

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEUHYGIENE
BILTHOVEN

Rapport nr. 388474009

Dagelijkse opneming van nitraat, nitriet en
Vluchtige N-nitrosaminen, bepaald via analyse
van duplicaat 24-uurs voedingen, bemonsterd
in 1984/1985

G. Ellen, E. Egmond en E. Th. Sahertian

Januari 1988

Dit onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van de Hoofdinspectie van de Volksgezondheid voor de Levensmiddelen en de Keuring van Waren en is beschreven in projectbeschrijving 388474 (voorheen 842123; projectleider: H.A.M.G. Vaessen); opdrachtbrief 71.010 sch/LR d.d. 7 maart 1985.

VERZENDLIJST bij Rapport nr. 388474 009

- 1- 5 Hoofdinspecteur van de Volksgezondheid voor de Levensmiddelen en de Keuring van Waren.
- 6 Secretaris-Generaal van het Ministerie van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur.
- 7 Directeur-Generaal van de Volksgezondheid.
- 8 De plv. Directeur-Generaal van de Volksgezondheid, tevens de Hoofddirecteur Financiering en Planning.
- 9 De Hoofddirecteur van de Gezondheidsbescherming.
- 10 De Hoofddirecteur van de Gezondheidszorg.
- 11-21 De leden van de werkgroep Coördinatie Onderzoek Nitrosaminen.
- 22 Directie van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne.
- 23 Dr. R. Kroes.
- 24 Drs. C.A. van der Heijden.
- 25 Dr. H.A.M.G Vaessen.
- 26 Dr. H.A. van 't Klooster/Dr. P.A. Greve.
- 27 Dr. R.W. Stephany.
- 28 Ir. H.P van Egmond, Dr. L.A. van Ginkel, Dr. G. de groot.
- 29-31 Auteurs.
- 32 Bureau Projecten- en rapportenregistratie.
- 33-40 Reserve-exemplaren.

Ter vertrouwelijke informatie aan:

- 41 Het Nederlands Instituut voor Agrarisch Marktonderzoek.
- 42 Directeur van de Rijkskeuringsdienst van Waren voor het gebied Goes.
- 43 Directeur van de Rijkskeuringsdienst van Waren voor het gebied Haarlem.
- 44 Directeur van de Rijkskeuringsdienst van Waren voor het gebied Friesland.
- 45 Directeur van de Rijkskeuringsdienst van Waren voor het gebied Maastricht.

INHOUDSOPGAVE

	<u>Pagina</u>
SAMENVATTING	1
SUMMARY	3
1. INLEIDING	5
2. MONSTERMATERIAAL	5
3. BEPALINGSMETHODEN	6
3.1. Nitraat en nitraat	
3.2. Vluchtige N-nitrosaminen	
4. RESULTATEN EN DISCUSSIE	9
4.1. Nitraat en nitriet	
4.2. Vluchtige N-nitrosaminen	
5. CONCLUSIES	14
6. LITERATUUR	14

RIVM Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne

Rapport nr. 388474 009

januari 1988

Dagelijkse opneming van nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen, bepaald via analyse van duplicaat 24-uurs voedingen, bemonsterd in 1984/1985.

G. Ellen, E. Egmond en E.Th. Sahertian

SAMENVATTING

Dit rapport beschrijft de resultaten van onderzoek naar de dagelijkse opneming via voedsel en drank van nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen. Voor het onderzoek stonden 110 duplicaten van 24-uurs voeding ter beschikking, verzameld door proefpersonen uit de regio Utrecht. De bemonstering vond plaats in oktober 1984 (56 personen) en in maart 1985 (54 personen). De twee groepen proefpersonen waren zodanig samengesteld dat ze een zo getrouw mogelijke afspiegeling vormden van de Nederlandse volwassen bevolking. Aan het onderzoek namen 52 vrouwen en 58 mannen deel, in leeftijd variërend van 18 tot 74 jaar. De bepalingen van nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen werden verricht met reeds jaren in gebruik zijnde en gevalideerde methoden van onderzoek. Ter kwaliteitsbewaking van de resultaten werden monsters in meervoud geanalyseerd en werden blanco- en opbrengstexperimenten verricht. Er werd geen duidelijk verschil gevonden tussen de dagelijkse opneming aan nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen tussen de twee bemonsteringsperioden. De gemiddelde nitraatopneming van alle 110 deelnemers was 52 mg NO_3^- /etmaal, d.w.z. ongeveer een kwart van de Acceptable Daily Intake (ADI), 220 mg per dag. Drie proefpersonen overschreden de ADI voor nitraat door resp. 270, 370 en 500 mg NO_3^- te consumeren. De gemiddelde dagelijkse nitraatopneming bedraagt ongeveer de helft van die gemeten in 1976/1978. De hoogste dagelijkse opneming van nitriet (0,7 mg NO_2^-) is minder dan 10% van de ADI (8 mg NO_2^-). Evenals voor nitraat geldt dat de nu gemeten dagelijkse opneming aan nitriet aanzienlijk lager is dan in 1978. Een verminderde consumptie van nitraatrijke groenten en als gevolg van overheidsmaatregelen een opgetreden

daling van nitraatgehalten in groenten en van nitraat- en nitrietgehalten in vleeswaren, vormen een mogelijke verklaring voor de dalingen t.a.v. de onderzoeken in 1976/1978.

