



Licenciatura em Ciências da Nutrição

Ião nitrato em alfaces cultivadas em hortas

Projecto Final de Licenciatura

Elaborado por Gilvana Alves Andreza Ferreira

Aluna nº 200791616

Orientadora: Prof^a Doutora Sandra Félix

Barcarena

Junho de 2011

Universidade Atlântica

Licenciatura em Ciências da Nutrição

Ião nitrato em alfaces cultivadas em hortas

Projecto Final de Licenciatura

Elaborado por Gilvana Alves Andreza Ferreira

Aluna nº 200791616

Orientadora: Prof^a Doutora Sandra Félix

Barcarena

Junho de 2011

Resumo

Ião nitrato em alfaces cultivadas em hortas

A alimentação humana, em todas as suas vertentes, tem evoluído de forma muito rápida e, em muitos casos, os processos inerentes à produção podem comprometer a segurança dos alimentos, sobretudo devido aos riscos que podem estar associados à presença de elevados teores de determinados contaminantes nos mesmos. Um destes contaminantes é o ião nitrato. A toxicidade do NO_3^- advém do facto de este ser susceptível à conversão em nitrito (NO_2^-), e conseqüentemente em nitrosaminas, no organismo, ou durante a conservação dos alimentos. Actualmente são cultivadas cerca de 72 hortas, todas situadas ao longo do Itinerário Complementar 19 (IC 19) nas localidades de Cacém, Paiões, Queluz, Amadora, Alfragide Norte, Pina Manique, Buraca e Damaia, e são responsáveis pelo aporte alimentar de aproximadamente 700 indivíduos. **Objectivos:** Analisar alfaces de hortas situadas junto ao IC 19, com vista a avaliar a influência do tráfego no teor em ião nitrato, comparar o teor em nitrato para diferentes variedades de alfaces cultivadas na mesma horta e, nas mesmas condições de análise. E ainda, comparar com as amostras de alface colhidas no mesmo período em uma horta doméstica. **Materiais e Métodos:** Trata-se de um estudo de carácter experimental que teve por base a determinação quantitativa do ião nitrato em alfaces. Foram colhidos nove pés de alface de três variedades distintas, sendo três pés de cada uma das seguintes variedades: alface lisa verde, alface roxa, e alface frisada verde. O procedimento seguido foi baseado no método de Cataldo, que se caracteriza por permitir uma determinação rápida do ião nitrato em extractos de plantas, por Espectrofotometria. **Resultados e Conclusão:** Os resultados encontrados no presente estudo revelam valores do teor em ião nitrato abaixo dos limites determinados pelo Regulamento CE 1881/2006. Entretanto, um estudo com maior abrangência, ao nível das hortas situadas junto ao IC 19, seria importante para sustentar a hipótese de que os efeitos nocivos do excesso de nitrato nos alimentos podem ser prevenidos sem comprometer o consumo alimentar.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa*, alface, nitrato, hortas, saúde.

Abstract

Nitrate ion in lettuce grown in vegetable gardens

The food in all its aspects has evolved very rapidly and, in many cases, the processes involved in production may compromise food safety, mainly due to the risks that may be associated with the presence of elevated levels of certain contaminants. One of these contaminants is the nitrate (NO_3^-). The toxicity of NO_3^- derives from the fact that it is susceptible to conversion into nitrite (NO_2^-) and, consequently, into nitrosamines in the body, or in the process of storing food. Nowadays 72 vegetable gardens are cultivated along the Complementary Route 19 (IC 19) in the villages of Cacém, Paiões, Queluz, Amadora, Alfragide Norte, Pina Manique, Buraca e Damaia. These are responsible for the food intake of approximately 700 individuals.

Objectives: To analyze lettuce gardens located next to the IC 19 in order to evaluate the influence of traffic on the nitrate ion content, comparing the nitrate content for different varieties of lettuce grown in the same garden and under the same conditions of analysis. Furthermore, compare these samples with lettuce samples collected in the same period in a domestic garden. **Materials and Methods:** This experimental study was based on the quantitative determination of nitrate ion in lettuce. We collected nine samples of three distinct varieties of lettuce, three samples of each of the following varieties: Romaine lettuce, Looseleaf lettuce (purple), and Butterhead lettuce green (ref. USDA). The procedure followed was based on the method of Cataldo, characterized by allowing a rapid determination of nitrate ion in plant extracts by spectrophotometry. **Results and Conclusion:** The results of this study reveal values of nitrate ion content below the limits set by EC Regulation 1881/2006. However, it would be important to develop a larger scope study at the level of the gardens located near the IC 19 to support the hypothesis that the harmful effects of excess nitrate in foods can be prevented without compromising food consumption.

Keywords: *Lactuca sativa*, lettuce, nitrate, gardens, health.

Índice

Resumo	iii
Abstract	iv
Índice de Ilustrações	vi
Índice de tabelas.....	vi
Lista de abreviaturas e siglas	vii
Introdução	1
Toxicocinética do nitrato	5
Ingestão de nitrato.....	6
Materiais e Métodos.....	9
Amostragem.....	10
Instrumentação.....	11
Preparação das amostras – Extracção	12
Determinação	13
Análise dos dados	14
Resultados.....	16
Discussão e Perspectivas futuras	23
Conclusão.....	28
Agradecimentos	29
Bibliografia	29
Anexos	34

Índice de Ilustrações

Fig. 1. Reacção de redução do NaNO_3^- a NaNO_2^- por acção de bactérias	Erro! Marcador não definido.
Fig. 2. Reacção de formação da metahemoglobina	Erro! Marcador não definido.
Fig. 3. Curva de calibração traçada a partir das soluções-padrão.....	17
Fig. 4. Teores em NO_3^- (mg de NO_3^-/kg de alface fresca) e respectivos intervalos de confiança.....	19
Fig. 5 – Comparação do teor em NO_3^- entre alfaces de diferentes origens	20
Fig. 6 - Teor em NO_3^- em amostra da água usada para regar as hortas	21
Fig. 7. Comparação do teor em ião nitrato inter-variedades	23

Índice de tabelas

Tabela 1- Composição nutricional da alface - Principais componentes	2
Tabela 2 - Teores máximos de nitrato nos géneros alimentícios determinados por lei.....	8
Tabela 3 - Concentrações (C) e valores de absorvância (A) das soluções-padrão	16
Tabela 4 - Teores em NO_3^- e respectivos valores de desvio padrão	18
Tabela 5 - Teores em NO_3^- e respectivos intervalos de confiança.....	19
Tabela 6 - Comparação entre valores de teor em nitrato obtidos no presente estudo e os determinados por lei.....	22

Lista de abreviaturas e siglas

INE - Instituto Nacional de Estatística

BAP - Balança Alimentar Portuguesa

WHO - *World Health Organization*

FAO - *Food and Agriculture Organization*

IC 19 - Itinerário Complementar 19

NO_3^- - Ião nitrato

N – Azoto

S - Enxofre

NO_2^- - Ião nitrito

CCAH - Comité Científico para a Alimentação Humana

UE - União Europeia

ADI - Dose Diária Admissível

EPA - Agência de Protecção Ambiental

Introdução

Não obstante a realidade que circunda as questões inerentes à alimentação em todas as etapas de produção, e tendo em conta a real necessidade de minorar as consequências negativas de uma alimentação não segura, dever-se-á cada vez mais instigar o interesse nas questões que, directa ou indirectamente, possam afectar a saúde e o bem-estar da população.

De forma mais específica, e já que a contaminação por nitrato afecta maioritariamente vegetais folhosos, centremo-nos no caso da alface. Esta hortaliça, de nome científico *Lactuca sativa*, da família das Asteraceae e originária da Europa e da Ásia, já é conhecida pelo Homem há milénios.

Actualmente, faz parte de uma cultura com significativo valor comercial. A nível mundial, os maiores produtores de alface são a China, os Estados Unidos, a Espanha e a Itália. Nos últimos anos, a Índia e o Japão têm ocupado um lugar de destaque entre estes grandes produtores. Em Portugal, a produção anual de alfaces é superior a 57.000 toneladas, verificando-se nos últimos anos um aumento da área de produção deste vegetal.

Podem organizar-se todas as variedades de *Lactuca sativa* em três importantes grupos: alfaces de folha lisa, que formam cabeça e possuem folhas esverdeadas; alfaces de folhas frisadas, que não formam cabeça e possuem folhas esverdeadas e alfaces de folhas roxas (Observatório dos mercados agrícolas e das importações agro-alimentares, 2009).

A germinação deste vegetal ocorre entre 1 e 4 dias, a temperaturas aproximadas de 15 a 20 °C. De acordo com as condições climatéricas e de cultivo, a alface pode estar pronta para o consumo num período de dois meses, a contar do dia em que foi semeada. É uma planta que cresce em solo com pH neutro (6,5 - 7,2), não tolerando solos ácidos (pH < 5,5) e que pode atingir um peso aproximado de 0,8 - 1,2 kg por cada pé (Prota Foundation, 2004). Nutricionalmente, a alface é um alimento com quantidades significativas de alguns minerais e vitaminas, que se concentram em

maiores quantidades nas folhas mais exteriores. Uma particularidade deste alimento é a expressiva quantidade de caroteno, podendo conter até 50 vezes mais que outras hortaliças folhosas (tabela 1). A alface é considerada um dos mais importantes vegetais deste grupo, sendo maioritariamente consumida crua, em saladas, mas em algumas ocasiões é também consumida cozinhada.

