimento, provenientes dos restaurantes universitários, foram homogeneizadas em liquidificadores. Do homogenato pesaram-se 10 gramas e transferiram-se para erlenmeyer de 300 ml. Foram adicionados 174 ml de água destilada, aquecida a 55°C, e agitou-se por alguns minutos. Em seguida, adicionaram-se 3 ml de solução de sulfato de zinco, 3 ml de solução de ferrocianeto de potássio e 20 ml de solução tampão. Após cada adição agitou-se suavemente a mistura. Deixou-se o sistema em repouso por 15 min. Em seguida colocou-se, aproximadamente, 200 mg de carvão ativo, agitou-se o frasco e deixou-se em repouso por 5 min e filtrou-se em papel de filtro qualitativo Whatman pregueado, recolhendo-se o filtrado.

#### 3.2.6. Determinação de Nitrito

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, transferiram-se 25 ml do extrato filtrado para balão volumétrico de 100 ml, protegido da luz. Em seguida, adicionaram-se 50 ml de água destilada, 6 ml de uma solução de ácido clorídrico 45% e 5 ml de solução de sulfanilamida 0.5%. Agitou-se cuidadosamente e deixou-se repousar por 5 min à temperatura ambiente. Decorrido este período, adicionaram-se 2 ml de solução de

N-(1-naftil)etilenodiamina 0.1% e agitou-se cuidadosamente, deixou-se mais 5 min em repouso à temperatura ambiente. Posteriormente, elevou-se o volume com água destilada e homogenizou-se a solução. Aguardou-se 15 min. e fez-se a leitura da absorbância da solução a 538 nm em espectrofotômetro.

### 3.2.7. Determinação do Nitrato

Para a determinação do nitrato procedeu-se à redução do mesmo a nitrito, em coluna de cádmio esponjoso. Para tanto, introduziram-se no funil de separação, adaptado à coluna, 5 ml de solução tampão amoniacal, 20 ml do extrato filtrado, deixando-se eluir a um fluxo de, aproximadamente, 6 ml/min..O eluato foi recolhido em balão volumétrico de 100 ml. Posteriormente, lavou-se as paredes do funil de separação com porções de 15 ml de água destilada, repetindo-se a operação 3 vezes. Feito isto, colocou-se água destilada no funil de separação e deixou-se eluir em fluxo máximo até que completasse o volume do balão volumétrico, homogenizando-o em seguida.

Após a redução do nitrato a nitrito procedeu-se a determinação de nitrito total conforme descrito no item 3.2.6.

### 3.2.8. Coleta de Dados de Consumo dos Alimentos Oferecidos nos Restaurantes Universitários

#### 3.2.8.1. Dados de Consumo

Para estimar a ingestão potencial de nitrato e de nitrito pelos usuários dos restaurantes universitários, foram utilizados os valores médios de consumo alimentar relatados por PIERINI & VALLE (1991) em trabalho de resto/ingesta realizado no restaurante universitário 2. Esses autores verificaram que os usuários, no período de almoço, podem ser agrupados de acordo com seus hábitos alimentares em três horários: 1º Horário (das 10:30 às 11:30 h), 2º Horário (das 11:30 às 12:00 h), 3º Horário (das

12:00 às 13:30 h). Os hábitos alimentares dos usuários do período do jantar são semelhantes à média geral dos usuários do período do almoço.

#### 3.2.8.2. Amostragem e Coleta de Dados da População

A amostragem da população de usuários foi feita através de pesquisa de campo, por meio de entrevista e pesagem dos indivíduos frequentadores dos restaurantes universitários.

Foram entrevistados 1464 indivíduos, ou seja, aproximadamente 30% da população que frequenta os restaurantes universitários.

Os dados referentes à população foram coletados por meio da pesagem do indivíduo e perguntas sobre idade, sexo, atividade desempenhada na universidade (aluno, funcionário, professor) e frequência semanal aos restaurantes (almoço e/ou jantar).

#### 3.2.9. Elaboração das Refeições

A refeição foi a unidade experimental utilizada para o estudo analítico-estatístico da estimativa da ingestão potencial de nitrato e de nitrito através da refeição oferecida pelos restaurantes universitários.

Determinados os alimentos mais frequentemente oferecidos nos restaurantes, fez-se a quantificação de nitrato e de nitrito em cada alimento. Posteriormente, foram elaboradas as possíveis refeições, num total de 216 (Anexo I).

Para a elaboração das várias refeições, os alimentos foram agrupados de acordo com a composição do cardápio em um total de nove grupos. Foram considerados alimentos comuns a todos: arroz branco, feijão, vinagrete, pão tipo francês e refrescos de frutas. Os alimentos variáveis foram as guarnições, prato principal, saladas e sobremesas (Tabela 7).



TABELA 7 - Grupos de Alimentos e Componentes Constituintes das Refeições Oferecidas pelos Restaurantes Universitários.

| GRUPO | ALIMENTO/PRATO    | VARIÁVEIS                                                                                                                       |
|-------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| * 1   | arroz branco      | arroz branco                                                                                                                    |
| * 2   | feijão            | feijão                                                                                                                          |
| 3     | salada            | salada de alface<br>salada de acelga<br>salada de beterraba crua<br>salada de tomate<br>salada de chicória<br>salada de repolho |
| 4     | prato principal   | bife bovino<br>carne moída<br>"steak" de frango<br>salsicha ao molho de tomate<br>peixe à milanesa<br>ovo cozido                |
| 5     | guarnição         | batata "souté"<br>abobrinha refogada<br>chuchu refogado                                                                         |
| 6     | sobremesas        | laranja<br>maça verde                                                                                                           |
| 7     | refresco de fruta | abacaxi<br>caju<br>laranja<br>manga<br>tangerina<br>uva                                                                         |
| * 8   | vinagrete         | tomate/cebola/salsinha                                                                                                          |
| * 9   | pão tipo francês  | pão tipo francês                                                                                                                |

\* componentes constantes das refeições

### 3.2.10. Cálculo da Estimativa da Ingestão Potencial de Nitrato e Nitrito

Baseado nos dados obtidos de resto/ingesta por PIERINI & VALLE, (1991) e nos hábitos alimentares dos usuários, estimaram-se valores médios de consumo de alimento por refeição. Com os valores dos teores de nitrato e de nitrito obtidos das análises quantitativas dos alimentos oferecidos nas refeições, determinou-se a quantidade de nitrato e de nitrito ingerida por alimentos, por horário, segundo os hábitos alimentares. Através das possíveis refeições, previamente elaboradas, calculou-se a quantidade de nitrato e de nitrito ingerida por indivíduo, estimando-se desta forma o aporte dietário de nitrato e de nitrito.

Para avaliação da estimativa do aporte dietário diário de nitrato e de nitrito através das refeições, estas foram agrupadas inicialmente em 8 grupos, conforme indicado na Tabela 8. Os grupos controle (branco e total) foram elaborados de forma que o grupo controle-branco não incluísse nenhuma das variáveis dos alimentos (Tabela 7) que apresentassem teores máximos de nitrato e de nitrito. Contrariamente o grupo controle-total foi composto pelas refeições onde as variáveis dos diferentes alimentos/prato apresentassem os teores máximos de nitrato e de nitrito. As demais refeições foram agrupadas de acordo com as possíveis combinações dos componentes dos diferentes grupos de alimentos.

Esses 8 grupos (Tabela 8) foram posteriormente reagrupados em grupos de refeições de estudo (Tabela 9) para torna-los estatisticamente homogêneos (SHIROSE & YOTSUYANAGI, 1984; ESTATÍSTICA, 1985).

Com os teores médios de nitrato e de nitrito dos grupos de refeições e com o valor do peso médio dos usuários, estimou-se a ingestão potencial de nitrato e de nitrito por refeição, por grupo de refeição, para cada um dos três horários. Baseado nestes resultados estabeleceram-se grupos frente ao valor de IDA para nitrato (WHO, 1978) uma vez que este em alguns grupos apresentava-se com o valor estimado de ingestão potencial acima do

valor de ingestão diária aceitável. Posteriormente, fez-se a análise de variância nestes grupos, para avaliar as possíveis diferenças entre estes a um nível de significância especificado.

TABELA 8 - Agrupamento de Refeições em Relação aos Teores de Nitrato e de Nitrito.

| GRUPO | REFEIÇÕES<br>DE NÚMEROS | CARACTERÍSTICAS<br>DAS REFEIÇÕES                                                  |
|-------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 1     | 01 a 75                 | controle-branco: sem salsicha ao molho de tomate, salada de beterraba e laranja   |
| 2     | 76 a 150                | contém laranja                                                                    |
| 3     | 151 a 165               | contém salsicha ao molho de tomate                                                |
| 4     | 166 a 180               | contém salada de beterraba                                                        |
| 5     | 181 a 183               | contém salsicha ao molho de tomate e salada de beterraba                          |
| 6     | 184 a 198               | contém salsicha ao molho de tomate e laranja                                      |
| 7     | 199 a 213               | contém salada de beterraba e laranja                                              |
| 8     | 214 a 216               | controle-total: contém salsicha ao molho de tomate, salada de beterraba e laranja |

TABELA 9 - Grupos de Refeições de Estudo Provenientes do Reagrupamento dos 8 Grupos Padrões de Análise

| GRUPOS DE<br>REFEIÇÕES | GRUPOS<br>COMPONENTES |
|------------------------|-----------------------|
| A                      | 1 e 3                 |
| B                      | 2 e 4                 |
| C                      | 5 e 6                 |
| D                      | 7 e 8                 |

### 3.2.11. Análise Estatística

Para estimar a ingestão potencial de nitrato e de nitrito através da dieta oferecida pelos restaurantes universitários, utilizou-se o "Software" SPSS / PC + (Statistical Package Search for IBM PC). O SPSS / PC + possibilitou o cálculo do teor médio de nitrato e de nitrito de cada uma das 216 refeições elaboradas (Anexo III) e de cada grupo de refeição, da mediana e dos valores mínimos e máximos de cada grupo de refeição, avaliando as diferenças entre estes através da análise de variância.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Avaliação da Metodologia Empregada para Determinação de Nitrato e de Nitrito

Frente ao amplo espectro de metodologias para a determinação de nitrato e de nitrito (JOHNSON, & ULRICH, 1950; WEST & LYLES, 1960; SCHULLER & VEEN, 1967; PAUL & CARLSON, 1968; WOOGT, 1969; WETTERS & UGLUN, 1970; WESTCOTT, 1971; RAMMELL & JOERIN, 1972; MIRNA, 1974; USHER & TELLING, 1975; HERRADOR & ASUERO, 1986; WALTERS, 1987; LOOKABAUGH & KRULL, 1988; POLAK & JANACEK, 1989; GAO *et al.*, 1990) no presente trabalho optou-se pelo método oficial da A.O.A.C. (1990) onde, para a determinação de nitrato adota-se a redução do mesmo a nitrito pela sua passagem através de coluna de cádmio esponjoso, com posterior determinação do nitrito formado. Para a determinação de nitrito procedeu-se a reação colorimétrica de diazo-conjugação com posterior determinação espectrofotométrica.

Para a execução de tal metodologia confeccionou-se a coluna de cádmio segundo dimensões recomendadas pela A.O.A.C. (1990) (Figura 5). Devemos observar que no preparo do cádmio esponjoso, escolheu-se uma granulação adequada para evitar a compactação do material dentro da coluna, e cobreação do cádmio foram feitas de maneira a se obter uma coluna de comportamento estável. No processo de regeneração da coluna utilizou-se primeiramente uma solução diluída de ácido clorídrico para remover possíveis partículas precipitadas da superfície do cádmio granulado, reativando, seu potencial catalítico. Foram montados três sistemas redutores nos quais as colunas apresentavam os seguintes valores médios de eficiência (média de 25 determinações  $\pm$  desvio): coluna A ( $82,03 \pm 4,01$ )%, coluna B ( $87,18 \pm 1,03$ )%, e coluna C ( $91,86 \pm 0,71$ )%. As 3 colunas apresentaram comportamento estável, durante todo o período em que foram utilizadas. Cabe ressaltar que a coluna atinge uma eficiência ótima somente após várias análises seguidas, não havendo necessidade de se repetir todo o processo de regeneração após cada análise, sendo necessária unicamente a lavagem com água destilada e estocagem em solução de IDRANAL III.

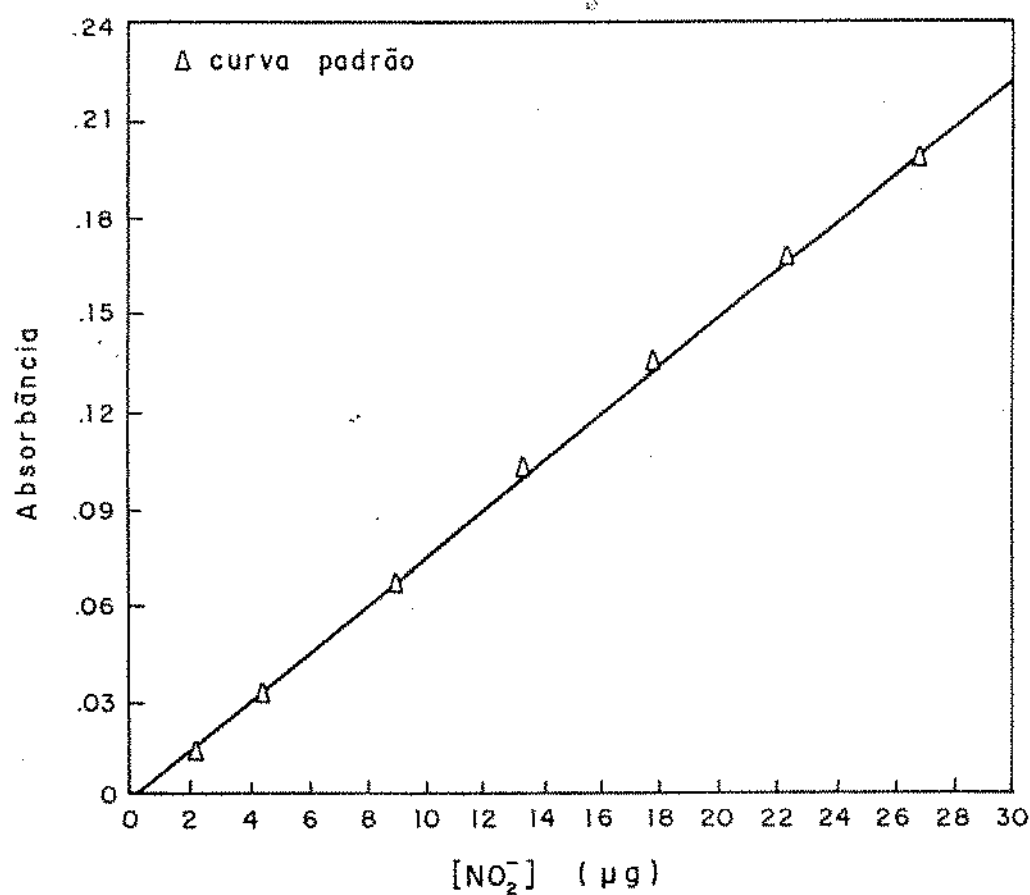
Cabe mencionar que o controle da velocidade do fluxo na coluna de cádmio esponjoso é fundamental, pois se o tempo não for adequado a redução do nitrato poderá não ser completa ou chegar até amônio (ROVIRA & CANOVES, 1987).

O método utilizado de reação colorimétrica de diazo-conjugação com determinação espectrofotométrica, apresenta vantagens tais como: custo relativamente baixo, a reação de diazo-conjugação com os reagentes utilizados desenvolve cor rapidamente (15 min) quando comparada com outros reagentes acopladores (Tabela 1) e a possibilidade de realizar análises em baterias.