In slechts één duplicaatvoeding werd een meetbare hoeveelheid N-nitrosodimethylamine (NDMA) gevonden, nl., 1,5 microgram; voorts bevatte één monster 2,9 microgram N-nitrosopiperidine. Ook dit betekent een sterke verbetering t.o.v. 1976/1978. Deze verbetering moet voornamelijk worden toegeschreven aan de daling van de NDMA-gehalten in bier sinds 1980, maar ook mede aan een daling van gehalten aan N-nitrosaminen in vleeswaren sinds de jaren zeventig.

National Institute of Public Health and Environmental Protection

RIVM Report nr. 388474 009

January 1988

Daily intakes of nitrate, nitrite and volatile N-nitrosamines estimated by analysis of duplicate 24-hours diet portions sampled in 1984/1985.

G. Ellen, E. Egmond and E.Th. Sahertian

SUMMARY

This report describes the results of an investigation upon daily intakes by food and drinks of nitrate, nitrite and volatile N-nitrosamines. Duplicate portions of a 24-hour diet from 110 volunteers living in the region of Utrecht were available. The duplicate diets were collected in October 1984 (56 persons) and in March 1985 (54 persons). The two groups of volunteers had been composed in such a way that they reflected as closely as possible the Dutch population of adults. The groups of volunteers consisted of 52 females and 58 males, varying from 18 to 74 years of age. Determinations of nitrate, nitrite and volatile N-nitrosamines were carried out with validated methods already several years in use. To check the reliability of results, some samples were analysed in duplicate and blank experiments and recovery tests were carried out. No distinct difference was found in the daily intakes of nitrate, nitrite and N-nitrosamines between the two sampling periods. The average nitrate intake of all 110 participants was 52 mg NO_3^- /day, i.e. about 25% of the Acceptable Daily Intake (ADI) of 220 mg per day. Three volunteers exceeded the ADI, they consumed 270, 370 and 500 mg NO_3^- , respectively. The average nitrate intake is about half the amount found in 1976/1978. The highest nitrite intake found (0.7 mg NO_2^- /day) is less than 10% of the ADI (8 mg NO_2^-). As for nitrate, the nitrite intake is considerably less than in 1978. A lower consumption of nitrate-rich vegetables, and as a result of governmental measures occurred reduction of nitrate levels in vegetables and of nitrate -and nitrite levels in cured meats, probably caused this difference in regard with the situation in 1976/1978. Only one duplicate diet portion contained a detectable amount of N-nitrosodimethylamine (NDMA), 1.5 microgram. Also only one sample

contained N-nitrosopiperidine (2.9 microgram). This also means a considerable improvement in regard with the situation in 1976/1978. This improvement probably is due to the reduction of NDMA-levels in beer since 1980 and to a reduction of the N-nitrosamine levels in cured meats since the seventies.

1. INLEIDING

In 1976 en 1978 verrichtte het toenmalige Rijksinstituut voor de Volksgezondheid (RIV) onderzoek naar de dagelijkse inneming van nutriënten en contaminanten via de voeding door analyse van duplicaat 24-uurs voedingen, verzameld en beschikbaar gesteld door vrijwilligers van het eigen instituut. In 1976 werden 100 monsters van evenzovele medewerkers verzameld en geanalyseerd, in 1978 waren dit er 101. Een belangrijk punt van kritiek op de opzet van het onderzoek was naderhand dat de aldus verkregen gegevens niet per sé representatief hoeven te zijn voor de gemiddelde volwassen Nederlander.

In overleg met de Hoofdinspectie van de Volksgezondheid voor de Levensmiddelen en de Keuring van Waren (HIL) werd besloten om in 1984/1985 een soortgelijk duplicaat 24-uurs voedingen onderzoek uit te voeren. Nu werd gekozen voor proefpersonen uit de regio Utrecht. De selectie en de voorlichting van de proefpersonen (vrijwilligers) evenals het inzamelen van de monsters werd verzorgd door het Nederlands Instituut voor Agrarisch Marktonderzoek (NIAM). Twee groepen van elk 56 personen werden geselecteerd, zodanig dat deze qua geslacht, leeftijd en sociale omstandigheden een zo goed mogelijke afspiegeling vormen van de Nederlandse volwassenen. De verkregen duplicaat porties van 24-uurs voedingen werden geanalyseerd op een groot aantal nutriënten en contaminanten. In dit rapport worden de resultaten beschreven van het onderzoek van de monsters op gehalten aan nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen. Resultaten voor de overige analyten zijn of worden in andere rapporten opgenomen.

2. MONSTERMATERIAAL

Door het NIAM werden in totaal 112 duplicaten van 24-uurs voedingen van 112 verschillende personen verzameld. Een groep van 56 personen werd bemonsterd in een periode van één week (8 personen per dag) in oktober 1984, een andere groep van 56 personen in één week in maart 1985.

Via een door de vrijwilligers in te vullen formulier werd tevens kwalitatieve informatie verkregen over hetgeen de proefpersonen op de

verzamel dag hadden geconsumeerd en dus verzameld. Voor een uitvoerige beschrijving van de wijze van verzamelen, bewaren, homogeniseren en voorbereiden van de monsters wordt verwezen naar een ander rapport (6.1). Veel zorg werd besteed aan het voorkómen van microbiel bederf van de duplicaat voedingen tijdens opslag bij de proefpersonen thuis. Door de verzamelvaten in geïsoleerde dozen voorzien van vast koolzuur en diepgevroren koelelementen werd gewaarborgd dat het verzamelde monstermateriaal snel werd afgekoeld en in bevroren toestand bleef tot het moment van afleveren bij het laboratorium. Dit is onder meer van belang om bacteriele reductie van nitraat tot nitriet tegen te gaan.

