

Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador.

Renata de Souza Guerreiro

Graduanda em Farmácia, UNIME - Salvador; Analista do Laboratório de Físico-Química de Alimentos, SENAI-CETIND.
Endereço: Cabula VI, Bloco 45, Ap 201, 41181045 - Salvador- BA.
E-mail: renatasg@gmail.com

Matheus Santos de Sá

Farmacêutico, UFBA; Doutor em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, FIOCRUZ; Docente das disciplinas de Toxicologia e Farmacologia, UNIME, EBMSP e ESTÁCIO.

Letícia de Alencar Pereira Rodrigues

Engenheira de Alimentos, UNICAMP; Mestre em Ciência de Alimentos, UFBA; Coordenadora do Laboratório de Físico-Química e Microbiologia de Alimentos, SENAI-CETIND.

Resumo

Os sais de nitrito e nitrato são substâncias adicionadas intencionalmente aos alimentos cárneos com a finalidade de inibir o crescimento de microrganismos e conferir características sensoriais específicas destes produtos. No entanto, o excesso destes aditivos preocupa a comunidade científica em função dos riscos toxicológicos à saúde humana, como indução à metahemoglobinemia e formação de compostos cancerígenos. Visando o controlar os níveis destes sais, a legislação brasileira estabeleceu limites máximos de concentrações permitidas nestes produtos. Com o objetivo de avaliar o teor desses aditivos em alimentos cárneos comercializados na cidade de Salvador, foram analisadas 18 amostras por meio da técnica espectrofotométrica. No presente estudo, apenas uma amostra apresentou resultado superior ao preconizado pela legislação. Para garantir a confiabilidade dos resultados gerados neste trabalho, o método analítico utilizado foi validado através dos parâmetros de limite de detecção e quantificação, linearidade, exatidão e precisão. A faixa linear de trabalho do método foi de 0.000008 a 1.300 µg/g, o limite de quantificação para o nitrito e nitrato foi de 0,080 mg/kg e 0,30 mg/kg, respectivamente. A recuperação média foi de 90,5 e 104 % para o nitrito e nitrato, respectivamente. O método proposto mostrou-se adequado para análise de nitrito e nitrato em alimentos cárneos.

Palavras-chave: Nitrito. Nitrato. Cárneos. Toxicidade. Espectrofotometria.

Abstract

The salts of nitrite and nitrate are substances added to food meat in order to inhibit the growth of microorganisms and give their specific sensory characteristics. However, these additives concern over the scientific community on the basis of toxicological risks to human health, such as induction of methemoglobinemia and formation of carcinogenic compounds. In order to control the levels of these salts, the Brazilian legislation has established maximum concentrations allowed in these products. In order to evaluate the content of these food additives in meat sold in the city of Salvador, 18 samples were

analyzed by spectrophotometric method. In this study, only one sample showed better result than recommended by law. To ensure reliability of results generated in this work, the analytical method used was validated through the parameters of the limit of detection and quantification, linearity, accuracy and precision. The linear working range of the method was 0.000008 to 1.300 µg / g, the limit of quantification of nitrite and nitrate was 0.080 mg/kg and 0.30 mg/kg, respectively. The average recovery was 90.5 and 104% for nitrite and nitrate, respectively. The proposed method was suitable for analysis of nitrite and nitrate in meat foods.

Key-words: Nitrite. Nitrate. Meat. Toxicities. Spectrophotometry.

Introdução

Os compostos nitrogenados são encontrados em grande quantidade na natureza e participam da maioria dos processos biológicos. Em vegetais, o nitrato se encontra naturalmente presente, visto que a planta o absorve como fonte de nitrogênio para seu crescimento (MOREAL e SIQUEIRA, 2008). A sua presença em alimentos cárneos se deve a adição intencional dos sais de nitrito/nitrato de sódio ou potássio durante o seu processamento (MARTINS e GRANER, 2011).

A principal justificativa do uso desses aditivos, além dos aspectos de sabor e cor, é a sua ação preventiva na germinação e proliferação de esporos de algumas bactérias (ORDÓNEZ, 2005), especialmente *Clostridium botulinum*, responsáveis pela produção de neurotoxinas causadora do quadro de botulismo (PÉREZ et al., 1996).