Utilizou-se para as determinações a curva padrão com coeficiente de correlação (Cr) igual a 0,9998, na faixa de concentração de 0 a 30  $\mu\text{g/ml}$  de nitrito (Figura 6). Contudo, verificou-se que aumentando a concentração de nitrito em até 85  $\mu\text{g/ml}$  o coeficiente de correlação era de 0,9994, o que indicava linearidade e obediência à Lei de Beer, mesmo em concentrações relativamente elevadas. Quanto à sensibilidade, observou-se como limite de detecção 0,02  $\mu\text{g/ml}$  de nitrito após a reação de diazo-conjugação, o que equivale a uma sensibilidade do método de 0,4 mg/kg nas amostras analisadas.

As análises das amostras foram feitas a partir de extração em meio aquoso a 55°C, tomando-se os cuidados pertinentes ao procedimento, como a adição de tampão (pH 9,5 - 9,6) para evitar a perda de nitrito, a desproteínização com as soluções de sulfato de zinco e de ferrocianeto de potássio adicionados nessa ordem segundo recomendação da A.O.A.C. Neste trabalho, utilizou-se ainda carvão ativo, aproximadamente 200 mg, no momento da extração, com a finalidade de remover a cor e a turbidez residual do extrato (VOGEL, 1985; ADRIAANSE & ROBBERS, 1969). A eficiência deste recurso pode ser verificada através dos espectros característicos, antes e após o tratamento da alíquota com carvão ativo onde se verifica que o tratamento com carvão ativo permitiu a quantificação do nitrito (Figura 7 e 8).

Quanto à eficiência de recuperação do método verificou-se que o mesmo recupera 99.8% de nitrito e 95.8% de nitrato.



$$y = 7,432E-03x - 1,262E-03$$

$$c_r = 0,9998$$

$$\delta^2 = 1,596E-06$$

FIGURA 6 - Curva-padrão para a Determinação de Nitrito por Espectrofotometria a 538 nm.

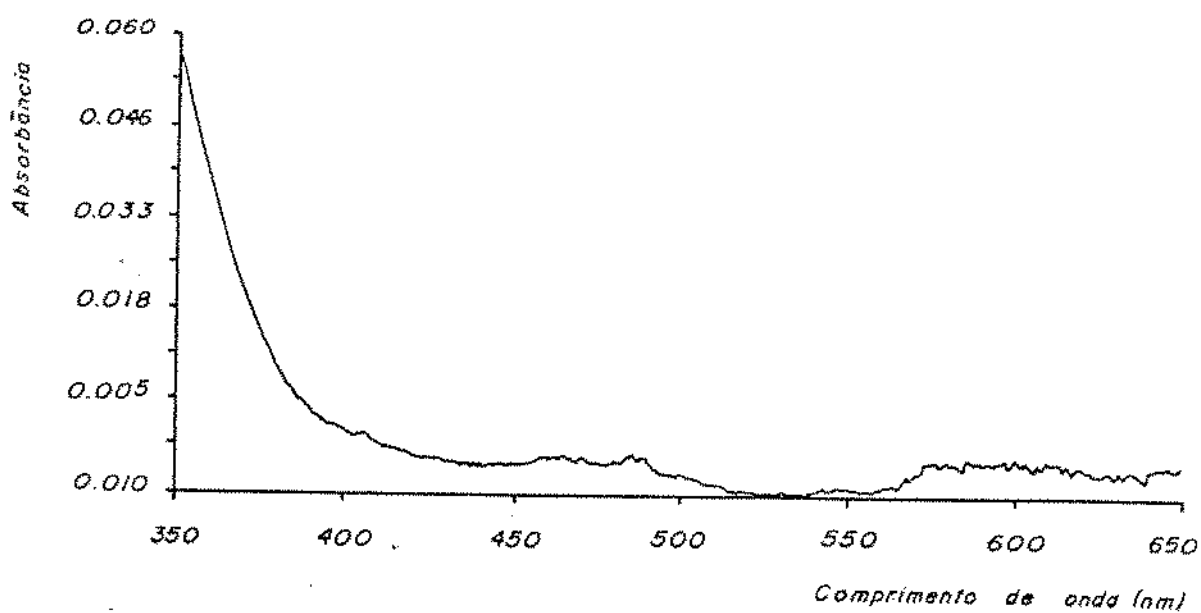


FIGURA 7 - Espectro de Extrato de Beterraba sem Tratamento com Carvão Ativo e após Reação de Diazo-conjugação.

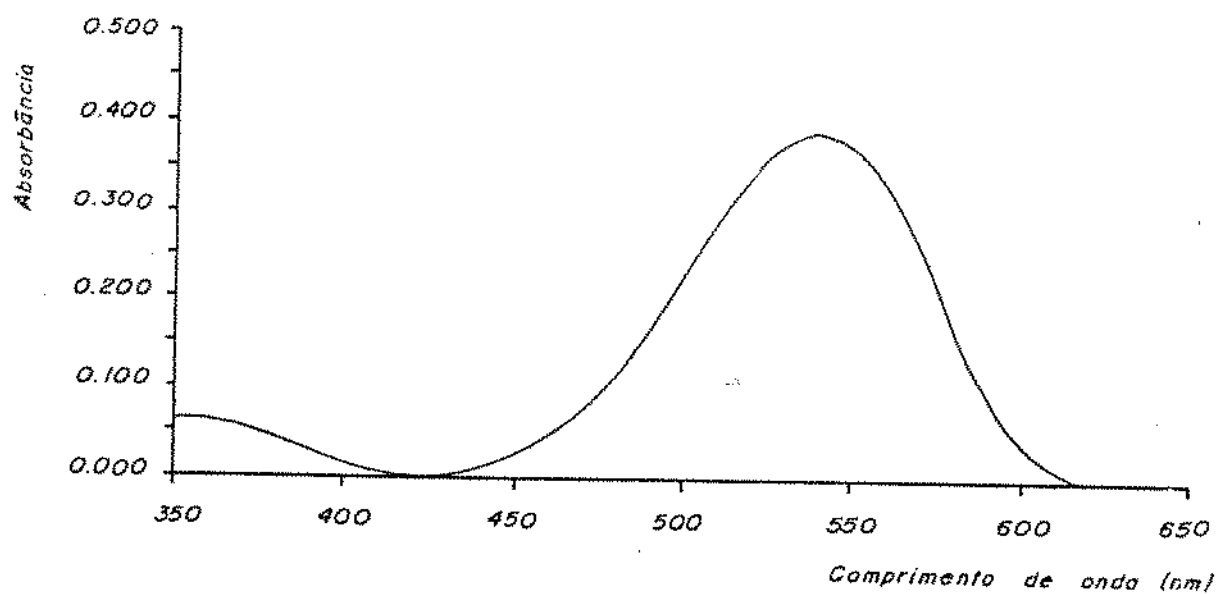


FIGURA 8 - Espectro de Extrato de Beterraba Tratado com Carvão Ativo e após Reação de Diazo-conjugação.



#### 4.2. Teores de Nitrato e de Nitrito Presentes nos Alimentos Oferecidos nos Restaurantes Universitários da UNICAMP

Neste estudo, determinou-se o teor de nitrato e de nitrito nos alimentos preparados e oferecidos pelos restaurantes universitários da UNICAMP, os dados obtidos estão apresentados na Figura 9 e Anexo II.

Da análise dos resultados verificamos que dentre os 22 alimentos analisados aqueles que apresentaram teores mais elevados de nitrato foram salada de beterraba ( $2138,6 \pm 657,5$  mg/kg), salada de acelga ( $935,5 \pm 315,6$  mg/kg) salada de repolho ( $811,0 \pm 604,3$  mg/kg) e laranja ( $711,1 \pm 653,3$  mg/kg) enquanto que nitrito teve suas maiores concentrações em salsicha ao molho de tomate ( $19,3 \pm 1,6$  mg/kg), salada de beterraba ( $9,5 \pm 7,1$  mg/kg) e laranja ( $1,8 \pm 1,9$  mg/kg). Resultados semelhantes têm sido relatados por vários autores (OLMED & BOSCH, 1988a; WALKER, 1975; WHITE, 1975; LARA & TAKANASHI, 1978; DUTT, 1987; CATTANEO & ARLOTTI, 1988; WALKER, 1975 E 1990).

Ao consultarmos a literatura encontramos um número significativo de trabalhos que relatam os teores de nitrato e de nitrito em uma ampla variedade de alimentos. Verificamos ainda que na maioria desses trabalhos são apresentados os valores médios e as faixas de concentração de nitrato e de nitrito, isto porque os alimentos, como produtos de origem vegetal, em sua quase totalidade, sofrem influências fisiológicas, genéticas, climáticas, de técnicas agrícolas, do solo, etc. (BENOIT & CEUSTERMANS, 1988; KEENEY, 1970; CATTANEO & ARLOTTI, 1988; WATT *et al.*, 1987; CHAPIN *et al.*, 1988). Além destes fatos, quando se trata de estudo de alimentos prontos para consumo, raramente é especificado como eles são preparados.

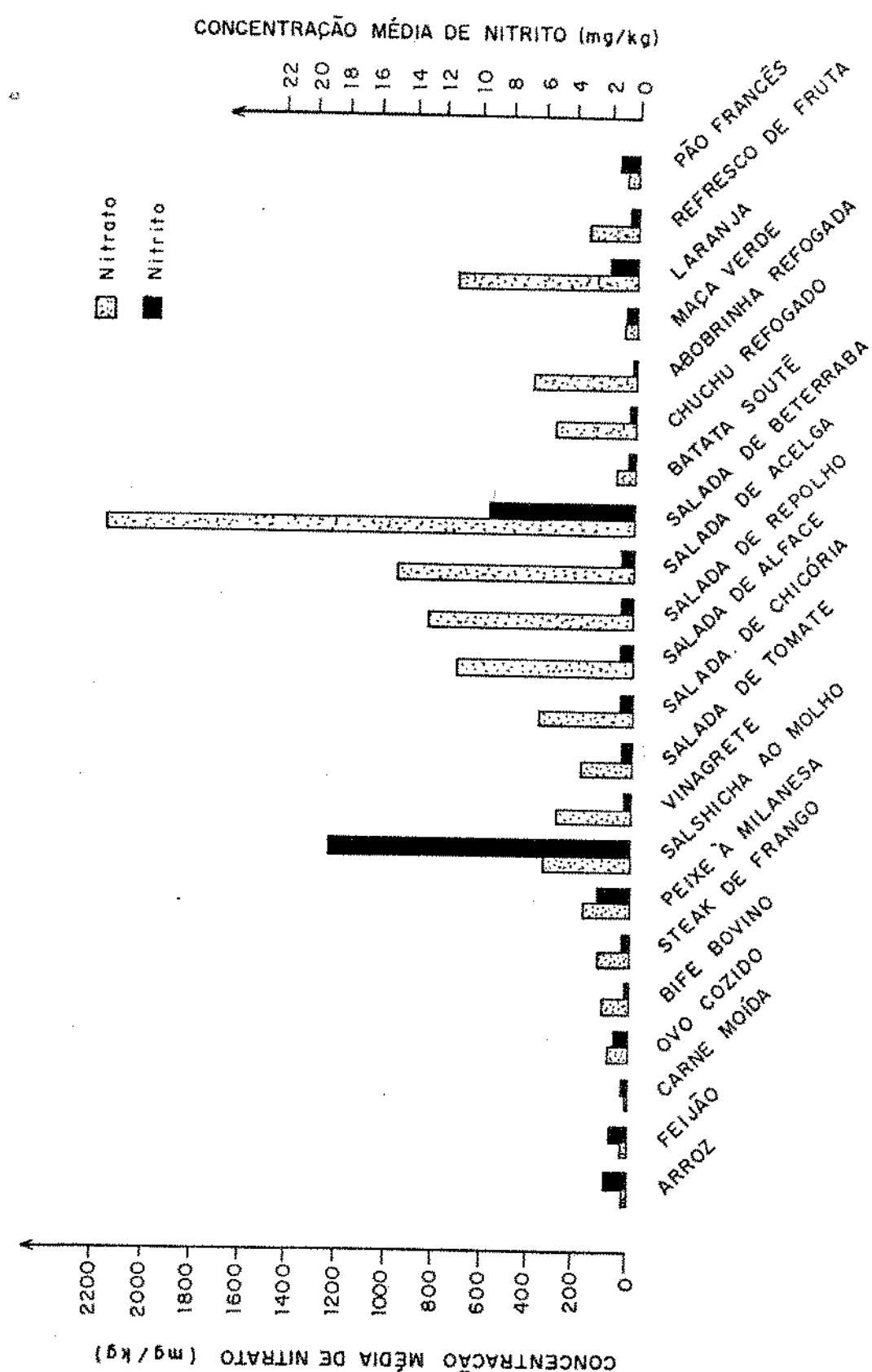


FIGURA 9 - Concentração Média de Nitrato e de Nitrito por Alimento.

Pela literatura verifica-se que vários pesquisadores têm estudado a variação de conteúdo de nitrato e de nitrito em relação ao tempo de colheita, estocagem, preparo, e estocagem de alimentos preparados (PHILLIPS, 1968; LIN & YEN, 1980; BORONAT *et al.*, 1982; OLMEDO & BOSCH, 1988a). No nosso trabalho, entretanto, isto não foi levado em consideração uma vez que os alimentos eram recebidos da Central de Abastecimento S/A de Campinas, poucos dias antes de serem preparados, e eram servidos logo que preparados. No máximo, a sobra dos alimentos preparados e não servidos no almoço eram servidos no jantar, quando muito guardados por um dia para serem servidos na refeição alternada do dia seguinte. A estocagem, tanto dos alimentos in natura como preparados, era feita sob condições adequadas.

#### **4.3. Avaliação dos Comensais dos Restaurantes Universitários Quanto às suas Características e Hábitos Alimentares**

Em base aos dados do trabalho executado por PIERINI & VALLE (1991) a respeito dos alimentos servidos (Tabela 10) e das sobras (Tabela 11) das refeições dos restaurantes universitários, obtivemos as massas médias dos alimentos consumidos pelos usuários, por horário (Tabela 12). Observamos na Tabela 10, que os usuários do 1<sup>o</sup> horário ingerem praticamente o dobro da massa de arroz que os usuários do 2<sup>o</sup> horário e estes um quinto a mais que os usuários do 3<sup>o</sup> horário. A quantidade de vinagrete consumida nos três horários é a mesma, uma vez que este é servido como tempero das saladas e não há sobras. O consumo de suco é estimado pelo controle de catraca dos usuários, a intervalos de 15 a 20 min. e a frequência de reabastecimento dos reservatórios de suco presente nos restaurantes. Quanto aos demais alimentos o consumo varia pouco. Os três horários mencionados neste trabalho foram estabelecidos pelo perfil dos usuários frequentadores destes horários.

Embora os frequentadores do restaurante 2 no jantar sejam mais jovens ( $25 \pm 11$  anos) do que os que utilizam o restaurante 1 no almoço ( $33 \pm 11$  anos) o seu peso corpóreo médio é semelhante (Tabelas 13, 14 e 15), o que foi conveniente para o

TABELA 10 - Massas Médias dos Alimentos Servidos por Pessoa nas Refeições (Almoço e Jantar) nos Restaurantes Universitários da UNICAMP

| ALIMENTO                        | HORÁRIO <sup>1</sup> |           |           |
|---------------------------------|----------------------|-----------|-----------|
|                                 | 1º<br>(g)            | 2º<br>(g) | 3º<br>(g) |
| Arroz branco                    | 320                  | 160       | 130       |
| Feijão                          | 85                   | 85        | 85        |
| Guarnição                       | 85                   | 85        | 85        |
| Salada                          | 40                   | 40        | 40        |
| Prato Principal                 | 80                   | 80        | 80        |
| Sobremesa                       | 115                  | 115       | 115       |
| Pão tipo francês                | 30                   | 30        | 30        |
| Vinagrete                       | 140                  | 140       | 140       |
| Refresco de frutas <sup>2</sup> | 400                  | 300       | 250       |

Fonte: PERINI & VALLE, 1991

1 - 1º, 2º e 3º correspondem aos períodos de 10:30 - 11:30 h, 11:30 - 12:00 h, 12:00 - 13:30 h, respectivamente.