Tabela 1- Composição nutricional da alface - Principais componentes

Energia /100 g		Macronutrientes/100 g		Vitaminas/100 g		Minerais/100g	
kcal	12	Água (g)	95,9	A (µg)	115	Na (mg)	3,0
kJ	50	Proteína (g)	1,8	Caroteno (µg)	688	K (mg)	313
		Gordura total (g)	0,2	Niacina (mg)	0,40	Ca (mg)	70
		Hidratos de Carbono (g)	0,8	B6 (mg)	0,040	P (mg)	46
		Fibra alimentar (g)	1,3	C (mg)	4,0	Mg (mg)	22
				Folatos (µg)	55	Fe (mg)	1,5
						Zn (mg)	0,4

Fonte de tabela: Adaptada da Tabela da Composição de Alimentos (INSA, 2006)

Com vista ao consumo em Portugal, segundo dados do Instituto Nacional de Estatística (INE) referentes à Balança Alimentar Portuguesa (BAP), no período de 2003 a 2008 a alimentação portuguesa caracterizou-se por um baixo consumo de vegetais, nomeadamente hortícolas. Foi possível apontar uma disponibilidade deficitária no grupo dos hortícolas em cerca de 10 %, relativamente aos 23 % recomendados pela Roda dos Alimentos. Em 2008, a disponibilidade diária *per capita* de hortícolas era de aproximadamente 220 g/hab./dia (Instituto Nacional de Estatística, 2010).

A Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization* - WHO), juntamente com a Organização para Alimentação e Agricultura (*Food and Agriculture Organization* - FAO), promove acções de incentivo ao aumento do consumo de frutas e vegetais, como meio de promover a saúde. Num encontro realizado em 2004 com representantes de alguns países como o Brasil, a Etiópia, o Irão e a Tailândia, foram apresentados projectos que visaram promover iniciativas que cumprissem o

objectivo de promover a saúde através do consumo de vegetais e frutas. Todos os países em causa mostraram programas para a criação de hortas por parte de adultos e crianças, e a valorização da agricultura como meio de sustentabilidade da população carenciada (FAO/WHO, 2004).

Contudo, todos os aspectos relativos ao consumo, produção e qualidade nutricional da alface podem fundamentar a relevância nas questões envolvendo a segurança e a inocuidade deste alimento, pois seja este cultivado ou não de forma artesanal, pode conter teores elevados de nitrato livre, que são sem dúvida alguma, motivo de grande preocupação ao nível da Saúde Pública (Prota Foundation, 2004).

Uma observação crítica da prática do cultivo de alfaces em hortas urbanas, nomeadamente no que diz respeito a algumas questões de ordem pública, permitiu constatar que esta prática não possui rigor algum, no que respeita a verificação da qualidade dos alimentos nelas produzidos.

As hortas urbanas da Grande Lisboa, segundo o historiador português José Hermano Saraiva, nasceram da preocupação em preservar os taludes do Itinerário Complementar 19 (IC 19), e ao mesmo tempo para servir de ocupação dos tempos livres de aposentados. Posteriormente, a sua importância cresceu, visto que esta prática era responsável pelo aporte alimentar de muitas famílias portuguesas e de imigrantes. Tradicionalmente, muitos dos responsáveis por estas hortas já tinham por hábito o plantio e cultivo da própria alimentação (Saraiva, 2007).

Sendo vistas nos dias de hoje como um meio de subsistência e sustentabilidade ecológica, algumas hortas cultivadas ao longo do IC 19 podem ser classificadas como um refúgio, e retorno à cultura. Actualmente são cultivadas cerca de 72 hortas, todas situadas ao longo do IC 19 nas localidades de Cacém, Paiões, Queluz, Amadora, Alfragide Norte, Pina Manique, Buraca e Damaia, e são responsáveis pelo aporte alimentar de aproximadamente 700 indivíduos.

Cultivadas nas margens do IC 19, que é considerada uma das vias mais congestionadas da Europa, e com maior tráfego em Portugal, os produtos aí colhidos

podem ser objecto de estudo segundo várias vertentes, principalmente sobre a presença de contaminantes.

Todavia, os benefícios desta prática envolvem questões complexas, como por exemplo o desemprego e a sustentabilidade.

O cultivo das hortas ao longo do IC19 constitui um meio eficaz de preservação do meio ambiente, por meio do aproveitamento dos espaços urbanos com áreas verdes bastante cuidadas, o que permite que estas áreas estejam livres do risco de incêndio e da erosão do solo. Para além disto, possibilita a retoma de uma prática que permite o acesso a uma alimentação que se aproxima do ideal, isto, se todos os cuidados com a segurança alimentar forem tomados (Murteira, 2010).

Mais do que um meio de subsistência e de aporte alimentar, as “hortas do IC19”, vistas do ponto de vista social, são predominantemente cultivadas por aposentados e por imigrantes que, na sua maioria, estão no desemprego. Por outro lado, os indivíduos que recorrem a esta prática de cultivo, buscam também obter um pouco da saúde mental, a qual, em muitos casos é difícil manter num país estrangeiro.

As questões socioeconómicas implicadas na prática do cultivo de hortas urbanas são extremamente importantes, não só ao nível político, como também pela melhoria da qualidade de vida de muitos dos indivíduos que delas dependem. Actualmente, existem em Portugal projectos que visam alargar o cultivo das hortas urbanas a todo o país. No entanto, questões práticas devem ser postas em causa, para que todas as medidas de segurança sejam cumpridas, com o objectivo final de preservar a saúde destas populações, e indirectamente de todos os habitantes do território nacional.

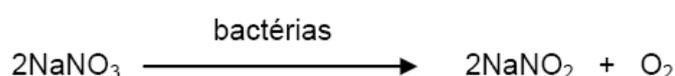
A alimentação humana, em todas as suas vertentes, tem evoluído de forma muito rápida e, em muitos casos, os processos inerentes à produção podem comprometer a segurança dos alimentos, sobretudo devido aos riscos que podem estar associados à presença de elevados teores de determinados contaminantes nos mesmos.

Um destes contaminantes é o ião nitrato (NO_3^-). Trata-se de um agente químico que se constitui como a principal fonte de azoto (N) para a maioria das plantas. O ião nitrato é absorvido pelas plantas e assimilado, formando-se a partir dele aminoácidos e outros compostos azotados. As plantas podem absorver NO_3^- em quantidades superiores às suas necessidades imediatas, desde que disponível no solo, e acumulá-lo nos seus tecidos sem este ser metabolizado. Em particular, alguns vegetais possuem uma elevada capacidade de acumulação de nitrato; é o caso da alface, do espinafre, do agrião, do aipo, do rabanete, entre outros. Apesar do ião nitrato constituir uma forma de azoto necessária ao crescimento das plantas, e de ocorrer naturalmente, também está fortemente associado aos fertilizantes azotados (Castro, 1998; Annals of Botany; 2003; Broadley, 2003; Rodrigues, 2006;).

Toxicocinética do nitrato

O ião nitrato está presente também nos fluidos fisiológicos do Homem; este é formado endogenamente, mesmo na ausência de absorção de nitrato. Também pode ser obtido de fontes exógenas, através dos vegetais e da água.

A toxicidade do ião NO_3^- advém do facto de este ser susceptível à conversão em nitrito (NO_2^-), e conseqüentemente em nitrosaminas, no organismo, ou durante a conservação dos alimentos. Aproximadamente 5 % do nitrato ingerido ou contido na saliva é reduzido a nitrito pelo sistema enzimático de bactérias presentes na boca e tracto gastrointestinal (Santamaria, 2006; ASAE, 2009). A reacção de redução por acção das bactérias pode ser vista na equação abaixo.



A exposição humana a teores excessivos de nitrato e nitrito pode resultar em efeitos toxicológicos importantes. Um destes efeitos é a metahemoglobinémia infantil. Esta resulta do facto de o ião nitrito presente no organismo reagir com a hemoglobina,

oxidando o ião Fe^{2+} aí contido a ião Fe^{3+} , formando assim metahemoglobina e ião nitrato (Chan, 2010), como pode ser observada na seguinte equação:



Como consequência, a capacidade do sangue para transportar o oxigénio fica limitada. Os bebés com menos de 3 meses são particularmente vulneráveis, porque o sistema enzimático que permite reverter a metahemoglobina ($\text{metaHb} - \text{Fe}^{3+}$) a Hemoglobina ($\text{Hb} - \text{Fe}^{2+}$) ainda se encontra pouco desenvolvido e a relação entre a quantidade de nitrato que pode ingerir e o seu peso é-lhe desfavorável (Rodrigues, 2006).