Apesar dos benefícios que esses aditivos trazem para a tecnologia de alimentos, o uso de xenobióticos em alimentos, é motivo de preocupação para a comunidade científica, devido às possibilidades de reações tóxicas ao organismo, que estão relacionadas à quantidade ingerida.

O mais importante efeito tóxico agudo decorrente da ingestão de nitrito e/ou nitrato é a metahemoglobinemia (DUARTE, 2010). Essa síndrome clínica é causada pelo aumento da concentração de metahemoglobina no sangue (UDEH et

GUERREIRO, Renata de Souza; SÁ, Matheus Santos de; RODRIGUES, Letícia de Alencar Pereira. Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 5, n. 1, p. 77-91, fev. 2012.

al., 2001), que ocorre tanto por alterações congênitas na síntese ou no metabolismo da hemoglobina, como em situações agudas de desequilíbrio nas reações de redução e oxidação induzidas pela exposição a agentes metemoglobinizantes, como por exemplo, os nitritos e nitratos. (YANG et al., 2005 apud NASCIMENTO et al., 2008). O Nitrito interage com a Hemoglobina (Hb) oxidando-a a metahemoglobina (MeHb). Nessa reação, o átomo de ferro (II) do grupo heme é oxidado a ferro (III). Como a MeHb não se liga de forma reversível ao oxigênio, como acontece com Hb, ocorre uma redução no transporte de oxigênio dos alvéolos pulmonares para os tecidos. (MOREAL; SIQUERA, 2008). A toxicidade do nitrato é atribuível à sua redução enzimática e/ou microbiana a nitrito (DUARTE, 2010).

Níveis altos MeHb resultam em pigmentação acinzentada, tontura, cefaléia, dispnéia, sintomas de baixo débito cardíaco e sonolência (NASCIMENTO et al., 2008). Lactentes, são mais susceptíveis a metahemoglobinemia do que adultos, por apresentarem deficiência fisiológica transitória da MeHb redutase ou de seu co-fator NADH (MOREAL e SIQUERA, 2008) e por possuírem baixa acidez estomacal, o que os tornam mais susceptíveis a ação das bactérias redutoras de nitrato (MCKNIGHAT et al., 1999).

O excesso destes íons também pode levar a um aumento da incidência de câncer de estômago em seres humanos. O problema reside no fato de que os nitritos podem reagir com aminas para formar *N*-nitrosaminas, compostos conhecidos pelo seu potencial carcinogênico e por sua ação teratogênica em animais (WHO, 1995).

Em resposta a esse problema, a legislação brasileira, de acordo com a Portaria nº. 1004/1998, atribuiu um limite máximo do teor desses conservantes nos produtos acabados a serem consumidos de 150 mg/kg (de nitrito de sódio ou potássio) e 300 mg/kg (de nitrato de sódio ou de potássio). A referida portaria permite a mescla de nitrito e nitrato, desde que a soma das suas concentrações não seja superior a 150 mg/kg. (BRASIL, 1998).

Avaliando a importância industrial e os possíveis aspectos toxicológicos causados por esses aditivos, é essencial que seja executado o monitoramento do seu teor, evitando dessa forma, riscos a saúde da população. A principal ferramenta para assegurar que esses produtos estejam enquadrados nas determinações legais é através da determinação quantitativa desses compostos.

A técnica analítica mais amplamente utilizada para a determinação de nitrito e nitrato, pela sua simplicidade, é a espectrofotometria, (XIMENES et al., 2000). Porém várias outras têm sido empregadas, entre as quais, a cromatografia líquida de alta eficiência com detectores UV-Vis, fluorescência, cromatografia de íons, quimiluminescência e potenciometria (MOORCROFT e DAVIS, 2001).

Antes da aplicação de qualquer metodologia analítica é importante definir se o método de ensaio está adequado à aplicação que se propõe, e para isso é necessário realizar a sua validação. A validação de métodos é um dos requisitos técnicos para a garantia da qualidade de resultados analíticos (EURACHEM, 2009; ABNT, 2005). Segundo o INMETRO (2011), o laboratório ao empregar métodos normalizados não precisa validá-los por completo, entretanto, necessita demonstrar que tem condições de operá-los de maneira adequada. A validação de um método normalizado pode incluir parâmetros como, a linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.