2 - Volumes expressos em ml (Self-Service)

TABELA 11 - Sobras (%) dos Alimentos Servidos nos Restaurantes  
Universitários da UNICAMP

| ALIMENTO         | HORÁRIO <sup>1</sup> |                |                |
|------------------|----------------------|----------------|----------------|
|                  | 1 <sup>o</sup>       | 2 <sup>o</sup> | 3 <sup>o</sup> |
| Arroz branco     | 22,6                 | 26,3           | 25,8           |
| Feijão           | 10,2                 | 9,2            | 9,0            |
| Guarnição        | 16,8                 | 17,6           | 18,8           |
| Salada           | 23,4                 | 23,6           | 25,2           |
| Prato Principal  | 4,2                  | 9,4            | 12,8           |
| Sobremesa        | 3,0                  | 2,0            | 2,6            |
| Pão tipo francês | 1,0                  | 2,6            | 5,0            |

Fonte: PERINI & VALLE, 1991

1 - 1<sup>o</sup>, 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> correspondem aos periodos de 10:30 - 11:30 h,  
11:30 - 12:00 h, 12:00 - 13:30 h, respectivamente.

TABELA 12 - Massa Média (g) dos Alimentos Consumidos por Usuário por horário, nos Restaurantes<sup>o</sup> Universitários da UNICAMP

| ALIMENTO            | HORÁRIO <sup>1</sup> |                |                | MÉDIA <sup>2</sup> |
|---------------------|----------------------|----------------|----------------|--------------------|
|                     | 1 <sup>o</sup>       | 2 <sup>o</sup> | 3 <sup>o</sup> |                    |
| Arroz branco        | 247,7                | 117,9          | 94,9           | 153,5              |
| Feljão              | 76,3                 | 77,1           | 61,8           | 71,7               |
| Bife bovino         | 76,8                 | 73,6           | 54,4           | 68,2               |
| Carne moída         | 85,5                 | 80,1           | 64,1           | 76,5               |
| "Steak" de frango   | 97,0                 | 98,0           | 100,0          | 91,6               |
| Salsicha ao molho   | 86,4                 | 82,8           | 61,2           | 76,8               |
| Peixe à milanesa    | 96,0                 | 92,0           | 68,0           | 85,3               |
| Ovo cozido          | 86,4                 | 82,8           | 61,2           | 76,8               |
| Salada de alface    | 36,8                 | 34,8           | 26,2           | 32,6               |
| Salada de acelga    | 30,6                 | 30,5           | 23,9           | 28,3               |
| Salada de beterraba | 53,6                 | 53,5           | 41,8           | 49,6               |
| Salada de tomate    | 76,6                 | 76,4           | 59,8           | 70,9               |
| Salada de chicória  | 30,6                 | 30,5           | 23,9           | 28,3               |
| Salda de repolho    | 38,3                 | 38,2           | 29,9           | 35,4               |
| Vinagrete           | 107,2                | 106,9          | 83,7           | 99,2               |
| Batata "Soutê"      | 70,7                 | 70,0           | 55,2           | 65,3               |
| Abobrinha refogada  | 70,7                 | 70,0           | 55,2           | 65,3               |
| Chuchu refogado     | 53,6                 | 53,5           | 41,8           | 49,6               |
| Laranja             | 166,0                | 166,0          | 166,0          | 166,0              |
| Maça verde          | 106,0                | 106,0          | 106,0          | 106,0              |
| Refrescos           | 405,2                | 303,9          | 202,5          | 303,8              |
| Pão tipo francês    | 33,3                 | 33,1           | 25,6           | 30,6               |

1 - 1<sup>o</sup>, 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> horário correspondem, respectivamente aos seguintes períodos: 10:30 - 11:30 h, 11:30 - 12:00 h, 12:00 - 13:30 h

2 - Média da massa consumida nos 3 horários

TABELA 13 - Caracterização, em Relação a Peso e Idade, da População que Frequenta o Restaurante 1 no Período do Almoço.

| HORÁRIO       | N   | PESO<br>(kg)     | IDADE<br>(kg)   |
|---------------|-----|------------------|-----------------|
| 10:30 - 11:30 | 310 | 64 ± 12 (33-123) | 34 ± 12 ( 8-62) |
| 11:30 - 12:00 | 109 | 66 ± 12 (43-101) | 33 ± 12 (13-70) |
| 12:00 - 13:30 | 108 | 66 ± 11 (41- 90) | 32 ± 11 (11-64) |
| Média         |     | 65.3 ± 11.6      | 33 ± 11         |

Esta amostragem (527) corresponde a 21.08% das pessoas que frequentam o restaurante por dia

Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão e, entre parênteses, os valores mínimos e máximos

TABELA 14 - Caracterização, em Relação a Peso e Idade, da População que Frequenta o Restaurante 2 no Período do Almoço

| HORÁRIO       | N   | PESO<br>(kg)     | IDADE<br>(kg)   |
|---------------|-----|------------------|-----------------|
| 10:30 - 11:30 | 159 | 67 ± 11 (43-102) | 28 ± 12 (17-67) |
| 11:30 - 12:00 | 159 | 65 ± 12 (13-116) | 24 ± 8 (14-60)  |
| 12:00 - 13:30 | 362 | 62 ± 10 (38-101) | 24 ± 6 (13-53)  |
| Média         |     | 64.6 ± 11.0      | 25.3 ± 8.6      |

Esta amostragem (680) corresponde a 15.1% das pessoas que frequentam o restaurante por dia

Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão e, entre parênteses, os valores mínimos e máximos

TABELA 15 - Caracterização em Relação a Peso e Idade da População que Frequenta o Restaurante 2 no Período de Jantar .

| HORÁRIO       | N   | PESO<br>(kg)     | IDADE<br>(anos) |
|---------------|-----|------------------|-----------------|
| 18:00 - 19:00 | 260 | 66 ± 10 (49- 84) | 25 ± 11 (18-58) |

Esta amostragem (260) corresponde a 21.6% das pessoas que frequentam o restaurante por dia.

Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão e, entre parênteses, os valores mínimos e máximos



tratamento dos dados na pesquisa realizada. Quanto à atividade desempenhada por estes usuários o restaurante 1 é frequentado principalmente por funcionários (83%) do sexo masculino (61%) na faixa etária de 25 a 50 anos (62%), enquanto que o restaurante 2 é frequentado, no almoço, principalmente por alunos (78%) do sexo masculino (64%) com até 25 anos (66%), ao passo que no jantar a maioria dos frequentadores são alunos (93%) do sexo masculino (85%) com até 25 anos (75%), conforme Tabelas 16, 17 e 18. Como podemos observar existem diferenças quanto ao perfil da população frequentadora dos restaurantes 1 e 2. Contudo quando analisamos entre os horários, para um mesmo restaurante, verificamos que os funcionários frequentam preferencialmente o 1º horário enquanto que o 2º e 3º horários são frequentados principalmente por alunos. Os professores, minoria dos frequentadores dos restaurantes (3%), frequentam preferencialmente o 3º horário.

TABELA 16 - Perfil dos Usuários que Almoçam no Restaurante 1  
Valores Expressos em Porcentagens (%)

|              | HORÁRIO |      |      | MÉDIA |
|--------------|---------|------|------|-------|
|              | 1º      | 2º   | 3º   |       |
| SEXO         |         |      |      |       |
| Masculino    | 58,5    | 55,9 | 70,8 | 60,6  |
| Feminino     | 41,6    | 44,5 | 30,0 | 39,7  |
| ATIVIDADE    |         |      |      |       |
| Alunos       | 7,9     | 13,9 | 35,4 | 15,2  |
| Professores  | 1,3     | 1,8  | 4,4  | 2,0   |
| Funcionários | 91,1    | 84,3 | 60,2 | 82,9  |
| IDADE (anos) |         |      |      |       |
| até 25       | 24,0    | 30,3 | 32,7 | 27,2  |
| de 25 a 50   | 64,3    | 58,7 | 60,0 | 62,2  |
| acima de 50  | 11,2    | 11,0 | 10,0 | 11,4  |

No Restaurante 1 não é oferecido jantar

TABELA 17 - Perfil dos Usuários que Almoçam no Restaurante 2  
Valores Expressos em Porcentagens (%)

|              | HORÁRIO |      |      | MÉDIA |
|--------------|---------|------|------|-------|
|              | 1º      | 2º   | 3º   |       |
| SEXO         |         |      |      |       |
| Masculino    | 57,9    | 69,2 | 63,8 | 63,7  |
| Feminino     | 42,1    | 30,8 | 36,2 | 36,3  |
| ATIVIDADE    |         |      |      |       |
| Alunos       | 58,6    | 80,5 | 85,7 | 78,2  |
| Professores  | 0,0     | 0,0  | 2,2  | 1,2   |
| Funcionários | 41,4    | 19,5 | 12,1 | 20,6  |
| IDADE (anos) |         |      |      |       |
| até 25       | 48,4    | 78,6 | 68,4 | 66,2  |
| de 25 a 50   | 45,2    | 18,3 | 31,3 | 31,6  |
| acima de 50  | 6,4     | 3,1  | 0,2  | 2,2   |

TABELA 18 - Perfil dos Usuários que Jantam no Restaurante 2  
Valores Expressos em Porcentagens (%)

| HORÁRIO         |      |
|-----------------|------|
| 18:00 - 19:00 h |      |
| SEXO            |      |
| Masculino       | 85,3 |
| Feminino        | 14,7 |
| ATIVIDADE       |      |
| Alunos          | 93,4 |
| Professores     | 0,8  |
| Funcionários    | 5,8  |
| IDADE (anos)    |      |
| até 25          | 74,8 |
| de 25 a 50      | 25,2 |
| acima de 50     | 0,4  |

#### 4.4. Níveis de Nitrato e de Nitrito nas Refeições Elaboradas a Partir dos Alimentos Analisados e nas Refeições Oferecidas Pelos Restaurantes Universitários

A partir dos valores médios das quantidades de alimentos consumidos, por horário, pelos usuários dos restaurantes universitários (Tabela 12), calculou-se a quantidade e a porcentagem correspondentes de cada grupo de alimentos ingeridos por indivíduo, através das refeições oferecidas (Tabela 19).

Os componentes das refeições são os mesmos, as proporções em que eles são servidos variam (Tabela 12) o que leva a obter diferentes teores médios de nitrato e de nitrito por refeição.

Na Tabela 20 estão apresentados os níveis de nitrato presente nas refeições, por horário, em cada grupo de refeições de estudo, assim como o teor médio ingerido por horário. Como a quantidade de alimentos oferecida aos usuários dos restaurantes diminui no transcurso do tempo em que as refeições são servidas, a quantidade de nitrato à qual o usuário está exposto também será menor.

Quanto a quantidade de nitrito presente nas refeições verificamos que esta é semelhante para os grupos A e B, cresce acentuadamente em C e decresce em D, em relação a C, contudo é sempre decrescente por horário, dentro de um mesmo grupo, apresentando os valores médios por horário de 1,4 mg/kg, 1,1 mg/kg e 0,9 mg/kg para o 1º, 2º e 3º horário, respectivamente. Os níveis de nitrito presente nas refeições, para os quatro grupos de estudo para os três horários foi de 1,1 mg/kg (Tabela 21).

Das 216 refeições teoricamente elaboradas, 40 foram oferecidas pelos restaurantes universitários durante o período em que se realizou a pesquisa. Na Figura 10 pode-se visualizar como estão distribuídas as 40 refeições oferecidas, quais foram as mais frequentes e a qual grupo de estudo de refeições pertencem. As quantidades de refeições oferecidas nos grupos A, B, C e D foram, respectivamente, 6 (15%), 23 (57,5%), 6 (15%) e 5 (12,5%).

TABELA 19 - Consumo Médio de Alimentos, por Indivíduo, por  
Refeição, nos Restaurantes Universitários da UNICAMP.

| GRUPO | ALIMENTO          | CONSUMO                  | %           |
|-------|-------------------|--------------------------|-------------|
|       |                   | MÉDIO<br>(kg/pessoa/dia) | DO<br>TOTAL |
| 1     | Arroz branco      | 0,153                    | 15,69       |
| 2     | Feijão            | 0,072                    | 7,38        |
| 3     | Salada            | 0,041                    | 4,20        |
| 4     | Prato principal   | 0,080                    | 8,20        |
| 5     | Guarnição         | 0,060                    | 6,15        |
| 6     | Sobremesa         | 0,136                    | 13,95       |
| 7     | Refresco de fruta | 0,303                    | 31,08       |
| 8     | Vinagrete         | 0,100                    | 10,25       |
| 9     | Pão tipo francês  | 0,030                    | 3,08        |
| TOTAL |                   | 0,975                    | 99,98       |

TABELA 20 - Níveis de Nitrato (mg/kg) por Refeição, por Horário,  
em Cada Grupo de Refeições de Estudo

| GRUPO DE REFEIÇÕES * | HORÁRIO **     |                |                | MÉDIA |
|----------------------|----------------|----------------|----------------|-------|
|                      | 1 <sup>o</sup> | 2 <sup>o</sup> | 3 <sup>a</sup> |       |
| A                    | 171,1          | 149,1          | 110,9          | 143,7 |
| B                    | 277,9          | 255,7          | 215,3          | 249,6 |
| C                    | 301,4          | 278,5          | 231,8          | 270,6 |
| D                    | 377,4          | 355,4          | 298,5          | 343,8 |
| Média/horário        | 243,7          | 221,5          | 180,1          | 215,1 |

\* A, B, C e D referem-se a grupos de refeições teoricamente elaboradas (Tabelas 8 e 9, pag. 38)

\*\* Os valores correspondem às medianas

TABELA 21 - Níveis de Nitrito (mg/kg) por Refeição, por Horário, em Cada Grupo de Refeições de Estudo

| GRUPO DE REFEIÇÃO * | HORÁRIO **     |                |                | MÉDIA |
|---------------------|----------------|----------------|----------------|-------|
|                     | 1 <sup>o</sup> | 2 <sup>o</sup> | 3 <sup>o</sup> |       |
| A                   | 1,2            | 0,9            | 0,7            | 0,9   |
| B                   | 1,2            | 0,9            | 0,8            | 1,0   |
| C                   | 2,8            | 2,6            | 1,9            | 2,4   |
| D                   | 1,9            | 1,6            | 1,3            | 1,6   |
| Média/horário       | 1,4            | 1,1            | 0,9            | 1,1   |

\* A, B, C e D referem-se a grupos de refeições teoricamente elaboradas (Tabelas 8 e 9, pag. 38)

\*\* Os valores correspondem às medianas

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   |
| 10  | 11  | 12  | 13  | 14  | 15  | 16  | 17  | 18  |
| 19  | 20  | 21  | 22  | 23  | 24  | 25  | 26  | 27  |
| 28  | 29  | 30  | 31  | 32  | 33  | 34  | 35  | 36  |
| 37  | 38  | 39  | 40  | 41  | 42  | 43  | 44  | 45  |
| 46  | 47  | 48  | 49  | 50  | 51  | 52  | 53  | 54  |
| 55  | 56  | 57  | 58  | 59  | 60  | 61  | 62  | 63  |
| 64  | 65  | 66  | 67  | 68  | 69  | 70  | 71  | 72  |
| 73  | 74  | 75  | 76  | 77  | 78  | 79  | 80  | 81  |
| 82  | 83  | 84  | 85  | 86  | 87  | 88  | 89  | 90  |
| 91  | 92  | 93  | 94  | 95  | 96  | 97  | 98  | 99  |
| 100 | 101 | 102 | 103 | 104 | 105 | 106 | 107 | 108 |
| 109 | 110 | 111 | 112 | 113 | 114 | 115 | 116 | 117 |
| 118 | 119 | 120 | 121 | 122 | 123 | 124 | 125 | 126 |
| 127 | 128 | 129 | 130 | 131 | 132 | 133 | 134 | 135 |
| 136 | 137 | 138 | 139 | 140 | 141 | 142 | 143 | 144 |
| 145 | 146 | 147 | 148 | 149 | 150 | 151 | 152 | 153 |
| 154 | 155 | 156 | 157 | 158 | 159 | 160 | 161 | 162 |
| 163 | 164 | 165 | 166 | 167 | 168 | 169 | 170 | 171 |
| 172 | 173 | 174 | 175 | 176 | 177 | 178 | 179 | 180 |
| 181 | 182 | 183 | 184 | 185 | 186 | 187 | 188 | 189 |
| 190 | 191 | 192 | 193 | 194 | 195 | 196 | 197 | 198 |
| 199 | 200 | 201 | 202 | 203 | 204 | 205 | 206 | 207 |
| 208 | 209 | 210 | 211 | 212 | 213 | 214 | 215 | 216 |

Refeições elaboradas

Refeições oferecidas

 - Grupo A

 - Grupo C

 - refeições oferecidas  
uma vez

 - Grupo B

 - Grupo D

 - refeições oferecidas  
duas ou três vezes

FIGURA 10 - Diagrama das Refeições Elaboradas e das Oferecidas nos Restaurantes Universitários

Verificamos desta forma que as refeições oferecidas com maior frequência pertenciam ao grupo B. É interessante verificar que a quantidade de refeições servidas nos grupos A, C e D são semelhantes e que aquelas nos grupos C e D, que correspondem aos grupos de maior conteúdo de nitratos, equivalem a 27,5% das servidas.