Voor onderzoek op nitraat en nitriet werd gebruik gemaakt van gehomogeniseerde en gevriesdroogde deelporties van de 24-uurs duplicaatvoedingen. Omdat vluchtige N-nitrosaminen tijdens vriesdrogen uit het monstermateriaal kunnen verdwijnen, werd voor het bepalen van deze verbindingen gebruik gemaakt van deelmonsters uit het gehomogeniseerde niet gevriesdroogde materiaal.

Van de 112 deelnemers bleken er twee zich niet aan de verzamelinstructies te hebben gehouden, zodat geen compleet duplicaat van alle voedsel en drank gedurende 24 uur genuttigd werd verkregen. Deze twee monsters zijn verder buiten beschouwing gelaten zodat 110 monsters voor onderzoek overbleven.

3. BEPALINGSMETHODEN

3.1. Nitraat en nitriet

Voor het bepalen van de nitraat- en nitrietgehalten werd gebruik gemaakt van een colorimetrische methode, waarbij nitraat via reductie met een cadmiumkolom wordt omgezet in nitriet. Het ontstane nitriet laat men in zuur milieu met sulfanilamide en N-(1-naftyl)ethyleendiamine reageren tot een violette azokleurstof, waarvan de lichtabsorptie wordt gemeten bij 538 nm. Door de kleurreactie uit te voeren met deelmonsters van het waterige extract die niet, respectievelijk wel via de cadmiumkolom zijn behandeld, kunnen zowel nitriet als nitraat worden bepaald. Deze -vrij bewerkelijke- methode wordt algemeen beschouwd als een referentiemethode voor het bepalen van nitriet en nitraat. Door verschillende instanties zijn voorschriften

gebaseerd op deze methodiek op schrift gesteld, bijv. door de EG voor vlees en vleeswaren; door ISO en de International Dairy Federation (IDF) voor melk- en weipoeder en door de Adviescommissie Warenwet voor groenten. De verschillen tussen deze methoden betreffen vrijwel uitsluitend de manier waarop het waterige extract wordt bereid en vervolgens geklaard door neerslaan van de aanwezige eiwitten.

Voor het onderhavige onderzoek werd gebruik gemaakt van de methode zoals beschreven in de EG-documenten 4340/VI/72-E en 4522/VI/72-E voor vlees en vleeswaren. Deze methode werd ook toegepast en op betrouwbaarheid getoetst voor het onderzoek van baby- en kleutervoeding op gehalten aan nitraat en nitriet (6.2). Voorts is deze methode dezelfde als die gebruikt bij het onderzoek van duplicaatvoedingen bemonsterd in 1976/1978, hetgeen de vergelijkbaarheid van de resultaten verkregen in de verschillende onderzoeken ten goede komt.

Bij het onderzoek werd steeds een analyseportie van 10 gram gevriesdroogd materiaal in bewerking genomen. De bepaalbaarheidsgrenzen liggen voor nitraat en nitriet bij resp. 0,2 mg NO_2^- en 1 mg NO_3^- per kg gevriesdroogd produkt. Rekening houdend met een droge stof gehalte van ca. 20% en een totale hoeveelheid van ongeveer 2 kg per 24-uurs duplicaatvoeding, betekent dit dat 0,1 mg NO_2^- en 0,5 mg NO_3^- voor de inneming per dag nog bepaald kan worden. Teneinde de betrouwbaarheid van de analyses te controleren werd een kandidaat referentiemateriaal melkpoeder van de BCR (BCR-150) in 9-voud geanalyseerd. Het verwachte gehalte aan nitraat in dit produkt ligt tussen 25-35 mg NO_3^-/kg , gebaseerd op de toegevoegde hoeveelheid nitraat en het oorspronkelijke gehalte in de melk. Bij het certificeringsonderzoek in 1983 liepen de analyseresultaten van de deelnemende laboratoria zoveel uiteen, nl. van 18-33 mg NO_3^-/kg , bij een gemiddelde van 27, dat besloten werd het materiaal niet voor het nitraatgehalte te certificeren. Standaardreferentiematerialen, gecertificeerd voor nitraatgehalte bleken niet verkrijgbaar, zodat met dit niet al te stevige houvast genoeg werd genomen. Analyse van dit materiaal in 9-voud leverde een gemiddeld gehalte op van 25 mg NO_3^-/kg met een standaarddeviatie van 2,2 mg/kg. Voorts werden 6 van de duplicaatvoedingen monsters in duplo geanalyseerd, uiteenlopend in gehalte van 53 tot 250 mg $\text{NO}_3^-/24$ uren voeding. Het verschil tussen de duplowaarden - d.w.z. (hoogste min laagste) gedeeld door gemiddelde en vermenigvuldigd met 100% - varieerde van 0-21%, gemiddeld 7,6%.

Tenslotte werden met drie monsters opbrengstexperimenten voor nitraat uitgevoerd, de terugvindingspercentages waren 81, 94 en 99%. Op grond van het bovenstaande kan worden geconcludeerd dat grote afwijkingen (globaal > 20%) in de analyse-uitkomsten onwaarschijnlijk zijn. Het merendeel van de te onderzoeken monsters bevatte geen aantoonbare hoeveelheden nitriet. Omdat het bepalen van nitriet in de praktijk, o.a. door het ontbreken van een reductiestap, minder problemen oplevert dan nitraat, en vanwege het grote percentage negatieve monsters, zijn voor nitriet geen herhaalbaarheids- en opbrengstexperimenten uitgevoerd. Bij een enige jaren geleden uitgevoerd onderzoek naar N-nitrosaminen en nitriet in vleeswaren (6.3) werden wel opbrengstexperimenten met nitriet uitgevoerd. Het gemiddelde terugvindingspercentage, gemeten bij 11 verschillende monsters bedroeg daarbij 95%, uiterste waarden 72-113%.