Outros grupos, como as grávidas, indivíduos com acidez gástrica diminuída, com deficiência enzimática da metahemoglobina redutase, prematuros e indivíduos com determinadas patologias são considerados grupos de risco, por apresentarem factores potenciadores dos efeitos secundários da contaminação por nitrato (ASAE, 2009). Foi demonstrado a partir de um estudo feito com animais que estes compostos têm efeito cancerígeno em mais de 40 espécies, incluindo mamíferos, pássaros, répteis e peixes. Acredita-se que o ser humano não será excepção e que a ingestão de nitrato/nitrito possa estar associada a uma maior prevalência de cancro gástrico (Santamaria, 2006). Em oposição a este estudo, outros apontam para que o nitrito endógeno e da dieta não esteja associado ao risco de cancro (Loh *et al.*, 2011).

Ingestão de nitrato

O Comité Científico para a Alimentação Humana (CCAH) da União Europeia (UE) estabeleceu como Dose Diária Admissível (Acceptable Dairy Intake – ADI) para nitrato e nitrito, valores entre 0 e 3,7 mg (NO_3^-) kg^{-1} e entre 0 e 0,07 mg (NO_2^-) kg^{-1} (massa de ião/ kg de peso corporal). Contudo, a Agência de Protecção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos da América definiu como limites máximos aceitáveis 7,0 mg (NO_3^-) kg^{-1} e 0,33 mg (NO_2^-) kg^{-1} . Estudos realizados na Holanda demonstraram que 15 % da população adulta e 45 % das crianças e jovens excedem a ADI para ião

nitrato definida pela UE, mostrando ainda que as dietas vegetarianas ultrapassam estes valores (Faquin, 2004; Santamaria, 2006; ASAE, 2009;). Um destes estudos lembra contudo que os vegetais e frutos são fontes de ácido ascórbico, um conhecido agente redutor e por isso inibidor da síntese de nitrosaminas, o que pode atenuar o risco da ingestão de nitrato ser responsável pelo surgimento de cancro gástrico (Faquin, 2004).

Os estudos relativos à contaminação por nitrato tornam-se complexos, na medida em que os seus efeitos necessitam de um longo período de tempo para se manifestarem. Inclusivamente, muitos deles são contraditórios, sugerindo que o nitrato comumente ingerido através dos alimentos pode ser benéfico à saúde; um exemplo é a diminuição da pressão arterial, devido ao efeito vasodilatador do nitrato (Cometti *et al.*, 2004; Faquin, 2004; Larsen *et al.*, 2006).

Segundo Presley *et al* (2010), o nitrato na dieta pode ser útil para melhorar a perfusão cerebral em adultos mais velhos, nomeadamente de áreas do cérebro conhecidas por serem críticas no funcionamento executivo. Os autores supõem que o nitrito no plasma possa ser benéfico para compensar disfunções endoteliais associadas ao envelhecimento. No entanto, concluem que são necessários mais estudos para confirmar os efeitos observados e para refinar a dieta rica em nitrato utilizada neste estudo.

A Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization* -WHO) divulgou um estudo denominado “Consulta sobre a carga global de doenças transmitidas por alimentos” (*Consultation on Global Burden of Foodborne Diseases*). Este estudo, realizado no Reino Unido, teve como objectivo determinar o impacto de agentes químicos nos alimentos, e mostrou que o consumo de vegetais ricos em nitrato, combinado com o consumo de peixe, resulta na formação de nitrosaminas. Estima-se que seja uma das causas da incidência de, aproximadamente, 20 a 100 casos de cancro por ano (Leeuwen, 2006).

Diante de tais questões interessa ter em conta, em relação aos vegetais, a sua frescura e higiene, visto que uma conservação prolongada à temperatura ambiente pode

conduzir à redução de nitrato a nitrito (Jornal Oficial das Comunidades Europeias, 2006;).

A UE tem definido limites máximos de teor em nitrato em espinafres e alfaces, em função do período de colheita e da origem da produção - estufa ou ar livre -, visto que as condições climáticas têm grande influência nos níveis de ião nitrato em certos vegetais. Por isso, são fixados diferentes teores máximos de nitrato, consoante a estação do ano (Tabela 2).

Tabela 2 - Teores máximos de nitrato nos géneros alimentícios determinados por lei.

Género Alimentício	Teores máximos (mg NO₃/kg)
	Colhida de 1 de Outubro a 31 de Março
Alface fresca (<i>Lactuca sativa</i> L.) Alface cultivada em estufa e do campo, excluindo a alface do tipo <i>Iceberg</i>	Alface cultivada em estufa 4500
	Alface do campo 4000
	Colhida de 1 de Abril a 30 de Setembro
Alface do tipo <i>Iceberg</i>	Alface cultivada em estufa 3500
	Alface do campo 2500
Alimentos à base de cereais transformados e alimentos para bebés destinados a lactentes e crianças jovens.	Alface cultivada em estufa 2500
	Alface do campo 2000
	200

Fonte de tabela - Adaptada do Regulamento (CE) N° 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro.

Os produtos hortícolas constituem a principal fonte de ingestão de nitrato para o ser humano (Santos, 2001). Na planta, o azoto é dirigido preferencialmente para as partes fotossinteticamente mais activas, o que confere grande relevo às hortaliças folhosas, como é o caso da alface (Krohn, 2003).

Outro alimento susceptível de conter nitrato é a água. Assim como a alface, a água para consumo humano deve obedecer a determinadas concentrações de nitrato e nitrito. O Decreto-Lei nº 243/2001 de 05 de Setembro determina que os Valores Médios Aceitáveis para NO_2^- e NO_3^- são 0,5 e 50 mg/L, respectivamente. Em países como o Reino Unido e os Estados Unidos, os valores aceitáveis de nitrato e nitrito são muito menores, cerca de 0,21 mg/L, sendo que no Reino Unido o nível usualmente exigido é de 0,1 mg/L (WHO, 2007). A relevância para a saúde da presença de nitrato na água de consumo humano é agravada pelo facto deste parâmetro não alterar as suas características organolépticas e, portanto, não ser sensorialmente detectado (ASAE, 2009).

Dado que o maior número de casos de metahemoglobinémia está relacionado com a ingestão de água proveniente de poços, a preocupação relativamente ao teor de nitrato nos hortícolas deve passar também pela origem da água que é utilizada na rega destes produtos (ASAE, 2009).

Materiais e Métodos

Foram colhidos nove pés de alface de três variedades distintas, sendo três pés de cada uma das seguintes variedades: alface lisa verde, alface roxa, e alface frisada verde. Cada espécie foi codificada por siglas, sendo elas: ALV (alface lisa verde), AR (alface roxa) e AFV (alface frisada verde) e AHD (alface horta doméstica), sendo esta última do tipo frisada verde.

Foram estabelecidos como critérios de inclusão alfaces cultivadas em hortas urbanas situadas à beira do IC 19. E como critérios de exclusão alfaces contendo massa *in natura* inferior a 10 g, e folhas estragadas ou danificadas. Trata-se de um estudo de carácter experimental que teve por base a determinação quantitativa do ião nitrato em cada uma das alfaces colhidas. O tratamento e análise das amostras decorreram nos laboratórios de Biologia e de Química da Universidade Atlântica, situada no concelho de Oeiras.

O procedimento seguido foi baseado no método de Cataldo, que se caracteriza por permitir uma determinação rápida do ião nitrato em extractos de plantas, por Espectrofotometria. A adição de ácido salicílico ao extracto vegetal, onde está presente o ião nitrato, conduz à formação de um composto de cor amarela por nitração do ácido salicílico que, a $\text{pH} > 12$, apresenta um máximo de absorvância a 410 nm. A absorvância do cromóforo, obtida por medida espectrofotométrica, é directamente proporcional à quantidade de nitrato presente (Cataldo *et al.*, 1975). Este método possui a vantagem de ter um maior rendimento, menor custo e facilidade de execução, relativamente a outros (Annals of Botany, 2003). Para tentar inferir da influência da quantidade de ião nitrato presente na água utilizada para rega da horta onde foram colhidas as alfaces presentes neste estudo, foi feita a determinação de ião nitrato nesta mesma água de rega. Para se obterem resultados mais fiáveis, comparou-se também o teor em nitrato de alfaces colhidas na mesma altura e de acordo com os mesmos critérios, provenientes de uma horta doméstica situada na mesma zona geográfica, mas longe daquela via de acesso.

Os dados relativos ao número de hortas existentes e a estimativa do número de indivíduos que delas fazem uso, ao nível do proveito e consumo dos vegetais produzidos, foram obtidos a partir de observação *in loco* e perguntas directas.

Amostragem

A amostragem conveniente utilizada neste estudo é justificada pela acessibilidade às hortas localizadas ao longo do Itinerário Complementar 19 (IC19), uma via rápida construída nos anos 90 que liga Lisboa a Sintra. Esta via é considerada uma das mais congestionadas da Europa, e estima-se que aproximadamente 130 mil condutores utilizem diariamente esta via. Neste tipo de amostragem, os elementos são seleccionados pela sua conveniência.

Foram consideradas hortas ao longo do IC 19 todas aquelas cujo plantio foi feito nos taludes da estrada, incluindo os acessos para a Amadora, podendo estas ser avistadas ao transitar na mesma.

Para este estudo foram efectuadas análises em amostras obtidas a partir de alfaces colhidas numa horta localizada junto ao IC 19 na saída para Cacém/Paiões. Esta localização é caracterizada pelo tráfego intenso, onde diariamente se formam filas devido ao grande volume de automóveis que por ali transitam.