Sugere-se que sejam oferecidas espessadamente as refeições que contiverem altos teores de nitrato, ou seja, as refeições pertencentes aos grupos C e D.

É interessante notar que a ingestão de uma única refeição nos restaurantes universitários (níveis de nitrato de 215,1 mg/refeição) já iguala ou supera a ingestão diária de nitrato através de todas as fontes, determinada em países como: E.U.A. (106 mg/pessoa/dia), França (151 mg/pessoa/dia), Holanda (180 mg/pessoa/dia), Itália (160 mg/pessoa/dia), Polônia (178 mg/pessoa/dia), Reino Unido (149 mg/pessoa/dia) (Tabela 5).

#### 4.5. Estimativa da Ingestão Potencial de Nitrato e de Nitrito

Com os dados das quantidades de nitrato oferecido por refeição, em cada grupo de refeições, e o valor médio do peso corpóreo dos usuários (65,3 kg), estimou-se a ingestão potencial de nitrato e de nitrito, por horário e por grupo de refeições, conforme apresentado nas Tabelas 22 e 23.

Verifica-se que o valor médio de ingestão potencial de nitrato por refeição é de 3,3 mg/kg de peso corpóreo (Tabela 22), e a de nitrito de 0,02 mg/kg de peso corpóreo (Tabela 23). Estes valores referem-se ao consumo de apenas uma refeição. Entretanto se considerarmos duas refeições diárias (almoço e jantar), teremos o dobro do valor, ou seja 6,6 mg/kg de peso corpóreo e 0,04 mg/kg de peso corpóreo para o nitrato e para o nitrito, respectivamente. Isto leva a um valor de ingestão potencial de nitrato acima do valor calculado em função da Ingestão Diária Aceitável (IDA), que é de 0 - 5 mg/kg de peso corpóreo para o nitrato. Enquanto o valor estimado para a ingestão potencial de nitrito por refeição



TABELA 22: Estimativa da Ingestão Potencial de Nitrato em cada Grupo de Refeições. Valores Expressos em mg/kg de Peso Corpóreo

| GRUPO DE REFEIÇÕES * | HORARIO ** |     |     | MÉDIA |
|----------------------|------------|-----|-----|-------|
|                      | 1º         | 2º  | 3º  |       |
| A                    | 2.6        | 2.3 | 1.7 | 2.1   |
| B                    | 4.2        | 3.9 | 3.3 | 3.8   |
| C                    | 4.6        | 4.2 | 3.5 | 4.1   |
| D                    | 5.8        | 5.4 | 4.6 | 5.2   |
| média/horário        | 3.7        | 3.4 | 2.7 | 3.3   |

\* A, B, C e D referem-se a grupos de refeições teoricamente elaboradas (Tabelas 8 e 9, pag. 38)

\*\* Os valores correspondem às medianas

TABELA 23: Estimativa da Ingestão Potencial de Nitrito em cada Grupo de Refeições. Valores Expressos em mg/kg de Peso Corpóreo

| GRUPO DE REFEIÇÕES * | HORARIO ** |      |      | MÉDIA |
|----------------------|------------|------|------|-------|
|                      | 1º         | 2º   | 3º   |       |
| A                    | 0.02       | 0.01 | 0.01 | 0.01  |
| B                    | 0.02       | 0.01 | 0.01 | 0.01  |
| C                    | 0.04       | 0.04 | 0.03 | 0.04  |
| D                    | 0.03       | 0.02 | 0.02 | 0.02  |
| média/horário        | 0.02       | 0.02 | 0.01 | 0.02  |

\* A, B, C e D referem-se a grupos de refeições teoricamente elaboradas (Tabelas 8 e 9, pag. 38)

\*\* Os valores correspondem às medianas

representa 10% do valor máximo da IDA que é de 0 - 0.2 mg/kg de peso corpóreo.

Em geral, com exceção das refeições do grupo A servidas no 2º e 3º horários, todas as outras quando consumidas no almoço e jantar podem levar a ingestões de nitrato acima da IDA (WHO, 1978). É interessante ressaltar que, pelos dados obtidos nas entrevistas, aproximadamente 24% dos usuários almoçam e jantam nos restaurantes universitários e, portanto, são susceptíveis a uma ingestão de nitrato acima dos valores toxicologicamente recomendados.

Utilizando os dados de peso corpóreo dos usuários entrevistados e os dados das quantidades médias de nitrato oferecidos por refeição, em cada grupo de refeições, assim como os valores máximos da quantidade de nitrato por grupo de refeições, estimou-se a ingestão potencial média e máxima de nitrato, por horário por grupo de refeições. Nas Tabelas 24 e 25 é apresentada a porcentagem dos usuários que possuem ingestão potencial de nitrato acima do valor de IDA quando são oferecidos refeições dos grupos A, B, C e D, para os três horários, nos restaurantes universitários 1 e 2, para os grupos de refeições C e D, estes dados indicam que é bastante elevada a porcentagem de usuários dos restaurantes universitários que ingerem quantidades de nitrato acima do limite toxicologicamente recomendado (IDA), em particular os usuários frequentadores do 1º e 2º horário.

Finalmente, os dados obtidos no presente estudo sugerem que a população que se alimenta nos restaurantes universitários tem uma ingestão de nitrato dentro dos níveis recomendados pela OMS já que a contribuição diária dos outros alimentos consumidos além do almoço e jantar dificilmente representarão mais de 90% do valor da IDA para o nitrato. Entretanto, os níveis de ingestão em relação ao nitrato sugerem a necessidade da realização de estudos complementares para verificar a ingestão diária através de todas as fontes, de forma a garantir níveis de ingestão dentro das margens de segurança estabelecidas internacionalmente.

TABELA 24 - Número de Usuários do Restaurante Universitário 1 que Possuem Ingestão de Nitrato, por Refeição, Acima do Valor da IDA, em Cada Grupo de Refeições, Entre Parênteses, Valores Expressos em Porcentagem.

| GRUPO DE REFEIÇÕES | HORARIO            |                    |                    |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                    | 1º                 | 2º                 | 3º                 |
|                    | (310) <sup>3</sup> | (109) <sup>3</sup> | (108) <sup>3</sup> |
| A <sup>1</sup>     | 2 ( 0,6)           | 0 ( 0,0)           | 0 ( 0,0)           |
| A <sup>2</sup>     | 22 ( 7,1)          | 3 ( 2,1)           | 0 ( 0,0)           |
| B <sup>1</sup>     | 66 (21,3)          | 9 ( 8,2)           | 2 ( 1,8)           |
| B <sup>2</sup>     | 202 (65,1)         | 44 (40,3)          | 7 ( 6,5)           |
| C <sup>1</sup>     | 109 (35,1)         | 23 (21,1)          | 2 ( 1,8)           |
| C <sup>2</sup>     | 226 (72,9)         | 61 (55,9)          | 24 (22,2)          |
| D <sup>1</sup>     | 264 (85,1)         | 74 (67,9)          | 36 (33,3)          |
| D <sup>2</sup>     | 277 (89,3)         | 85 (78,0)          | 46 (42,6)          |

1. Estimativa de número de indivíduos que ingerem o teor médio de nitrato (mg/kg peso corpóreo) por refeição, por horário, em cada grupo de refeições de estudo.
2. Estimativa de número de indivíduos que ingerem o teor máximo de nitrato (mg/kg peso corpóreo) por horário, em cada grupo de refeições de estudo (número de "extremers").
3. Amostragem da população que frequenta o restaurante, por horário.

TABELA 25 - Número de Usuários do Restaurante Universtário 2 que Possuem Ingestão de Nitrato, por Refeição, Acima do Valor da IDA para o Nitrato, em Cada Grupo de Refeições, Entre Parênteses, Valores Expressos em Porcentagem

| GRUPO<br>DE REFEIÇÕES | ALMOÇO                               |                                      |                                      | JANTAR             |
|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|
|                       | HORÁRIO                              |                                      |                                      |                    |
|                       | 1 <sup>o</sup><br>(159) <sup>3</sup> | 2 <sup>o</sup><br>(159) <sup>3</sup> | 3 <sup>o</sup><br>(362) <sup>3</sup> | (260) <sup>3</sup> |
| A <sup>1</sup>        | 0 ( 0,0)                             | 0 ( 0,0)                             | 0 ( 0,0)                             | 0 ( 0,0)           |
| A <sup>2</sup>        | 7 ( 4,4)                             | 3 ( 1,9)                             | 0 ( 0,0)                             | 0 ( 0,0)           |
| B <sup>1</sup>        | 23 (14,8)                            | 15 ( 9,4)                            | 4 ( 1,1)                             | 11 ( 4,2)          |
| B <sup>2</sup>        | 89 (55,6)                            | 67 (42,1)                            | 61 (16,8)                            | 74 (28,4)          |
| C <sup>1</sup>        | 44 (27,7)                            | 38 (23,9)                            | 12 ( 3,3)                            | 32 (12,3)          |
| C <sup>2</sup>        | 109 (68,5)                           | 95 (59,7)                            | 109 (30,1)                           | 100 (38,4)         |
| D <sup>1</sup>        | 121 (36,1)                           | 118 (74,2)                           | 161 (44,4)                           | 150 (57,7)         |
| D <sup>2</sup>        | 141 (88,6)                           | 129 (81,1)                           | 205 (56,6)                           | 196 (75,4)         |

1. Estimativa de número de indivíduos que ingerem o teor médio de nitrato (mg/kg peso corpóreo) por refeição, por horário, em cada grupo de refeições de estudo.
2. Estimativa de número de indivíduos que ingerem o teor máximo de nitrato (mg/kg/peso corpóreo) por horário, em cada grupo de refeições de estudo (número de "extremers").
3. Amostragem da população que frequenta o restaurante, por horário.

Cabe ressaltar ainda que, quanto às preferências alimentares, os alimentos consumidos pelos usuários dos restaurantes universitários estão dentro do grupo dos alimentos mais consumidos pelos brasileiros, principalmente em relação à população de São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte (WEIS, 1991).

No entanto, as quantidades de alimentos ingeridas pelos usuários dos restaurantes (Tabela 10) correspondem a mais do que o dobro daquela ingerida pela população geral. Em relação a quantidade de alimentos ingerida/dia por parte da população brasileira verifica-se, que existe uma grande variabilidade em função das diferentes regiões do país a qual é decorrente dos diferentes hábitos alimentares, condições sócio-econômicas e fatores culturais (IBGE, 1977), o que reforça a necessidade dos estudos complementares mencionados anteriormente.

## 5. CONCLUSÕES

O método utilizado no presente estudo para a determinação de nitrato e de nitrito é satisfatório, uma vez que, apresentou limite de detecção de 0.4 mg/Kg de amostra para ambos os ions e eficiência de recuperação de 95.8% e 99.8%, para nitrato e nitrito respectivamente.

A quantidade de alimento ingerida pelos usuários está relacionado com o horário em que é realizada a refeição. A maior quantidade de alimentos é servida no horário das 10:30 - 11:30 o que acarreta maior ingestão potencial de nitrato e de nitrito por refeição.

Aproximadamente um quarto dos usuários (24%) que almoça e janta nos restaurantes universitários, está exposto à refeições que podem levar a ingestões de nitrato acima da IDA recomendada pela OMS. A ingestão potencial de nitrato e de nitrito, por refeição, corresponde a 66% e 10% dos seus valores de IDA, respectivamente.

Considerando-se a utilização dos valores de IDA na avaliação de segurança, conclui-se que existe um risco potencial em relação a ingestão de nitrato através da dieta para os usuários que almoçam e jantam nos restaurantes universitários.

Os dados obtidos sugerem a necessidade da realização de estudos mais abrangentes quanto ao consumo de alimentos e hábitos alimentares de outros grupos da população brasileira para avaliação da ingestão potencial diária do nitrato e do nitrito.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADRIAANSE, A. & ROBBERS, J.E. Determination of nitrite in nitrate in some horticultural and meat product and in samples of soil. *Journal Science Food Agriculture* 20:321-325, June, 1969.
2. AHN, D.U. & MAURER, A.J. Poultry meat color: heme-complex-forming ligands and color of cooked turkey breast meat *Poultry Science* 69: 1769-1774., 1990.
3. AOAC. Official methods of analysis: agriculture chemical contaminants' drugs, 15. ed. Washington, D.C., 1990, v.1 (Method 976.14)
4. ARAUJO, J.M.A. Conservadores químicos em alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia* 24(3/4):192-210, 1990.
5. AURAND, L.W.; WOODS, A.E.; WELLS, M.R. Food composition and analysis, New York, 1987. Avi, 690p.
6. BELLANDER, T.; OSTERDAHL, BLG.; HAGMAR, L. Excretion of N-monoitrosopiperazine after low level exposure to piperazine in air: effects of dietary nitrate and ascorbate. *Toxicology and Applied Pharmacology* 93:281-287, 1988.
7. BENOIT, F. & CEUSTERMANS, N. Phytotechnie et nitrate en culture maraichere. *Revue de l'Agriculture* 41(1):24-43, jan./fev., 1988.
8. BODIPHALA, T. & ORMROD, D.P. Factors affecting the nitrate content of vegetable and fruit foods. *Canadian Institute Food Technology Journal* 4(1):6-8, 1971.

9. BORONAT, M.D.C.T.; PADROS, R.B.; ALONSO, M.I. Nitratos y nitritos en la alimentacion infantil: riesgos de su ingesta. *Alimentaria*, Madrid, 19(133):31-35, 1982.
  