3.2. Vluchtige N-nitrosaminen

Voor het bepalen van vluchtige N-nitrosaminen werd een methode toegepast die al sinds enige jaren bij ons in gebruik is, en is opgenomen in een boekwerk met geselecteerde bepalingsmethoden voor N-nitrosaminen (6.4). Beknopt weergegeven is de werkwijze als volgt: Van het te onderzoeken monster wordt 25 gram gemengd met verdunde loog, water en glycerol, waarna de vluchtige N-nitrosaminen door destillatie onder vacuüm uit de matrix worden geïsoleerd. Het destillaat wordt aangezuurd en vervolgens geëxtraheerd met dichloormethaan. Het extract wordt ingedampt tot een klein volume, en een deel ervan wordt ingespoten in een gaschromatograaf gekoppeld aan een Thermal Energy Analyzer (TEA) detector. De resultaten worden kwalitatief en kwantitatief geevalueerd door retentietijden en piekoppervlakken te vergelijken met die verkregen voor standaardoplossingen.

De standaardoplossing bevat de navolgende N-nitrosaminen : N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosodiethylamine (NDEA), N-nitrosodi-n-propylamine (NDPA), N-nitrosodiisopropylamine (NDiPA), N-nitrosopiperidine (NPIP), N-nitrosopyrrolidine (NPYR), N-nitrosomorfoline (NMOR) en N-nitrosothiazolidine (NTHZ). Indien een monster andere vluchtige N-

nitrosaminen bevat dan de hier genoemde, zullen deze als "onbekende" N-nitrosaminen in het chromatogram worden waargenomen. Ter controle op en correctie voor verliezen aan te bepalen N-nitrosaminen tijdens de isolatie-procedure wordt aan het te onderzoeken monster NDiPA op een niveau van 5 µg/kg toegevoegd. De grens van bepaalbaarheid hangt af van de structuur van de bewuste N-nitrosoverbinding; voor NDMA, NDEA en NDPA is deze 0,1 µg/kg, voor NPIP, NPYR en NMOR 0,2 µg/kg en voor NTHZ 0,5 µg/kg. Globaal komt dit neer op respectievelijk 0,2, 0,4 en 1,0 µg per 24-uurs voeding van de betreffende verbindingen.

De gemiddelde opbrengst voor de interne standaard (NDiPA) voor alle 110 monsters bedroeg 84%, bij een spreiding van 67-100%. Voorts werd met drie monsters nog een opbrengstexperiment uitgevoerd waarbij alle 8 hiervoor genoemde N-nitrosaminen op een niveau van 5 µg/kg werden toegevoegd. Daarbij werden de navolgende gemiddelde opbrengstpercentages gevonden: NDMA: 87%, NDEA: 89%, NDiPA: 93%, NDPA: 91%, NPIP: 72%, NPYR: 50%, NMOR: 56% en NTHZ: 54%. Teneinde vals-positieve resultaten uit te sluiten werd met elke serie monsters tevens een blanco-monster geanalyseerd, waarbij geen storende signalen werden waargenomen.

4. RESULTATEN EN DISCUSSIE

4.1. Nitraat en Nitriet

De analyseresultaten van alle monsters, alsmede gegevens over consumptie van groenten en vleeswaren zijn vermeld in de tabellen 2 en 3 achter in dit rapport. Alle 110 24-uurs voedingen bevatten een aantoonbare hoeveelheid nitraat, daarentegen werd nitriet in slechts 4 van de monsters uit oktober 1984 en in 12 van de monsters uit maart 1985 aangetoond. Zowel voor nitraat als voor nitriet liggen de in 1984/1985 gemeten waarden voor de opneming per etmaal aanzienlijk lager dan in 1976/1978 (6.5). Een overzicht hiervan is weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1. Nitraat en nitriet in duplicaat 24-uurs voedingen, bemonsterd in 1976/1978 en 1984/1985, uitgedrukt als mg NO₃⁻ per etmaal.

Bemonsterings- periode	NO ₃ ⁻			NO ₂ ⁻		
	gemiddelde	mediaan	bereik	gemiddelde	mediaan	bereik
1976 (zomer)	130	89	18-570	4,2	3,5	1,1-33
1978 (winter)	89	52	9-706	0,4	0,3	<0,1-2,1
1984 (herfst)	54	33	2-500	<0,1	<0,1	<0,1-0,7
1985 (voorjaar)	50	21	2-370	<0,1	<0,1	<0,1-0,7

