

## COMMISSION DU CODEX ALIMENTARIUS



Organisation des Nations Unies  
pour l'alimentation  
et l'agriculture



Organisation  
mondiale de la Santé

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italie - Tél: (+39) 06 57051 - Courrier électronique: [codex@fao.org](mailto:codex@fao.org) - [www.codexalimentarius.org](http://www.codexalimentarius.org)

Point 7 de l'ordre du jour

CX/MAS 25/44/10

Avril 2025

**PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES**  
**COMITÉ DU CODEX SUR LES MÉTHODES D'ANALYSE ET D'ÉCHANTILLONNAGE**

**Quarante-quatrième session**

**Session en ligne**

**5-8 et 14 mai 2025**

**CRITÈRES DE PERFORMANCE NUMÉRIQUES POUR LA DÉTERMINATION DES IONS NITRATE ET NITRITE DANS DES MATRICES ALIMENTAIRES**

*(Rédigé par le Groupe de travail électronique coprésidé par l'Australie et les États-Unis d'Amérique)*

**GÉNÉRALITÉS**

1. Lors de sa 51<sup>e</sup> session (2019), le Comité du Codex sur les additifs alimentaires (CCFA) est convenu d'adopter une approche de gestion des risques qui établirait à la fois les niveaux entrants et les niveaux de résidus pour les nitrates et les nitrites dans la *Norme générale pour les additifs alimentaires* (NGAA) (CXS 192-1995). Lors de sa 52<sup>e</sup> session (2021), le CCFA a demandé au Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage (CCMAS):
  - i. d'établir des critères pour la détection des ions nitrate et nitrite dans une variété de matrices alimentaires, en particulier les produits laitiers (fromage), la viande et les fruits de mer ; et
  - ii. de fournir des informations sur les méthodes de détection disponibles qui répondent aux critères établis et d'indiquer en outre si la méthode est capable de détecter à la fois les ions nitrate et nitrite et, dans l'affirmative, si chaque ion peut être détecté séparément ou seulement en combinaison;
2. Suite à cette demande, le Comité, lors de sa quarante-deuxième session (2023), a noté qu'un examen plus approfondi était nécessaire pour apporter une réponse au CCFA.
3. Malgré la planification, ce groupe de travail électronique n'a pas été constitué. Cependant, l'Australie et les États-Unis d'Amérique (USA) ont fait des progrès dans les travaux et ont rédigé le document CX/MAS 24/43/8.
4. Le Comité, à sa 43<sup>e</sup> session, a noté que des travaux supplémentaires étaient nécessaires pour répondre aux questions du CCFA et a décidé de poursuivre ses efforts dans ce domaine. Il a donc reconstitué le GTE, avec le mandat suivant:
  - a. établir des critères de performance numériques pour la détermination des ions nitrate et nitrite dans les matrices alimentaires énumérées dans l'annexe 2 de l'appendice 5 du document CX/FA 21/52/7, y compris les limites maximales (LM) adoptées dans la NGAA et les niveaux résiduels les plus bas proposés;
  - b. examiner les méthodes dans l'annexe 1 de l'appendice 5 du document CX/FA 21/52/7 et déterminer si ces méthodes répondent aux critères de performance numériques établis pour les matrices dans l'annexe 2 de l'appendice 5 du document CX/FA 21/52/7 pour toutes les deux limites maximales adoptées dans la NGAA et les niveaux résiduels les plus bas proposés;
  - c. examiner si les méthodes permettent de déterminer à la fois les ions nitrate et nitrite et, dans l'affirmative, si chaque ion peut être détecté séparément ou seulement en combinaison;
  - d. examiner si les différents systèmes de détection (c'est-à-dire séparément ou en combinaison) peuvent avoir une incidence sur la précision et l'exactitude des méthodes.
5. Suite à la 43<sup>e</sup> session du Comité, un groupe de travail électronique a été créé et deux cycles de consultations ont été menés depuis. La liste des participants du GTE est jointe en Appendice 4. Des observations ont été reçues de l'Union européenne et de la FIL. Les États-Unis et l'Australie, en tant que coprésidents du groupe de travail électronique, ont ensuite développé davantage le document.