Como “fundo” foram usadas três alfaces (todas frisadas verdes) de uma horta doméstica situada a cerca de 2 km do IC 19, ilustrada pela figura seguinte.

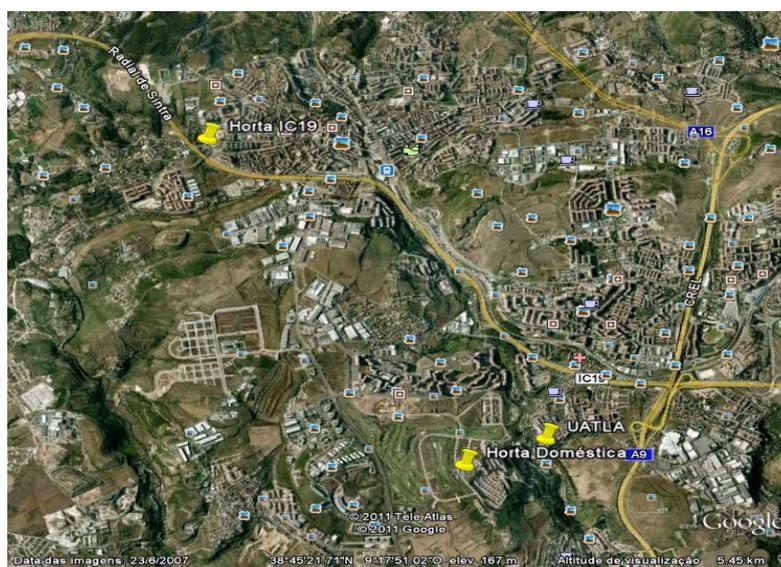


Fig. 3. Mapa de localização das hortas

Amostras

A colheita das alfaces foi realizada no período de Fevereiro a Março de 2011, em dias de sol, no período da manhã (10:00 h). As plantas encontravam-se em fase inicial de crescimento, dado ser a altura da estação fria do corrente ano. As alfaces foram retiradas do solo conservando a sua raiz. O material colhido foi inicialmente remetido ao acondicionamento em frigorífico (5 °C), e tratado no dia seguinte.

Instrumentação

Os equipamentos e materiais utilizados no procedimento experimental foram:

Para obtenção da água do tipo I:

Destilador de água Enkrott Purelab option S-7

Reservatório de água destilada Enkrott Reservior 40L

Pesagem das amostras *in natura* e peso global depois de secas:

Balança Scout™ Pro OHAUS SPU -401 (limite 400 g).

Secagem das amostras:

Estufa P Selecta 2000 206 à 70 °C.

Moagem das amostras secas:

Triturador Taurus Typ MS – 50

Restantes pesagens:

Balança Kern PCB 160-3 – (precisão ±0,003 g).

Banho de aquecimento:

Banho Maria P Selecta Precistern a 45 °C.

Centrifugação dos extractos:

Centrífuga Hettich Zentrifugem Rotofix 32 (1205).

Leituras espectrofotométricas: Espectrofotómetro Human HulmaLyzer Primus versão 3.0 e.

O delineamento experimental utilizado compreendeu três fases, como se indica a seguir.

Preparação das amostras – Extracção

As folhas das alfaces foram destacadas da raiz e lavadas primeiramente com água da torneira, para retirada dos detritos e sujidades de maiores dimensões. Em seguida foram lavadas com água do tipo I, para excluir a eventual contaminação em ião nitrato pela água de lavagem. Após ser retirado o excesso de água com o auxílio de papel absorvente, as folhas de cada pé de alface foram pesadas separadamente e classificadas como referido anteriormente.

As amostras foram levadas à estufa a 70 °C para secar, sendo pesadas diariamente até massa constante. Após a secagem, foram moídas com o auxílio de um picador, até se obterem partículas de tamanho relativamente homogéneo, tendo as nove amostras secas sido armazenadas ao abrigo da humidade.

Para o processo de extração, pesaram-se três réplicas de 100 mg de alface moída de cada uma das amostras em tubos de centrífuga, adicionando-se em seguida 10 mL de água do tipo I, medida usando uma proveta graduada de 10 mL. Estas misturas foram levadas ao banho de aquecimento a 45 °C, durante uma hora. Findado o período em banho de aquecimento, os tubos foram retirados e deixados a arrefecer à temperatura ambiente. Após arrefecimento, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 20 minutos. Depois disso, decantou-se o sobrenadante e o excedente da matéria sólida foi filtrado a pressão reduzida. O extracto foi então armazenado no frigorífico a temperatura entre 4 e 6 °C. Obteve-se assim, no final do processo, um total de 36 extractos.

Preparação das Soluções

Preparação das seguintes soluções com água do tipo I:

Solução SA-H₂SO₄ - ácido salicílico em ácido sulfúrico a 5 % (m/V). Preparou-se uma vez por semana e armazenou-se ao abrigo da luz a 4 °C.

Solução de hidróxido de sódio (NaOH), 2 mol/dm³

Solução concentrada de nitrato de sódio (NaNO₃), 100 mg/dm³ (solução-padrão mãe)

Soluções padrão diluídas de nitrato de sódio (NaNO₃). Foram feitas 8 soluções diluídas de concentrações diferentes, preparadas a partir da solução-mãe (de forma a que cada solução padrão contenha uma concentração de N-NO₃ entre 0,070 e 0,70 mg/dm³), e armazenadas a 4 °C.

Determinação

Branco

Num erlenmeyer de 50 mL, adicionou-se 0,2 mL de água do tipo I e 0,8 mL SA-H₂SO₄ e agitou-se durante 20 minutos à temperatura ambiente. Ao fim dos 20 minutos, adicionou-se gota a gota 19 mL da solução de NaOH 2 mol/dm³ (pH > 12). No espectrofotómetro, foi medida a absorvância da solução obtida, a 405 nm.

Curva de calibração

Num erlenmeyer de 50 mL, adicionou-se 0,2 mL de cada um dos padrões e 0,8 mL SA-H₂SO₄ e agitou-se durante 20 minutos à temperatura ambiente. Ao fim dos 20 minutos, adicionou-se gota a gota 19 mL da solução de NaOH 2 mol/dm³ (pH > 12). No espectrofotómetro, foi medida a absorvância da solução obtida, a 405 nm. Traçou-se uma curva de calibração, usando as soluções padrão de nitrato de sódio (NaNO₃).

Extractos de alface

Num erlenmeyer de 50 mL, juntou-se 0,2 mL de extracto e 0,8 mL de solução SA-H₂SO₄ e agitou-se durante 20 minutos à temperatura ambiente. Ao fim dos 20 minutos, adicionou-se gota a gota 19 mL da solução de NaOH 2 mol/dm³ (pH > 12). No espectrofotómetro, foi medida a absorvância da solução obtida, a 405 nm.

Água de Rega (Poço – IC 19 e Rede Pública – horta doméstica)

Filtrou-se a água a pressão reduzida. Num erlenmeyer de 50 mL adicionou-se 0,2 mL da água de rega e 0,8 mL SA-H₂SO₄. Agitou-se durante 20 min. a temperatura ambiente e adicionou-se gota a gota 19 mL de NaOH 2 mol/dm³ (pH > 12). No espectrofotómetro, mediu-se a absorvância da solução obtida, a 405 nm.

Análise dos dados

O teor em ião nitrato nas amostras, foi analisado a partir de espectrofometria de absorção (UV/Visível). Esta técnica é utilizada para a maioria dos analitos orgânicos, e estuda o modo como a radiação no UV/Visível interage com a matéria. Trata-se de um método analítico que, mediante irradiação da amostra com radiação monocromática, mede a fracção de radiação incidente que é absorvida pelo analito quando este volta ao seu estado fundamental, sendo esta relacionada com a concentração do analito da solução. Esta relação é descrita pela lei de Lambert-Beer,

que é aplicada somente a soluções diluídas ($\approx <0,01 \text{ M}$) usando radiação monocromática¹.

A lei de Lambert-Beer baseia-se em:

Transmitância / Absorvância

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \longrightarrow \quad A = \varepsilon l C \quad (1)$$

I_0 e I são respectivamente, as intensidades das radiações incidente e transmitida, A a absorvância, ε é uma constante designada por coeficiente de absorção molar, l é a espessura do meio que absorve a radiação (medida do lado da célula) e C a concentração da espécie que absorve a radiação. A absorvância está relacionada com a fracção de radiação transmitida (transmitância $-T$) pela espécie.

Logo:
$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{I_0}{I} \quad (2)$$

Para aplicação da lei de Lambert-Beer, foi preparada previamente uma recta de calibração da absorvância de diversos padrões em função da sua concentração. A partir da construção do gráfico, foi possível, com base no valor da absorvância medida para as amostras, obter-se a concentração destas em ião nitrato.

A análise estatística foi efectuada calculando intervalos de confiança a 95 % (significância 0,05) com recurso a seguinte expressão:
$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

Sendo que \bar{x} é o valor médio das medições, s o desvio padrão, t o valor de *Student* tabelado em função dos graus de liberdade e n o número de medições.