Bladgroenten en rode bieten zijn voedingsmiddelen waarin doorgaans zeer hoge nitraatgehalten voorkomen, tot enige duizenden mg/kg verse waar. Het is dan ook niet verwonderlijk, dat met één uitzondering, bij alle monsters met een nitraatgehalte hoger dan 100 mg NO₃⁻/etmaal, sprake was van consumptie van andijvie, sla, prei, spinazie of rode bieten (zie tabellen 2 en 3). De hoogste nitraatgehalten werden gevonden in 24-uurs voedingen met rode bieten (500 mg NO₃⁻) en spinazie (370 mg NO₃⁻). Dat de in 1984/1985 gevonden dagelijkse nitraatopneming duidelijk lager is dan in 1976/1978 kan als oorzaak hebben dat de groepen proefpersonen zowel qua frequentie als omvang verschilden in consumptie van nitraatrijke groenten. Tevens kan een rol spelen dat als gevolg van Nederlandse overheidsmaatregelen ter zake, de nitraatgehalten van andijvie, sla en spinazie gedaald zijn. Overigens stemt de door ons nu gemiddeld gevonden dagelijkse opneming van 52 mg NO₃⁻ goed overeen met onlangs gemeten waarden in Engeland: 60 mg NO₃⁻ gemiddeld per dag (6.6). Dat de wijze van bemonsteren of samenstellen van het te onderzoeken levensmiddelenpakket van grote invloed is op de uitkomsten blijkt uit twee andere recente publicaties over de nitraat-inneming via de voeding in Engeland (6.7 en 6.8) waarin respectievelijk een gemiddelde opneming van 38* en 95 mg NO₃⁻/etmaal wordt vermeld.

* dit betreft alleen de opneming via groenten, aannemend dat groenten 3/4 uitmaken van de totale opneming komt dit neer op een totale opneming van ca. 50 mg NO₃⁻/dag.

Nitriet wordt - evenals nitraat - toegevoegd bij de bereiding van vleeswaren. In Nederlandse verduurzaamde vleeswaren werden bij onderzoek in 1984 dan ook nitrietgehalten gemeten van <1 tot 90 mg NO_2^-/kg (6.3). Het merendeel der monsters (120 van de 140) bevatte minder dan 20 mg NaNO_2/kg , d.w.z. minder dan 14 mg NO_2^-/kg . In andere voedingsmiddelen komt onder normale omstandigheden geen nitriet in meetbare hoeveelheden voor, behalve als dit is ontstaan door microbiële reductie van nitraat (bederf). In dit laatste moet de oorzaak worden gezocht voor het grote verschil tussen de nitriet-opneming gevonden in 1976 en in 1984/1985. Bij het laatste onderzoek werden stringente voorzorgen genomen (koeling) om microbiel bederf van de monsters, vooral tijdens bewaring bij de proefpersonen thuis, te voorkomen. In 1976, toen de bemonstering ten dele plaats vond tijdens een zeer warme zomerperiode, werd aan dit aspect veel minder aandacht besteed. Ook in 1978 werden de monsters niet op dezelfde stringente wijze gekoeld als in 1984/1985. Niettemin is het waarschijnlijk dat sinds 1978 de dagelijkse nitrietinneming gedaald is doordat minder nitriet gebruikt mag worden en gebruikt wordt bij de produktie van vleeswaren. Krachtens de Warenwet mocht tot 1981 500 mg NaNO_2/kg worden toegevoegd, maar daarna slechts 200 mg. Tegelijkertijd werd de toegestane hoeveelheid nitraat verlaagd van 2000 tot 500 mg KNO_3/kg . Er bestaan sterke aanwijzingen dat in de praktijk doorgaans veel lagere hoeveelheden nitraat en nitriet worden toegepast dan de wettelijk toegestane, zie o.a. 6.3.

Uit de tabellen 2 en 3 blijkt dat er geen correlatie bestaat tussen het al dan niet consumeren van vleeswaren en de aan- of afwezigheid van een aantoonbare hoeveelheid nitriet in de duplicaat voeding. Doordat vleeswaren doorgaans niet in grote hoeveelheden worden genuttigd (porties van 20-50 gram) speelt de verdunningsfactor een grote rol bij het analyseren van duplicaat 24-uurs voedingen. Als 50 gram vleeswaar wordt genuttigd en de totale hoeveelheid 24-uurs voeding is 2 kg, dan is de verdunningsfactor 40. De grens van bepaalbaarheid voor nitriet is 0,1 mg $\text{NO}_2^-/24\text{-uurs voeding}$. Bij een gehalte van 4 mg NO_2^-/kg of meer in de vleeswaar zal dit worden aangetoond in de duplicaat voeding. Bij het onderzoek in 1984 was in 40% van de 140 monsters vleeswaar het nitrietgehalte lager dan 4 mg NO_2^-/kg (6.3). Hierdoor is het goed verklaarbaar dat er geen correlatie gevonden is tussen vleeswaarconsumptie en nitriet in de duplicaat voedingen.

Onze metingen wijzen uit dat het overgrote deel van de proefpersonen minder dan $0,1 \text{ mg NO}_2^-$ per etmaal opneemt met voedsel en drank. Dit is lager dan vermeld in recente literatuur (zie o.a. 6.6 en 6.8) hierover waar hoeveelheden van $< 1 \text{ mg NO}_2^-$ en $1,4 \text{ mg NO}_2^-$ per dag zijn berekend. Deze getallen zijn evenwel niet gebaseerd op analyses van duplicaatvoedingen maar berekend uit gepubliceerde nitrietgehalten en consumptiehoeveelheden voor afzonderlijke voedingsmiddelen. Deze methode is onnauwkeurig, doordat bij veel voedingsmiddelen het nitrietgehalte lager is dan de detectielimiet van de methode van onderzoek. Door verschillen in schattingen van gehalten in produkten lager dan de detectielimiet kunnen grote verschillen ontstaan in de einduitkomsten van de berekeningen voor de totale opname.