6. Ce rapport est une version élargie du document de travail présenté à la 43<sup>e</sup> session du Comité, et il inclut l'activité réalisée suite à cette session pour remédier aux lacunes précédentes et répondre pleinement aux questions du CCFA. Le rapport comprend les appendices suivants:
- i. Appendice 1: critères de performance numériques pour les LM adoptées répertoriées dans la NGAA avec des exemples de méthodes de l'annexe 3 qui répondent à ces critères.
  - ii. Appendice 2: critères de performance numériques pour les LM résiduelles proposées les plus basses telles que prévues dans l'annexe 2 appendice 5 du document CX/FA 21/52/7, avec des exemples de méthodes de l'annexe 3 qui répondent à ces critères.
  - iii. Appendice 3: Liste des méthodes figurant dans l'annexe, appendice 5 du document CX/FA 21/52/7 (plus une méthode récemment publiée) pour lesquelles un examen a été entrepris et les données de validation de la méthode résumées pour évaluation par rapport aux critères de performance numériques.
  - iv. Appendice 4: Liste des participants

## DÉBAT

Établir des critères de performance numériques permettant de détecter les ions nitrate et nitrite dans les matrices alimentaires énumérées à l'appendice 5, annexe 2, du document CX/FA 21/52/7;

7. La «LM résiduelle (mg/kg)» dans l'annexe 2 de l'appendice 5 du document CX/FA 21/52/7 a fourni des LM pour le développement de critères de performance numériques. La seule sous-catégorie (produit) répertoriée dans l'annexe 2 avec une disposition LM adoptée dans la norme CXS 192-1995 était «01.6.2.1 (Fromage affiné, comprenant la croûte)». Il est à noter qu'il pourrait y avoir un numéro de sous-catégorie mal attribué pour le fromage fondu.
8. Pour les limites maximales adoptées dans la norme CXS 192–1995 (révision 2024), des critères de performance numériques et des exemples de méthodes applicables sont donnés à l'appendice 1. De même, des critères de performance numériques et des exemples de méthodes applicables qui répondent à ces critères pour la « LM résiduelle (mg/kg) » la plus basse dans la norme CX/FA 21/52/7, annexe 2, appendice 5, dans la matrice alimentaire répertoriée sont donnés dans l'appendice 2.

Examiner les méthodes présentées à l'appendice 5, annexe 1, du document CX/FA 21/52/7 et déterminer si ces méthodes répondent aux critères de performance numériques établis pour les matrices figurant à l'appendice 5, annexe 2, du document CX/FA 21/52/7, de même que les limites maximales adoptées dans NGAA;

9. Les méthodes répertoriées dans l'annexe 1 de l'appendice 5 du document CX/FA 21/52/7 ont été rassemblées avec les données de performance disponibles et répertoriées dans l'appendice 3. Appendice 3 couvre 74 propositions de méthodes provenant de 10 pays membres, une organisation membre, ou organismes de normalisation, plus une méthode récemment publiée, avec quelques répétitions (18 cas où la soumission de la méthode a été répétée par un autre membre ou organisation).
10. Lorsque les soumissions de méthodes n'incluaient pas d'aliments dans leur champ d'application ou ne constituaient qu'un résumé des méthodes, elles étaient considérées comme «ne pouvant pas faire l'objet d'un examen plus approfondi» (dans 13 cas). Il restait donc 43 méthodes à examiner par rapport aux critères de performance numériques (dont 14 étaient des méthodes normalisées par l'AOAC, NMKL, ISO, la FIL ou EN) pour différents domaines d'application d'aliments, soit individuellement ou dans certains cas, en combinaisons des produits suivants: viande et produits carnés, préparations pour les nourrissons, légumes et produits végétaux, lait et produits laitiers, fruits et mollusques écaillés. Une seule méthode incluait les «poissons et produits de la pêche» dans le champ d'application et, dans ce cas, c'était les «mollusques écaillés (moules et palourdes)». De nombreuses méthodes impliquaient la « colorimétrie/réaction de Griess » {certaines automatisées avec analyse en flux segmenté (SFA) ou analyse par injection de flux (FIA)} et mesuraient «NO<sub>2</sub> et NO<sub>x</sub> (NO<sub>3</sub> par soustraction)» ; tandis qu'un autre groupe plus important incluait la « HPLC » avec divers détecteurs et mesurait « NO<sub>2</sub> et NO<sub>3</sub> séparément».
11. Il convient de noter que seul un nombre limité de méthodes publiées avant 2005 fournissent un ensemble complet de données de validation permettant une comparaison avec les critères de performance numériques. Les méthodes publiées entre 1995 et 2005 avaient tendance à fournir soit des données LD, soit des données LQ, ainsi que des données de précision. Avant 1995, la publication des données de validation était rare et les méthodes normalisées à partir de 2010 tendent à inclure des données d'essais interlaboratoires (la méthode NMKL No. 194:2013 étant une exception). Les articles de recherche sur les méthodes publiés ne fournissent généralement qu'une validation par un seul laboratoire, mais peuvent

comparer les résultats avec des méthodes standardisées ou utiliser un matériau de référence certifié dans leur validation.