10. BOSCH, M.N.B.; MATA, M.G.; RODRIGUEZ, M.L.P. Contenido de nitratos y nitritos em alimentos deshidratados reconstituídos. *Grasas y Aceites*, 41(4/5):336-341, 1990.
  
11. BOSCH, N.B. & OLMEDO, R.G. The nitrates in vegetables and in their boiling water. *Analales Bromatologia*, 40(2):257-264, 1988.
  
12. BRASIL, Leis e Decretos, Resolução no. 4 de 24 de novembro de 1988. *Diário Oficial*, Brasília, 19 de dezembro de 1988.
  
13. CASSENS, R.G.; GREASER, N.L.; ITO, T. & LEO, N. Reactions of nitrite in meat *Food Technology*, 33(7):46-57, 1979.
  
14. CATTANEO, P. & ARLOTTI, G. Livelli di nitrit e nitrati nei prodotti di origine vegetale *Archivio Veterinario Italiano*, 38(1/2):51-59, 1988.
  
15. CHAPIN, F.S.; CLARKSON, D.T.; LENTON, J.R.; WALTER, C.H.S. Effect of nitrogen stress and abscisic acid on nitrate absorption and transport in barley and tomato. *Planta*, 173:340-351, 1988
  
16. CONCAF (Committee on Nitrit and Alternative Curing Agents in Food) The health effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. Washington D.C., Nat. Acad. Press, 1982a. part 1.
  
17. CONCAF (Committee on Nitrit and Alternative Curing Agents in Food) Alternatives to the current use of nitrite in foods. Washington D.C., Nat. Acad. Press, 1982b. part 2.



18. DENNIS, M.J.; KEY, P.E.; PAPWORTH, T., POINTER, M. MASSEY, R.C. The determination of nitrate and nitrite in cured meat by HPLC/UV. *Food Additives and Contaminants*, 7:(4):455-461, 1990.
19. DONHAUSER, S.; GEIGER E.; GLAS, K. Evidence of nitrates and other inorganic anions provided by ion exchange chromatography. *Monatschrift fuer Brauwissenschaft*, 42(9):352-354, 1989.
20. DUTT, L.M.G. & LIN, H.Y. Nitrate consumption and the incidence of gastric cancer in singapore. *Food Chemistry Toxocology*, 25(7):515-520, 1987.
21. ESTATÍSTICA: Uma ciência em destaque. Encontro de Profissionais e Estudantes de Estatística, 1. UNICAMP - Campinas, Março 1985 p.74.
22. ETREIBY, F. & LAUDELOUT, H. Movement of nitrite through a loess soil. *Journal of Hydrology*, 97:213-224, 1988.
23. FILER, L.J.; JR, M.D. Patterns of Consumption of Food Additives. *Food Technology*, 30(7): 62-70, Jul. 1986.
24. GAO, Z.; WANG, G.; ZHAO, Z. Determination of trace amounts of nitrite by single-sweep polarography. *Analytica Chimica Acta*, 230:105-120, 1990.
25. GOBBI, A.; GRISLER, R. Normal methemoglobinemia values observed in 500 inhabitants of the City of Milan *Medicina del Lavoro*, 65: 306-310, 1974.
26. GUNNER, S.W. & KIRKPATRICK, D.C. Approaches for estimating human intakes of chemical substances. *Canadian Institute Food Science Technology Journal*, 12(1):27-31, 1979.

27. GRANER, M.; FONSECA, J. & BASSO, L.C. Composição química de salames nacinais, *Ciência e Tecnologia de Alimentos* (3(11):48-57, 1983
28. GRUNER, N. & SHUVAL, H.I. Studies on the toxicology of nitrites. *Environmental Quality and Safety*, 2:219-229, 1973.
29. HARTMAN, P.E. Review putative mutagens and carcinogens in foods. 1. Nitrate/Nitrite ingestion and gastric cancer mortality. *Environmental Mutagenesis*, 5:111, 1983.
30. HERRADOR, M.A. & ASUERO, A.G. Determinacion de aniones traza en leche IV. Nitratos y nitritos. *Alimentaria*, 35-39, Sept. 1986.
31. HMSO Annual report 1972. London, Her Majesty's Stationery Office, 1974. pp. 206
32. HOTCHKISS, J.H. Nitrate, nitrite and nitroso compounds in foods. *Food Technology*, 127-134, Apr. 1987.
33. IBGE (Fundação do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) Consumo Alimentar - Antropometria Rio de Janeiro R.J., Secretaria de Planejamento de Previdência da República, 1977. parte 1 e 2.
34. INGRAM, M. The microbiological effects of nitrite. In: Proceedings of the International Symposium on Nitrite in Meat Products. Zeist, 10-14 September, 1973. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1974. p. 63-75.
35. JAGERSTAD, M. & NORDEN, A. Dietary intake of nitrite using the duplicate-sampling portion technique. *Ambio*, 6:276-277, 1977.

36. JEYARATNAM, J.; LEE, J.; LEE, H.P.; PHOON, W.O. Stomach cancer incidence in a cohort of fishermen in Singapore. *Scandinavian Journal Work, Environmental Health*, 13:524-526, 1987.
37. JOHNSON, C.M. & ULRICH, A. Determination of nitrate in plant material *Analitical Chemistry*, 22(12):1526-1529, 1950.
38. KAMM, L.; MCKEOWN, G.G.; SMITH, D.M. New colorimetric method for the determination of the nitrate and nitrite content of baby foods. *Journal of Association Official of Agriculture Chemistry*, 48(5):892-897, 1965.
39. KEENEY, D.R. Nitrate in plants and waters. *Journal of Milk Food Technology*, 33:425, 1970.
40. KILGORE, L.; STASH, A.R.; BARRETINE, B.F. Nitrate content of beets, collards, turnip greens. *Journal of American Dietetic Association*, 43:39-42, 1963.
41. KINOSHITA, S.; KAKIHARA, H.; OHYA, Y. & YUI, H. Effects os sodium nitrite on the action potential responses of ventricular muscles in mice. *Japan Journal Hyggiene*, 41(4):741-745, 1986.
42. LARA, W.H. & TAKAHASHI, M.Y. Determinação espectrofotométrica de nitritos e nitratos em sais de cura. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 34:35-39, 1974.
43. LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y.; SILVEIRA, N. Determinação de nitritos e nitratos em conservas de carne. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 38(2):161-166, 1978.
44. LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y.; YAKBIKU, H.Y. Níveis de nitratos em alimentos infantis. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 40(2):147-152, 1980.

45. LARA, W.H. & TAKAHASHI, M.Y. Níveis de nitratos em hortaliças. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 42(1/2):53-57, 1982.
46. LICHT, W.R.; FOX, J.G.; DEEN, W.M. Effects of ascorbic acid and thiocyanate on nitrosation of proline in the dog stomach. *Carcinogenesis*, 9(3):373-377, 1988.
47. LIN, J.L.K.; YEN, J.Y. Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh vegetables during cultivation and Post-Harvest storage. *Food Cosmetics Toxicology*, 18(6):597-603, 1980.
48. LOOKABAUGH, J. & KRULL, I.S. Determination of nitrite and nitrate by reversed-phase high-performance liquid chromatography using on-line post-column photolysis with ultraviolet absorbance and electrochemical detection. *Journal of Chromatography*, 452:295-308, 1988.
49. LOVINO, R. Il contenuto in nitrati dei mosti e vini. *Vini D'Italia*, 30:31-38, 1988.
50. LOVINO, R. Influenza delle concimazioni nitriche fogliari sul contenuto in nitrati nei mosti e nei vini. *Rivista de Viticulture e Enologie*, 1(1):22-32, 1988.
51. LOVINO, R. Influenza delle concimazioni azotate al terreno sul contenuto in nitrati nei mosti e nei vini. Nota II. *Vignevini*, (6):61-64, 1989.
52. MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food). Nitrate, nitrit and N-nitroso compounds in food. *Food Surveillance Paper No. 20*, 1987, 71p.
53. MAFF - Ministry of Agriculture, Fishers and Food. Nitrate, Nitrit and N-nitroso compounds in food: Second report. *Food Surveillance Paper No. 32*, 1992, 77p.

54. MARR, J.W. individual dietary surveys: purposes and methods.  
World Review of Nutrition and Dietetics, 12:105-164, 1971.
55. MIRNA, A. Determination of free and bound nitrite. In:  
Proceedings of the International Symposium on Nitrite in  
Meat Products. Ziest, 10-14 September 1973. Wageningen,  
Centre for Agricultural Publishing and Documentation,  
1974. p.21-28.
56. MIWA, M. & MATSURA, S. Formation of antibacterial factor by  
heating system containing nitrite and tryptone.  
Agricultural Biological Chemistry, 47(4):687-691, 1983.
57. NAGUIB, K.; MAHMOUD, S.Z.; NOCKRASKY, S.E.; TAWFEEK, N. The  
use of potassium nitrite as dairy preservative. Egyptian  
Journal of Dairy Science, 13:167-176, 1985.
58. NIKOLOVA, G.V.; GEORGIEVA, V.G.; SIMEONOV, V.D. Comparative  
evaluation of some widely applied methods for the  
determination of free nitrate in dry plant sample.  
Fiziologija na Rastenijata, 13:(14)52-61, 1987.
59. OHTA, T.; INOUE, T. & TAKITANI, S. Content of N-nitroso  
compounds and mutagenicity in 35 Japanese foods after  
treating with nitrite. Agriculture Biological Chemistry,  
54(10):2559-2564, 1990.
60. OLMEDO, R.G. & BOSCH, N.B. Ingestion de nitratos procedentes  
de productos hortícolas y su incidencia toxicológica.  
Alimentaria, 76-77, Abr. 1988a.
61. OLMEDO, R.G. & BOSCH, N.B. Aspectos toxicológicos de la  
presencia de nitratos y nitritos en los productos  
hortícolas cocidos y en su agua de cocción. Alimentaria,  
71-75, Abr. 1988b.

62. OMS (organizacion mundial de la salud) Orientaciones para el estudio de las ingestas alimentarias de contaminantes quimicos, Ginebra, 1985. 114p. (Publicación en Offset, No. 87)
  
63. PAUL, J.L. & CARLSON, R.H. Nitrate determination in plant extracts by the nitrate electrode. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 16:766, 1968.
  
64. PEARSON, D. The chemical analysis of food. J. e A. Churchill Editor, London, 6.ed., 1970. 604p.
  
65. PEKKARINEN, M. Methodology in the collection of food consumption data. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 12:145-171, 1970.
  
66. PENTTILA, P.; SALMINEN, S. & NIEMI, E. Estimates on the intake of food additives in Finland. *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 186:11-15, 1988.
  
67. PENTTILA, P.; RASANEN, L. & KIMPPA, S. Nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds in Finnish foods and the estimation of the dietary intakes. *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 190:336-340, 1990.
  
68. PHILLIPS, W.E.J. Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh and processed spinach during storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 16(1):88-91, 1968.
  
69. PIERINI, L.C.B. & VALLE, R.F.F. Pesquisa de controle do resto/ingesta nos restaurantes universitários da UNICAMP Nota, 1991.
  
70. POLAK, J.; JANACEK, L.; VOLKE, J. Determination of nitrites by the method of differential pulse polarography after previous nitrosation of piperilamine. *Chemische listy*, 83(1)760-764, 1989.

71. RAMMELL, C.G. & JOERIN, M.N. Determination of nitrite in cheese and other dairy products. *Journal Dairy Research*, 39:89-94, 1972.<sup>47</sup>
72. REYES, F.G.R. & SCALAN, R.A. Relação risco-benefício na adição de substâncias químicas em Alimentos. In: *Semana de Engenharia de Alimentos*, 11. FEA - UNICAMP, Campinas, set. 1991.
73. ROCHE, M.O.G.; LOMBARD, A.B.; PURON, A.M.G. & LLERANDI, G.B. Contenido de nitratos y nitritos em pescado y productos pesqueros consumidos en Cuba. *Revista Cubana Higiene y Epidemiologia*, 26(1):32-40, 1988.
74. ROTH, A.C. & SMITH, M.K. Nitrite-induced iron deficiency in the neonatal rat *Toxicology and Applied Pharmacology*, 96:43-51, 1988.
75. ROVIRA, R.F. & CANOVES, A.F. Nitratos: Aspectos bromatológicos, toxicológicos y analíticos. *Alimentaria*, ene./feb.,:15-21, 1987.
76. SHAW, E.C. & WILEY, P. Nitrate ion concentration in well water. *California Agriculture*, p.11, May., 1969.
77. SCHULLER, P.L. & VEEN, E. Preservatives: a review of methods of analysis. *Journal of the Association Official Analytical Chemists*. 50(5):1127-1145, 1967.
78. SHANMUGARATNAM, K.; LEE, H.P.; DAY, N.E. Cancer incidence in Singapore 1968-1977. Lyon, International Agency for Research on Center, 1983. 20p. (IARC Scient. Publ. no. 47).

79. SHEPHARD, S.E.; SCHALATTER, C. & LUTZ, W.K. Assessment of the risk of formation of carcinogenic N-nitroso compounds from dietary precursors in the stomach. *Food Chemistry Toxicology*, 24(1):91-108, 1987.
80. SHIMADA, T. Lack of teratogenic and mutagenic effects of nitrite on mouse fetuses. *Archives of Environmental Health*, 44(1):59-63, 1989.
81. SHIROSE, I. & YOTSUYANAGI, K. A estatística amplitude e sua utilização. ITAL, Campinas, 1<sup>a</sup> ed., 1984, 146p.
82. SIQUEIRA, M.E.P.B. Aspectos toxicológicos de agentes químicos de interés para el Programa Internacional de Seguridad de las Substancias Químicas (IPCS). OMS, México, 1985, 96p.
83. SOUZA, P.A.; SOUZA, A.B.A. & FALEIROS R.R. Avaliação química de algumas marcas de salsichas e mortadelas. *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 10(1):109-119, 1990.
84. TANNENBAUM, S.R. A policy perspective on safety: Nitrite and nitrate. Public Issue Report, Roche Inc. Nutley, New Jersey, USA, 1984.
85. THOMPSON, J.S. & THOMPSON, M.W. Genetics in medicine Philadelphia, W.B. Company, , 1986. 260p.
86. TOYOHARA, D.Q.K. Determinação de nitrato, nitrito e N-nitrosaminas em linguiças. Campinas, 1989. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) - Fac. Eng. Alim. - Universidade Estadual de Campinas.
87. TOLEDO, M.C.F. & REYES, F.G.R. Nitrato e nitrito: presença em alimentos e risco de sua ingestão. *Revista de Nutrição da PUCCAMP - Campinas*, 3(1):21-41, 1990.



88. UNGER, M. & HEUMANN, K.G. New calibration method for the nitrate and nitrite trace determination in food samples *Fresenius'Zeitschrift fuer Analytische Chemie*, 320:525-529, 1985.
89. USHER, C.D. & TELLING, G.M. Analysis of nitrate and nitrite in foodstuffs: a critical review. *Journal of Science Food and Agriculture*, 2:1793-1805, 1975.
90. VOGEL, A.I. Técnica experimental In: Química analítica qualitativa. Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico, 1985. cap.2, p. 142-145.
91. VOOGT, P. The determination of nitrate with a nitrate selective electrode. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*. 65:196-198, 1969.
92. WALKER, R. Naturally occurring nitrate/nitrite in foods *Journal of Science Food and Agriculture*, 26:1735-1742, 1975.
93. WALKER, R. Nitrates, nitrites and N-nitrocompounds a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Additives and Contaminants*, 7(6):717-768, 1990.
94. WALTERS, C.L.; FILLAR, P.N.; PALHER, R.C. SMITH, P.L.R. A rapid method for the determination of nitrate and nitrite by chemiluminescence. *Food Additives and Contaminants*, 4(2):133-140, 1990.
95. WEIS, L. Como o brasileiro se alimenta. *Super Interessante*, 5(6):21-34, 1991.
96. WEIS, L. Como o brasileiro se alimenta. *Super Interessante*, 5(8):41-52, 1991.