Considerando que a quantificação destes compostos é de fundamental importância na preservação da saúde pública, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador, através da comparação dos teores encontrados com os valores permitidos pela legislação, bem como validar o método analítico utilizado a fim de garantir a confiabilidade dos resultados encontrados.

Material e métodos

Foram analisadas 18 amostras aleatórias de três produtos cárneos adquiridas em supermercados na cidade Salvador. Dessas amostras, seis foram de

mortadela, seis de presunto e seis de salsicha de diferentes marcas comerciais cadastradas no Serviço de Inspeção Federal (SIF).

Para a realização deste experimento, utilizou-se o espectrofotômetro UV-Vis (Varian Cary 50, Austrália), balança analítica (Ohaus Adventure, USA), banho maria com agitador magnético (Fisatom, Brasil), micropipetas de volume variável de 1000 µL e 5000 µL (Brand, Alemanha), processador (Walita master, Brasil). Todos os reagentes e padrões empregados foram de pureza analítica e a água foi obtida a partir de um deionizador (Permuton, Brasil).

O método foi validado conforme descrito pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Uma vez que o método utilizado neste artigo é clássico e derivado do método normalizado descrito na AOAC (2005), os parâmetros avaliados foram: Precisão (através da repetitividade), exatidão (através da recuperação), linearidade, e os Limites de Detecção e Quantificação do Método - LDM e LQM.

Para avaliar a exatidão e precisão, foram preparadas e analisadas dez replicatas de uma amostra de salsicha contendo adição de padrão em concentrações conhecidas de nitrito e nitrato de sódio - 40 mg/kg de amostra. As soluções padrões foram adicionadas à amostra após a pesagem, antes de ser iniciado o processo de extração. Todas as replicatas foram analisadas por um mesmo analista, em um curto espaço de tempo e utilizando os mesmos equipamentos.

Avaliou-se a linearidade através da construção de uma curva analítica no espectrofotômetro UV-Vis, com padrões de nitrito de sódio em sete níveis de concentração, na faixa de 0,00 µg/mL a 1,28 µg/mL. Utilizou-se o método de regressão linear para obter a equação da reta no formato $y = ax + b$ e o coeficiente de correlação.

A determinação do LDM e do LQM foi realizada através da análise de dez replicatas de ensaios em branco, utilizando-se água deionizada isenta de nitrito e nitrato.

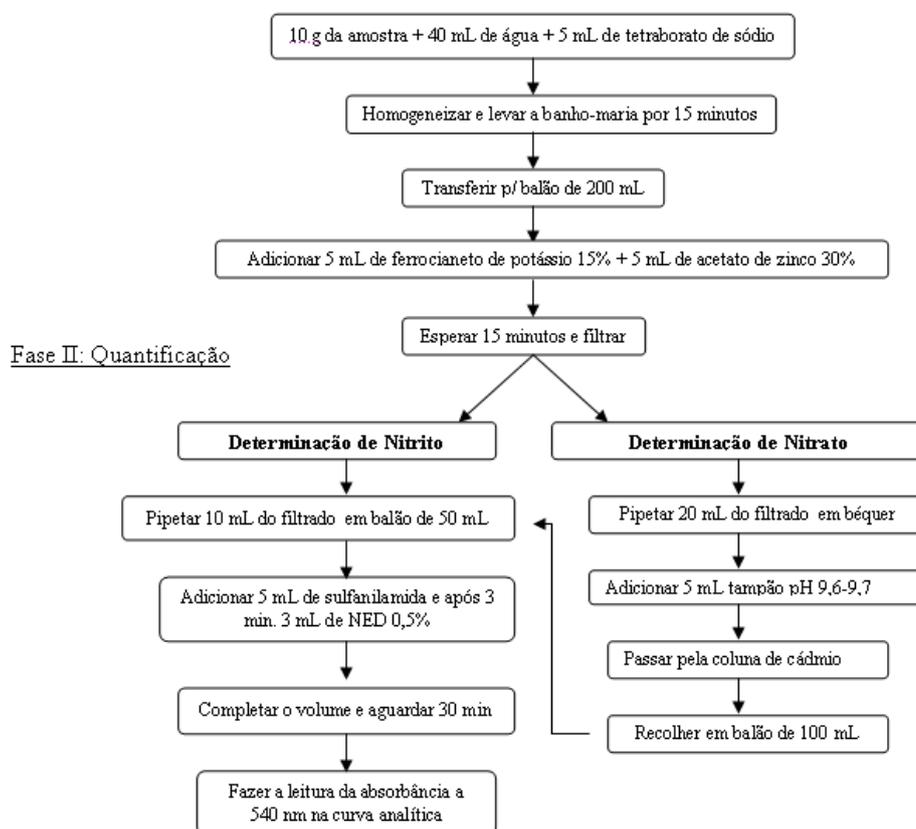
Os dados relativos à exatidão, precisão, linearidade, LDM e LQM foram lançados no software LABWIN-LIMS para cálculo e obtenção dos resultados apresentados neste trabalho. O software em questão utiliza as equações e métodos de cálculo descritos pelo INMETRO.