12. Au sujet des aliments dans lesquels les nitrites/nitrates sont utilisés comme «additifs», des efforts ont été déployés pour réduire les niveaux de «résidus» dans les aliments là où cela n'a pas augmenté le signalement du botulisme. Cela a conduit à un plus grand nombre d'études sur le niveau endogène de divers aliments et à des méthodes avec une limite de quantification (LQ) plus basse en général. Lorsqu'une méthode normalisée répondait aux critères et qu'elle a fait l'objet d'essais interlaboratoires, cette méthode a été répertoriée de préférence par rapport à une «méthode validée par un seul laboratoire». Ce n'est qu'en l'absence d'une méthode validée par plusieurs laboratoires (MLV) qu'une méthode validée par un seul laboratoire (SLV) doit être prise en compte. Lorsque les méthodes MLV et SLV sont répertoriées pour la détermination des nitrites ou des nitrates dans une sous-catégorie d'aliments, les méthodes SLV sont répertoriées uniquement à titre informatif.
13. Les méthodes qui répondent aux critères respectifs ont été incluses dans l'appendice 1 et l'appendice 2. Dans certains cas, comme le « Nitrite 09.3.3 (substituts de saumon, caviar et autres produits à base d'œufs de poisson) », les critères LOD/LOQ étaient très bas, ce qui pourrait être réalisable avec des méthodologies plus récentes, mais probablement pas avec les méthodes « normalisées » existantes. Aucune méthode publiée avec une SLV appropriée n'a pu être trouvée à partir des méthodes répertoriées dans l'annexe 3 ou des recherches bibliographiques récentes, et il y a donc « **Validation multilaboratoire** – non disponible ; **Validation laboratoire unique** – non disponible ».

Examiner si les méthodes permettent de déterminer à la fois les ions nitrate et nitrite et, dans l'affirmative, si chaque ion peut être détecté séparément ou seulement en combinaison

14. Pour cette dernière, suite au débat concernant l'impact sur la précision et l'exactitude des méthodes, il a été nécessaire d'élargir le nombre de variations de méthodes, car certaines mesurent l'ion nitrate mais supposent que le nitrite est sans importance ou mesurent le nitrite et un « nitrite total plus nitrate » (NO<sub>x</sub>), donc chaque méthode s'est vu attribuer l'une des cinq variations suivantes dans l'annexe 3 en réponse à cette question.
- NO<sub>2</sub> & NO<sub>3</sub> séparément,
  - NO<sub>x</sub> seul,
  - NO<sub>2</sub> seul,
  - NO<sub>3</sub> seul,
  - NO<sub>2</sub> & NO<sub>x</sub> (NO<sub>3</sub> par soustraction).
15. Comme indiqué ci-dessus, les méthodes utilisant «HPLC» avec divers détecteurs, chromatographie ionique (IC) et l'électrophorèse capillaire (CE) mesurent généralement «NO<sub>2</sub> et NO<sub>3</sub> séparément».
16. Certaines méthodes utilisant la « colorimétrie/réaction de Griess » ont été automatisées avec une analyse en flux segmenté (SFA) ou une analyse par injection de flux (FIA) pour mesurer le « NO<sub>2</sub> », et auraient ensuite une prise d'essai distincte pour subir une réduction (Cd ou V(III), ou colonnes Zn) pour mesurer les NO<sub>x</sub> (sous forme de NO<sub>2</sub>), la concentration en nitrate étant calculée par soustraction et l'application d'un facteur. Dans d'autres cas, le niveau de nitrite était supposé être faible et la prise d'essai subirait donc une réduction, mesurant les NO<sub>x</sub> mais les rapportant en tant que concentration de nitrate.

Examiner si les différents systèmes de détection (c'est-à-dire séparément ou en combinaison) peuvent avoir une incidence sur la précision et l'exactitude des méthodes.