De Acceptable Daily Intakes (ADI) voor nitraat en nitriet zijn respectievelijk 220 mg NO_3^- en 8 mg NO_2^- , berekend voor een persoon met een lichaamsgewicht van 60 kg. Voor nitriet ligt de hoogste opname per dag die gemeten is nog lager dan 10% van de ADI. Bij nitraat is de ADI door 3 van de 110 proefpersonen overschreden. Hierbij dient te worden aangetekend dat bij het vaststellen van deze ADI's geen rekening is gehouden met de omzetting van nitraat en nitriet in de mondholte: gemiddeld 6,5 mol. % van de opgenomen hoeveelheid nitraat wordt op deze wijze omgezet in nitriet (6.5). De consequentie hiervan is dat bij opname van 220 mg NO_3^- gemiddeld een belasting met 11 mg NO_2^- optreedt, wat al ruimschoots meer is dan de ADI voor nitriet. Op initiatief van de Hoofdingspectie Levensmiddelen wordt momenteel dierexperimenteel onderzoek verricht door het CIVO-TNO naar de adequaatheid van de ADI's voor nitraat en nitriet en de relatie tussen deze ADI's. Bij dit onderzoek zijn ook het Ministerie van Landbouw en Visserij en het RIVM betrokken.

In de literatuur is overigens al gesteld (6.9) dat in verband met het risico van in vivo vorming van N-nitrosoverbindingen, ook incidentele hoge belastingen met nitraat (en nitriet) vermeden dienen te worden.

4.2. Vluchtige N-nitrosaminen

In slechts 2 van de 110 duplicaatvoedingen werd een aantoonbare hoeveelheid van een vluchtig N-nitrosamine gevonden, één keer N-nitrosopiperdine (NPIP), $2,9 \text{ } \mu\text{g}/24\text{-uurs}$ voeding en één keer N-nitrosodimethylamine (NDMA),

1,5 $\mu\text{g}/24$ -uurs voeding, zie tabel 2 en 3. NPIP wordt onder meer aangetroffen in kruiden en gekruide vleeswaren (6.3) en wordt geacht te ontstaan uit in peper aanwezig piperidine. Dit stemt overeen met het feit dat in dit onderzoek NPIP werd gevonden in een duplicaatvoeding die pâté en cervelaatworst bevatte.

Bij het duplicaatvoedingen onderzoek in 1976/1978 werd in 40% van de monsters NDMA aangetoond in gehalten van 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of hoger. De oorzaak hiervan werd opgespoord als zijnde consumptie van NDMA-bevattend bier (6.5). Overheidsmaatregelen hebben ertoe geleid dat vanaf 1980 de NDMA-gehalten in bier drastisch zijn gedaald. In 1979 werd in 108 monsters Nederlands bier gemiddeld 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aan NDMA gemeten, in 1980 was dit een factor 10 gedaald tot gemiddeld 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (6.10). Overigens bevatte de duplicaatvoeding waarin het NDMA werd aangetoond drie flesjes bier. De duplicaatvoedingen van 20 andere deelnemers bevatten eveneens bier, waarvan elf 3 flesjes of meer, en deze monsters bevatten geen aantoonbare hoeveelheid NDMA. Ook hier speelt het verdunningseffect uiteraard een rol. Op grond van de meetresultaten kan geen schatting worden gemaakt omtrent de gemiddelde dagelijkse opneming van vluchtige N-nitrosaminen. Voor de meest frequent voorkomende N-nitrosaminen in levensmiddelen zoals NDMA in bier, vleeswaren en visprodukten, NPIP, NPYR en NTHZ in vleeswaren kan worden geconcludeerd dat de opneming ervan ten hoogste 0,2 $\mu\text{g}/\text{dag}$ bedraagt voor NDMA, 0,4 $\mu\text{g}/\text{dag}$ voor NPIP en NPYR en 1,0 $\mu\text{g}/\text{dag}$ voor NTHZ. Deze getallen stemmen goed overeen met die van recent onderzoek in Zweden, waar een gemiddelde dagelijkse opneming aan vluchtige N-nitrosaminen van 0,29 $\mu\text{g}/\text{persoon}$ werd gevonden (6.11); vleeswaren en moutprodukten vormen de belangrijkste bronnen. In Engeland werd een gemiddelde dagelijkse opneming aan NDMA van 0,6 $\mu\text{g}/\text{persoon}$ en voor NPYR aan 0,1 $\mu\text{g}/\text{persoon}$ vastgesteld (6.6). Als belangrijkste bronnen zijn aangemerkt alcoholische dranken, vis, vleeswaren en kaas. Blijkens een vrij recent Japans onderzoek (6.12) leveren vis en visprodukten daar de belangrijkste bijdrage aan de totale opneming van vluchtige N-nitrosaminen, die op 0,5 $\mu\text{g}/\text{persoon}/\text{dag}$ is berekend.

Om een betrouwbaarder indruk te verkrijgen van de belasting van de Nederlandse bevolking met N-nitrosaminen verdient onderzoek van produkten waarin deze verbindingen verwacht kunnen worden (zie bovenstaande) de voorkeur boven analyse aan duplicaat 24-uurs voedingen.

5. CONCLUSIES

Op grond van de resultaten van het onderzoek beschreven in dit rapport, kan het navolgende worden geconcludeerd:

- Er bestaat geen duidelijk verschil in dagelijkse opneming van nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen tussen de groep proefpersonen bemonsterd in de herfst van 1984 en die in het voorjaar van 1985.
- De gemiddelde dagelijkse opneming van nitraat ligt ongeveer op de helft van de hoeveelheid gemeten bij soortgelijk onderzoek in 1976/1978. De gemiddelde dagelijkse opneming van nitriet is enige malen lager dan gemeten in 1978.
- De hoogste dagelijkse opneming van nitriet is nog geen 10% van de Acceptable Daily Intake (ADI); voor nitraat werd door 3 van de 110 proefpersonen de ADI overschreden. Een nadere evaluatie van de relevantie van de ADI's is echter gewenst, en onderzoek hierover is momenteel in Nederland gaande.
- Opneming van vluchtige N-nitrosaminen bedraagt ten hoogste enige tienden van een microgram tot 1 microgram per persoon per etmaal. Betrouwbaarder gegevens hieromtrent kunnen worden verkregen via analyse van die produkten waarin dergelijke verbindingen vóórkomen (bier, vleeswaren, visprodukten).

