

> Retouradres Postbus 43006 3540 AA Utrecht

## Advies van de directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

Aan de minister van VWS en de staatssecretaris van EZ

### Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

Catharijnesingel 59  
3511 GG Utrecht  
Postbus 43006  
3540 AA Utrecht  
www.nvwa.nl

T 088 223 33 33  
F 088 223 33 34  
risicobeoordeling@vwa.nl

Onze referentie  
NVWA/BuRO/2014/4356

Datum  
10 oktober 2014

## Advies over nitraat in de voeding

### Aanleiding

Nitraat is van nature aanwezig in drinkwater en groenten en wordt soms aan levensmiddelen toegevoegd om de houdbaarheid te verbeteren of voor kleur- en aromavorming. Het nitraatgehalte in groente wordt bepaald door het ras en neemt toe door gebruik van een grote hoeveelheid (kunst)mest of weinig zonlicht tijdens de groei. Nitraat kan in het lichaam van de mens worden omgezet in nitriet. Ook door het bewaren, bereiden of het eten van groente wordt nitraat gedeeltelijk omgezet in nitriet. Nitriet kan samen met eiwitten in het lichaam mogelijk kankerverwekkende N-nitrosoverbindingen zoals nitrosamines vormen. Om de vorming van nitriet en nitrosamines zo klein mogelijk te houden, heeft het Voedingscentrum voedingsadviezen opgesteld<sup>1</sup>.

Op 4 december 2012 heeft de directeur van bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering (BuRO) van de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) van het ministerie van VWS de vraag ontvangen om de veiligheid van de inname van nitraat en nitriet te beoordelen. Op basis van deze beoordeling kan het Voedingscentrum haar adviezen herevalueren.

### Aanpak en ondernomen actie door BuRO

BuRO heeft literatuuronderzoek gedaan en de bevindingen vastgelegd in dit advies. BuRO heeft ook kennis genomen van een advies van NOC\*NSF (Nederlands Olympisch Comité\*Nederlandse Sport Federatie) aan sporters om een halve liter rode bietensap, dat rijk is aan nitraat, te drinken drie uur voor een inspanning. De Nederlandse Gezondheidsraad bracht eind 2012 samen met de Belgische Hoge Gezondheidsraad een advies uit over leukemie bij kinderen en raadde zwangere vrouwen af om bepaalde vleessoorten die met nitriet zijn behandeld, zoals ham, spek en worst, te eten. Het advies behandelt ook deze kwesties en is beoordeeld door een aantal interne en externe deskundigen.

### Samenvatting van de bevindingen

- Op basis van de aanvaardbare dagelijkse inname (ADI) voor nitraat (0-3,7 mg/kg lichaamsgewicht; maximaal 259 mg voor een volwassene van 70 kg) en nitriet (0-0,06 mg/kg lichaamsgewicht; maximaal 4,2 mg voor een volwassene van 70 kg) zijn richtlijnen opgesteld voor de consumptie van nitraatrijke groenten en drinkwater. De ADI's voor nitraat en nitriet zijn gebaseerd op 'No Observed Adverse Effect Levels' (NOAEL) verkregen uit onderzoek bij de rat;

<sup>1</sup> <http://www.voedingscentrum.nl/encyclopedie/nitriet.aspx>

echter, ratten kunnen nitraat niet concentreren in de speekselklieren en scheiden niet, zoals de mens, nitraat uit via de speekselklieren.

- Bij een maximale nitraatopname en een omzetting van 5% ervan in nitriet, is de nitrietopname ongeveer 13 mg per dag voor een volwassene (70 kg). Deze opname ligt boven de vastgestelde ADI voor nitriet. Een zeer klein percentage van de Nederlandse bevolking overschrijdt de ADI van nitraat (259 mg nitraat voor iemand van 70 kg). Echter een gezonde mens lijkt hiervan geen schadelijke gezondheidseffecten te ondervinden. Vanwege hun lage lichaamsgewicht, totale nitraatopname en afwijkende fysiologie lopen baby's het grootste risico op overschrijding van de ADI.
- Er is tot op heden geen bewijs voor de carcinogeniteit van nitraat en nitriet voor de mens. Dierproeven hebben wel aangetoond dat nitrosamines mogelijk kankerverwekkend zijn. De endogene vorming van N-nitrosoverbindingen door de mens is afhankelijk van de opname van nitroseerbare stoffen en remmers uit de voeding, bijvoorbeeld vitamine C. Daarnaast kunnen ook N-nitrosoverbindingen direct uit de voeding worden opgenomen. Na opname van nitraat in combinatie met vis, die rijk is aan nitroseerbare verbindingen zoals amines, lieten een significante verhoging zien van de nitrosodimethylamine (NDMA)-uitscheiding in urine. Ook een maaltijd met veel nitraatrijke groenten resulteerde in een significante verhoging van de NDMA-uitscheiding in urine (Vermeer 2000). Zeilmaker et al. (2010) concludeerden dat een acute blootstelling aan endogeen gevormd NDMA voor de Nederlandse bevolking een verwaarloosbaar klein risico op kanker zal opleveren. Het grote aantal epidemiologische onderzoeken bij mensen heeft geen verband kunnen aantonen tussen nitraat- en nitrietopname en kankerincidentie.
- Sinds de jaren 80 van de vorige eeuw is bekend dat nitriet en stikstofoxides (NO) in het lichaam van de mens worden gegenereerd (het nitraat-nitriet-stikstofoxide-pad). Een deel van het opgenomen nitraat wordt uitgescheiden in het speeksel en in de mondholte door bacteriën omgezet in nitriet en vervolgens in de maag omgezet in stikstofoxides. Nitriet kan reageren met bijvoorbeeld eiwitten tot N-nitrosoverbindingen. Korte tijd later werd het L-arginine-stikstofoxide-synthase (NOS)-pad ontdekt. Naast vorming uit nitriet, treedt in bijna alle cellen van het lichaam oxidatie van het aminozuur L-arginine op waardoor L-citrulline en stikstofoxide worden gevormd. De laatste tientallen jaren is duidelijk geworden dat nitrosatiereacties, waarbij nitraat, nitriet en stikstofoxides zijn betrokken, belangrijke fundamentele processen zijn die zijn betrokken bij tal van lichaamsfuncties.
- EFSA (2010) kon geen Acute Reference Dose (ARfD) afleiden maar stelde wel vast dat bij inname van nitraat uit sla en spinazie onder 15 mg/kg lichaamsgewicht per dag, de methemoglobineconcentraties in kinderen ouder dan drie maanden, niet was verhoogd.
- Het EFSA-Panel concludeerde in 2008 dat de geschatte nitraatopname uit groenten naar alle waarschijnlijkheid niet zouden leiden tot gezondheidsrisico's en daarom moeten de positieve effecten van groenteconsumptie prevaleren. Voor kinderen die meer dan één spinaziemaaltijd per dag eten, kon een risico niet worden uitgesloten. Het EFSA-Panel adviseerde baby's en kinderen met een bacteriële infectie van het maag-darmkanaal geen spinazie te geven, omdat deze kinderen gevoeliger zijn voor nitraat (EFSA 2010).
- Het effect van een nitraatsupplement (bijvoorbeeld een hoeveelheid van een halve liter bietensap) op sportprestaties is onderzocht. Inname van bietensap bleek de hoeveelheid benodigde zuurstof voor het leveren van een prestatie te verlagen en de 'tijd tot uitputting' te verlengen, en leidde in een aantal gevallen tot een verlaging van de bloeddruk. Een hoog-nitraat-voeding, vergeleken met een controlevoeding, leidde niet tot een toename van de nitraat- en nitrietconcentraties in het bloed maar inname van een enkele dosis nitraatsupplement (bietensap met tenminste 4 mmol nitraat) leidde wel tot verhoogde plasmaconcentraties van nitraat en nitriet (Miller et al. 2012).

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

- Vlees kan met nitriet worden behandeld om het langer houdbaar te maken, maar de bijdrage aan de inname van nitraat en nitriet door de mens is klein. Binnen het samenwerkingsverband van het European Science Advisory Network for Health (EuSANH) heeft een gezamenlijke commissie van de Belgische Hoge Gezondheidsraad en de Nederlandse Gezondheidsraad eind 2012 een advies uitgebracht over omgevingsfactoren en kinderleukemie. De commissie raadde aan "... gegeven de onzekerheid over een oorzakelijk verband met kinderleukemie, dat zwangere vrouwen geen vlees eten dat is behandeld met nitriet, zoals ham, spek en worst". Deze uitspraak is gebaseerd op een document van Kreis et al. (2011) die weer refereerde aan Blot et al. (1999). Een causaal verband tussen het eten van met nitriet behandeld vlees en het risico van hersenkanker en/of leukemie bij kinderen kon niet worden aangetoond. BuRO onderstreept de conclusie dat kwaliteit en uitvoering van de onderzoeken te wensen overliet: er werd niet gecontroleerd voor de inname van groenten en fruit of voor andere factoren en de inname van andere voedingsmiddelen werd niet nagevraagd. Bovendien is de zeer kleine hoeveelheid nitrosamine in met nitriet behandeld vlees (voornamelijk dimethylnitrosamine) geen carcinogeen dat de placenta passeert of tumoren van het centrale zenuwstelsel in orale proefdierexperimenten veroorzaakt.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

### **Conclusies**

- Nitraat en nitriet zijn lang als toxische componenten beschouwd in de voeding vanwege hun rol bij de vorming van nitrosamines en de mogelijke relatie met kanker. Het wetenschappelijk bewijs voor nadelige gezondheidseffecten voor de mens van nitraat en nitriet uit voedsel is zwak. De ADI's voor nitraat en nitriet zijn vastgesteld op basis van proefdieronderzoek. Echter het metabolisme van rat en mens is wezenlijk verschillend.
- Een voeding die zowel nitraat of nitriet als nitroseerbare stoffen bevat, kan leiden tot de endogene productie van N-nitrosoverbindingen zoals NDMA. Het lichaam scheidt deze stoffen uit in urine en zweet. Een gezonde mens maakt te weinig N-nitrosoverbindingen aan om hiervan schadelijke gezondheidseffecten te ondervinden.
- Risicogroepen, zoals baby's, zwangere vrouwen, nierpatiënten, mensen met bacteriële infecties en mensen met een chronisch zuurstoftekort, zouden uit voorzorg voorzichtig moeten zijn met de consumptie van nitraatrijke groenten in combinatie met nitroseerbare stoffen.
- Het eten van groenten, die een rijke bron van nitraat zijn, wordt geassocieerd met positieve gezondheidseffecten zoals een verlaagde bloeddruk en een verminderd risico van kanker en hart- en vaatziekten.
- Nitraat en nitriet zijn belangrijke voedingsstoffen voor een normaal functioneren van een aantal fysiologische processen, zoals het reguleren van de bloeddruk en bloedplaatjesaggregatie en het beschermen van de bloedvaten.
- Een risk-benefit-afweging op basis van zogenaamde 'disability-adjusted life years' (DALY's) laat zien dat de positieve effecten van het eten van voldoende vis, groenten en fruit meer dan ruimschoots opwegen tegen de risico's van het eten van deze voedingsmiddelen die nitraat kunnen bevatten.
- Bij het vaststellen van de aanvaardbare dagelijkse inname (ADI) voor nitraat en nitriet is geen rekening gehouden met de gezondheidsbevorderende eigenschappen van deze stoffen en hun metabolieten, die verschillen in metabolisme tussen de rat en de mens, en de effecten van gelijktijdig ingenomen voedingsstoffen zoals antioxidanten. De gezondheidsbevorderende eigenschappen van groenten, die veel nitraat bevatten, dienen te worden meegewogen.
- Er is geen onderzoek bekend naar de mogelijke nadelige effecten van een langdurige inname van hoge hoeveelheden nitraat in de vorm van voedingsmiddelen, zoals het drinken van een halve liter bietensap per dag

of het innemen van nitraatabletten om sportprestaties te verhogen. Dergelijk onderzoek is nodig.