17. Les méthodes permettant de déterminer les nitrates et les nitrites dans une gamme de matrices (produits) pourraient ne plus être appropriées si les niveaux maximaux autorisés étaient considérablement réduits par rapport à ce qui était exigé historiquement. La plupart des méthodes normalisées ont été publiées en 2006 ou avant, à deux exceptions près NMKL No. 194:2013 et EN 12014-2:2018, de sorte que la majorité ont été élaborées avant les récentes avancées technologiques dans les instruments disponibles dans le commerce (y compris ceux de la FIA/SFA, HPLC et CE au cours de cette période) et des améliorations soutenant les essais interlaboratoires et le signalement des performances des méthodes. Nous pourrions nous attendre à une amélioration de la LD/LQ si ces normes étaient mises à jour avec des instruments plus récents et des essais interlaboratoires. Cependant, il convient également de noter qu'à mesure que des ML et, par conséquent, des LD/LQ plus faibles sont recherchées, les diverses interférences deviendront plus évidentes (et chaque technique les produira - soit de la matrice, des produits chimiques ou de l'équipement impliqué) et pourrait nécessiter des étapes supplémentaires ou des techniques hybrides pour atténuer les interférences. Il est également possible d'accepter une technique de compromis qui ne serait pas la plus sensible, mais qui donnerait des résultats satisfaisants, serait pratique et applicable dans des conditions normales de laboratoire, pour tous les produits ou la plupart d'entre eux.

18. Par exemple, il a été constaté que l'analyse HPLC, IC et l'analyse de la réaction de Griess pouvaient donner des résultats similaires pour les solutions aqueuses. Cependant, les graisses/protéines réduiraient l'efficacité d'une colonne HPLC et de la cellule de spectrométrie pour la colorimétrie, mais alors que la déprotéinisation de l'extrait de la solution de Carrez fonctionnerait bien avec les analyses basées sur la réaction de Griess, la solution de Carrez n'a pas été recommandée comme solution clarifiante pour les méthodes de chromatographie par échange d'ions. Les paramètres de la réaction de Griess ont été bien étudiés par Mohamed et al 2008<sup>1</sup>. Merino et al. 2000<sup>2</sup> ont signalé que la solution de Carrez n'était pas recommandée comme solution clarifiante pour les méthodes de chromatographie ionique et ont également étudié le taux d'épuisement des pics de nitrite et de nitrate dans le jambon. L'étude a montré que le pH de la matrice au moment de l'ajout de nitrite/nitrate avait la plus grande influence sur la stabilité de ces ions; en conclusion, plus le pH est élevé, meilleure est la récupération.
19. L'étude Croitoru 2012<sup>3</sup> a mis en évidence des interférences potentielles dans la quantification de la réaction de Griess et pas seulement dues à la couleur rouge des fruits et légumes, par ex. betterave rouge, montrant qu'il existait des substances capables d'imiter la réaction de Griess, et ainsi elle ne pouvait plus être considérée comme spécifique de l'anion nitrite. Avec la formation de substances autres que le colorant azoïque attendu les mesures spectrophotométriques devaient être utilisées avec précaution, cependant l'idée de suggérer une séparation chromatographique résoudrait les problèmes posés par de telles interférences (qui seraient plus apparentes à des concentrations plus faibles).
20. Pour les méthodes de spectrophotométrie utilisant la réaction de Griess pour les nitrites et une réaction de Griess parallèle avec réduction de Cd, V(III) ou Zn pour quantifier les NOx ainsi que la concentration de nitrates par soustraction, bien que bien établies, les résultats étaient plus précis dans les cas où les déterminations des nitrites et des NOx ont été réalisés en parallèle avec une instrumentation automatisée FIA/SFA pour la stabilité et la reproductibilité et avec une colonne de réduction en ligne. Pour les méthodes ISO 6635 et sur colonne cadmium (Cd), il a été démontré que le fer, le cuivre, le chlorure ou d'autres métaux en concentration supérieure à 1 mg L<sup>-1</sup> ou une matière organique dans un échantillon pouvaient diminuer l'efficacité de conversion en recouvrant la surface active de l'élément réducteur. Le cadmium a été classé comme agent cancérigène suspecté (Carranzo, 2012<sup>4</sup>; Ferreira et al., 1998<sup>5</sup>), mais ce risque pourrait être atténué (mais pas éliminé) grâce aux colonnes de réduction en ligne. On pourrait également s'attendre à ce que l'incertitude de mesure relative pour les concentrations de nitrite et de NOx à mi-parcours soit similaire, mais que, par soustraction, les concentrations de nitrate calculées à mi-parcours aient une incertitude standard combinée plus élevée.
21. Dans la réaction de Griess avec les méthodes sur colonne Cd, la réaction de réduction dépendrait principalement du transport massif de nitrate vers la surface Cd/Cu; l'efficacité réductrice du mélange Cd/Cu doit être soigneusement vérifiée. Lorsque les solutions étaient trop alcalines ou que la surface métallique était trop inactive, seule une réduction partielle du nitrate en nitrite avait lieu. Lorsque les solutions étaient trop acides ou contenaient des métaux très électronégatifs, les nitrates pouvaient être réduits davantage qu'en nitrites. Les deux situations entraîneraient une conversion incomplète du nitrate en nitrite et une diminution conséquente de la récupération et du biais du résultat (Cruz et Martins Loução, 2002<sup>6</sup>, Beheshti et al 2023<sup>7</sup>).
22. Beheshti et al 2023<sup>11</sup> ont comparé trois méthodes, la BS EN 12014-2 (HPLC UV/Vis), l'ISO 6635 et la méthode sur colonne Cd, pour mesurer les nitrates dans 11 légumes importants avec une large plage de niveaux de nitrate allant de faible (comme la tomate et la pastèque) à très élevé (comme la laitue, les épinards et le céleri). Les avantages et les limites de chaque technique ont été évalués sous différents aspects.