6. LITERATUUR

- 6.1. H.A.M.G. Vaessen, A. van Ooik, J. Zuidendorp en C.G. van de Kamp.
De macro-samenstelling en energie-inhoud van duplicaat 24-uurs voedingen bemonsterd in 1984/1985.
RIVM rapport nr. 388474 005 juni 1987.
- 6.2. H.A.M.G. Vaessen, G. Ellen, E. Egmond, A. van Ooik en J. Zuidendorp.
Seleen, nitraat en nitriet in baby- en kleutervoeding.
RIVM rapport nr. 842079 001 december 1984.
- 6.3. G. Ellen, E. Egmond en E.Th. Sahertian.
Vluchtige N-nitrosaminen en nitriet in vleeswaren.
RIVM rapport nr. 648305 001 oktober 1984.

- 6.4. G. Eisenbrand, G. Ellen, R. Preussmann, P.L. Schuller, B. Spiegelhalder, R.W. Stephany en K.S. Webb.
Determination of volatile nitrosamines in food, animal feed and other biological materials by low temperature vacuum distillation and chemiluminescence detection.
In: Environmental carcinogens, selected methods of analysis, Vol. 6, N-nitroso compounds. IARC Scientific Publications No. 45, Lyon 1983, pag. 181-203. ISBN 92 8 321145 6.
- 6.5. R.W. Stephany en P.L. Schuller.
Daily dietary intakes of nitrate, nitrite and volatile N-nitrosamines in the Netherlands using the duplicate portion sampling technique. *Oncology* 37, 203-210 (1980).
- 6.6. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds in food. Food Surveillance Paper no. 20, Her Majesty's Stationery Office, London, 1987, ISBN 0 11 242811 8.
- 6.7. D.J. Greenwood en J. Hunt.
Effect of nitrogen fertiliser on the nitrate contents of field vegetables grown in Britain.
J. Sci. Food Agric. 37, 373-383 (1986).
- 6.8. T.M. Knight, D. Forman, S.A. Al-Dabbagh en R. Doll.
Estimation of dietary intake of nitrate and nitrite in great Britain.
Fd Chem. Toxic. 25, 277-285 (1987).
- 6.9. D. Leu, R. Biedermann, J. Dettweiler, J. Hoigné en F.X. Stadelmann.
Bericht über Nitrate in Trinkwasser - Standortbestimmung 1985.
Mitt. Gebiete. Lebensm. Hyg. 77, 227-315 (1986).
- 6.10. G. Ellen en P.L. Schuller.
N-nitrosamine investigations in the Netherlands: Highlights from the last ten years. In: Das Nitrosamin-Problem, herausgegeben von R. Preussmann, Verlag Chemie, Weinheim, 1983, pag. 81-92. ISBN 3-527-27403-0.

6.11. B.-G. Østerdahl.

Volatile nitrosamines in foods on the Swedish market and estimation of their daily intake.

Food Add. Cont., in druk.

6.12. M. Yamamoto, R. Iwata, H. Ishiwata, T. Yamada en A. Tanimura.

Determination of volatile nitrosamine levels in foods and estimation of their daily intake in Japan.

Fd Chem. Toxic 22, 61-64 (1984).

Tabel 2 Opneming per etmaal van nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen door 56 proefpersonen, bemonsterd in oktober 1984; tevens consumptiegegevens over groenten en vleeswaren.

Volgnr. proef- persoon	Consumptie gegevens over		Nitraat (mg NO ₃ ⁻ /24 uur)	Nitriet (mg NO ₂ ⁻ /24 uur)	Vluchtige N-nitrosaminen (µg/24 uur)
	groenten	vleeswaren			
1	wortelen	geen	33	- ¹⁾	- ²⁾
2	witte kool	geen	55	-	-
3	uien/wortelen	rookworst	39	-	-
4	bloemkool	metworst	5	-	-
5	geen	cornedbeef	18	-	-
6	gemengde rauwkost	geen	105	-	-
7	rode kool	boterhamworst	30	-	-
8	andijvie	geen	24	-	-
9	andijvie	smeerworst	46	-	-
10	andijvie	ham	180	-	-
11	sla	pâté	13	-	-
12	snijsbonen	geen	6	-	-
13	doperwtten	geen	4	-	-
14	geen	ham	19	-	-
15	wortelen	ham/cornedbeef	39	-	-
16	bloemkool	boterhamworst	8	-	-
17	uien/wortelen	geen	5	-	-
18	prei	geen	96	-	-
19	uien/wortelen	geen	23	-	-
20	andijvie	geen	150	-	-
21	geen	ontbijtspek	6	-	-
22	sperziebonen	geen	62	-	-
23	wortelen	geen	75	-	-
24	sperziebonen	boterhamworst	59	-	-
25	andijvie	lever	80	-	-
26	uien	geen	18	-	-
27	rode kool	worst/leverworst	30	-	-
28	prei	leverworst	160	0,2	-