¹ **Radiação monocromática:** radiação de um c.d.o. bem determinado; corresponde a uma risca no espectro electromagnético.

O intervalo de confiança destina-se a encontrar um intervalo que deverá conter o verdadeiro valor em que os valores extremos são considerados os limites de confiança.

Os valores de teor em ião nitrato obtidos, tiveram por base a concentração deste contaminante por kg/alimento em vegetais frescos determinado por lei (Regulamento (CE) nº 1881/2006).

Resultados

Esta investigação surgiu na sequência de um estudo iniciado em 2007, efectuado por alunas da Licenciatura de Química da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, consistindo na determinação de ião nitrato em alfaces de diversas proveniências (comerciais, hortas de aldeia, biológicas comerciais). O objectivo do presente trabalho foi analisar alfaces de hortas situadas junto ao IC 19, com vista a avaliar a influência do tráfego no teor em ião nitrato. Para além disso, foi comparado também o teor em nitrato para diferentes variedades de alfaces cultivadas na mesma horta e, nas mesmas condições de análise, comparar com as amostras de alface colhidas no mesmo período em uma horta doméstica. Os resultados obtidos foram também comparados com os de estudos anteriores. Após o tratamento das amostras, o primeiro passo para a análise das mesmas incidiu na preparação da solução padrão e na construção de uma curva de calibração. Os valores referentes à concentração dos padrões e respectivas absorvâncias estão expressos na tabela 3 e figura 1.

Tabela 3 - Concentrações (C) e valores de absorvância (A) das soluções-padrão

<i>N-NO₃⁻</i>	
<i>C (mg/dm⁻³)</i>	<i>A 405 nm</i>
0	0,001
0,07	0,002
0,1	0,022
0,2	0,047
0,3	0,051
0,4	0,077

0,5	0,100
0,6	0,122
0,7	0,151
1,0	0,222

O valor da absorvância medido a partir da concentração equivalente a $0,3 \text{ mg/dm}^{-3}$ de N-NO_3^- foi desprezado para a construção da curva de calibração expressa na figura 1.

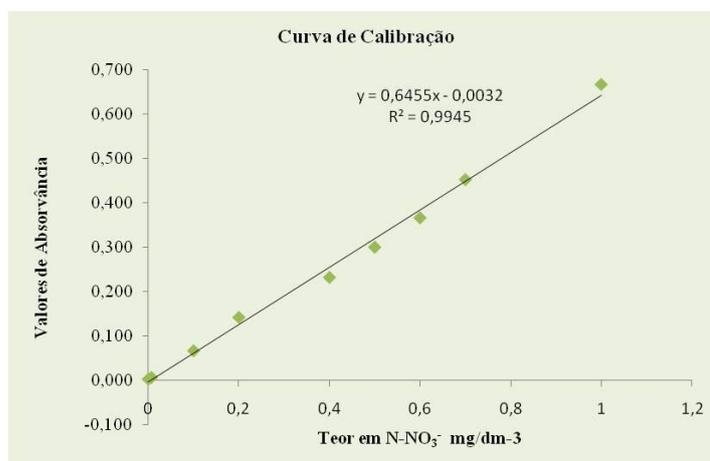


Fig. 1. Curva de calibração traçada a partir das soluções-padrão

Para a determinação do teor em N-NO_3^- nas diferentes amostras de alface, utilizou-se a equação da curva de calibração, cujo declive é 0,6455 e a ordenada na origem é 0,0032.

Por interpolação, obtiveram-se os valores do teor em N-NO_3^- nos 20 mL de solução diluída. A partir destes, calcularam-se os valores referentes ao teor em ião nitrato para cada amostra inicial e, finalmente, a concentração de nitrato nas alfaces, expressa em $\text{mg} (\text{NO}_3^-) / \text{kg}$ de alface fresca.

As determinações foram feitas em triplicado, e a tabela 4 mostra os valores obtidos e os desvios-padrão associados.

Tabela 4 - Teores em NO_3^- e respectivos valores de desvio padrão

<i>Tipo de Alface</i>	<i>Amostra</i>	<i>Teor de NO_3^- mg de NO_3^- /kg de alface fresca</i>	
		<i>Valor médio</i>	<i>Desvio Padrão</i>
Roxa (AR)	I	264,4	46,53
	II	312,59	194,19
	III	520,6	59,60
Lisa Verde (ALV)	I	1632,4	338,74
	II	1232,4	180,61
	III	2524,9	351,45
Frisada Verde (AFV)	I	837,7	39,70
	II	746	41,67
	III	429,7	23,54
Horta doméstica (AHD)	I	367,5	129,03
	II	387,6	219,26
	III	488,7	23,87

Os valores de desvio padrão apresentados na tabela 4, assim como os intervalos de confiança constantes na tabela 5, foram calculados de acordo com a média de três valores obtidos para cada amostra do mesmo tipo de alface. Com exceção da amostra I do tipo AFV e da amostra I do tipo AHD, que foram calculados a partir de 2 valores de concentração (desprezou-se um).

Tabela 5 - Teores em NO_3^- e respectivos intervalos de confiança

Tipo de Alface	Amostra	<i>A 405 nm</i>		
		<i>P= 0,05</i>		
		<i>mg de NO_3^- /kg de alface fresca</i>		
Roxa (AR)	I	264,4	±	52,66
	II	312,6	±	219,74
	III	520,6	±	67,45
Lisa Verde (ALV)	I	1632,4	±	383,32
	II	1232,4	±	204,38
	III	2524,9	±	397,70
Frisada Verde (AFV)	I	837,7	±	55,02
	II	746,0	±	47,15
	III	429,7	±	26,64
Horta doméstica (AHD)	I	276,2	±	178,82
	II	387,6	±	248,12
	III	488,7	±	27,02

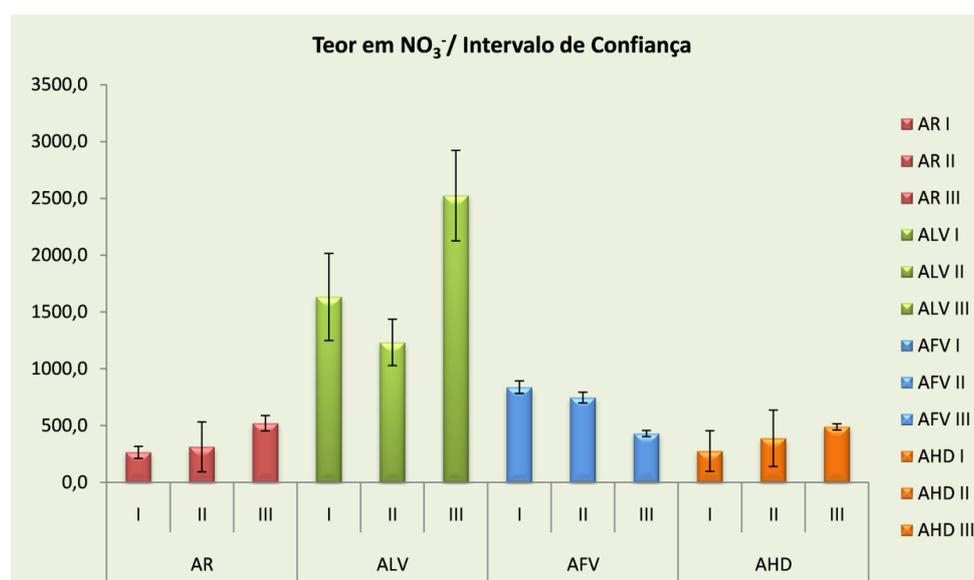


Fig. 2. Teores em NO_3^- (mg de NO_3^- /kg de alface fresca) e respectivos intervalos de confiança

O valor do teor em NO_3^- para a amostra AR II (alface roxa) não apresenta valor significativo, já que o intervalo de confiança respectivo aproxima-se do mesmo.

As amostras AR I (alface roxa) e AR III (alface roxa), assim como AFV (alface frisada verde) conduziram a valores mais baixos em comparação com a amostra ALV (alface lisa verde). Sendo a amostra proveniente da horta doméstica, que por sua vez é do tipo frisada (AHD III), a que apresenta menor intervalo de confiança.

O intervalo de confiança é maior nas amostras referenciadas por ALV (alface lisa verde), e acompanha a tendência de apresentar maior teor em ião nitrato.