97. WEST, P.W.; LYLES, G.L. A new method for the determination of nitrates. *Analytical Chimica Acta*, 23:227-232, 1960.
98. WESTCOTT, C.C. A simplified method for determining nitrates in food. *Food Technology*, 25:709-710, 1971.
99. WETTERS, J.H. & UGLUM, K.L. Direct spectrophotometric simultaneous determination of nitrite and nitrate in the ultraviolet. *Analytical Chemistry*, 42(3):335-340, 1970.
100. WHITE JR., J.W. Relative significance of dietary sources of nitrate and nitrite. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 23(5):886-891, 1975.
101. WHO Toxicological evaluation of certain food additives. Rome, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1976, 134p. (WHO Food Additives Series no. 10)
102. WHO Nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds. Geneva, World Health Organization, 1978, 107p. (Environmental Health Criteria no. 5)
103. WHO Principles for the safety assessment of Food additives and Contaminants in Food. Geneva, World Health Organization, 1987, 174p. (Environmental Health Criteria no. 70)
104. WISE, D.J.; TOMASSO, J.R.; BRANDT, T.M. Ascorbic acid inhibition of nitrite induced methemoglobinemia in channel catfish. *The Progressive Fish Culturist* 50:77-80, 1988.
105. WOLF, I.A. & WASSERMAN, A.E. Nitrates, nitrites and nitrosamines. *Science*, 177(4043):15-19, 1972.
106. ZEISEL, S.H.; COSTA, K.A.; LAMONT, J.T. Mono-, Di- and trimethylamine in human gastric fluid: potential substrates for nitrosodimethylamine formation. *Carcinogenesis*, 9(1):179-181, 1988.

## ANEXO I

### Refeições Elaborados a Partir dos Alimentos Comumente Oferecidos pelos Restaurantes Univesitarios da UNICAMP

- |                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de alface<br>Bife bovino<br>Batata "Souté"<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    | 2.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de alface<br>Bife bovino<br>Abobrinha refogada<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    | 3.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de alface<br>Bife bovino<br>Chuchu refogado<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    |
| 4.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de acelga<br>Bife bovino<br>Batata "Souté"<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    | 5.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de acelga<br>Bife bovino<br>Abobrinha refogada<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    | 6.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de acelga<br>Bife bovino<br>Chuchu refogado<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    |
| 7.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de tomate<br>Bife bovino<br>Batata "Souté"<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    | 8.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de tomate<br>Bife bovino<br>Abobrinha refogada<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    | 9.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de tomate<br>Bife bovino<br>Chuchu refogado<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta    |
| 10.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de chicória<br>Bife bovino<br>Batata "Souté"<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta | 11.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de chicória<br>Bife bovino<br>Abobrinha refogada<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta | 12.<br>Arroz<br>Feijão<br>Vinagrete<br>Salada de chicória<br>Bife bovino<br>Chuchu refogado<br>Maçã verde<br>Pão tipo francês<br>Refresco de fruta |

- |                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>13.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de repolho<br/>Bife bovino<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão<br/>Refresco</p>                            | <p>14.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de repolho<br/>Bife bovino<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão<br/>Refresco</p>                            | <p>15.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de repolho<br/>Bife bovino<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão<br/>Refresco</p>                            |
| <p>16.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de alface<br/>"Steak" de frango<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>17.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de alface<br/>"Steak" de frango<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>18.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de alface<br/>"Steak" de frango<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> |
| <p>19.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de acelga<br/>"Steak" de frango<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>20.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de acelga<br/>"Steak" de frango<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>21.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de acelga<br/>"Steak" de frango<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> |
| <p>22.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de tomate<br/>"Steak" de frango<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>23.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de tomate<br/>"Steak" de frango<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>24.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de tomate<br/>"Steak" de frango<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> |

25.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
"Steak" de frango  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

26.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
"Steak" de frango  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

27.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
"Steak" de frango  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

28.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
"Steak" de frango  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

29.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
"Steak" de frango  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

30.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
"Steak" de frango  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

31.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Carne moída  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

32.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Carne moída  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

33.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Carne moída  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

34.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Carne moída  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

35.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Carne moída  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

36.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Carne moída  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

37.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Carne moida  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

38.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Carne moida  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

39.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Carne moida  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

40.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Carne moida  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

41.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Carne moida  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

42.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Carne moida  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

43.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Carne moida  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

44.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Carne moida  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

45.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Carne moida  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

46.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Peixe à milanese  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

47.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Peixe à milanese  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

48.  
Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Peixe à milanese  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

- |                    |                    |                    |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| 49.                | 50.                | 51.                |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de acelga   | Salada de acelga   | Salada de acelga   |
| Carne moida        | Carne moida        | Carne moida        |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Maçã verde         | Maçã verde         | Maçã verde         |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |
| 52.                | 53.                | 54.                |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de tomate   | Salada de tomate   | Salada de tomate   |
| Carne moida        | Carne moida        | Carne moida        |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Maçã verde         | Maçã verde         | Maçã verde         |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |
| 55.                | 56.                | 57.                |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de chicória | Salada de chicória | Salada de chicória |
| Carne moida        | Carne moida        | Carne moida        |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Maçã verde         | Maçã verde         | Maçã verde         |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |
| 58.                | 59.                | 60.                |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de repolho  | Salada de repolho  | Salada de repolho  |
| Carne moida        | Carne moida        | Carne moida        |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Maçã verde         | Maçã verde         | Maçã verde         |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |

- |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>61.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de alface<br/>OVO COZIDO<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   | <p>62.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de alface<br/>Ovo cozido<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   | <p>63.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de alface<br/>Ovo cozido<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   |
| <p>64.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de acelga<br/>Ovo cozido<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   | <p>65.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de acelga<br/>Ovo cozido<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   | <p>66.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de acelga<br/>Ovo cozido<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   |
| <p>67.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de tomate<br/>Ovo cozido<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   | <p>68.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de tomate<br/>Ovo cozido<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   | <p>69.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de tomate<br/>Ovo cozido<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p>   |
| <p>70.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de chicória<br/>Ovo cozido<br/>Batata "Souté"<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>71.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de chicória<br/>Ovo cozido<br/>Abobrinha refogada<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> | <p>72.</p> <p>Arroz<br/>Feijão<br/>Vinagrete<br/>Salada de chicória<br/>Ovo cozido<br/>Chuchu refogado<br/>Maçã verde<br/>Pão tipo francês<br/>Refresco de fruta</p> |



73.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Ovo cozido  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

74.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Ovo cozido  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

75.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Ovo cozido  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

76.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Bife bovino  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

77.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Bife bovino  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

78.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Bife bovino  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

79.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Bife bovino  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

80.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Bife bovino  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

81.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Bife bovino  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

82.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Bife bovino  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

83.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Bife bovino  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

84.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Bife bovino  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

85.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Bife bovino  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta-

86.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Bife bovino  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

87.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Bife bovino  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

88.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Bife bovino  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

89.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Bife bovino  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

90.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Bife bovino  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

91.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
"Steak" de frango  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

92.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
"Steak" de frango  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

93.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
"Steak" de frango  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

94.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
"Steak" de frango  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

95.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
"Steak" de frango  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

96.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
"Steak" de frango  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

- |                    |                    |                    |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| 97.                | 98.                | 99.                |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de tomate   | Salada de tomate   | Salada de tomate   |
| "Steak" de frango  | "Steak" de frango  | "Steak" de frango  |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Laranja            | Laranja            | Laranja            |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |
| 100.               | 101.               | 102.               |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de chicória | Salada de chicória | Salada de chicória |
| "Steak" de frango  | "Steak" de frango  | "Steak" de frango  |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Laranja            | Laranja            | Laranja            |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |
| 103.               | 104.               | 105.               |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de repolho  | Salada de repolho  | Salada de repolho  |
| "Steak" de frango  | "Steak" de frango  | "Steak" de frango  |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Laranja            | Laranja            | Laranja            |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |
| 106.               | 107.               | 108.               |
| Arroz              | Arroz              | Arroz              |
| Feijão             | Feijão             | Feijão             |
| Vinagrete          | Vinagrete          | Vinagrete          |
| Salada de alface   | Salada de alface   | Salada de alface   |
| Carne moida        | Carne moida        | Carne moida        |
| Batata "Souté"     | Abobrinha refogada | Chuchu refogado    |
| Laranja            | Laranja            | Laranja            |
| Pão tipo francês   | Pão tipo francês   | Pão tipo francês   |
| Refresco de fruta  | Refresco de fruta  | Refresco de fruta  |

109.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Carne moida  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

110.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Carne moida  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

111.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Carne moida  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

112.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Carne moida  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

113.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Carne moida  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

114.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Carne moida  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

115.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Carne moida  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

116.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Carne moida  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

117.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Carne moida  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

118.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Carne moida  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

119.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Carne moida  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

120.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Carne moida  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

121.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Peixe à milanese  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

122.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Peixe à milanese  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

123.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Peixe à milanese  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

124.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Peixe à milanese  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

125.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Peixe à milanese  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

126.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Peixe à milanese  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

127.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Peixe à milanese  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

128.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Peixe à milanese  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

129.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Peixe à milanese  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

130.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Peixe à milanese  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

131.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Peixe à milanese  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

132.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Peixe à milanese  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

133.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Peixe à milanese  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

134.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Peixe à milanese  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

135.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Peixe à milanese  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

136.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Ovo cozido  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

137.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Ovo cozido  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

138.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Ovo cozido  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

139.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Ovo cozido  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

140.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Ovo cozido  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

141.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Ovo cozido  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

142.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Ovo cozido  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

143.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Ovo cozido  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

144.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Ovo cozido  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

145.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Ovo cozido  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

146.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Ovo cozido  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

147.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Ovo cozido  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

148.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Ovo cozido  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

149.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Ovo cozido  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

150.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Ovo cozido  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

151.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Maça verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

152.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Maça verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

153.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Maça verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

154.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Maça verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

155.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Maça verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

156.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Maça verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

157.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

158.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

159.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

160.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

161.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

162.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

163.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

164.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

165.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

166.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Bife bovino  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

167.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Bife bovino  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

168.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Bife bovino  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta



169.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
"Steak" de frango  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

172.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Carne moída  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

175.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Peixe à milanesa  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

178.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Ovo cozido  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

170.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
"Steak" de frango  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

173.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Carne moída  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

176.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Peixe à milanesa  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

179.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Ovo cozido  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

171.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
"Steak" de frango  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

174.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Carne moída  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

177.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Peixe à milanesa  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

180.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Ovo cozido  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

181.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

182.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

183.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Maçã verde  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

184.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

185.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

186.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de alface  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

187.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

188.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

189.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de acelga  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

190.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

191.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

192.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de tomate  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

193.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

194.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

195.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de chicória  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

196.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Salsicha ao molho  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

197.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Salsicha ao molho  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

198.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de repolho  
Salsicha ao molho  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

199.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Bife bovino  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

200.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Bife bovino  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

201.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
Bife bovino  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

202.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
"Steak" de frango  
Batata "Souté"  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

203.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
"Steak" de frango  
Abobrinha refogada  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

204.

Arroz  
Feijão  
Vinagrete  
Salada de beterraba  
"Steak" de frango  
Chuchu refogado  
Laranja  
Pão tipo francês  
Refresco de fruta

- |                     |                     |                     |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| 205.                | 206.                | 207.                |
| Arroz               | Arroz               | Arroz               |
| Feijão              | Feijão              | Feijão              |
| Vinagrete           | Vinagrete           | Vinagrete           |
| Salada de beterraba | Salada de beterraba | Salada de beterraba |
| Carne moida         | Carne moida         | Carne moida         |
| Batata "Souté"      | Abobrinha refogada  | Chuchu refogado     |
| Laranja             | Laranja             | Laranja             |
| Pão tipo francês    | Pão tipo francês    | Pão tipo francês    |
| Refresco de fruta   | Refresco de fruta   | Refresco de fruta   |
| 208.                | 209.                | 210.                |
| Arroz               | Arroz               | Arroz               |
| Feijão              | Feijão              | Feijão              |
| Vinagrete           | Vinagrete           | Vinagrete           |
| Salada de beterraba | Salada de beterraba | Salada de beterraba |
| Peixe à milanese    | Peixe à milanese    | Peixe à milanese    |
| Batata "Souté"      | Abobrinha refogada  | Chuchu refogado     |
| Laranja             | Laranja             | Laranja             |
| Pão tipo francês    | Pão tipo francês    | Pão tipo francês    |
| Refresco de fruta   | Refresco de fruta   | Refresco de fruta   |
| 211.                | 212.                | 213.                |
| Arroz               | Arroz               | Arroz               |
| Feijão              | Feijão              | Feijão              |
| Vinagrete           | Vinagrete           | Vinagrete           |
| Salada de beterraba | Salada de beterraba | Salada de beterraba |
| Ovo cozido          | Ovo cozido          | Ovo cozido          |
| Batata "Souté"      | Abobrinha refogada  | Chuchu refogado     |
| Laranja             | Laranja             | Laranja             |
| Pão tipo francês    | Pão tipo francês    | Pão tipo francês    |
| Refresco de fruta   | Refresco de fruta   | Refresco de fruta   |
| 214.                | 215.                | 216.                |
| Arroz               | Arroz               | Arroz               |
| Feijão              | Feijão              | Feijão              |
| Vinagrete           | Vinagrete           | Vinagrete           |
| Salada de beterraba | Salada de beterraba | Salada de beterraba |
| Salsicha ao molho   | Salsicha ao molho   | Salsicha ao molho   |
| Batata "Souté"      | Abobrinha refogada  | Chuchu refogado     |
| Laranja             | Laranja             | Laranja             |
| Pão tipo francês    | Pão tipo francês    | Pão tipo francês    |
| Refresco de fruta   | Refresco de fruta   | Refresco de fruta   |