Para a realização do ensaio, executou-se o método descrito nas normas analíticas do Instituto Adolf Lutz (BRASIL, 2005), cujo princípio consiste na reação do nitrito com uma amina primária aromática em meio ácido para formar um sal diazônio, que por sua vez reage com um composto aromático formando um azo-composto de coloração rósea - Reação de Griess- Ilosvay. Este composto absorve na região do visível do espectro eletromagnético a 540 nm. O íon Nitrato é determinado como íon nitrito após redução em coluna de cádmio esponjoso.

A técnica da análise envolve duas fases: A primeira visando extrair os analitos da amostra e a segunda quantificar, conforme esquematizado na FIGURA 1.

FIGURA I: Fluxograma esquematizado do processo de extração e quantificação de nitrito/nitrato em alimentos cárneos.

Fase I: Extração



Resultados e discussão

Na quantificação de xenobióticos em amostras de alimentos, é relevante a aplicação de métodos adequados, de modo que neste trabalho a validação do método tornou-se necessária. Os resultados referentes à validação do método estão apresentados na TABELA I.

TABELA I - Resultados da Validação

<i>Parâmetros</i>	<i>Nitrito (NaNO₂)</i>	<i>Nitrato (NaNO₃)</i>
Repetitividade (%CV)	4,2 %	7,0%
Recuperação	90,5 %	104,0 %
LDM	0,033 mg/kg	0,11 mg/kg
LQM	0,080 mg/kg	0,30 mg/kg
Linearidade	Até=1.3 µg/g	
Sensibilidade	0.8906 (Abs./ µg/g)	
Coefficiente de correlação "r"	0,9997	
Faixa de trabalho	0,000008 a 1,300(µg/g)	

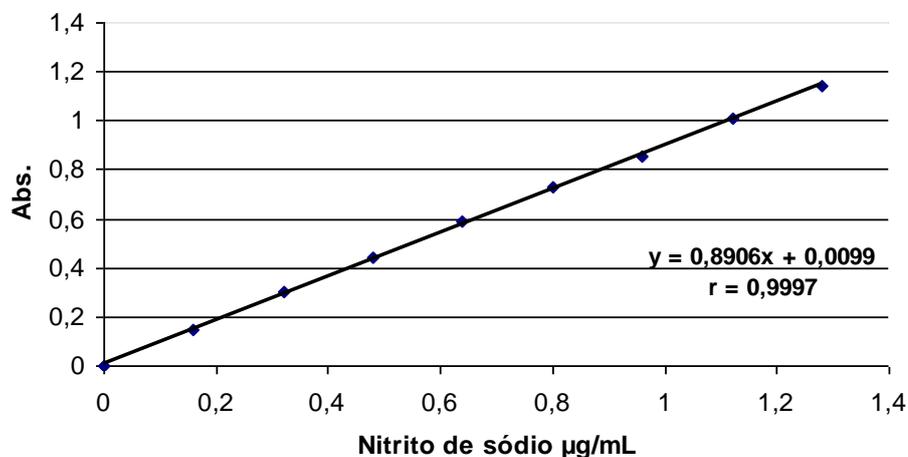
O método avaliado apresentou limites de detecção de 0,033 mg/kg e 0,11 mg/kg e limites de quantificação de 0,080 mg/kg e 0,30 mg/kg de nitrito e nitrato respectivamente. Estes valores foram bem inferiores aos limites máximos permitidos pela legislação, demonstrando assim, a eficiência do método em detectar e quantificar esses compostos. O Instituto Adolf Lutz (BRASIL, 2005) apresenta o LDM para nitrito de 0,032 mg/kg, o que demonstra concordância entre os resultados.