- Er kan door BuRO niet worden geconcludeerd dat de consumptie door moeders van met nitriet behandeld vlees is gerelateerd aan het risico van hersentumoren en/of leukemie bij hun kinderen. Hiervoor is nader onderzoek nodig.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

### **Advies van NVWA-BuRO**

Aan de Minister van VWS en de Staatssecretaris van EZ

- Verzoek EFSA via de Europese Commissie de aanvaardbare dagelijkse inname van nitraat en nitriet te herzien met inachtneming van de wetenschappelijke informatie die de laatste jaren beschikbaar is gekomen.
- Verzoek het Voedingscentrum:
  1. de aanbevelingen betreffende de consumptie van nitraatrijke groenten door volwassenen aan te passen omdat er geen aanwijzingen zijn dat de geschatte en aanbevolen nitraatinname uit groenten zullen leiden tot nadelige gezondheidseffecten;
  2. het advies om kinderen jonger dan zes maanden liever geen nitraatrijke groenten te geven, te wijzigen in een advies voor kinderen jonger dan drie maanden; er mag echter worden aangenomen dat baby's jonger dan drie maanden nog geen groenten krijgen;
  3. het advies om geen gebruik te maken van nitraatrijk water uit privébronnen voor flesvoeding te handhaven; en
  4. de aanbevelingen met betrekking tot bewaren en bereiden (wassen) van nitraatrijke groenten kunnen worden veralgemeniseerd tot een advies voor alle voedingsmiddelen.

Hoogachtend,



Prof. dr. Antoon Opperhuizen  
Directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

## Bijlage 1. Onderbouwing

Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

Datum  
10 oktober 2014

Onze referentie  
NVWA/BuRO/2014/4356

### Achtergrond

Nitraat is van nature aanwezig in groenten en drinkwater en wordt soms aan levensmiddelen toegevoegd om de houdbaarheid te verbeteren. Nitraat kan in het lichaam van de mens worden omgezet in nitriet. Ook door het bewaren of bereiden van groente kan nitraat gedeeltelijk worden omgezet in nitriet. Nitriet kan samen met eiwitten schadelijke N-nitrosoverbindingen zoals nitrosamines vormen.

### Vraagstelling

Om de vorming van nitriet en nitrosamines zo klein mogelijk te houden, adviseert het Voedingscentrum al geruime tijd het volgende voor volwassenen<sup>2</sup>.

- Eet niet vaker dan twee keer per week nitraatrijke groenten. Vier keer per week een schaal- of schelpdier als bijgerecht telt daarbij mee als één keer.
- Bewaar nitraatrijke groenten na aankoop niet langer dan twee dagen. Na twee dagen neemt het nitrietgehalte door de groei van bacteriën steeds verder toe.
- Was spinazie en sla voor gebruik en verwijder bij sla de hoofdnerven en de buitenste bladeren. Hiermee kan het nitraatgehalte tot 30% dalen.
- Laat kliekjes van nitraatrijke groenten na verwarming snel afkoelen en bewaar ze daarna direct in de koelkast. Daarna kunnen ze weer opgewarmd worden, zonder dat het nitrietgehalte stijgt.
- Combineer nitraatrijke groente liever niet met vis (uitgezonderd zalm en makreel), schaal- of schelpdieren.

Voor kinderen wordt additioneel geadviseerd:

- Geef kinderen jonger dan zes maanden liever geen nitraatrijke groenten en vanaf zes maanden niet vaker dan twee keer per week.
- Geef nitraatrijke groenten liever niet tegelijkertijd met vis.
- Gebruik water uit privébronnen niet in flesvoeding voor baby's. Het water kan door bemesting van omliggende velden hogere concentraties nitraat bevatten. Gebruik voor flesvoeding leidingwater of mineraalwater zonder koolzuur, met een laag nitraatgehalte.

Naar aanleiding van de onderzoeken van Vermeer (2000) en Krul et al. (2004) kwam het Voedingscentrum in 2003 tot het advies "Combineer vis, schaal- en schelpdieren liever niet met nitraatrijke groenten. Zalm en makreel vormen een uitzondering en kunnen wel worden gecombineerd met nitraatrijke groenten." Het advies werd destijds breed gedragen, omdat er sprake zou zijn van een vermijdbaar risico (Peters 2008).

Op 4 december 2012 heeft de directeur van bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering (BuRO) van de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) de vraag van het ministerie van VWS ontvangen om de veiligheid van nitraat- en nitrietinname te beoordelen. Op basis van deze beoordeling zou het Voedingscentrum haar adviezen kunnen herevalueren.

### Het onderzoek

De vraag van het ministerie van VWS vormde aanleiding om een actueel overzicht te maken van onderzoeken naar effecten van nitraatinname. BuRO heeft literatuuronderzoek gedaan en de bevindingen vastgelegd in dit advies. Ook heeft BuRO kennis genomen van een advies van NOC\*NSF (Nederlands Olympisch

<sup>2</sup> <http://www.voedingscentrum.nl/encyclopedie/nitriet.aspx>

Comité\*Nederlandse Sport Federatie) waarin bietensap als nitraatsupplement wordt aanbevolen aan sporters. De Gezondheidsraad bracht eind 2012 samen met de Belgische Hoge Gezondheidsraad (Health Council 2012) een advies uit over leukemie bij kinderen en raadde zwangere vrouwen af om vleessoorten die met nitriet zijn behandeld, zoals ham, spek en worst, te eten. Aan deze beide kwesties wordt in het advies ook aandacht besteed. Het advies is beoordeeld door een aantal interne en externe deskundigen.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

## Onderzoeksresultaten

### Nitraat in de voeding

Groenten, vooral bladgroenten zoals sla en spinazie, en drinkwater zijn belangrijke bronnen van nitraat. 50-85% van het nitraat in de voeding is afkomstig van groenten; in Nederland is 7-9% afkomstig van drinkwater (Geraets et al. 2011). De biobeschikbaarheid van nitraat ligt rond 100% (EFSA 2008, van Velzen et al. 2008). Het nitraatgehalte in groente wordt mede bepaald door het ras en kan stijgen door gebruik van een grote hoeveelheid (kunst)mest of weinig zonlicht tijdens de groei. Voor diepvriesgroenten en potjes babyvoeding wordt meestal gekozen voor nitraatarme rassen. Voor het invriezen wordt spinazie snel geblancheerd en vervolgens gekoeld; dit proces leidt tot minimale of geen nitrietvorming.

Nitraat in de plant speelt een cruciale rol in voeding en functie van de plant. Nitraat wordt vanuit de grond getransporteerd naar de bladeren, waar het accumuleert. Het nitraatgehalte is het hoogst in de stengel, bladsteel en bladnerven, lager in het bladmoes en zeer laag in vruchten en bloemen. Dit verklaart ook de hogere nitraatgehalten in bladgroenten vergeleken met andere groentesoorten (Weitzberg en Lundberg 2013). Onderzoek toonde aan dat het verwijderen van de buitenste bladeren en de nerven bij sla en het wegnemen van de stelen en hoofdnerf bij spinazie een vermindering van het nitraatgehalte met 20-40% opleverde (Chan 2011). Nitraat is gemakkelijk oplosbaar in water en het wassen van groenten en zeker het koken, leidt tot een verlaagd nitraatgehalte.

### Kinetiek van nitraat, nitriet en N-nitrosoverbindingen

Sinds de jaren 80 van de vorige eeuw is bekend dat nitraat in het lichaam van de mens kan worden omgezet in nitriet (het nitraat-nitriet-stikstofoxide-pad). Nitraat uit voeding of drinkwater wordt volledig geabsorbeerd in het bovenste deel van de dunne darm. Nitraat circuleert in plasma, verdeelt over de weefsels en heeft een halfwaardetijd van ongeveer vijf uur. Ongeveer 25% (20-28%) van het opgenomen nitraat uit voeding of drinkwater wordt uitgescheiden in speeksel (Hord et al. 2009, van Velzen et al. 2008); de rest wordt uitgescheiden door de nieren. Ongeveer 20% van het nitraat in speeksel, 4-8% van het ingenomen nitraat, wordt in de mondholte door bacteriën omgezet in nitriet en vervolgens in het zure milieu van de maag in stikstofoxides (NO) en nitrosoverbindingen. N-nitrosoverbindingen bevatten een stikstofatoom (N) waaraan een nitrosogroep (NO<sub>x</sub>) is gekoppeld. De halfwaardetijd van stikstofoxide is in de orde van milliseconden en snelle oxidatie vindt plaats naar nitriet en andere N-oxides en N-nitrosoverbindingen. Nitriet kan weer worden omgezet in nitraat in het plasma en uitgescheiden in speeksel of urine. Dagelijks produceert de mens meer dan een liter speeksel. Nitrietconcentraties in nuchter speeksel zijn duizend maal hoger dan in plasma. Dit onderstreept de substantiële en continue afgifte van nitriet in het lichaam. De normale synthese van stikstofoxide wordt geschat op ongeveer 1 mg/kg lichaamsgewicht per dag; er is dus een endogene flux van ongeveer 60 mg stikstofoxide per dag voor een volwassene door de conversie van nitriet naar nitraat (Archer 2002).