# ANEXO II

## Teores de Nitratro e de Nitrito em Alimentos Oferecidos pelos Restaurantes Universitários da UNICAMP

| ALIMENTO            | N  | NITRATO              |                   | NITRATO              |               |
|---------------------|----|----------------------|-------------------|----------------------|---------------|
|                     |    | $\bar{X} \pm \sigma$ | (mín. - máx.)     | $\bar{X} \pm \sigma$ | (mín. - máx.) |
|                     |    | (mg/kg)              |                   | (mg/kg)              |               |
| Arroz branco        | 13 | 19.6 $\pm$ 24.9      | ( 4.6 - 102.7)    | 1.5 $\pm$ 0.7        | (0.8 - 3.0)   |
| Feijão              | 10 | 31.2 $\pm$ 35.4      | ( 6.0 - 144.2)    | 1.2 $\pm$ 1.4        | (0.2 - 5.7)   |
| Bife bovino         | 8  | 112.2 $\pm$ 100.4    | ( 13.0 - 325.5)   | 0.4 $\pm$ 0.2        | (0.0 - 0.7)   |
| Carne moída         | 3  | 16.9 $\pm$ 5.2       | ( 11.0 - 24.5)    | 0.4 $\pm$ 0.2        | (0.2 - 0.7)   |
| "Steak" de frango   | 4  | 130.1 $\pm$ 124.2    | ( 2.7 - 265.7)    | 0.6 $\pm$ 0.1        | (0.5 - 1.0)   |
| Salsicha molho      | 4  | 340.1 $\pm$ 235.4    | ( 76.7 - 730.9)   | 19.3 $\pm$ 1.6       | (2.7 - 34.6)  |
| Peixe milanese      | 7  | 181.4 $\pm$ 208.7    | ( 1.1 - 635.4)    | 2.1 $\pm$ 2.3        | (0.1 - 7.4)   |
| Ovo cozido          | 7  | 79.9 $\pm$ 68.1      | ( 1.9 - 167.0)    | 1.2 $\pm$ 0.2        | (0.8 - 1.5)   |
| Salada de alface    | 9  | 689.7 $\pm$ 105.2    | ( 373.4 - 962.5)  | 0.9 $\pm$ 1.3        | (0.0 - 3.8)   |
| Salada de acelga    | 7  | 935.5 $\pm$ 315.6    | ( 209.5 - 1234.0) | 0.9 $\pm$ 0.3        | (0.0 - 1.4)   |
| Salada de beterraba | 5  | 2138.6 $\pm$ 657.5   | (1416.0 - 2920.0) | 9.5 $\pm$ 7.1        | (0.0 - 18.0)  |
| Salada de tomate    | 4  | 197.3 $\pm$ 129.3    | ( 9.5 - 364.0)    | 0.8 $\pm$ 0.3        | (0.1 - 1.1)   |
| Salada de chicória  | 4  | 372.0 $\pm$ 254.6    | ( 160.3 - 372.0)  | 0.9 $\pm$ 0.7        | (0.2 - 2.0)   |
| Salada de repolho   | 6  | 811.0 $\pm$ 604.3    | ( 230.6 - 1992.6) | 0.9 $\pm$ 0.0        | (0.2 - 2.6)   |
| Vinagrete           | 4  | 297.8 $\pm$ 44.7     | ( 256.4 - 365.5)  | 0.6 $\pm$ 0.2        | (0.2 - 1.0)   |
| Batata "Soute"      | 5  | 69.9 $\pm$ 14.4      | ( 55.5 - 97.3)    | 0.5 $\pm$ 0.4        | (0.1 - 1.1)   |
| Abrbrinha refogada  | 5  | 409.6 $\pm$ 160.0    | ( 201.5 - 670.7)  | 0.3 $\pm$ 0.3        | (0.0 - 0.7)   |
| Chuchu refogado     | 3  | 317.8 $\pm$ 134.1    | ( 192.2 - 507.9)  | 0.6 $\pm$ 0.5        | (0.0 - 1.0)   |
| Laranja             | 6  | 711.1 $\pm$ 653.3    | ( 142.9 - 1904.5) | 1.0 $\pm$ 1.9        | (0.0 - 5.0)   |
| Maçã verde          | 6  | 26.6 $\pm$ 45.9      | ( 5.5 - 130.1)    | 0.7 $\pm$ 0.7        | (0.0 - 2.2)   |
| Refresco de frutas  | 8  | 107.2 $\pm$ 83.4     | ( 11.6 - 304.6)   | 0.4 $\pm$ 0.4        | (0.0 - 1.0)   |
| Pão francês         | 6  | 41.0 $\pm$ 73.6      | ( 5.9 - 205.5)    | 0.9 $\pm$ 0.4        | (0.6 - 1.9)   |

Valores médios  $\pm$  desvio padrão e entre parênteses, valores mínimos e máximos

# ANEXO III

Teor Médio de Nitrito e de Nitrato em cada Refeição, por Horário e Média dos Três Horários.

Valor Expresso em mg/Kg.

| Refeição<br>no. | Nitrito        |                |                |                         | Nitrato        |                |                |                         |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|
|                 | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários |
| 001             | .893           | .655           | .517           | .688                    | 158.282        | 134.852        | 98.381         | 130.452                 |
| 002             | .879           | .641           | .506           | .675                    | 182.375        | 158.685        | 117.826        | 152.695                 |
| 003             | .889           | .652           | .515           | .685                    | 170.119        | 146.639        | 107.832        | 141.597                 |
| 004             | .887           | .650           | .516           | .684                    | 170.826        | 138.852        | 102.877        | 134.185                 |
| 005             | .799           | .563           | .447           | .603                    | 184.966        | 162.652        | 121.577        | 156.398                 |
| 006             | .883           | .647           | .513           | .681                    | 172.710        | 150.806        | 112.383        | 145.388                 |
| 007             | .920           | .684           | .542           | .715                    | 147.718        | 125.744        | 92.233         | 121.898                 |
| 008             | .986           | .670           | .531           | .702                    | 171.858        | 149.544        | 110.933        | 144.112                 |
| 009             | .917           | .681           | .540           | .712                    | 159.602        | 137.698        | 101.739        | 133.813                 |
| 010             | .887           | .650           | .516           | .684                    | 143.936        | 121.962        | 89.365         | 118.421                 |
| 011             | .872           | .636           | .505           | .671                    | 168.876        | 145.762        | 108.065        | 140.634                 |
| 012             | .883           | .647           | .513           | .681                    | 166.413        | 144.509        | 107.187        | 139.370                 |
| 013             | .894           | .658           | .521           | .691                    | 163.564        | 141.590        | 104.743        | 136.632                 |
| 014             | .880           | .644           | .510           | .678                    | 187.597        | 165.283        | 123.359        | 158.746                 |
| 015             | .890           | .654           | .519           | .688                    | 175.448        | 153.544        | 114.249        | 147.747                 |
| 016             | .920           | .684           | .556           | .720                    | 162.188        | 139.416        | 105.253        | 135.619                 |
| 017             | .935           | .700           | .575           | .737                    | 186.628        | 163.215        | 123.953        | 157.832                 |
| 018             | .917           | .681           | .553           | .717                    | 174.872        | 141.370        | 114.759        | 146.734                 |
| 019             | .914           | .680           | .554           | .716                    | 164.812        | 143.416        | 109.829        | 139.352                 |
| 020             | .900           | .666           | .543           | .703                    | 188.952        | 167.216        | 128.529        | 161.566                 |
| 021             | .910           | .677           | .552           | .713                    | 176.696        | 155.370        | 119.335        | 150.467                 |
| 022             | .948           | .714           | .580           | .747                    | 151.784        | 130.388        | 99.185         | 127.066                 |
| 023             | .869           | .635           | .519           | .675                    | 175.844        | 154.188        | 117.885        | 149.279                 |
| 024             | .886           | .652           | .518           | .685                    | 163.588        | 142.262        | 108.691        | 138.180                 |
| 025             | .914           | .680           | .554           | .716                    | 147.922        | 126.526        | 96.317         | 123.588                 |
| 026             | .900           | .666           | .543           | .703                    | 172.862        | 150.326        | 115.817        | 145.882                 |
| 027             | .846           | .612           | .501           | .653                    | 159.806        | 138.480        | 105.823        | 134.783                 |
| 028             | .921           | .687           | .559           | .723                    | 167.550        | 146.154        | 111.695        | 141.800                 |
| 029             | .907           | .673           | .548           | .709                    | 191.690        | 169.954        | 130.395        | 164.813                 |
| 030             | .918           | .684           | .557           | .719                    | 179.434        | 158.188        | 121.281        | 152.714                 |
| 031             | .863           | .626           | .498           | .662                    | 151.823        | 128.836        | 93.341         | 124.133                 |
| 032             | .882           | .644           | .510           | .679                    | 175.163        | 151.836        | 112.841        | 146.347                 |
| 033             | .892           | .654           | .519           | .689                    | 162.907        | 139.990        | 102.847        | 135.248                 |
| 034             | .890           | .653           | .520           | .687                    | 153.647        | 132.836        | 97.917         | 127.867                 |
| 035             | .876           | .639           | .508           | .674                    | 177.757        | 155.806        | 116.593        | 150.052                 |
| 036             | .886           | .650           | .517           | .684                    | 89.796         | 87.142         | 69.649         | 82.196                  |

## ANEXO III (Continuação)

| Refeição<br>no. | Nitrito        |                |                |                         | Nitrato        |                |                |                         |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|
|                 | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários |
| 037             | .924           | .687           | .546           | .719                    | 140.539        | 118.928        | 87.273         | 115.580                 |
| 038             | .989           | .673           | .535           | .706                    | 164.679        | 142.728        | 105.973        | 137.793                 |
| 039             | .920           | .684           | .544           | .716                    | 152.423        | 130.882        | 96.779         | 126.695                 |
| 040             | .898           | .653           | .528           | .687                    | 136.757        | 115.146        | 84.405         | 112.103                 |
| 041             | .876           | .639           | .508           | .674                    | 160.897        | 138.946        | 103.105        | 134.316                 |
| 042             | .886           | .650           | .517           | .684                    | 148.641        | 127.100        | 93.911         | 123.217                 |
| 043             | .897           | .660           | .525           | .694                    | 156.385        | 134.774        | 109.783        | 130.314                 |
| 044             | .883           | .646           | .514           | .681                    | 179.781        | 158.220        | 118.198        | 152.066                 |
| 045             | .893           | .657           | .523           | .691                    | 168.269        | 146.728        | 109.289        | 141.429                 |
| 046             | 1.064          | .819           | .639           | .840                    | 166.954        | 143.328        | 104.561        | 138.281                 |
| 047             | 1.050          | .805           | .628           | .827                    | 191.094        | 167.128        | 123.261        | 160.494                 |
| 048             | 1.060          | .816           | .636           | .837                    | 178.838        | 155.282        | 114.067        | 149.396                 |
| 049             | 1.057          | .814           | .637           | .836                    | 169.578        | 147.328        | 109.137        | 142.014                 |
| 050             | 1.043          | .800           | .626           | .823                    | 193.718        | 171.128        | 127.837        | 164.228                 |
| 051             | 1.043          | .800           | .626           | .823                    | 181.462        | 159.282        | 118.643        | 153.129                 |
| 052             | 1.091          | .848           | .663           | .867                    | 156.470        | 134.220        | 98.493         | 129.728                 |
| 053             | 1.077          | .834           | .652           | .854                    | 180.610        | 158.020        | 117.193        | 151.941                 |
| 054             | 1.088          | .845           | .661           | .864                    | 168.354        | 146.174        | 207.999        | 140.842                 |
| 055             | 1.057          | .814           | .637           | .836                    | 152.688        | 130.438        | 95.625         | 126.250                 |
| 056             | .936           | .732           | .592           | .753                    | 247.896        | 225.417        | 170.172        | 224.495                 |
| 057             | 1.054          | .811           | .634           | .833                    | 153.392        | 131.202        | 106.179        | 126.921                 |
| 058             | 1.065          | .822           | .642           | .843                    | 172.316        | 150.066        | 111.803        | 144.462                 |
| 059             | 1.050          | .800           | .631           | .830                    | 196.456        | 173.066        | 139.703        | 166.675                 |
| 060             | 1.061          | .818           | .640           | .840                    | 184.200        | 162.020        | 120.509        | 155.576                 |
| 061             | .935           | .725           | .569           | .753                    | 156.458        | 133.316        | 97.133         | 128.969                 |
| 062             | .951           | .711           | .558           | .740                    | 180.598        | 157.116        | 115.833        | 151.182                 |
| 063             | .952           | .722           | .567           | .750                    | 168.342        | 145.270        | 106.639        | 140.084                 |
| 064             | .959           | .721           | .567           | .749                    | 158.338        | 136.962        | 101.424        | 132.241                 |
| 065             | .945           | .707           | .556           | .736                    | 183.222        | 161.116        | 120.409        | 154.916                 |
| 066             | .955           | .718           | .565           | .746                    | 170.966        | 149.270        | 111.215        | 143.817                 |
| 067             | .993           | .755           | .594           | .780                    | 145.974        | 124.200        | 91.065         | 120.416                 |
| 068             | .979           | .740           | .583           | .767                    | 170.114        | 140.000        | 119.765        | 142.629                 |
| 069             | .989           | .751           | .591           | .777                    | 157.858        | 136.162        | 100.571        | 131.530                 |
| 070             | .959           | .721           | .567           | .749                    | 142.192        | 120.426        | 88.197         | 116.938                 |
| 071             | .945           | .707           | .556           | .736                    | 166.332        | 144.226        | 106.897        | 139.152                 |
| 072             | .955           | .718           | .565           | .746                    | 166.332        | 144.226        | 106.897        | 139.152                 |

## ANEXO III (Continuação)

| Refeição<br>no. | Nitrito        |                |                |                         | Nitrato        |                |                |                         |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|
|                 | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários |
| 073             | .966           | .728           | .573           | .756                    | 161.820        | 140.054        | 103.575        | 135.150                 |
| 074             | .952           | .714           | .562           | .742                    | 105.960        | 163.054        | 122.275        | 157.363                 |
| 075             | .962           | .725           | .570           | .752                    | 173.704        | 152.008        | 113.001        | 146.264                 |
| 076             | 1.118          | .879           | .742           | .913                    | 273.440        | 250.006        | 213.517        | 245.681                 |
| 077             | 1.100          | .865           | .731           | .900                    | 297.500        | 273.886        | 232.217        | 267.894                 |
| 078             | 1.310          | 1.022          | .836           | 1.056                   | 205.324        | 262.040        | 223.023        | 256.796                 |
| 079             | 1.111          | .875           | .740           | .909                    | 275.990        | 254.816        | 218.041        | 249.349                 |
| 080             | 1.045          | .810           | .691           | .849                    | 300.130        | 277.816        | 236.741        | 271.562                 |
| 081             | 1.100          | .872           | .730           | .906                    | 207.074        | 265.970        | 227.547        | 260.464                 |
| 082             | .846           | .610           | .460           | .641                    | 262.002        | 240.900        | 207.397        | 237.062                 |
| 083             | 1.131          | .895           | .756           | .927                    | 207.022        | 264.700        | 226.097        | 259.276                 |
| 084             | 1.141          | .906           | .764           | .937                    | 274.766        | 252.862        | 216.903        | 248.177                 |
| 085             | 1.111          | .875           | .740           | .909                    | 269.100        | 237.126        | 204.529        | 233.585                 |
| 086             | 1.097          | .861           | .729           | .896                    | 203.240        | 260.926        | 223.229        | 255.790                 |
| 087             | 1.100          | .872           | .730           | .906                    | 270.904        | 249.000        | 214.035        | 244.700                 |
| 088             | 1.118          | .882           | .746           | .915                    | 270.728        | 256.754        | 229.907        | 251.796                 |
| 089             | 1.104          | .860           | .735           | .902                    | 302.060        | 200.554        | 230.607        | 274.010                 |
| 090             | 1.115          | .879           | .743           | .912                    | 343.262        | 300.220        | 255.673        | 302.300                 |
| 091             | 1.145          | .909           | .780           | .945                    | 277.426        | 254.650        | 220.469        | 250.840                 |
| 092             | 1.131          | .895           | .769           | .932                    | 301.566        | 278.450        | 239.169        | 273.062                 |
| 093             | 1.141          | .906           | .778           | .942                    | 299.310        | 266.604        | 229.975        | 261.963                 |
| 094             | .954           | .759           | .662           | .792                    | 209.976        | 250.500        | 224.993        | 254.516                 |
| 095             | 1.124          | .890           | .760           | .927                    | 304.116        | 282.300        | 243.693        | 276.730                 |
| 096             | 1.135          | .901           | .776           | .937                    | 291.060        | 270.534        | 234.499        | 265.631                 |
| 097             | 1.172          | .930           | .805           | .972                    | 266.060        | 245.472        | 214.349        | 242.230                 |
| 098             | 1.150          | .924           | .794           | .959                    | 291.000        | 279.272        | 233.049        | 264.443                 |
| 099             | 1.169          | .935           | .803           | .969                    | 270.752        | 257.426        | 223.855        | 253.344                 |
| 100             | 1.139          | .904           | .779           | .941                    | 263.006        | 241.690        | 211.481        | 238.752                 |
| 101             | 1.124          | .890           | .760           | .927                    | 207.226        | 265.490        | 230.101        | 260.966                 |
| 102             | 1.135          | .901           | .776           | .937                    | 274.970        | 253.644        | 220.907        | 249.867                 |
| 103             | 1.146          | .912           | .784           | .947                    | 202.714        | 261.318        | 226.059        | 256.964                 |
| 104             | 1.132          | .890           | .773           | .934                    | 306.054        | 205.110        | 245.559        | 279.117                 |
| 105             | 1.142          | .908           | .782           | .944                    | 294.590        | 273.272        | 236.365        | 268.070                 |
| 106             | 1.121          | .882           | .746           | .916                    | 266.261        | 243.270        | 200.557        | 239.363                 |
| 107             | 1.107          | .868           | .735           | .903                    | 290.401        | 267.070        | 227.257        | 261.576                 |
| 108             | 1.117          | .879           | .744           | .913                    | 294.559        | 273.010        | 233.051        | 266.876                 |