29	wortelen/erwten	geen	33	-	-
30	geen	leverworst	7	-	-
31	wortelen	worst/leverworst	27	-	-
32	bieten	smeerworst	500	-	-
33	doperwten	boterhamworst	29	-	-
34	andijvie	geen	103	-	-
35	andijvie	metworst/tonge- worst/lever	94	-	-
36	bieten	metworst	77	-	-
37	sperziebonen	rookvlees	29	-	-
38	uien/wortelen	boterhamworst	33	-	-
39	rode kool	geen	2	-	-
40	boerenkool	ontbijtspek/smeer worst/boterhamworst	53	-	-
41	geen	leverworst/ham/ cervelaatworst	6	-	-
42	uien/soepgroenten	geen	12	0,3	-
43	zuurkool	geen	38	-	-
44	uien/wortelen	ontbijtspek	81	-	-
45	geen	ham	4	-	-
46	geen	ham/pâté/cervelaat- worst	7	-	2,9 (NPIP)
47	geen	lever	5	0,1	1,5 (NDMA)
48	geen	gebraden gehakt	25	-	-
49	uien	salami	130	0,7	-
50	sperziebonen	ham	99	-	-
51	snijbonen	geen	16	-	-
52	sperziebonen	metworst	73	-	-
53	sla/doperwten	paardeworst/ham/ pâté	45	-	-
54	geen	bacon	18	-	-
55	bloemkool	ham/worst/rosbief	61	-	-
56	bloemkool	leverworst	35	-	-
gemiddelde waarde (N=56)			54	niet bepaald	
mediaan			33	<0,1	
bereik			2-500	<0,1 - 0,7	

1) -: minder dan 0,1 mg NO₂/24-uurs voeding

2) -: minder dan 0,2 µg/24 uurs voeding voor NDMA, NDEA, NDPA

minder dan 0,4 µg/24 uurs voeding voor NPIP, NPYR, NMOR

minder dan 1,0 µg/24 uurs voeding voor NTHZ

Tabel 3 Opneming per etmaal van nitraat, nitriet en vluchtige N-nitrosaminen door 54 proefpersonen, bemonsterd in maart 1985; tevens consumptiegegevens over groenten en vleeswaren.

Volgnr. proef- persoon	Consumptiegegevens over		Nitraat (mg NO ₃ ⁻ /24-uur)	Nitriet (mg NO ₂ ⁻ /24 uur)	Vluchtige N-nitrosaminen (µg/24 uur)
	groenten	vleeswaren			
101	bieten/ijsbergsla	ham	52	1)	2)
102	geen	ontbijtspek	10	-	-
103	uien/selderij/ veldsla	geen	76	-	-
104	geen	ham/gebraden gehakt/68 lever		0,7	-
105	sperziebonen	geen	15	0,4	-
106	-----VERVALLEN-----				
107	uien/witlof	ham	16	0,4	-
108	sla	ham	270	0,4	-
109	andijvie	ham/leverworst	51	-	-
110	andijvie	boterhamworst	120	-	-
111	sla	ham/ontbijtspek	10	0,2	-
112	bieten	ham	200	-	-
113	geen	casselerib	6	-	-
114	geen	pâté	9	-	-
115	witlof	pâté/leverworst	48	0,2	-
116	geen	leverworst	63	-	-
117	geen	leverworst/peper- worst	6	-	-
118	wortelen	leverworst	20	0,2	-
119	uien/wortelen	geen	66	-	-
120	doperwten	geen	6	-	-
121	geen	geen	10	-	-
122	prei/wortelen	leverworst	28	-	-
123	geen	ontbijtspek	9	0,2	-
124	bloenkool	leverworst	29	-	-
125	wortelen	geen	63	-	-
126	geen	geen	2	-	-
127	sperziebonen/doppers	gebraden gehakt	30	-	-
128	geen	geen	2	-	-
129	andijvie	geen	81	0,3	-
130	bieten	geen	37	-	-

131	doperwten	geen	8	-	-
132	geen	rookvlees	25	-	-
133	wortelen	geen	50	0,2	-
134	geen	geen	18	-	-
135	bieten	geen	130	0,3	-
136	wortelen	geen	6	-	-
137	uien	geen	2	-	-
138	doperwten	ham/snijworst	21	-	-
139	geen	geen	16	-	-
140	zuurkool	geen	45	-	-
141	witlof/wortelen	geen	27	-	-
142	spinazie	ontbijtspek	370	-	-
143	geen	geen	4	-	-
144	sperziebonen	gebraden gehakt	21	-	-
145	geen	ham	5	-	-
146	geen	ham/boterhamworst	13	-	-
147	-----VERVALLEN-----				
148	geen	pâté/kipfilet	3	-	-
149	witlof	geen	55	0,2	-
150	prei/wortelen	ardenner worst	10	-	-
151	sla	zure zult	190	-	-
152	sla	geen	130	-	-
153	sla/andijvie	boterhamworst	110	-	-
154	geen	zure zult	6	-	-
155	bloemkool	boterhamworst	11	-	-
156	tuinbonen	geen	7	-	-
gemiddelde waarde (N=54)			50	niet bepaald	
mediaan			21	<0,1	
bereik			2-370	<0,1 - 0,7	

1) - : minder dan 0,1 mg NO₂ per 24 uurs voeding

2) - : minder dan 0,2 µg/24 uurs voeding voor NDMA, NDEA, NDPA

minder dan 0,4 µg/24 uurs voeding voor NPIP, NPYR, NMOR

minder dan 1,0 µg/24 uurs voeding voor NTHZ.