Naast vorming uit nitriet, treedt in bijna alle cellen van het lichaam oxidatie van het aminozuur L-arginine op waardoor L-citrulline en stikstofoxide worden gevormd (l'Hirondel en l'Hirondel 2001). Hord et al. (2009) schatten dat een persoon van 60 kg 1,44 mmol (ongeveer 43 mg) stikstofoxide per dag produceert. Het L-arginine-stikstofoxidesynthase-pad is afhankelijk van zuurstof, terwijl de stikstofoxideproductie op basis van nitraat- en nitrietinname gebeurt bij lagere zuurstofspanningen. Het nitraat-nitriet-stikstofoxide-pad kan dus worden beschouwd als een back-up systeem om voldoende stikstofoxideconcentraties te garanderen bij verminderde beschikbaarheid van zuurstof.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

Van alle N-nitrosoverbindingen wordt nitrosodimethylamine (NDMA) het vaakst aangetroffen in het leefmilieu van de mens. Voor de endogene vorming van een N-nitrosoverbinding zijn twee reactiepartners nodig: een nitroserende stof zoals nitriet in zuur milieu of stikstofoxide en een nitroseerbare stof zoals amines en amides. In de maag van de mens zijn na een maaltijd de omstandigheden optimaal voor reacties waarbij nitrosamine wordt gevormd.

### **Gezondheidsbevorderende eigenschappen**

De ontdekking dat stikstofoxide de sinds lang bestudeerde 'endothelium-derived relaxing factor' was, leidde tot een verschuiving in het begrip van controle van fysiologische processen. Science Magazine riep stikstofoxide in 1992 uit tot 'molecuul van het jaar' en in 1998 ontvingen de pioniers in dit veld de Nobelprijs voor de Fysiologie of Geneeskunde. Nitrosatie is een fundamenteel fysiologisch proces en behelst het toevoegen van een nitrosoniumion (NO<sup>+</sup>) aan een organische verbinding, voornamelijk thiolen (S-NO) of amines (N-NO). Primaire amines (R-NH<sub>2</sub>) reageren met nitriet tot de zeer onstabiele N-nitrosamines die uiteenvallen in alcoholen. Echter, secundaire amines (R<sub>1</sub>-NH-R<sub>2</sub>) reageren tot stabiele N-nitrosamines, waarvan de meeste carcinogeen waren in knaagdieren na activatie door cytochroom P-450-enzymen (Bryan et al. 2012). Het eerste rapport in de 50-er jaren over de levercarcinogeniteit van N-nitrosodimethylamine (NDMA) leidde tot interesse in N-nitrosoamines en hun mogelijke relatie met kanker. Er zijn verschillende effectieve remmers van N-nitrosatiereacties in biologische systemen, zoals vitamine C en vitamine E.

Hoewel de vorming van N-nitrosamines in het algemeen als schadelijk wordt beschouwd, is de biomedische wetenschap gedurende de laatste twintig jaar tot het inzicht gekomen dat nitrosatiereacties belangrijke fundamentele processen zijn (Bryan et al. 2012) die een rol spelen bij het volgende (zie ook Weitzberg en Lundberg 2013).

- Het omzetten van nitraat in nitriet en stikstofoxide draagt bij aan het voorkomen en bestrijden van (maagdarm)infecties, het verhogen van de mucineproductie en het verhogen van de maagbloedstroom (Gilchrist et al. 2011). Nitriet doodt bacteriën in zure omstandigheden, zoals in de maag en mond.
- S-nitrosothiolen zijn natuurlijke carriers van stikstofoxide en sterke remmers van de aggregatie van bloedplaatjes en dus van bloedklontervorming (McKnight et al. 1999).
- Stikstofoxide kan *Helicobacter pylori* van de spirale vorm laten overgaan in de coccoïde (infectieuze) vorm. De coccoïde vorm replicateert niet en kan in tegenstelling tot de spirale vorm geen interleukine-8-vrijstelling door de epitheelcellen van de maag induceren waardoor er geen inflammatoire respons optreedt (Cole et al. 1999). Een *H. pylori*-infectie speelt een rol bij bijna alle gevallen van maagkanker; het verlaagt bovendien de beschikbaarheid van vitamine C.
- De Bont en Van Larebeke (2003) inventariseerden de volgende processen:
  - Een toename van de vorming van stikstofoxide kan bijdragen tot vasodilatatie gedurende fysieke inspanningen.

- Stikstofoxide speelt een rol in spermafunctie en hormoonconcentraties bij vrouwen.
- De concentratie nitraat in borstmelk is de eerste vijf dagen na de geboorte hoger dan die van het plasma. Het is waarschijnlijk dat stikstofoxide in de borst zelf wordt gesynthetiseerd. Het kan aanzetten tot lactatie of het kan betrokken zijn bij het aanpassen van de borst aan borstvoeding.
- Vele pathologische omstandigheden, zoals gastro-enteritis, maagkanker, infectieuze diarree, hypertensie, hepatitis C en depressie, zijn geassocieerd met een toename van de nitraatconcentratie in plasma.
- Nitriet kan de bloedstroom verhogen en daarmee de zuurstofafgifte aan (hypoxische) weefsels bevorderen.
- Stikstofoxide is een belangrijke regulator van nier- en cardiovasculaire functie. Oxidatieve stress en de daaropvolgende stikstofoxidedeficiëntie in de nier zijn geassocieerd met de ontwikkeling van hypertensie en andere vormen van hart- en vaatziekte (Lundberg et al. 2011, Sindelar en Milkowski 2012). Een aspect van een verminderd of niet functioneren van het vaatendotheel is een verminderde aanmaak van stikstofoxide via het L-arginine-afhankelijke pad door endothele stikstofoxide-synthase (Miller et al. 2012).
- Een continue productie van stikstofoxide is belangrijk voor het functioneren van het zenuwstelsel en stikstofoxide is een belangrijk molecuul in het immuunstelsel (Milkowski et al. 2010, Sindelar en Milkowski 2012).
- Stikstofoxide heeft een functie bij wondherstel (Sindelar en Milkowski 2012).
- Voedingen met veel groenten en fruit verlagen de bloeddruk, het risico op hart- en vaatziekten en bepaalde vormen van kanker. Een bijdrage aan deze effecten zou kunnen worden geleverd door de inname van nitraat (Joris en Mensink 2013, Lundberg et al. 2006, Machha en Schechter 2012, Milkowski et al. 2010, Tang et al. 2011, Webb et al. 2008). Weitzberg en Lundberg (2013) concludeerden dat het bloeddrukverlagende effect van nitraat is bevestigd door vooral onderzoek bij gezonde, jonge mensen, maar ook bij oudere volwassenen. Er lijkt een dosisgerelateerd effect van nitraat op bloeddruk te zijn.
- Het effect van groenten en fruit op de ontwikkeling van type 2 diabetes is onderzocht. Een meta-analyse liet zien dat er geen effect was van hogere inname van groenten en/of fruit. Maar de incidentie was 14% lager voor personen met een grotere inname van groene bladgroenten. Vergelijkbare resultaten zijn onlangs gepresenteerd door de European Prospective Investigation into Cancer - InterAct cohort study (Cooper et al. 2012): de inname van groene bladgroente was invers gerelateerd aan diabetes. Meer onderzoek naar deze relatie is nodig en daarbij moet duidelijk onderscheid worden gemaakt tussen fruit en groenten en tussen verschillende typen groenten (Weitzberg en Lundberg 2013).

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

## Schadelijke eigenschappen

### Methemoglobinemie

Deze aandoening van het bloed kan ontstaan door opname van nitraat en/of nitriet via voedsel of drinkwater of als gevolg van enteritis. Het nitriet reageert met ijzer (II); dit levert ijzer (III) op in hemoglobine, waardoor methemoglobine wordt gevormd, dat het zuurstoftransport bemoeilijkt. De gevoeligheid van baby's voor nitraatinname neemt snel af na de leeftijd van drie maanden. Na de geboorte is namelijk een deel van het hemoglobine nog in de vorm van foetaal hemoglobine, dat gemakkelijker wordt geoxideerd tot methemoglobine door nitriet dan het hemoglobine van volwassenen. Verder heeft het enzym dat verantwoordelijk is voor de reductie van methemoglobine naar hemoglobine, NADH-afhankelijk methemoglobinereductase, een 40-50% verminderde activiteit in baby's. Door een lage melkzuurproductie is de pH in de maag van baby's relatief hoog en bevordert de groei van nitraatreducerende bacteriën. Dit kan



leiden tot gastro-enteritis en een toename van de nitrietvorming. Deze factoren zorgen voor een groter risico voor methemoglobinevorming bij jonge kinderen (De Bont en Van Larebeeke 2003, EFSA 2008). Het gevolg kan een zuurstoftekort zijn ('blauwe baby's'). Klinische symptomen kunnen optreden als 3% of meer van het hemoglobine in de vorm van methemoglobine is. Vijftig procent methemoglobine kan dodelijk zijn (Mensinga et al. 2003). Methemoglobinemia komt in West-Europa bijna niet meer voor omdat water uit privébronnen dat door bemesting van omliggende velden hoge concentraties nitraat kan bevatten, niet meer wordt gebruikt voor flesvoeding. Jonge kinderen (0-6 maanden) krijgen meestal ook nog geen (nitraatrijke) groenten. EFSA (EFSA 2010) kon geen Acute Reference Dose (ARfD) afleiden maar stelde wel vast dat bij innamen van nitraat onder 15 mg/kg lichaamsgewicht per dag, de methemoglobineconcentraties in kinderen of baby's ouder dan drie maanden, niet was verhoogd.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

#### Nitraatinname tijdens de zwangerschap

Brender et al. (2013) deden case-controle-onderzoek naar de relatie tussen nitraatconcentraties in drinkwater en het optreden van aangeboren afwijkingen en vonden dat vrouwen die baby's kregen met neurale buisdefecten, afwijkingen aan ledematen of een gespleten gehemelte een grotere kans hadden dan moeders in de controle groep om 5 mg of meer nitraat per dag in te nemen via drinkwater. De auteurs concludeerden dat de vorming van N-nitrosoverbindingen waarschijnlijk niet het onderliggende mechanisme is. Bij deze Amerikaanse vrouwen was ongeveer 6% van de totale dagelijkse blootstelling aan nitraat afkomstig van drinkwater. Gezien de kleine bijdrage van nitraat uit drinkwater aan de totale nitraatinname is het onwaarschijnlijk dat de toename in geboortefwijkingen is toe te schrijven aan de nitraatgehalten in drinkwater. De (geringe) verschillen in geboortefwijkingen die werden gevonden, kunnen door vele andere factoren zijn veroorzaakt (EFSA 2008, Wolterink et al. 2013). In Nederland is de bijdrage uit drinkwater 9% van de totale nitraatinname, uitgaande van een nitraatconcentratie in drinkwater van 5,1 mg/l, het gemiddelde van 1118 monsters uit 2006 (Geraets et al. 2011). Ook uit deze gegevens blijkt dat de nitraatinname uit voeding beduidend hoger is dan de inname uit drinkwater.