De acordo com Diretiva 657 das Comunidades Europeias (2002), o coeficiente de variação para a precisão em condições de repetitividade deve ser inferior a 10,7%. Para a exatidão, a recuperação deve estar na faixa de 80 a 110%. Esses limites estabelecidos pela diretiva estão relacionados com o nível de concentração do analito na amostra.

Os resultados encontrados da repetitividade e recuperação, demonstrados na TABELA 1, ficaram dentro dos padrões estabelecidos pela diretiva 657 das Comunidades Europeias (2002), evidenciando que o método pode ser considerado preciso e exato.

Os resultados encontrados para a avaliação da linearidade estão demonstrados no GRÁFICO 1.

GRÁFICO 1 - Curva analítica para Nitrito de sódio e os respectivos parâmetros analíticos



O coeficiente de correlação linear foi igual a 0,9997, superior ao usualmente requerido, proposto por CHASIN et al., 1988, onde preconiza como satisfatório o coeficiente de determinação $> 0,98$. O que demonstra que o método possui a capacidade de produzir resultados diretamente proporcionais à concentração dos analitos na amostra.

Após a comprovação da confiabilidade do método através da sua validação, as amostras de mortadela, presunto e salsicha comercializadas em Salvador foram analisadas pela metodologia proposta. A TABELA II apresenta os resultados obtidos.

TABELA II - Resultados das análises de nitrito e nitrato de sódio em produtos cárneos

Produto cárneo	Amostra n° *	NaNO ₂ (mg/kg) **	NaNO ₃ (mg/kg) **	NaNO ₂ + NaNO ₃ (mg/kg) **
Mortadela	m1	60,0	12,2	72,2
	m2	55,0	47,9	102,9
	m3	39,0	46,3	85,3
	m4	74,0	12,2	86,2
	m5	58,0	38,2	96,2
	m6	63,8	61,2	124,9
	Média ± s***	58,0 ± 11,5 39,0 – 74,0	36,3 ± 20,1 12,2– 61,2	94,6 ± 18,2 72,2–124,9
Variação				
Presunto	p1	26,3	30,5	56,8
	p2	4,00	8,1	12,1
	p3	10,01	32,5	42,5
	p4	30,04	32,5	62,5
	p5	12,14	17,9	30,1
	p6	31,12	32,7	63,9
	Média ± s	18,94 ± 11,5 4,00–31,12	25,7 ± 10,3 8,1–32,7	44,6 ± 20,6 12,1–63,9
Variação				
Salsicha	s1	60,0	71,5	131,5
	s2	38,0	44,7	82,7
	s3	80,0	117,8	197,8
	s4	51,1	61,9	113,0
	s5	74,0	51,8	125,8
	s6	64,2	52,4	116,6
	Média ± s	61,22 ± 15,3 38,0–80,0	66,7 ± 26,7 44,7–117,8	128 ± 38,2 82,7–197,8
Variação				

* Cada número de amostra representa uma determinada marca comercial.

** Limite máximo permitido: Portaria n°. 1004 (BRASIL, 1998):

- NaNO₂: 150 mg/ kg

- NaNO₃ (Expresso em NaNO₂): 300 mg/ kg.

- NaNO₂ + NaNO₃ (Expresso em NaNO₂): 150 mg/kg

*** s: Desvio padrão.

Neste estudo foram quantificados nitrito e nitrato de sódio (NaNO₂ e NaNO₃) em todas as amostras analisadas. Por conta disso, além de avaliar a concentração individual desses compostos, foi considerado também a soma das suas concentrações.