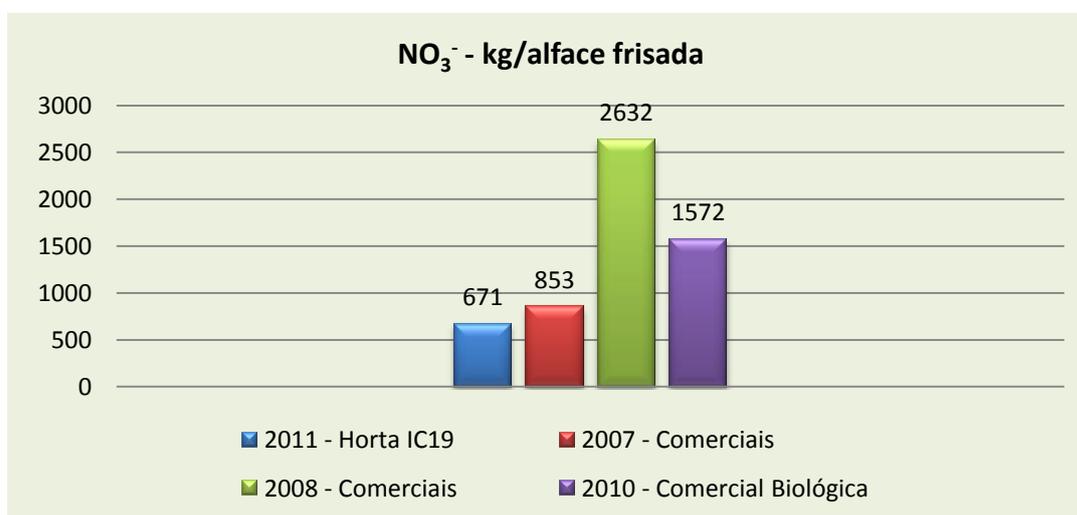


Fig. 3 – Comparação do teor em NO_3^- entre alfaces de diferentes origens

É possível observar uma diferença considerável entre os valores obtidos em 2008 e 2011, sendo esta diferença parcialmente comparável, já que as análises realizadas nestas duas ocasiões possuem particularidades que podem ser factor de viés para os resultados obtidos. Um exemplo disto pode ser tomado pelo facto de terem sido analisadas em diferentes condições de tempo e espaço. Para além do facto de não ser possível obter informações ao nível das plantas estudadas nos anos anteriores, no que diz respeito às condições de plantio, altura da colheita e fase de maturação.

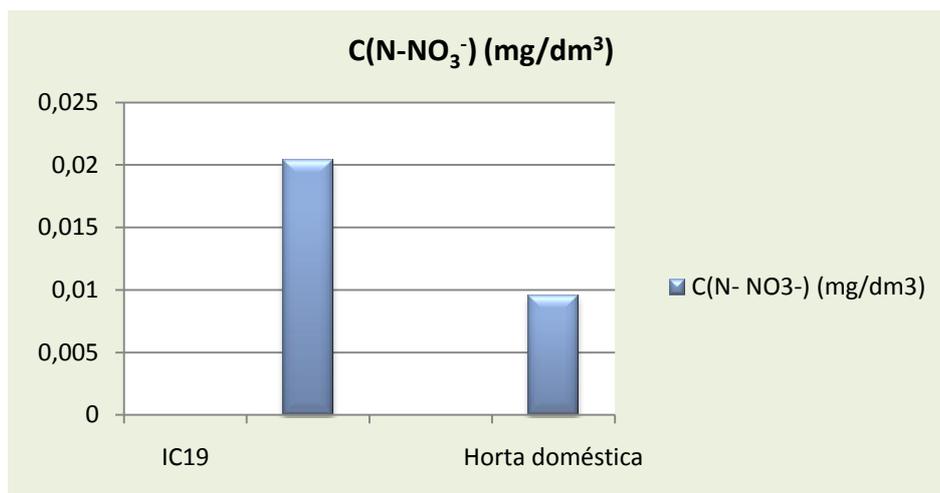


Fig. 4 - Teor em NO₃⁻ em amostra da água usada para regar as hortas

Como se pode observar a partir da figura 7, a concentração de NO₃⁻ na água de rega segue a mesma relação de ordem dos teores em nitrato presente nas alfaces estudadas. A concentração em ião nitrato na água de rega da horta doméstica aproxima-se do branco, enquanto que a amostra advinda da horta junto ao IC 19 é o dobro deste valor. No entanto, em ambos os casos o teor em ião nitrato encontra-se em níveis inferiores aos valores máximos determinados por lei (50 mg/ L).

Tabela 6 - Comparação entre valores de teor em nitrato obtidos no presente estudo e os determinados por lei.

mg de NO ₃ ⁻ / kg de alface fresca			
Variedades	Amostra média	Tipo média	Legislação
Alface roxa (AR)			
I	264,4		
II	312,6	365,8	
III	520,6		
Alface lisa verde (ALV)			
I	1632,4		
II	1232,4	1796,6	
III	2524,9		
Alface frisada verde (AFV)			4000
I	837,7		
II	746,0	650,3	
III	429,7		
Alface horta doméstica (AHD)			
I	367,5		
II	387,6	420,5	
III	488,7		

Ao nível da concentração em ião nitrato por tipo de alface, pode-se observar uma maior incidência nas amostras do tipo lisa verde (ALV), que apresenta valores acima dos 1000 mg de NO₃⁻/ kg de alface fresca.

Como ponto de comparação, as amostras de alface colhidas numa horta doméstica, apresentam teores de ião nitrato inferiores, às amostras de alfaces verdes colhidas na horta situada junto ao IC19.

A concentração em ião nitrato também variou dentro de cada tipo, sendo os valores, na maioria dos casos, muito distintos, como pode ser observado na figura 7.

Os valores médios de teor em ião nitrato encontrados nas amostras analisadas no presente estudo, são claramente inferiores aos valores estabelecidos por lei, para alfaces de inverno.

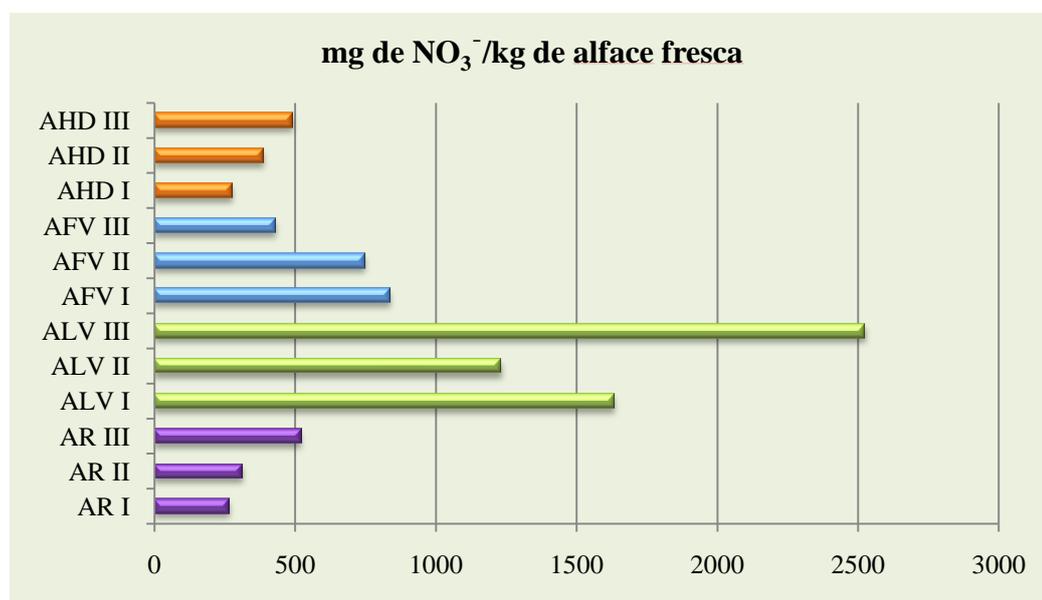


Fig. 5. Comparação do teor em ião nitrato inter-variedades

Discussão e Perspectivas futuras

Recentes estudos epidemiológicos têm demonstrado que os vegetais de folhas verdes estão entre os alimentos com potencial efeito protector contra doenças cardíacas. Os resultados obtidos neste estudo reforçam a ideia de que os benefícios do consumo de frutas e vegetais que possam conter nitrato, superam o risco de desenvolver cancro. No entanto, suportam a necessidade de uma revisão multidisciplinar e sistemática sobre as consequências biológicas da existência de nitrato e nitrito na dieta (Hord, Tang e Bryan, 2009).

O presente estudo, não investigou os efeitos do consumo excessivo de nitrato sobre a saúde, mas concorda com os autores referidos no parágrafo anterior, no sentido em que a necessidade de incentivar o consumo de alimentos vegetais, com vista a prevenir doenças crónicas prevalentes nos dias de hoje, deve ser prioritária. Para tal, o controlo relativamente à presença de contaminantes é extremamente importante, na medida em que poderá garantir maior segurança alimentar.

O *Codex Alimentarius* determina que, para a produção primária de hortaliças de folhas verdes, a higiene em todo o processo de produção deve ser rigorosamente cumprida, com vista a evitar risco de contaminação destes alimentos especialmente susceptíveis. Este facto reforça a importância de acções de esclarecimento e maior rigor no que diz respeito à ingestão dos alimentos produzidos nas hortas junto ao IC 19, que é responsável pelo aporte alimentar de um número considerável de indivíduos, incluindo crianças.

De forma particular, a vertente socioeconómica abordada neste estudo justifica-se tendo em consideração a necessidade destas famílias reaverem a dignidade e autonomia para buscar o seu próprio sustento através do cultivo das hortas. No entanto, estão expostos a possíveis situações de contaminação alimentar, já que não há fiscalização dos produtos ali cultivados. Todavia, vale a pena considerar que estes indivíduos beneficiam de uma alimentação rica em alimentos de origem vegetal, e que economicamente equilibram os gastos com a alimentação.