#### Carcinogeniteit van N-nitrosoverbindingen

Een werkgroep van experts bijeengeroepen door International Agency for Research on Cancer (IARC) in juni 2006, oordeelde dat ingenomen nitraat of nitriet mogelijk carcinogeen is voor de mens (Groep 2A). Dit oordeel was gebaseerd op de conclusies dat er inadequaats bewijs in proefdieren is voor de carcinogeniteit van nitraat; voldoende bewijs in proefdieren voor de carcinogeniteit van nitriet in combinatie met amines of amides; en beperkt bewijs in proefdieren voor carcinogeniteit van nitriet. Echter, de methodologische aspecten en conclusies van het proefdier- en *in vitro*-onderzoek kunnen worden aangevochten. Hierbij valt te denken aan het gebruik van voorgevormde N-nitrosamines, verschillen tussen proefdier en mens (bijvoorbeeld een knaagdier heeft voormagen) en de hoge concentraties van de geteste stoffen.

NDMA is toxisch na een acute orale blootstelling bij ratten (LD50 van 23 tot 40 mg/kg lichaamsgewicht per dag). Na herhaalde orale blootstelling op korte termijn (3-4 weken) werden levereffecten, die veelal geassocieerd worden met een verminderde overleving, waargenomen in verschillende soorten zoogdieren (ratten, muizen, hamsters, Guinese biggetjes, apen). Ook werd bij ratten een congestie in verschillende organen (nieren, longen, milt en myocardium) waargenomen en gastro-intestinale bloedingen. Bij mannen werden twee sterfgevallen door acute inname van NDMA gemeld en een derde geval toegeschreven aan de consumptie van tenminste vier doses van ongeveer 250-300 mg NDMA over een periode van twee jaar. In drie gevallen werd leverbeschadiging waargenomen en in twee acute gevallen werd een hersenbloeding geconstateerd (FAVV 2010). Er is voldoende bewijs dat NDMA *in*

*in vitro* en *in vivo* carcinogeen is (WHO 2008). NDMA verhoogt de incidentie van levertumoren en tumoren van de Leydig-cellen bij ratten na inname van dit nitrosamine via het drinkwater (5 mg/l) of via voedsel (10 mg/kg lichaamsgewicht). Bij de muis werden tumoren in lever, longen en nieren waargenomen na toediening via het drinkwater (0,01 - 5 mg/l). Bovendien was in sommige gevallen de periode van blootstelling relatief kort (bijvoorbeeld drie weken). NDMA is tevens *in vitro* en *in vivo* genotoxisch (WHO 2008). Nitrosamines vereisen metabolische activering om reactief te worden en schade aan het DNA en mutaties te veroorzaken die uiteindelijk kunnen leiden tot kanker. Toxische doses van sommige nitrosamines bij ratten kunnen de insulineproducerende cellen van de pancreas schaden en dus diabetes mellitus veroorzaken.

Het grote aantal epidemiologische onderzoeken bij mensen heeft geen verband kunnen aantonen tussen nitraat- en nitrietinname en maagkankerincidentie of -mortaliteit (Bryan et al. 2012, l'Hirondel en l'Hirondel 2001) of het risico voor andere soorten kanker (EC 1995, NRC 1995). Omdat mensen de schadelijke nitrosamines ook binnenkrijgen via bijvoorbeeld sigarettenrook of cosmetica is het specifieke risico van nitraat en nitriet in voedsel moeilijk aan te tonen. In Finland is in een cohort van 9985 mannen en vrouwen de relatie tussen de inname van nitraat, nitriet en NDMA en kanker van het maag-darmkanaal onderzocht. Er werd een positief verband gevonden tussen de inname van NDMA uit gerookte en gezouten vis en colorectale kanker. Er werd geen relatie tussen kankerincidentie en de inname van nitraat of nitriet gevonden (Knekt et al. 1999).

De endogene vorming van N-nitrosoverbindingen na inname van een hoeveelheid nitraat (opgelost in drinkwater) in de orde van grootte van de ADI, in combinatie met vis die rijk is aan nitroserbare verbindingen zoals amines, is onderzocht bij de mens. De resultaten lieten een significante verhoging zien van de NDMA-uitscheiding in urine (Vermeer 2000). Dit impliceerde dat er een risico bestaat op verhoogde vorming van kankerverwekkende nitrosamines na inname van nitraat (Vermeer 2000). Ook een maaltijd met nitraatrijke groenten (274 mg nitraat) resulteerde in een significante verhoging van de NDMA-uitscheiding in urine van 240%. Hiermee werd aangetoond dat het gehalte aan remmers van nitrosering in de voeding niet voldoende is om de endogene vorming van N-nitrosoverbindingen te voorkomen na inname van een hoeveelheid nitraat in de orde van grootte van de ADI. In dit onderzoek bleef altijd een detecteerbaar basisniveau van NDMA in urine aanwezig. Dit NDMA is waarschijnlijk voor een deel direct afkomstig van de voeding. Vervolgens is de remming van endogene nitrosaminevorming bij de mens door suppletie met vitamine C en consumptie van groene thee bestudeerd. De NDMA-uitscheiding in urine was significant verlaagd na inname van 250 mg nitraat en 1 gram vitamine C en vier koppen groene thee (Krul et al. 2004, Vermeer 2000). Een hogere vitamine C-inname had geen additioneel effect. De consumptie van 4 gram (acht koppen) groene thee, die fenolische verbindingen bevat, leidde tot een significante verhoging van de NDMA-uitscheiding in urine (Vermeer 2000).

Tricker (1997) stelde dat de concentratie N-nitrosoverbindingen waarbij geen duidelijk aan te wijzen carcinogeen effect meer bestaat, rond de 1-5 ppm ligt en dat de dagelijkse opname van een gemiddelde consument duidelijk onder deze grens (ongeveer 1,10  $\mu\text{mol/dag}$ ) ligt waardoor de mogelijke negatieve effecten door continue blootstelling moeilijk zijn in te schatten (ATSDR 2004). Voor drinkwater is in de VS een MRL (maximale residulimiet) afgeleid van  $6 \times 10^{-4}$   $\mu\text{g/l}$  tot  $2,4 \times 10^{-2}$   $\mu\text{g/l}$  (Valentine 2006).

Op verzoek van VWA heeft RIVM onderzoek gedaan naar de vorming van NDMA en daarvoor een *in vitro* maag-darmmodel gebruikt om NDMA-vorming te simuleren bij inname van vis en nitraatrijke groenten, gebaseerd op de resultaten van de Voedselconsumptiepeiling (VCP) uit 1997-1998. Het 95-ste

percentiel van de lange-termijnblootstelling lag rond de 4 ng/kg lichaamsgewicht in jonge kinderen en 0,4 ng/kg lichaamsgewicht in volwassenen. De lange-termijnblootstelling van 50% van de kinderen en 5% van de volwassenen lag boven de acceptabele blootstellingswaarde. In termen van kanker bleken deze overschrijdingen echter beperkt: de 95-percentielwaarden van deze blootstellingen kwamen overeen met een kans op kanker van zes op de miljoen blootgestelden voor vijfjarige kinderen en 0,8 per miljoen blootgestelden voor volwassenen. Op deze wijze geschat, overschreed 1% van de vijfjarige kinderen de, in dit onderzoek afgeleide, acute blootstellingslimiet van 110 ng/kg op ongeveer 2% van de consumptiedagen. Voor een extra risico van één op de miljoen mensen werd de afname in 'tijd tot tumor' geschat op 3,8 minuten in de rat, ongeveer gelijk aan 0,1 dag bij de mens. Uit het onderzoek werd geconcludeerd dat de acute blootstelling van (endogeen gevormd) NDMA voor de Nederlandse bevolking een verwaarloosbaar klein risico op kanker opleverde (Zeilmaker et al. 2010).

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

Een panel in opdracht van het World Cancer Research Fund (WCRF/AICR 2007) constateerde in 2007 dat er beperkt bewijs was dat rood vlees en bewerkt vlees oorzaken waren van kanker. Onder bewerkt vlees kunnen vele bewerkingen worden verstaan. Echter meestal wordt het gebruikt voor rood vlees dat is geconserveerd door roken, zouten of toevoeging van nitriet of andere conserveermiddelen. De term wordt niet consistent gebruikt en vaak niet goed gedefinieerd in epidemiologisch onderzoek. Het proces waarbij nitriet reageert met afbraakproducten van aminozuren en N-nitrosoverbindingen vormt, kan optreden in vlees tijdens bewerking met nitriet of in het lichaam (voornamelijk de maag) ten gevolge van inname van nitriet of nitraat. Het eten van rood vlees verhoogt de concentraties van N-nitrosoverbindingen in het lichaam; waarschijnlijk wordt dit deels veroorzaakt door de grote hoeveelheid heem in vlees. Heem stimuleert de vorming van N-nitrosoverbindingen en bevat ijzer. Vrij ijzer kan leiden tot de vorming van vrije radicalen. Het Panel concludeerde dat bewerkt vlees een oorzaak was van colorectale kanker en dat er beperkt bewijs was voor een oorzakelijk verband tussen de inname van bewerkt vlees en slokdarm-, long-, maag- en prostaatkanker. Aan de andere kant was er beperkt bewijs dat het eten van vis beschermt tegen colorectale kanker en dat groenten en fruit beschermen tegen slokdarm- en maagkanker (WCRF/AICR 2007).