## ANEXO III (Continuação)

| Refeição<br>no. | Nitrito        |                |                |                         | Nitrato        |                |                |                         |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|
|                 | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários |
| 109             | 1.050          | .814           | .694           | .852                    | 268.811        | 247.200        | 213.081        | 243.031                 |
| 110             | 1.100          | .864           | .733           | .899                    | 292.951        | 271.000        | 231.781        | 265.244                 |
| 111             | 1.111          | .875           | .742           | .909                    | 280.695        | 259.154        | 222.584        | 254.145                 |
| 112             | 1.148          | .912           | .771           | .943                    | 255.783        | 234.892        | 202.437        | 230.744                 |
| 113             | 1.134          | .898           | .760           | .930                    | 289.843        | 257.892        | 221.137        | 252.957                 |
| 114             | 1.144          | .908           | .768           | .940                    | 267.587        | 246.046        | 211.943        | 241.859                 |
| 115             | 1.114          | .878           | .744           | .912                    | 251.921        | 230.310        | 199.569        | 227.267                 |
| 116             | 1.100          | .864           | .733           | .899                    | 276.061        | 254.110        | 218.269        | 249.480                 |
| 117             | 1.111          | .875           | .742           | .909                    | 263.805        | 242.264        | 209.075        | 238.381                 |
| 118             | 1.121          | .882           | .746           | .916                    | 271.549        | 249.938        | 214.947        | 245.478                 |
| 119             | 1.107          | .871           | .739           | .906                    | 295.689        | 273.738        | 233.647        | 267.691                 |
| 120             | .947           | .709           | .547           | .734                    | 283.433        | 261.892        | 224.453        | 256.593                 |
| 121             | 1.208          | 1.043          | .863           | 1.065                   | 282.192        | 258.562        | 219.777        | 253.510                 |
| 122             | 1.274          | 1.029          | .852           | 1.052                   | 306.332        | 282.362        | 238.477        | 275.724                 |
| 123             | 1.285          | 1.040          | .861           | 1.062                   | 294.076        | 270.516        | 229.283        | 264.625                 |
| 124             | 1.282          | 1.039          | .861           | 1.061                   | 284.742        | 262.492        | 224.301        | 257.178                 |
| 125             | 1.268          | 1.025          | .850           | 1.048                   | 190.856        | 168.266        | 124.975        | 161.366                 |
| 126             | 1.270          | 1.036          | .859           | 1.058                   | 296.626        | 274.446        | 233.807        | 268.293                 |
| 127             | 1.316          | 1.073          | .888           | 1.092                   | 271.634        | 249.384        | 213.657        | 244.892                 |
| 128             | 1.280          | 1.038          | .860           | 1.059                   | 295.774        | 273.184        | 232.357        | 267.185                 |
| 129             | 1.312          | 1.070          | .885           | 1.089                   | 283.518        | 261.330        | 223.163        | 256.006                 |
| 130             | 1.282          | 1.039          | .861           | 1.061                   | 267.852        | 245.682        | 210.789        | 241.414                 |
| 131             | 1.268          | 1.025          | .850           | 1.048                   | 291.992        | 269.482        | 229.489        | 263.620                 |
| 132             | 1.278          | 1.036          | .859           | 1.058                   | 289.736        | 257.556        | 220.295        | 252.529                 |
| 133             | 1.289          | 1.046          | .867           | 1.067                   | 287.480        | 265.230        | 226.167        | 259.626                 |
| 134             | 1.275          | 1.032          | .856           | 1.054                   | 311.620        | 289.030        | 244.867        | 281.839                 |
| 135             | 1.285          | 1.043          | .864           | 1.064                   | 309.364        | 277.184        | 235.673        | 270.740                 |
| 136             | 1.190          | .950           | .794           | .978                    | 271.696        | 248.550        | 212.349        | 244.198                 |
| 137             | 1.176          | .936           | .783           | .965                    | 295.836        | 272.350        | 231.049        | 266.412                 |
| 138             | 1.186          | .947           | .791           | .975                    | 283.580        | 260.584        | 221.855        | 255.313                 |
| 139             | 1.184          | .945           | .792           | .974                    | 274.246        | 252.480        | 216.873        | 247.866                 |
| 140             | 1.169          | .931           | .781           | .960                    | 298.386        | 276.280        | 235.573        | 270.080                 |
| 141             | 1.180          | .942           | .789           | .970                    | 286.130        | 164.434        | 226.379        | 258.981                 |
| 142             | 1.217          | .979           | .818           | 1.005                   | 261.138        | 239.372        | 206.229        | 235.580                 |
| 143             | 1.203          | .965           | .807           | .992                    | 285.278        | 263.172        | 224.929        | 257.793                 |
| 144             | 1.214          | .976           | .816           | 1.002                   | 273.022        | 251.326        | 215.735        | 246.694                 |

## ANEXO III (Continuação)

| Refeição<br>no. | Nitrito        |                |                |                         | Nitrato        |                |                |                         |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|
|                 | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários |
| 145             | 1.184          | .945           | .792           | .974                    | 257.356        | 235.590        | 203.361        | 232.102                 |
| 146             | 1.169          | .931           | .781           | .960                    | 281.496        | 259.390        | 222.061        | 254.316                 |
| 147             | 1.180          | .942           | .789           | .970                    | 269.240        | 247.544        | 212.867        | 243.217                 |
| 148             | 1.191          | .952           | .797           | .980                    | 276.984        | 255.218        | 218.739        | 250.314                 |
| 149             | 1.142          | .904           | .759           | .935                    | 301.124        | 279.018        | 237.439        | 272.527                 |
| 150             | 1.136          | .937           | .785           | .952                    | 288.868        | 267.172        | 228.245        | 261.428                 |
| 151             | 2.522          | 2.228          | 1.673          | 2.141                   | 179.580        | 155.630        | 113.533        | 149.581                 |
| 152             | 2.500          | 2.214          | 1.662          | 2.128                   | 203.720        | 179.430        | 132.233        | 171.794                 |
| 153             | 2.518          | 2.224          | 1.671          | 2.130                   | 191.464        | 167.584        | 123.039        | 160.696                 |
| 154             | 2.516          | 2.223          | 1.671          | 2.137                   | 182.130        | 159.560        | 118.057        | 153.249                 |
| 155             | 2.501          | 2.209          | 1.660          | 2.124                   | 206.270        | 183.360        | 136.757        | 175.462                 |
| 156             | 2.512          | 2.220          | 1.669          | 2.134                   | 194.014        | 171.514        | 137.563        | 164.364                 |
| 157             | 2.549          | 2.257          | 1.698          | 2.168                   | 169.022        | 146.452        | 107.413        | 140.962                 |
| 158             | 2.514          | 2.222          | 1.670          | 2.135                   | 193.162        | 170.252        | 126.113        | 163.176                 |
| 159             | 2.546          | 2.254          | 1.695          | 2.165                   | 180.906        | 158.406        | 116.919        | 152.877                 |
| 160             | 2.516          | 2.223          | 1.671          | 2.137                   | 165.240        | 142.670        | 104.545        | 137.485                 |
| 161             | 2.501          | 2.209          | 1.660          | 2.124                   | 189.380        | 166.470        | 123.245        | 159.698                 |
| 162             | 2.512          | 2.220          | 1.669          | 2.134                   | 177.124        | 154.624        | 114.051        | 148.600                 |
| 163             | 2.523          | 2.230          | 1.677          | 2.143                   | 184.068        | 162.298        | 129.923        | 155.696                 |
| 164             | 2.509          | 2.216          | 1.666          | 2.130                   | 209.000        | 186.098        | 140.623        | 177.910                 |
| 165             | 2.519          | 2.227          | 1.674          | 2.140                   | 196.752        | 174.252        | 139.429        | 166.811                 |
| 166             | 1.363          | 1.127          | .893           | 1.128                   | 217.735        | 194.330        | 146.874        | 186.313                 |
| 167             | 1.349          | 1.113          | .882           | 1.115                   | 270.253        | 247.939        | 188.951        | 235.714                 |
| 168             | 1.359          | 1.124          | .891           | 1.125                   | 257.997        | 236.893        | 189.757        | 224.616                 |
| 169             | 1.390          | 1.156          | .931           | 1.159                   | 250.099        | 228.703        | 177.203        | 218.668                 |
| 170             | 1.376          | 1.142          | .920           | 1.146                   | 274.239        | 252.503        | 195.903        | 240.882                 |
| 171             | 1.307          | 1.153          | .929           | 1.156                   | 261.903        | 240.657        | 186.709        | 229.783                 |
| 172             | 1.366          | 1.130          | .897           | 1.131                   | 230.934        | 217.323        | 165.291        | 207.183                 |
| 173             | 1.352          | 1.116          | .886           | 1.118                   | 263.074        | 241.123        | 183.991        | 229.396                 |
| 174             | 1.363          | 1.126          | .895           | 1.128                   | 250.818        | 229.277        | 174.797        | 218.297                 |
| 175             | 1.534          | 1.291          | 1.014          | 1.280                   | 254.865        | 232.615        | 176.511        | 221.330                 |
| 176             | 1.520          | 1.277          | 1.003          | 1.267                   | 279.005        | 256.415        | 195.211        | 243.544                 |
| 177             | 1.530          | 1.288          | 1.012          | 1.277                   | 266.749        | 244.569        | 186.017        | 232.445                 |
| 178             | 1.435          | 1.197          | .945           | 1.192                   | 244.369        | 222.603        | 169.003        | 212.010                 |
| 179             | 1.421          | 1.183          | .934           | 1.179                   | 268.509        | 246.403        | 187.703        | 234.232                 |
| 180             | 1.432          | 1.194          | .942           | 1.189                   | 256.253        | 234.557        | 178.589        | 223.133                 |

## ANEXO III (Continuação)

| Refeição<br>no. | Nitrito        |                |                |                         | Nitrato        |                |                |                         |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|
|                 | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários | 1o.<br>horário | 2o.<br>horário | 3o.<br>horário | média dos<br>3 horários |
| 181             | 2.992          | 2.700          | 2.049          | 2.580                   | 267.417        | 244.847        | 185.431        | 232.565                 |
| 182             | 2.978          | 2.686          | 2.030          | 2.567                   | 291.557        | 268.647        | 204.131        | 254.778                 |
| 183             | 2.957          | 2.665          | 2.021          | 2.547                   | 2279.301       | 256.801        | 194.937        | 243.680                 |
| 184             | 2.746          | 2.452          | 1.898          | 2.365                   | 294.744        | 270.794        | 228.697        | 264.745                 |
| 185             | 1.732          | 2.430          | 1.887          | 2.352                   | 356.567        | 332.277        | 277.259        | 322.034                 |
| 186             | 2.743          | 2.449          | 1.895          | 2.362                   | 306.620        | 282.740        | 238.203        | 275.860                 |
| 187             | 2.740          | 2.448          | 1.896          | 2.361                   | 397.294        | 274.724        | 233.221        | 268.413                 |
| 188             | 2.726          | 2.434          | 1.885          | 2.348                   | 321.434        | 390.524        | 151.921        | 290.626                 |
| 189             | 2.737          | 2.444          | 1.894          | 2.358                   | 309.178        | 286.678        | 242.727        | 279.528                 |
| 190             | 2.770          | 2.478          | 1.920          | 2.389                   | 284.186        | 261.616        | 222.577        | 256.126                 |
| 191             | 2.740          | 2.448          | 1.896          | 2.361                   | 300.326        | 285.416        | 241.277        | 270.340                 |
| 192             | 2.726          | 2.434          | 1.885          | 2.348                   | 296.070        | 273.570        | 232.830        | 267.241                 |
| 193             | 2.736          | 2.444          | 1.894          | 2.358                   | 280.404        | 257.834        | 219.709        | 252.649                 |
| 194             | 2.747          | 2.455          | 1.901          | 2.368                   | 304.544        | 281.634        | 230.409        | 274.862                 |
| 195             | 2.737          | 2.444          | 1.894          | 2.358                   | 292.288        | 269.788        | 229.215        | 263.764                 |
| 196             | 2.747          | 2.455          | 1.901          | 2.368                   | 399.925        | 277.355        | 235.003        | 270.761                 |
| 197             | 2.733          | 2.441          | 1.890          | 2.355                   | 324.172        | 301.262        | 253.707        | 293.074                 |
| 198             | 2.744          | 2.452          | 1.899          | 2.365                   | 311.916        | 289.416        | 244.593        | 281.975                 |
| 199             | 1.588          | 1.351          | 1.118          | 1.352                   | 361.277        | 339.303        | 285.415        | 328.665                 |
| 200             | 1.588          | 1.337          | 1.107          | 1.339                   | 385.417        | 363.183        | 304.115        | 250.878                 |
| 201             | 1.584          | 1.340          | 1.115          | 1.349                   | 373.161        | 351.257        | 294.921        | 339.780                 |
| 202             | 1.615          | 1.381          | 1.156          | 1.384                   | 365.263        | 343.867        | 292.367        | 333.832                 |
| 203             | 1.601          | 1.367          | 1.145          | 1.371                   | 389.403        | 367.667        | 311.067        | 356.046                 |
| 204             | 1.611          | 1.378          | 1.154          | 1.381                   | 377.147        | 355.821        | 301.073        | 344.947                 |
| 205             | 1.591          | 1.354          | 1.122          | 1.356                   | 354.090        | 332.487        | 200.455        | 322.347                 |
| 206             | 1.577          | 1.340          | 1.111          | 1.342                   | 370.230        | 356.207        | 399.115        | 344.560                 |
| 207             | 1.587          | 1.351          | 1.119          | 1.352                   | 365.982        | 344.441        | 289.961        | 333.461                 |
| 208             | 1.750          | 1.515          | 1.239          | 1.504                   | 370.029        | 347.779        | 291.675        | 336.494                 |
| 209             | 1.744          | 1.501          | 1.228          | 1.491                   | 394.169        | 371.579        | 310.375        | 358.708                 |
| 210             | 1.723          | 1.480          | 1.211          | 1.472                   | 301.913        | 359.733        | 301.181        | 347.609                 |
| 211             | 1.660          | 1.422          | 1.169          | 1.417                   | 359.533        | 337.767        | 284.247        | 327.182                 |
| 212             | 1.625          | 1.387          | 1.142          | 1.384                   | 383.673        | 361.567        | 302.947        | 349.396                 |
| 213             | 1.656          | 1.419          | 1.167          | 1.414                   | 371.417        | 349.721        | 293.753        | 338.297                 |
| 214             | 3.217          | 2.924          | 2.273          | 2.805                   | 382.501        | 260.011        | 300.595        | 347.729                 |
| 215             | 3.202          | 2.910          | 2.262          | 2.792                   | 406.721        | 303.811        | 319.295        | 369.942                 |
| 216             | 3.213          | 2.921          | 2.271          | 2.802                   | 394.465        | 371.965        | 310.101        | 358.844                 |