Os resultados encontrados no presente estudo revelam valores do teor em ião nitrato abaixo dos limites determinados pelo Regulamento CE 1881/2006. Entretanto, um estudo com maior abrangência, ao nível das hortas situadas junto ao IC 19, seria importante para sustentar a hipótese de que os efeitos nocivos do excesso de nitrato nos alimentos podem ser prevenidos sem comprometer o consumo alimentar.

Segundo Katan (2009), indicações de que o nitrato e o nitrito dietéticos reduzem o risco de doença cardiovascular são insuficientes para descurar a presença de nitrato na água potável e em alimentos. Este autor afirma ainda que as alfaces cultivadas no inverno em estufas podem conter oito vezes mais nitrato do que o mesmo tipo de alface cultivada no campo no período do verão, e afirma que mais estudos com o propósito de investigar se o nitrato em vegetais é saudável ou não, é extremamente importante (Katan, 2009).

No presente estudo, compararam-se os resultados das análises realizadas em anos anteriores em alfaces portuguesas, colhidas no inverno, mas de proveniências diversas, e considerando a mesma variedade de alface, encontraram-se valores muito

distintos. Indo ao encontro do estudo acima citado (Katan, 2009), concluiu-se, que as alfaces analisadas no ano de 2008, que apresentaram teores elevados em ião nitrato, poderão ter sido originárias do cultivo em estufa, já que eram comerciais.

Um estudo prospectivo sobre a ingestão de carne, e dieta rica em nitratos, nitritos e nitrosaminas e o risco de glioma, concluiu que o consumo de alimentos curados, combinados com um baixo consumo de vitamina C, em homens, aumentou em 2 vezes esse risco (Michaud *et al.*, 2009).

A relação entre alguns nutrientes e a biodisponibilidade de nitrato e nitrito, assim como os seus efeitos potenciadores para a saúde foi estudada por Zhan *et al.* (2008) A suplementação de L-arginina a 0,7 % administrada em porcos, reforçou a expressão de factores angiogénicos no intestino delgado, pelo aumento da concentração jejunal de nitrito e nitrato. No entanto, em níveis elevados, a suplementação de L-arginina pode provocar disfunção intestinal.

Esta investigação sustenta a complexidade de um estudo acerca do ião nitrato na dieta, já que este pode ser encontrado nos alimentos de origem vegetal e animal transformados pela indústria. Diante deste facto, a continuidade do estudo realizado envolvendo hortas do IC19, dependerá de um rigoroso planeamento dos objectivos e estratégias para avaliar, de forma efectiva, os efeitos e potenciais riscos da presença deste contaminante na dieta dos portugueses.

O processo de suburbanização a que se tem assistido ao longo do eixo urbano Sintra-Lisboa tomou proporções preocupantes. Um dos problemas bem evidentes tem a ver com o congestionamento permanente das acessibilidades a estas áreas, como é o caso do IC 19 (Lisboa, 2005).

Acções de incentivo a produção agrícola com especificidade local, podem contribuir para a criação de novas dinâmicas no espaço rural. Deve-se apostar em produções de qualidade que possam viabilizar e fomentar as explorações agrícolas de reduzida dimensão. É necessário dotar o espaço urbano e rural de uma multifuncionalidade que permita enquadrar produção, preservação, conservação, manutenção da

identidade e património cultural, de modo a assegurar a qualidade de vida das populações.

As hortas do IC 19 são uma forma de preservar a cultura de um povo que fez e faz parte da história de Portugal. E devem estar assentes em políticas que assegurem a qualidade dos alimentos que são produzidos, como é o caso do controlo de determinados contaminantes.

Apesar de haver factores que possam potenciar a presença excessiva de ião nitrato nos vegetais de folha, a adubação é muito importante, porque o teor em nitrato na folha é um parâmetro importante de qualidade. Além disso, uma fonte ideal de nutrientes melhora a qualidade do produto, potencia a produção e reduz os custos de energia (Castoldi, Bechini, e Ferrante, 2010).

Elwan e Abd El-Hamed (2010) levaram a cabo um estudo com o objectivo de determinar a relação e os efeitos em brócolos do uso de azoto (N), e enxofre (S) como fertilizantes e a influência da estação do ano sobre o teor em nitrato e em vitamina C. O estudo concluiu que a eficiência e utilização de N por brócolos pode ser limitada em condições de temperatura mais elevada (mais de 30° C). A fertilização com sulfato de amónio e ureia resultou em redução do teor em ião nitrato neste vegetal. Outra evidência aponta para uma influência genética da planta para acumulação e assimilação de nitrato.

As diferenças de concentração em ião nitrato em alfaces da mesma espécie podem ser explicadas com base no estudo citado acima (Elwan e Abd El-Hamed, 2010). Para além desta hipótese, outros factores como a intensidade de luz, localização no terreno, fase de maturação, tipo de fertilizante a que a planta esteve sujeita, podem estar implicados nas discrepâncias encontradas entre alguns valores obtidos.

Com relação às alfaces da horta doméstica, os valores obtidos aproximam-se do branco, o que pode ser explicado pela diferença no tipo de solo, adubação e água de rega, que apresentou valores mais baixos em ião nitrato, em comparação com a amostra de água de rega da horta situada junto ao IC 19.

São necessários estudos mais aprofundados sobre a problemática citada neste estudo, que relaciona os aspectos socioeconómicos e saúde no cultivo de alimentos em hortas junto ao IC 19.

Ao nível da saúde, existem factores não controláveis que podem condicionar os efeitos nocivos da ingestão excessiva de nitrato. Uma das condições, é a individualidade ao nível fisiológico. Sendo a via oral a mais importante fonte de contaminação por nitrito, dada pela conversão por bactérias, para indivíduos com um elevado índice de conversão, a exposição ao nitrito (tóxico) pode aumentar consideravelmente. Para além disto, o consumo de muitos alimentos que são fonte de nitrato em quantidades excessivas deve ser controlado.

O nitrato não é nocivo ao meio ambiente, é essencial e extremamente importante para as plantas e, como todos os nutrientes, apenas em quantidades excessivas é prejudicial. Depois da água, CO₂ e O₂, o azoto é o nutriente mais importante para as plantas. O nitrato é a única fonte de azoto utilizada por estes seres vivos, e sem este elemento não sobrevivem (USDA, 2005).

Um ponto importante a referir, e que será prioridade na continuação deste estudo, é a questão dos poluentes emitidos pelos carros, questão que não foi aprofundada neste estudo. O que podemos supor, diante dos resultados obtidos, é que não haverá influência significativa do tráfego no teor em ião nitrato nas amostras de alface colhidas na horta junto ao IC 19. Contudo, mais estudos são necessários para correlacionar os vários factores envolvidos nesta questão.

Futuramente, poderá avaliar-se de forma mais rigorosa a definição da metodologia, devendo-se nomeadamente controlar a amostragem com vista a excluir alguns vieses como: a localização da planta no terreno; o uso ou não de fertilizante, o seu tipo e quantidade, bem como o intervalo de utilização; intensidade da exposição à luz solar; período de maturação, entre outros.

Os aspectos socioeconómicos mencionados ao longo deste estudo serão também mais aprofundados na continuidade desta investigação, já que não foram encontrados estudos que abordassem este tema, aplicado ao cultivo de hortas.

Conclusão

O que este estudo objectivou não foi, de forma alguma, incidir meramente sobre a questão da presença do ião nitrato em alfaces, mas sim sobre a vertente quantitativa desta substância num alimento tão consumido, e que poderá constituir um risco para a saúde humana.

Com relação aos teores em ião nitrato nas alfaces analisadas neste estudo, apesar de estes terem estado abaixo dos limites determinados, não é prudente tirar conclusões definitivas acerca dos mesmos, pelo facto da amostra ser pequena.

A fim de maximizar os benefícios para a saúde pelo consumo de vegetais, espera-se que sejam tomadas medidas que reduzam a exposição excessiva ao nitrato e ao nitrito, para garantir que o consumo recomendado de vegetais seja alcançado pela população.

A atenção ao uso de fertilizantes, ao armazenamento e ao manuseamento dos alimentos crus, com o objectivo de minimizar as possíveis contaminações, é muito importante.

A importância sobre o aspecto cultural e socioeconómico que circunda a temática das hortas do IC 19, foi vista como um factor preponderante na necessidade de continuar este estudo, e investigar ao nível da saúde, questões relacionadas com o consumo alimentar de todos os indivíduos que beneficiam destas hortas, assim como a estimativa do impacto ao nível da saúde pública, caso os produtos cultivados sejam afectados pela presença de contaminantes.

Agradecimentos

Agradeço a todos os que estiveram envolvidos directa e indirectamente neste estudo, pela riqueza de experiências vividas e conhecimentos adquiridos.

Bibliografia

Codex Alimentarius . (s.d.). *Codex Alimentarius* .Disponível *on line* em: FAO/WHO Standards: http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp. Último acesso em 01-05-2011.

Annals of Botany. (2003). *A Dynaic Model for Nitrogen-stressed Lettuce*. Annals of Botany , 623-635.Israel.