In een prospectief onderzoek bij meer dan 23.000 mannen en vrouwen van 40-79 jaar in Norfolk (VK) is de relatie tussen de inname van N-nitrosoverbindingen (NDMA) via de voeding (ongeveer 0,06 µg/dag), de endogene N-nitrosoverbindingen-index, nitriet uit de voeding en kankerincidentie onderzocht. Na een onderzoeksperiode van 11,4 jaar bleek de inname van NDMA uit de voeding gerelateerd te zijn aan een hogere incidentie van maagdarmkanker. Een significante interactie werd gevonden tussen de plasmaconcentratie van vitamine C en de inname van NDMA op kankerincidentie. De N-nitrosoverbindingenindex, een schatting van de endogeen gevormde N-nitrosoverbindingen, en de inname van nitriet met de voeding waren niet significant geassocieerd met kankerrisico (Loh et al. 2011). De index voor de endogeen gevormde N-nitrosoverbindingen is gebaseerd op een toegenomen productie van N-nitrosoverbindingen in de dikke darm na consumptie van rood vlees.

### **Inname**

Groenten dragen voor 50-70% bij aan de totale nitraatinname (EFSA 2008). Voor kinderen (1-19 jaar) varieerde de chronische nitraatinname uit voedsel tussen 0,77 en 1,39 mg/kg lichaamsgewicht per dag en de het 95<sup>ste</sup> percentiel van de inname (P97,5) lag tussen 2,95 en 4,76 mg/kg lichaamsgewicht per dag (EFSA 2010). De hoogste waarden werden waargenomen voor jonge kinderen. De mediane inname van kinderen van 1-4 jaar was 1,39 en de P97,5 was 4,76 mg/kg lichaamsgewicht per dag. De geschatte, acute inname varieerde tussen 0,8 en 3,8

mg/kg lichaamsgewicht per dag uitgaande van nitraatconcentraties in spinazie van 816 mg/kg. Een mogelijke nitraatinname uit spinazie van 13,8 mg/kg lichaamsgewicht per dag werd geschat voor de twaalf maanden oude leeftijdsgroep bij een maximale, wettelijk toegelaten hoeveelheid nitraat in spinazie. De nitraatinname was hoger in de jongere leeftijdsgroepen: maximaal respectievelijk 23,3 en 27,2 mg/kg lichaamsgewicht per dag bij nitraatconcentraties van respectievelijk 3000 en 3500 mg/kg voor zes maanden oude baby's. Dit was exclusief de nitraatinname van water (EFSA 2010).

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

Voor Nederland werd met behulp van de VCP 1997-1998 de inname van 1-4 jarige kinderen (n=156) berekend. De mediane inname was 2,3 mg/kg lichaamsgewicht per dag; P97,5 was 5,1 mg/kg lichaamsgewicht per dag (Westenbrink et al. 2005). Twintig procent van de kinderen tussen één en twee jaar oud overschreed de ADI van nitraat (van Asselt et al. 2008). Op basis van de innamegegevens uit de VCP-kinderen van 2005-2006, was de mediane inname 1,9 mg/kg lichaamsgewicht per dag voor tweejarige kinderen (Boon et al. 2009). Uit de VCP 2007-2010 bleek dat de lange-termijninname (P50) voor kinderen van 7-16 jaar 1,2 mg/kg lichaamsgewicht per dag was; de P95 was 2,0 mg/kg lichaamsgewicht per dag. Voor volwassenen was dit respectievelijk 0,9 en 1,8 mg/kg lichaamsgewicht per dag (Geraets et al. 2011). 0,04% van de kinderen (7-16 jaar) en 0,03% van de volwassenen (16-70 jaar) overschreed de ADI van nitraat. Een tijdelijke overschrijding van de ADI betekent niet per se een gezondheidsrisico, want de ADI voor nitraat is afgeleid van subchronische en chronische onderzoeken en betreft een levenslange inname (EFSA 2010).

N-nitrosoverbindingen zijn ook in voedsel aangetoond. Deze verbindingen ontstaan in nitriet- en eiwitrijke levensmiddelen zoals vlees, vis, kaas en spinazie door binding van nitriet aan aanwezige eiwitten wanneer deze producten onder hoge temperaturen worden verwarmd, bijvoorbeeld bij braden, bakken en roken. De inname van N-nitrosoverbindingen werd in het Verenigd Koninkrijk op 36-140 µg per dag geschat; de gemiddelde inname van NDMA tussen 0,1 en 101 µg per dag (Gangolli et al. 1994). Op basis van een ruwe massabalans van exogene blootstelling en excretie via de urine en feces, bleek dat 45-75% van de N-nitrosoverbindingen (nitrosamines) endogeen werden gevormd (Tricker 1997). Wanneer gedurende de laatste veertig jaar N-nitrosamines werden gevonden in voedingsmiddelen, werden de productiewijze en ingrediënten zo gewijzigd of verwijderd dat de vorming van deze stoffen werd geëlimineerd of geminimaliseerd. Voorbeelden hiervan zijn de gewijzigde brouwmethodes van alcoholische dranken en toepassing van remmers van nitrosatie in met nitriet behandeld en verwerkt vlees. Dit is ook de doelstelling van een Europees project binnen het zevende kaderprogramma, het PHYTOME-project<sup>3</sup>.

Opgemerkt dient te worden dat een dagelijkse voeding met de aanbevolen 200 gram groenten en twee stuks fruit zal leiden tot een overschrijding van de ADI voor nitraat. Voor iemand van 70 kg is de ADI 259 mg nitraat en hierin kan worden voorzien door minder dan 200 gram spinazie, biet, rucola of sla. Bij het opstellen van de aanbevelingen voor een gezonde voeding is uitgegaan van de gezondheidsbevorderende eigenschappen van groenten en fruit. Groene bladgroenten, die de hoogste nitraatconcentraties hebben, zijn tevens de voedingsmiddelen met de hoogste bescherming tegen coronaire hartziekten, beroerte en type 2 diabetes (Weitzberg en Lundberg 2013).

<sup>3</sup> <http://www.phytome.eu/v2/>

### Nitraatnormen EU

Er zijn limieten gesteld aan de hoeveelheid nitraat die in voedsel en drinkwater mag voorkomen. Nitraat en nitriet kunnen, gemengd met keukenzout of kaliumzout, als additief worden toegevoegd aan onder andere halfharde en harde kaassoorten en bereide vleeswaren om de houdbaarheid ervan te vergroten of voor kleur- en aromavorming. Toegestaan zijn E249 (kaliumnitriet), E250 (natriumnitriet), E251 (natriumnitraat) en E252 (kaliumnitraat). Hierbij gelden maximale concentraties die tijdens de vervaardiging mogen worden toegevoegd aan bepaalde producten van 100 tot 500 mg/kg en maximale restgehalten die variëren van 10 tot 250 mg/kg product (2006/52/EC). De maximum hoeveelheid ligt ver onder de (toegestane) nitraatgehalten in groenten, die tot maximaal 4500 mg nitraat per kilogram vers gewicht mogen bevatten. Nitriet beschermt vooral tegen de bacterie *Clostridium botulinum*, dat een virulent toxine produceert.

Voor drinkwater geldt een Europese norm van 50 mg nitraat per liter water. In Nederland geldt een nog lagere richtwaarde van 25 mg/l water. Voor bronwater dat in flessen wordt verkocht, geldt een richtlijn van maximaal 45 mg nitraat per liter. In de praktijk bevat bronwater meestal veel minder nitraat.

Het Europese milieubeleid ten aanzien van mest en mineralen is verwoord in de Europese Nitraatrichtlijn uit 1991 (91/676 EEC). Er zijn voor twee producten nitraatnormen vastgelegd, namelijk sla (met aparte normen voor ijsbergsla) en spinazie (met een aparte norm voor diepvries/conserven) (EG nr. 1881/2006). Lidstaten kunnen een derogatie (onthefving) aanvragen van de Europese richtlijn.

### **Aanvaardbare dagelijkse inname (ADI)**

FAO/WHO (1996) noemt letale doses nitraat voor de mens van 4-50 gram nitraat. De vorming van methemoglobine werd gerapporteerd bij innamen van 33-150 mg nitraat per kg lichaamsgewicht. Echter in een onderzoek met twaalf vrijwilligers die 9,5 gram natriumnitraat intraveneus in een uur kregen toegediend, werd geen toxiciteit waargenomen. Een dosis van 7-10,5 gram oraal toegediend ammoniumnitraat leidde bij twee van de twaalf proefpersonen in een ander onderzoek tot overgeven en diarree. FAO/WHO (1996) veronderstelde dat de letale dosis voor de mens waarschijnlijk rond 20 gram ligt. De acute orale letale dosis nitriet voor mensen ligt tussen 33 en 250 mg nitriet per kg lichaamsgewicht. Toxische doses die aanleiding geven tot methemoglobinemie liggen tussen 0,4 en 200 mg/kg lichaamsgewicht (FAO/WHO 1996).

De aanvaardbare dagelijkse inname (ADI) van nitraat is gesteld op 0-3,7 mg/kg lichaamsgewicht (EC 1992, EC 1995, FAO/WHO 2003a). Voor nitriet heeft het Scientific Committee for Food (SCF) een ADI van 0-0,06 mg/kg lichaamsgewicht vastgesteld (EC 1997) en het Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) komt tot een ADI van 0-0,07 mg/kg lichaamsgewicht per dag (FAO/WHO 2003b). Dit is de maximale hoeveelheid die iemand iedere dag gedurende zijn hele leven kan consumeren zonder risico voor de gezondheid. De ADI's zijn gebaseerd op een NOAEL (afwijkingen aan hart en longen) verkregen uit onderzoek bij de rat; een veiligheidsfactor van 100 is toegepast. Echter, ratten kunnen niet nitraat concentreren in de speekselklieren en scheiden niet, zoals de mens, nitraat uit via de speekselklieren. Bovendien stelde JECFA in 2003 dat er een verhoogd risico voor kanker was bij toenemende innamen van nitraat. Echter, er is geen bewijs voor de relatie tussen de inname van nitraat, nitriet of N-nitrosoverbindingen en maag-, hersen-, slokdarm-, en keelkanker (Archer 2002, Bryan et al. 2012, Gilchrist et al. 2011, Milkowski et al. 2010). WCRF/AICR (2007) concludeerde dat bewerkt vlees een oorzaak was van colorectale kanker en dat er beperkt bewijs was voor een oorzakelijk verband tussen de inname van bewerkt vlees en slokdarm-, long-, maag- en prostaatkanker. Hierbij moet worden aangetekend dat in onderzoeken 'bewerkt vlees' niet altijd duidelijk is gedefinieerd.

De Amerikaanse Environmental Protection Agency (EPA) berekende de zogenaamde referentiedosis die overeenkomt met de ADI. In 1991 stelde EPA een referentiedosis (RfD) voor chronische orale blootstelling vast voor nitraat op basis van het risico voor methemoglobinemie bij kinderen. Deze RfD van 7 mg nitraat per kg lichaamsgewicht per dag (1,6 mg nitraat-stikstof per kg lichaamsgewicht per dag) is hoger dan de ADI zoals afgeleid door FAO/WHO en EU (EPA 1991).