Para as amostras de mortadela, observou-se que as concentrações variaram entre 39,0 a 74,0 mg/kg e 12,2 a 61,2 mg/kg de NaNO_2 e NaNO_3 respectivamente, e 72,2 a 124,9 mg/kg na soma dos dois compostos. Verificou-se que o presunto foi o produto que apresentou um menor teor dos analitos avaliados, estando entre 4,00 a 31,12 mg/kg de NaNO_2 , 8,1 a 32,7 mg/kg de NaNO_3 , e 12,1 a 63,9 mg/kg na soma de NaNO_2 e NaNO_3 . Em contrapartida, as amostras de salsicha foram as que apresentaram um maior teor dos analitos estudados. A concentração variou entre 38,0 a 80 mg/kg e 44,7 a 117,8 mg/kg de NaNO_2 e NaNO_3 respectivamente. A soma das suas concentrações teve uma variação entre 82,7 a 197,8 mg/kg.

Com base nos dados avaliados, foi possível constatar que dentre as amostras analisadas, apenas a marca nº 3 de salsicha (s3) não está em conformidade com legislação brasileira (BRASIL, 2008), visto que a soma das concentrações de NaNO_2 e NaNO_3 -197,8 mg/kg, ultrapassa o limite máximo de 150 mg/kg, caracterizando risco a saúde pública.

As demais amostras apresentaram teores inferiores aos limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira o que assegura o atendimento às recomendações legais.

Estes resultados apresentam uma evolução positiva quanto às boas práticas de fabricação dos produtos comercializados em Salvador quando comparados aos resultados obtidos por ANDRADE e TRIGUEIRO (2008). Os autores ao analisarem 27 amostras de salsichas de ave comercializadas em Salvador concluíram que 44,44% destas continham teor de nitrito acima do permitido pela legislação.

Em outras regiões do Brasil, também é possível observar a preocupação das indústrias de alimentos nestes aspectos com base nos estudos de PETRUCI (2009). O autor, para comprovar a aplicação de um novo método por eletroforese capilar, analisou o teor de NaNO_2 e NaNO_3 em amostras de diferentes produtos cárneos comercializados em Araraquara-São Paulo, constatando que todos os produtos analisados atendiam à legislação.

Do mesmo modo que LIRA, et al. (2003), ao avaliar os teores de NaNO_2 em produtos cárneos comercializados em Maceió-AL, demonstrou que 100% dos produtos cárneos estavam abaixo do limite máximo residual permitido pela legislação brasileira.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, o método avaliado apresentou-se adequado à análise de nitrito e nitrato em produtos cárneos, pois apresenta exatidão, precisão, linearidade e capacidade de detecção e quantificação satisfatórias. Dessa forma, é possível afirmar que apenas uma amostra apresentou teor de nitrito e nitrato superior ao limite estabelecido pela legislação brasileira.

Estudos como este, reforçam a importância da fiscalização quanto ao uso destes aditivos e o monitoramento das suas concentrações, como um meio de garantir a disponibilidade de alimentos seguros à população.

Agradecimentos

Ao SENAI-CETIND, pela excelente estrutura disponibilizada e pelo apoio de toda a equipe. Em especial, ao engenheiro químico Antonio Luís S. Costa e a farmacêutica bioquímica de alimentos Gisele V. T. A. Monteiro.

REFERÊNCIAS

AOAC **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, Methods 973.31 (18th ed), Gaithersburg, 2005.

ANDRADE, L. L; TRIGUEIRO, I.N.S. Nitrito residual em salsichas de ave comercializadas em Salvador-BA / Residual nitrite in sausages bird marketed in Salvador-BA; **Higiene Alimentar**. 22(166/167):185-188, nov.-dez. 2008.

GUERREIRO, Renata de Souza; SÁ, Matheus Santos de; RODRIGUES, Letícia de Alencar Pereira. Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 5, n. 1, p. 77-91, fev. 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR ISO/IEC 17025**: Requisitos Gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos, e seus Limites Máximos de Uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos**. Portaria nº. 1002/1004, de 11/12/98. Brasília: Ministério da Saúde, 1998.