Broadley, M. R., Seginer, I.e Burns, A.(2003). *The Nitrogen and nitrate economy of butterhead lettuce (Lactuca sativa var. capitata L.)*. Journal of Experimental Botany , 2081-2090.

Castoldi, N., Bechini, L., e Ferrante, A. (2010). *Fossil energy usage for the production of baby leaves*. Elsevier , 86-93.

Castro, S. R., e Ferraz Jr, A. S. (01 de maio de 1998). *Teores de Nitrato nas folhas e produção da alface cultivada com diferentes fontes de nitrogénio*. Horticultura Brasileira , pp. 65-67.

Cataldo *et al.*, (1975). *Rapid Colorimetric Determination of Nitrate in Plant Tissue by Nitration of Salicylic Acid*. Communications Soil Science and Plant Analysis , 6, 71-80.

Chan, T. (2010). *Vegetable-borne nitrate and nitrite and risk of methaemoglobinaemia*. Elsevier , 107-108.

Cometti *et al.*,(Outubro/Dezembro de 2004). *Compostos Nitrogenados e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, Hidropónica e Convencional*. Horticultura Brasileira , pp. 748-753.

Decreto-lei nº 243/01 de 5 de Setembro. *Diário da República* nº 206/01 - I Série A.

Domingues *et al.*,(2008). *Acúmulo de Compostos Nitrogenados e atividade da redutase do Nitrato em alface produzida sob diferentes sistemas de cultivo*. Pesquisa Agropecuária Tropical , pp. 180-187.

Elwan, M., e Abd El-Hamed, K. (2010). *Influence of nitrogen form, growing season and sulfur fertilization on yield and the content of nitrate and vitamin C of broccoli*. Elsevier , 181-187.

FAO/WHO. (2004). *Fruit and vegetables for health. Report of a Joint FAO/WHO workshop*, (pp. 7-44). Japão: World Health Organization

Faquin, V. (2004). *Acúmulo de Nitrato em hortaliças e Saúde Humana*. Minas Gerais, Brasil: Universidade Federal de Lavras.

Hord, N. G., e Tang, Y. (2009). *Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potencial health benefits*. American Journal of Clinical Nutrition , 1-10.

ATTRA. *National Sustainable Agriculture Information Service*. Disponível on line em: <http://attra.ncat.org/> Último acesso em: 15-06-2010.

INE. (novembro de 2010). *Balança Alimentar Portuguesa 2003-2008. Dieta Portuguesa afasta-se das boas práticas nutricionais* . Lisboa: Instituto Nacional de Estatística.

INSA.(2006). *Tabela da Composição de Alimentos*. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

Katan, M. (2009). *Nitrate in foods: harmful or healthy?* American Journal of Clinical Nutrition , 11-12.

Krohn, N. G., Missio, R. F., e Ortolan, M. L. (Janeiro/Abril de 2003). *Teores de Nitrato em folhas de alface em função do horário de coleta e do tipo de folha amostrada*. pp. 216-219.

Larsen *et al.*,(2006). *Effects of Dietary Nitrate on Blood Pressure in Healthy Volunteers*. The New England Journal of Medicine , 2792-2793.

Leeuwen, R. V. (2006). *Health Impact of chemicals in Food*. Geneva: National Institute for Public Health and the Environment,1-23.

Lima *et al.*, (2008). *Acúmulo de compostos nitrogenados e atividade da redutase do nitrato em alface produzida sob diferentes sistemas de cultivo*. Pesquisa Agropecuária Tropical , 180-187.

Instituto Superior de Agronomia/Universidade Técnica de Lisboa. (2005). *Plano Verde do concelho de Sintra - 1ª fase*. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia/Universidade Técnica de Lisboa.

Loh *et al.*, (2011). *N-nitroso compounds and cancer incidence: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) - Norfolk Study*. American Journal of Clinical Nutrition , 1053-1061.

Mantovani *et al.*, (2005). *Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal*. Pesquisa Agropecuária Brasileira , 53-59.

Maroco, J. (2003). *Análise Estatística - com utilização do SPSS*. Lisboa: Sílabo.

Michaud *et al.*, (2009). *Prospective study of meat intake and dietary nitrates, nitrites, and nitrosamines and risk of adult glioma*. American Journal of Clinical Nutrition , 570-577.

Murteira, M. (*data desconhecida*). *Hortas do IC 19*. Disponível *on line* em: <http://www.mariomurteira.com/dados.html> Último acesso em 10-05-2011.

Observatório dos mercados agrícolas e das importações agro-alimentares. (2009). Disponível *on line* em: <http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?iditem=133> Último acesso em 25 -04-2011.

Presley *et al.*, (2010). *Acute effect of a high nitrate diet on brain perfusion in older adults*. Elsevier , 34-42.

Prota Foundation. (2004). *Plant Resources of Tropical Africa 2 - Vegetables*. Netherlands: Backhuys Publishers, 431-450

Regulamento (CE) N° 1881/06 Da Comissão de 19 de Dezembro. Jornal Oficial das Comunidades Europeias n° L 210, de 11 de Agosto de 2010.

Rodrigues, M. A. (2006). *Utilização de fertilizantes e qualidade dos produtos vegetais: o problema dos nitratos*. Bragança: Escola Superior Agrária.

Santamaria, P. (2006). *Review - Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation*. Journal of the Science of Food and Agriculture , 10-17.

Santos, A. I. (2008). *Determinação Espectrofotométrica de Nitrato em Alfaces*. Lisboa: Faculdade de Ciências - Universidade de Lisboa.

Santos, F. R., Nobre, A. L., e Quinteiro, L. M. (2001). *Níveis de nitrato em alfaces cultivadas por diferentes técnicas de adubagem - inorgânica, orgânica e hidroponia - no estado do Rio de Janeiro*. Brasil: Revista Universidade Rural.

Saraiva, J. H. (2007). *História Concisa de Portugal*. Mem Martins: Publicações Europa-América .

USDA. (2005). *Petition: Evaluation of natural sodium nitrate (also sometimes called chilean nitrate) against criteria for substances added to the national list*. Washington, D.C.: United States Department of Agriculture.

ASAE. (2009). *Perfil de risco dos principais alimentos consumidos em Portugal*. Lisboa: Autoridade de Segurança Alimentar e Económica.

WHO. (2007). *Nitrate and nitrite in drinking-water- Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality*. World Health Organization.

WHO. (2011). *Water Sanitation and Health (WSH) - Water-related diseases*. Disponível *on line* em: http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/methaemoglob/en/WHO. Último acesso em 09-05-2011

Zhan *et al.*, (2008). *Dietary arginine supplementation affects microvascular development in the small intestine of early-weaned pigs*. *The Journal of Nutrition* , 1304-1309.

Anexos

Anexo 1a. Valores de absorvância e respectivas médias para todas as amostras em separado.

<i>Tipo de Alface/ Amostra</i>	<i>A (405 nm)</i>	<i>A_{média} (405 nm)</i>
AR I	1	0,048
		0,048
		0,048
	2	0,034
		0,036
		0,034
	3	0,045
		0,044
		0,044
AR II	1	0,038
		0,037
		0,037
	2	0,031
		0,031
		0,031
	3	0,083
		0,087
		0,087
AR III	1	0,065
		0,067
		0,069
	2	0,073
		0,074
		0,075
	3	0,081
		0,085
		0,084

<i>Tipo de Alface/ Amostra</i>	<i>A (405 nm)</i>	<i>A_{média} (405 nm)</i>	
ALV I	1	0,022	0,156
		0,223	
		0,224	
	2	0,288	0,289
		0,289	
		0,290	
	3	0,247	0,247
		0,247	
		0,247	
ALV II	1	0,205	0,204
		0,204	
		0,204	
	2	0,199	0,200
		0,200	
		0,202	
	3	0,144	0,146
		0,147	
		0,148	
ALV III	1	0,322	0,323
		0,324	
		0,324	
	2	0,330	0,331
		0,331	
		0,331	
	3	0,255	0,255
		0,255	
		0,255	

<i>Tipo de Alface/ Amostra</i>	<i>A (405 nm)</i>	<i>A_{média} (405 nm)</i>
AFV I	1	0,105
		0,107
		desprezado
	3	0,099
		0,100
	0,099	0,099
AFV II	1	0,092
		0,093
		0,094
	2	0,096
		0,096
		0,096
		0,096
AFV III	3	0,080
		0,086
		0,086
		0,093
		0,086
AFV I	1	0,056
		0,056
		0,056
	2	0,046
		0,052
		0,051
		0,055
	3	0,054
		0,056
	0,056	
	0,057	0,056

<i>Tipo de Alface/ Amostra</i>	<i>A (405 nm)</i>	<i>A_{média} (405 nm)</i>	
AHD I	1	0,031	0,036
		0,036	
		0,041	
	2	0,056	0,058
		0,058	
		0,059	
	3	0,011	0,014
		0,015	
		0,017	
AHD II	1	0,024	0,024
		0,024	
		0,024	
	2	0,042	0,048
		0,049	
		0,052	
	3	0,075	0,076
		0,076	
		0,077	
AHD III	1	0,058	0,058
		0,058	
		0,059	
	2	0,055	0,061
		0,063	
		0,066	
	3	0,064	0,064
		0,064	
		0,064	