EFSA bracht in 2008 een advies uit over nitraat in groenten en een aanvulling over acute effecten van nitraatinnamen uit sla of spinazie bij kinderen in 2010. In het advies uit 2008 concludeerde het EFSA-Panel dat de geschatte nitraatinnamen uit groenten naar alle waarschijnlijkheid niet zullen leiden tot gezondheidsrisico's en daarom moeten de positieve effecten van groenteconsumptie prevaleren. EFSA concludeerde in 2010 dat vooral bladgroenten zoals sla en spinazie relatief veel nitraat bevatten, zeker als ze binnen worden verbouwd of met weinig licht. De nitraatblootstelling van kinderen vormt waarschijnlijk geen gezondheidsrisico. Echter voor kinderen die meer dan één spinaziemaaltijd per dag eten, kon een risico niet worden uitgesloten. EFSA (2010) kon geen Acute Reference Dose (ARfD) afleiden maar stelde wel vast dat bij innamen van nitraat uit sla en spinazie onder 15 mg/kg lichaamsgewicht per dag, de methemoglobineconcentraties in kinderen of baby's ouder dan drie maanden, niet was verhoogd. Het EFSA-Panel adviseerde baby's en kinderen met een bacteriële infectie van het maag-darmkanaal geen spinazie te geven, omdat deze kinderen gevoeliger zijn voor nitraat (EFSA 2010).

### **Risk-benefit-afweging**

RIVM heeft in 2004 in 'Ons eten gemeten' (van Kreijl et al. 2004) de mogelijke gezondheidswinst door vermindering van blootstelling aan nitraat en nitriet en de daarmee samenhangende vorming van nitrosamines geschat op 100-500 DALY's (Disability Adjusted Life Years, een maat die de effecten op ziekte en sterfte samen neemt en onderling weegt). RIVM tekende daarbij aan dat de berekening van kankerrisico's voor genotoxische carcinogenen zoals nitrosamines, vanwege de gehanteerde aannames nogal conservatief waren en waarschijnlijk een overschatting van het werkelijke risico gaven. Uit een nauwkeurigere schatting uit 2010 werd geconcludeerd dat de acute blootstelling van NDMA voor de Nederlandse bevolking een verwaarloosbaar klein risico op kanker opleverde (Zeilmaker et al. 2010).

In 'Ons eten gemeten' (van Kreijl et al. 2004) werd de gezondheidswinst die door vermeden ziekte of sterfte aan hart- en vaatziekten zou optreden wanneer iedereen tenminste een keer per week vis zou eten, geschat op 82.000 DALY's. Het opvolgen van de aanbevelingen voor groenten en fruit (200 gram van elk per dag) zou in 2004 een gezondheidswinst van respectievelijk 47.000 en 95.000 DALY's opleveren. Voedselinfecties ten gevolge van het eten van rauwe groenten leverde een verlies van ca. 50-200 DALY's op. Uit deze schattingen kan worden geconcludeerd dat de positieve effecten van het eten van groenten en fruit ruimschoots opwegen tegen de risico's (van Kreijl et al. 2004).

### **Effecten van nitraatsupplementen (bietensap)**

Het effect van een nitraatsupplement in de vorm van bietensap op sportprestaties wordt aangeprezen (NOC\*NSF 2012) en is onderzocht. Inname van bietensap verlaagde de hoeveelheid benodigde zuurstof voor het leveren van een prestatie en verlengde de 'tijd tot uitputting'. Een dagelijkse suppletie met bietensap (500 ml/dag, ongeveer 8 mmol nitraat per dag) gedurende zes dagen, vergeleken met placebo, verlaagde de gemiddelde VO<sub>2</sub>-waarden (het zuurstofgebruik) gedurende submaximale training en verbeterde de prestatie van een 10-km rit in getrainde wielrenners (Cermak et al. 2012), lopers (Lansley et al. 2011) en sporters (Bailey et al. 2009). Acht fietsers dronken een halve liter bietensap per dag (5,2 mmol

nitraat per dag) of placebo gedurende 4-6 dagen. De nitraatinname resulteerde in verminderd zuurstofverbruik, betere prestaties en een verlaging van de bloeddruk (Lansley et al. 2011, Vanhatalo et al. 2010). Nitraatsuppletie middels capsules van 4 versus 12 mmol (1488 mg nitraat) of 24 mmol kaliumnitraat versus 24 mmol kaliumchloride of 250 ml bietensap (5,5 mmol nitraat) versus water veroorzaakte een dosisafhankelijke toename in plasmanitrietconcentratie en verlaging van de bloeddruk bij gezonde vrijwilligers (Kapil et al. 2010). Bij 15 mannen en 15 vrouwen (23-68 jaar) leidde de inname van 500 g biet- en appelsap (15 mmol nitraat/l) in aanvulling op een normale voeding alleen tot een statistisch significante afname van de bloeddruk bij de mannen, zes uur na het drinken van het sap. De gemiddelde leeftijd van de mannen was 36, van de vrouwen 49 jaar (Coles en Clifton 2012). Acht ouderen van gemiddeld 72,5 jaar oud kregen in een cross-over onderzoek van vier periodes telkens gedurende drie dagen een controle (3 mg nitraat en 28 µg nitriet per dag) of een hoog-nitraat-voeding (155 mg nitraat en 246 µg nitriet per dag) met en zonder supplement (500 ml bietensap met 527 mg nitraat (8,5 mmol) en 15,9 µg nitriet (0,3 µmol)). De inname van de hoog-nitraat-voeding met het supplement leverde 8,4 mg nitraat/kg lichaamsgewicht. De plasmanitraat- en -nitrietconcentraties waren verhoogd in de groepen die het supplement kregen. Er was geen verschil in plasmaconcentraties tussen inname van de hoog-nitraat-voeding met het supplement en die van de controlevoeding plus het supplement en er werden geen effecten op de bloeddruk waargenomen (Miller et al. 2012). De auteurs schreven dat een enkele dosis van 4 mmol nitraat fysiologische effecten veroorzaakte en de plasmaconcentraties van nitraat en nitriet verhoogde. Dit zou kunnen verklaren waarom in het onderzoek met een dosis nitraat van 2,5 mmol in de hoog-nitraat-voeding geen effecten in plasmawaarden werden gemeten (Miller et al. 2012).

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

### **Effecten van nitrietconservering van vlees**

In de jaren '50 en '60 van de vorige eeuw werd de potentie ontdekt van nitraat en nitriet om nitrosamines te vormen en dit ontketende een debat over de veiligheid van geconsumeerd nitriet, met een focus op met nitriet behandeld vlees (Sindelar en Milkowski 2012). Vlees kan met nitriet worden behandeld ('cured meat') ter voorkoming van botulisme en om het langer houdbaar te maken. De bijdrage van met nitriet behandeld vlees aan de inname door de mens van nitraat en nitriet is klein. Bovendien zijn ondertussen de bewerkingen drastisch aangepast om nitrosaminevorming te voorkomen of te minimaliseren (Archer 2002, Sindelar en Milkowski 2012).

Binnen het samenwerkingsverband van het European Science Advisory Network for Health (EuSANH) hebben de Belgische Hoge Gezondheidsraad en de Nederlandse Gezondheidsraad (Health Council 2012) eind 2012 een gezamenlijk advies uitgebracht over leukemie bij kinderen en omgevingsfactoren. Het Comité heeft zich bij de evaluatie van de wetenschappelijke kennis en bij het formuleren van aanbevelingen laten leiden door het voorzorgprincipe. Het Comité raadde aan "... gegeven de onzekerheid over een oorzakelijk verband met kinderleukemie, dat zwangere vrouwen geen vlees eten dat is behandeld met nitriet, zoals ham, spek en worst". Deze aanbeveling werd onderbouwd door te refereren aan onderzoek bij proefdieren die via de placenta waren blootgesteld aan N-nitrosoverbindingen. Men stelde dat deze verbindingen ook soms worden aangetroffen in met nitriet behandeld vlees en dat de consumptie van met nitriet behandeld vlees ('cured meat') een mogelijke risicofactor is voor de ontwikkeling van kanker bij kinderen. In het algemeen beschouwde het Comité een causaal verband tussen de consumptie van met nitriet behandeld vlees tijdens de zwangerschap en kinderleukemie als onzeker, maar adviseerde wel om de inname van met nitriet behandeld vlees (bijvoorbeeld ham, spek, worst) door zwangere vrouwen te beperken. Men baseerde de analyse op een document van Kreis et al. (2011) dat was gebaseerd op een artikel van Blot et al. (1999).

Blot et al. (1999) hebben veertien epidemiologisch onderzoeken, waarvan dertien case-control-onderzoeken, naar de relatie tussen de consumptie van met nitriet behandeld vlees tijdens de zwangerschap en het risico van hersentumoren en andere vormen van kanker in kinderen bekeken. De meeste onderzoeken lieten geen statistisch significante relatie zien tussen de totale inname van 'cured meat' (met nitriet geconserveerd vlees) en kankerrisico bij kinderen. Een statistisch significante trend voor de relatie tussen met nitriet behandeld vlees en hersenkanker werd in vier onderzoeken gevonden en in zes onderzoeken niet. In de vier andere onderzoeken werden andere soorten kanker onderzocht en in geen enkel onderzoek werd een relatie gevonden. In de vier onderzoeken waarin een mogelijke relatie met hersenkanker werd gevonden, waren de relaties met met nitriet behandeld vlees niet eenduidig. Bijvoorbeeld er werd een relatie gevonden met de inname van de moeder van hotdogs, spek en worst, maar niet met boterhamworst ('luncheon meat') of ham; of een verhoogd risico voor hotdogs en ham maar niet voor spek; voor spek maar niet voor hotdogs of ham; voor hotdogs maar niet voor spek/ham, spek/salami of boterhamworst. Voor leukemie werd een verhoogd risico gevonden voor de consumptie van spek/ham maar niet voor hotdogs of boterhamworst. In een ander onderzoek werd een verhoogd risico gevonden bij consumptie van de moeder van hotdogs maar niet van spek/ham/worst. In deze onderzoeken werd niet gecontroleerd voor de inname van groenten en fruit, was het lastig de juiste consumptie van de onderzochte vleeswaren te schatten en is het onduidelijk welk effect sociaal-economische status en de tijd tussen kankerdiagnose en interview hadden. In het merendeel van de onderzoeken werd geen verband gevonden met roken van de moeder. Andere factoren die significant waren gerelateerd aan het kankerrisico van kinderen waren onder andere een laag geboortegewicht, beperkte lengte, gebruik van wierook, marihuana, antihistamines, pesticiden, spray voor vliegen en teken, haardrogers, verkeersdichtheid, blootstelling van vader aan creosoot of werkzaam in de chemische industrie, blootstelling van moeder aan varkens en paarden. Methodologisch gezien is er nogal wat aan te merken op de bekeken onderzoeken (Blot et al. 1999). Bijvoorbeeld in twee onderzoeken werd de inname van cola meegenomen als 'neutrale' indicator. Er werd dus geen relatie verwacht met de incidentie van kanker, maar een positieve relatie met cola-inname werd wel gevonden. De verklaring zou kunnen zijn dat cola door de moeders van kinderen met kanker werd gezien als ongezond en vaker werd gerapporteerd dan door de moeders van de kinderen in de controlegroep. Ook werd slechts een beperkt aantal voedingsmiddelen nagevraagd. Naast met nitriet behandeld vlees werd naar slechts twee andere rode vleessoorten gevraagd en bijvoorbeeld visconsumptie of de methode van bereiding werden niet nagevraagd. Een aantal onderzoeken lieten een positief verband zien tussen consumptie van hamburgers door de moeders en kanker op de kinderleeftijd; echter hamburgers bevatten meestal geen nitriet of andere conserveermiddelen.