CHASIN, A. A. M.; NASCIMENTO, E. S.; RIBEIRO NETO, L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; ANDRAUS, M. H.; SALVADORI, M. C.; FERNÍCOLA, N. A. G.; GORNI, R.; SALCEDO, S. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral.

Revista Brasileira de toxicologia, v. 11, n. 1, p. 1-6, 1998.

COMUNIDADES EUROPÉIAS. Comissão das Comunidades Europeias. Conselho. Directiva 657, de 2002. Dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**. Bruxelas, 17 ago. 2002. L221. p. 8-36.

DUARTE, M.T. **Avaliação do teor de nitrito de sódio em lingüiças do tipo frescal cozida comercializadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2010. 87f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

EURACHEM. **The fitness for purpose of analytical methods**: A laboratory guide to method validation and related topics. Teddington. 1998. Disponível em: < [http:// www.eurachem.org/guides/valid.pdf](http://www.eurachem.org/guides/valid.pdf)> Acesso em: 09 mar. 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008 Revisão 04. Jun. 2011. Disponível em: < http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf> Acesso em: 25 ago. 2011.

GUERREIRO, Renata de Souza; SÁ, Matheus Santos de; RODRIGUES, Letícia de Alencar Pereira. Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 5, n. 1, p. 77-91, fev. 2012.

LIRA, G. M. et al - Teores de nitrito de sódio em produtos cárneos comercializados em Maceió - AL. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(3): 165 - 170, 2003.

MARTINS, O.A; GRANER, C.A.F. Determinações espectrofotométricas dos íons nitrito e nitrato em sais de cura. **PUBVET**, Londrina, V. 2, N. 18, Ed. 29, Art. 156, 2008. Disponível em:< http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp?artigo=156. Acesso em: 30 nov. 2011.

MCKNIGHT, G.M. et al. Dietary nitrate in man: friend or foe?. **British Journal of Nutrition**, v.81, p. 349-358, 1999.

MOORCROFT, M.J.; DAVIS, J.; COMPTON, R.G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. **Talanta**. 54: 785-803, 2001.

MOREAU, R. L. de M. (Org.); SIQUEIRA, M. E. P. B. (Org.). **Toxicologia Analítica**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. v. 1. 318 p.

NASCIMENTO, T.S.; PEREIRA, R.O.L; MELLO, H.L.D; COSTA, J. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. **Rev Bras Anesthesiol**. 2008;58(6):651-64.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: ARTMED, 2005. v. 2.

PÉREZ-RODRIGUEZ, M.L.; BOSCH-BOSCH, N.; GARCÍA-MATA, M. Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage. **Meat Science**, 44(1): 65-73, 1996.

PETRUCI, J.F.S. **Determinação de conservantes e contaminantes em alimentos e bebidas por Eletroforese Capilar**; 2009; 98f. Dissertação (Mestrado em química)- Universidade estadual Paulista, São Paulo, 2009. Disponível em: < http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/big/33004030072P8/2009/petrucci_jfs_me_araiq.pdf. Acesso em: 14 dez. 2011.

GUERREIRO, Renata de Souza; SÁ, Matheus Santos de; RODRIGUES, Letícia de Alencar Pereira. Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 5, n. 1, p. 77-91, fev. 2012.

UDEH,C.; BITTIKOFER, J.; SUM-PING, S.T.J. Severe methemoglobinemia on reexposure to benzocaine. **J Clin Anesth**,13:128-130, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of certain food additives and contaminants**. Forty-fourth report of the Joint FAO/WHO/ Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series No. 859, Geneva, 1995, 64 pp. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_859.pdf. Acesso em: 28 set. 2011.

YANG, J.J ; LIN, N. ; LV, R. et al. Methemoglobinemia misdiagnosed as ruptured ectopic pregnancy. **Acta Anaesthesiol Scand**. 49:586-588. 2005. apud NASCIMETO, T.S.; PEREIRA, R.O.L; MELLO, H.L.D; COSTA, J. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. **Rev Bras Anesthesiol**. 2008;58(6):651-64.

XIMENES, M.I.N.; RATH, S.; REYES, F.G.R. Polarographic determination of nitrate in vegetables. **Talanta**. 51: 49-56, 2000.