Het onderzoek was ingegeven door blootstelling via de placenta van proefdieren aan N-nitrosoverbindingen, nitrosamides en voornamelijk nitrosoureas, leidend tot de vorming van hersentumoren. Het carcinogene effect kan niet worden doorgetrokken voor de *in utero* blootstelling aan nitrosamines. De zeer kleine hoeveelheden nitrosamines in met nitriet behandeld vlees bestaan voornamelijk uit dimethylnitrosamine (NDMA) en dit is geen carcinogeen dat de placenta passeert en dat tumoren van het centrale zenuwstelsel veroorzaakt in orale proefdierexperimenten (Blot et al. 1999). Bovendien nam in de jaren '70 tot '90 hersenkanker bij kinderen in de VS toe met meer dan 20%, met hogere percentages voor blanke dan voor zwarte kinderen. In dezelfde tijd daalden de nitrietgehalten in vlees scherp (tot 80%) en de consumptie daalde met 17% in de VS. Blot et al. (1999) schrijven dat dus niet kan worden geconcludeerd dat het eten van met nitriet behandeld vlees het risico van hersenkanker of andere soorten kanker bij kinderen heeft verhoogd, maar een relatie kan ook niet definitief worden uitgesloten.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356



Veel bewerkte vleessoorten bevatten naast hoge concentraties nitriet, ook hoge concentraties zout. Vlees dat is gekookt op hoge temperaturen kan heterocyclische amines en polycyclische aromatische koolwaterstoffen bevatten die schadelijke gezondheidseffecten kunnen hebben. Bovendien bevat vlees heem dat de vorming stimuleert van N-nitrosoverbindingen en ijzer bevat. Vrij ijzer kan leiden tot de productie van vrije radicalen (WCRF 2007). Antioxidanten zoals vitamines C en E remmen de vorming van nitroserende verbindingen door de vorming van stikstofdioxide uit nitriet te stimuleren en worden daarom vaak toegevoegd aan bewerkte vlees. Als al deze factoren niet bekend zijn, is het lastig om eenduidige conclusies uit onderzoeken te trekken.

### Conclusies

- In het verleden werden nitraat en nitriet beschouwd als schadelijke voedseladditieven, terwijl nu duidelijk is geworden dat het belangrijke voedingsstoffen zijn voor onder andere cardiovasculaire gezondheid door de productie van stikstofdioxide. Nitraat en nitriet zijn onder andere nodig voor het reguleren van de bloeddruk, bloedplaatjesaggregatie en het beschermen van de bloedvaten.
- Het bewijs voor nadelige gezondheidseffecten van nitraat en nitriet uit voedsel is zwak en inname boven de ADI zouden best onschuldig kunnen zijn (Katan 2009).
- De inname van groenten, die naast nitraat, vitamine C en andere antioxidant bevatten, verlaagt de bloeddruk en het risico van kanker en hart- en vaatziekten.
- Nitriet kan in een reageerbuis samen met nitroserbare stoffen nitrosamine vormen en nitrosamine veroorzaakt kanker bij ratten (Zeilmaker et al. 2010). Ook bij de mens kan vorming van schadelijke N-nitrosoverbindingen zoals NDMA plaatsvinden, afhankelijk van de inname van nitroserbare stoffen en de hoeveelheid remmers uit de voeding (Vermeer et al. 1998).
- Het huidige wetenschappelijke bewijs geeft aan dat een normale inname en endogene vorming van nitraat en nitriet niet tot een verhoogd risico voor (maag)kanker leidt (Bryan et al. 2012).
- Het risico van methemoglobinemie bij kinderen is beperkt en treedt niet op bij inname van nitraat onder 15 mg/kg lichaamsgewicht per dag.
- Bij het vaststellen van de aanvaardbare dagelijkse inname (ADI) voor nitraat en nitriet is geen rekening gehouden met de gezondheidsbevorderende eigenschappen van deze stoffen en hun metaboliëten, de verschillen in metabolisme tussen de rat en de mens, en de effecten van gelijktijdig ingenomen voedingsstoffen zoals antioxidant.
- Een zeer klein percentage van de Nederlandse bevolking overschreed de ADI van nitraat (259 mg nitraat voor iemand van 70 kg). Vanwege hun lage lichaamsgewicht, totale nitraatinname en afwijkende fysiologie lopen baby's het grootste risico op overschrijding van de ADI. Bij een inname van groenten volgens de aanbeveling van 200 gram voor volwassenen, kan de ADI worden overschreden.
- Er is weinig bekend over de nitrietinname uit voedsel. Bedacht moet worden dat nitraat in de mond wordt omgezet in nitriet. Bij een maximale nitraatinname en een omzetting van 5% ervan in nitriet, is de nitrietinname ongeveer 13 mg per dag voor een volwassene (70 kg). Deze inname ligt boven de huidige ADI voor nitriet.
- Risicogroepen, zoals baby's, zwangere vrouwen, nierpatiënten, mensen met bacteriële infecties en mensen met een chronisch zuurstoftekort, zouden uit voorzorg voorzichtig moeten zijn met de consumptie van nitraatrijke groenten in combinatie met nitroserbare stoffen, zoals amines in vis.
- Een risk-benefit-afweging op basis van DALY's laat zien dat de positieve effecten van het eten van voldoende vis, groenten en fruit meer dan

ruimschoots opwegen tegen de risico's van het eten van deze voedingsmiddelen, die nitraat kunnen bevatten.

- Een halve liter bietensap met een hoog nitraatgehalte per dag (een supplement van ongeveer 500 mg) wordt aanbevolen aan sporters om hun prestaties te verhogen door NOC\*NSF. Er is geen onderzoek bekend naar de mogelijke nadelige effecten van een langdurige inname van deze hoge, additionele hoeveelheden nitraat.
- Er is verder onderzoek nodig naar de mogelijke nadelige gezondheidseffecten van een langdurige inname van hoge hoeveelheden nitraat, zoals het drinken van een halve liter bietensap per dag om sportprestaties te verhogen.
- Een causaal verband tussen de inname van met nitriet behandeld vlees door de moeder en hersentumoren en/of leukemie in de kinderleeftijd kan niet worden geconcludeerd op basis van het beschikbare bewijs.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**

10 oktober 2014

**Onze referentie**

NVWA/BuRO/2014/4356



Prof. dr. Antoon Opperhuizen

Directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

## Referenties

- Archer DL. Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. Review. *J Food Protect* 2002;65(5):872-875.
- Asselt ED van, de Mul A, van Klaveren JD. Inname aan zware metalen en nitraat door jonge kinderen. Wageningen: RIKILT, mei 2008. Rapport 2008.003.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Interaction profile for cyanide, fluoride, nitrate, and uranium. Atlanta: US Department of Health and Human Services, 2004.
- Bailey SJ, Winyard P, Vanhatalo A, Blackwell JR, DiMenna FJ, Wilkerson DP, Tarr J, Benjamin N, Jones AM. Dietary nitrate supplementation reduces the O<sub>2</sub> cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol* 009;107:1144-1155.
- Blot WJ, Henderson BE, Boice JD Jr. Childhood cancer in relation to cured meat intake: Review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 1999;34(1):111-118.
- Boon PE, Bakker MI, van Klaveren JD, van Rossum CTM. Risk assessment of the dietary exposure to contaminants and pesticide residues in young children in the Netherlands. Bilthoven, The Netherlands: RIVM, 2009. Report 350070002/2009.
- Brender JD, Weyer PJ, Romitti PA, Mohanty BP, Shinde MUong AM, Sharkey JR, Dwivedi D, Horel SA, Kantamneni J, Huber JC Jr, Zheng Q, Werler MM, Kelley KE, Griesenbeck JS, Zhan FB, Langlois PH, Suarez L, Canfield MA. National Birth Defects Prevention Study. Prenatal nitrate intake from drinking water and selected birth defects in offspring of participants in the National Birth Defects Prevention Study. *Environ Health Perspect* 2013;121(9):1083-1089. doi: 10.1289/ehp.1206249. Epub 2013 Jun 11.
- Bryan NS, Alexander DD, Coughlin JR, Milkowski AL, Bofetta P. Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: An updated review. *Food Chem Toxicol* 2012;50:3646-3665, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.07.062>.
- Cermak NM, Gibala MJ, van Loon LJC. Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. *Internat J Sport Nutr Excercise Metab* 2012;22:64-71.
- Chan TYK. Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. *Toxicol Letters* 2011;200:107-108.
- Cole SP, Kharitonov VF, Guiney DG. Effect of nitric oxide on *Helicobacter pylori* morphology. *J Infectious Diseases* 1999;180:1713-1717.
- Coles LT, Clifton PM. Effect of beetroot juice on lowering blood pressure in free-living, disease-free adults: a randomized, placebo-controlled trial. *Nutr J* 2012.
- Cooper AJ, Forouhi NG, Ye Z, et al. Fruit and vegetable intake and type 2 diabetes: EPIC-InterAct prospective study and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 2012;66:1082-1092.
- De Bont R, Van Larebeke N. Literatuuronderzoek. Nitraten en nitrieten. Steunpunt beleidsrelevant onderzoek Milieu en Gezondheid, 2003.
- EC (European Commission). Opinion on nitrate and nitrite. Reports of the Scientific Committee for Food (SCF) 26th Series, 21-28, 1992. Available from [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf\\_reports\\_26.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_26.pdf).
- EC (European Commission). Opinion on nitrate and nitrite. Reports of the Scientific Committee for Food (SCF) 38th Series, 1-33, 1997. Available from [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf\\_reports\\_38.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_38.pdf).
- EC. European Commission Directorate-General III Industry. Scientific Committee for Food. Opinion on nitrate and nitrite expressed on 22 September 1995. Annex 4 to Document 111/5611/95.
- EFSA. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion. Statement on possible health risks for infants and young children from the presence of nitrates in leafy vegetables. *EFSA J* 2010;8(12):1935, 42 pp.

Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

Datum  
10 oktober 2014

Onze referentie  
NVWA/BuRO/2014/4356

Question No EFSA-Q-2010-01037, adopted on 1 December 2010.  
doi:10.2903/j.efsa.2010.1935.

- EFSA. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion. Nitrate in vegetables. EFSA J 2008;689:1-79. Question No EFSA-Q-2006-071, adopted on 10 April 2008.
- EPA. Integrated Risk Information System. Nitrate (CASRN 14797-55-8), 10 January 1991, <http://www.epa.gov/iris/subst/0076.htm>.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations/World Health Organization). Nitrate. In: Safety evaluation of certain food additives (Food additives Series 35). Geneva: World Health Organization, 1996. Available from <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je14.htm>
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations/World Health Organization). Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). Geneva: World Health Organisation, 2003a. WHO Food Additive series 50. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je06.htm>.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations/World Health Organization). Nitrite (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). Geneva: World Health Organisation, 2003b. WHO Food Additive series 50. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htm>.
- FAVV. Fiche 1.9. Nitrosamines, Versie 22/03/2010. Brussel: FAVV, Wetenschappelijk Comité, adviezen 2010. [http://www.favv.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/\\_documents/Bijlage1-fiche1.9.nitrosamines.pdf](http://www.favv.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/Bijlage1-fiche1.9.nitrosamines.pdf).
- Gangolli SD, van den Brandt PA, Feron VJ, Janzowsky C, Koeman JH, Speijers GJ, Spiegelhalder B, Walker R, Wisnok JS. Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. Eur J Pharmacol Environ Toxicol Pharmacol Section 1994;292:1-38.
- Geraets L, te Biesebeek JD, van Donkersgoed G, Koopman N, Boon P. The intake of acrylamide, nitrate and ochratoxin A in the population aged 7 to 69 years living in the Netherlands. Bilthoven: RIVM, 2011. RIVM briefrapport 1294A01/2011.
- Gilchrist M, Shore AC, Benjamin N. Inorganic nitrate and nitrite and control of blood pressure. Cardiovascular Res 2011;89:492-498.
- Health Council of the Netherlands, Superior Health Council Belgium, EuSANH. Childhood leukaemia and environmental factors. Den Haag/Brussel: GR/SHC, December 2012.
- Hord NG, Tang Y, Bryan NS. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. Am J Clin Nutr 2009;90:1-10.
- Joris PJ, Mensink RP. Beetroot juice improves in overweight and slightly obese men postprandial endothelial function after consumption of a mixed meal. Atherosclerosis 2013;231(1):78-83.
- Kapil V, Milsom AB, Okorie M, et al. Inorganic nitrate supplementation lowers blood pressure in humans. Role for nitrite-derived NO. Hypertension 2010;56:274-281.
- Katan MB. Nitrate in foods: harmful or healthy? Am J Clin Nutr 2009;90:11-12.
- Knekt P, Järvinen R, Dich J, Hakulinen T. Risk of colorectal and other gastrointestinal cancers after exposure to nitrate, nitrite and N-nitroso compounds: a follow-up study. Internat J Cancer 1999;80(6):852-856.
- Kreijl CF van, Knaap AGAC, Busch MCM, Havelaar AH, Kramers PGN, Kromhout D, van Leeuwen FXR, van Leent-Loenen HMJA, Ocke MC, Verkley H. Ons eten gemeten. Gezonde voeding en veilig voedsel in Nederland. Bilthoven: RIVM, Bohn, Stafleu, Van Loghum, 2004, 365 p. RIVM Rapport 270555007.
- Kreis IA, van Rongen E, Kremer L. Aetiology of childhood leukaemia: summary of reviews that did not separate acute lymphoblastic and myeloid leukaemia. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2011.
- Krul CAM, Zeilmaker MJ, Schothorst R, Havenaar R. Intragastric formation and modulation of N-nitrosodimethylamine in a dynamic in vitro gastrointestinal

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

- model under human physiological conditions. *Food Chem Toxicol* 2004;42:51-63.
- L'Hirondel J, l'Hirondel J-L. Nitrate and man, toxic, harmless or beneficial? Wallingford, UK: CABI Publishing, 2001.
  - Lansley KE, Winyard PG, Fulford J et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O<sub>2</sub> cost of walking and running: a placebo-controlled study. *J Appl Physiol* 2011;110:591-600.
  - Loh YH, Jakszyn P, Luben RN, Mulligan AA, Mitrou PN, Khaw K-T. N-nitroso compounds and cancer incidence: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Norfolk Study. *Am J Clin Nutr* 2011;93:1053-61.
  - Lundberg JO, Carlström M, Larsen FJ, Weitzberg E. Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. *Cardiovascular Res* 2011;89:525-532.
  - Lundberg JO, Feelisch M, Björne H, Jansson EA, Weitzberg E. Cardioprotective effects of vegetables: Is nitrate the answer? *Nitric Oxide* 2006;15:359-362.
  - Machha A, Schechter AN. Inorganic nitrate: a major player in the cardiovascular health benefits of vegetables? *Nutr Rec* 2012;70(6):367-372. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00477.
  - McKnight G, Duncan CW, Leifert C, Golden MH. Dietary nitrate in man: friend or foe? *Br J Nutr* 1999;81:349-358.
  - Mensinga TT, Speijers GJ, Meulenbelt J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol Rev* 2003;22:41-51.
  - Milkowski A, Garg HK, Coughlin JR, Bryan NS. Nutritional epidemiology in the context of nitric oxide biology: A risk-benefit evaluation for dietary nitrite and nitrate. *Nitric Oxide* 2010;22:110-119.
  - Miller GD, Marsh AP, Dove RW, Beavers D, Presley T, Helms C, Bechtold E, King SB, Kim-Shapiro D. Plasma nitrate and nitrite are increased by a high-nitrate supplement but not by high-nitrate foods in older adults. *Nutr Res* 2012;32:160-168.
  - Nederlands Olympisch Comité, Nederlandse Sport Federatie (NOC\*NSF). Factsheet no. 31 – Rode bietensap. Juni 2012, <http://www.nocnsf.nl/home>.
  - NRC. National Research Council. Subcommittee on Nitrate and Nitrite in Drinking Water. Nitrate and nitrite in drinking water. Washington DC: National Academy Press, 1995, 63 pp.
  - Peters S. Combineer vis liever met worteltjes, bloemkool of prei. *Voeding Nu* 2008;(4):9-11.
  - Sindelar JJ, Milkowski AL. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide* 2012;26:259-266.
  - Tang Y, Jiang H, Bryan NS. Nitrite and nitrate: cardiovascular risk-benefit and metabolic effect. *Curr Opin Lipidol* 2011;22(1):11-15. doi: 10.1097/MOL.0b013e328341942c.
  - Tricker AR. N-nitroso compounds and man: sources of exposure, endogenous formation and occurrence in body fluids. 1997. *Eur J Cancer Prev.* 6(3):226-68).
  - Valentine R L, Zho Chen JC, Barrett SE, Hwang C, Guo Y, Wehner M, Fitzsimmons S, Andrews SA, Werker AG, Brubacher C, Kohut K. Factors affecting the formation of NDMA in water and occurrence. Denver CO: American Water Works Research Foundation, 2006, pp. 99-138.
  - Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, DiMenna FJ, Pavey TG, Wilkerson DP, Benjamin N, Winyard PG, Jones AM. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;299:R1121-R1131.
  - Velzen AG van, Sips AJAM, Schothorst RC, Lambers AC, Meulenbelt J. The oral bioavailability of nitrate from nitrate-rich vegetables in humans. *Toxicol Letters* 2008;181:177-181.
  - Vermeer ITM, Pachen DMFA, Dallinga JW, Kleinjans JCS, van Maanen JMS. Volatile N-nitrosamine formation after intake of nitrate at the ADI level in

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356

- combination with an amine-rich diet. *Environ Health Perspect* 1998;106:459-463.
- Vermeer ITM. Nitrate exposure and endogenous formation of carcinogenic nitrosamines in humans. Proefschrift. Maastricht: Universiteit Maastricht, 2000.
  - Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okorie M, Aboud Z, Misra S, Rashid R, Miall P, Deanfield J, Benjamin N, MacAllister R, Hobbs AJ, Ahluwalia A. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension* 2008;51:784-790.
  - Weitzberg E, Lundberg JO. Novel aspects of dietary nitrate and human health. *Annu Rev Nutr* 2013;33:16.1-16.31.
  - Westenbrink S, Jansen MCJF, Ter Doest D, Bausch-Goldblom RA. De inneming van nitraat en nitriet in Nederland. Zeist: TNO, 2005. TNO-rapport V6372.
  - Wolterink G, Slob W, Boon P, Jeurissen S. Commentaar op: Brender et al. Prenatal nitrate intake from drinking water and selected birth defects in offspring of participants in the National Birth Defects Prevention Study. *Environ Health Perspect* 2013;121(9):1083-1089.
  - World Cancer Research Fund (WCRF)/American Institute for Cancer Research (AICR). Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer, a global perspective. Second Expert Report. Washington D.C.: AICR, 2007.
  - World Health Organization (WHO). N-Nitrosodimethylamine in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva: World Health Organization, 2008. WHO/HSE/AMR/08.03/8, [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/ndma\\_2add\\_feb2008.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/ndma_2add_feb2008.pdf).
  - Zeilmaker MJ, Bakker MI, Schothorst R, Slob W. Risk assessment of N-nitrosodimethylamine formed endogenously after fish-with-vegetable meals. *Toxicol Sci* 2010;116(1):323-335.

**Bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering**

**Datum**  
10 oktober 2014

**Onze referentie**  
NVWA/BuRO/2014/4356