<sup>1</sup> Mohamed et al. 2008 Modification of AOAC Method 973.31 for Determination of Nitrite in Cured Meats JAOACI VOL. 91, NO. 4, p820-7

<sup>2</sup> Liquid Chromatographic Determination of Residual Nitrite/Nitrate in Foods: NMKL Collaborative Study, Journal of AOAC INTERNATIONAL, Volume 83, Issue 2, 1 March 2000, Pages 365–376

<sup>3</sup> Croitoru MD, 2012. Nitrite and nitrate can be accurately measured in samples of vegetal and animal origin using an HPLC-UVNIS technique. Journal of Chromatography B, 911, 154-161

<sup>4</sup> Carranzo, I.V. (2012) Standard Methods for examination of water and wastewater, Anales de hidrología médica. Universidad Complutense de Madrid, Vol.5 No.2 p 185

<sup>5</sup> Ferreira AM, Rangel AO, Lima JL (1998) Flow injection systems for elemental soil analysis determinations. Communications in soil science and plant analysis 29.3-4: 327-360

<sup>6</sup> Cruz C., Martins Loução M. (2002) Comparison of methodologies for nitrate determination in plants and soils. J Plant Nutr. 25:1185–1211

<sup>7</sup> Beheshti et al. (2023) Comparison of three methods for determination of nitrate content in different vegetables. Préimpression disponible sur <https://www.researchsquare.com/article/rs-3071274/v1>

23. Pour la chromatographie ionique (IC) à détection conductométrique, il était difficile de mesurer de faibles concentrations de nitrite en présence de chlorure en vrac (Butt et al 2001<sup>8</sup>). Diverses techniques étaient disponibles pour atténuer ces problèmes, par exemple Aggrawal et al 2020<sup>9</sup> ont soumis les extraits d'échantillons à une série d'étapes de nettoyage avant l'analyse par un système IC avec une cartouche OnGuard II RP de Dionex éliminant les substances hydrophobes telles que les hydrocarbures aromatiques des échantillons. La cartouche Dionex OnGuard II Ag/H superpose les résines des cartouches Dionex OnGuard II Ag et Dionex OnGuard II H. Une cartouche Dionex OnGuard II Ag éliminerait le chlorure, le bromure et l'iode des échantillons, tandis que dans cette application, une cartouche Dionex OnGuard II H piégerait tout l'argent qui aurait pu s'échapper de la cartouche Ag ainsi que d'autres cations trouvés dans l'échantillon. La méthode a montré une bonne précision avec des RSD <0,2% et <5% (n=9) pour le temps de rétention et la surface du pic, respectivement. Les taux de récupération de l'homogénéat de viande et de l'échantillon d'épinards en bouillie étaient compris entre 89 et 100%. Un développement et une validation récents d'une méthode par Afanda et al., 2025<sup>10</sup> utilisant un CI bidimensionnel (2D-IC) avec filtration en ligne et purification SPE après extraction assistée par micro-ondes pour le chlorure, le nitrite et le nitrate simultanés ont montré une bonne sensibilité (nitrite = 0,2, nitrate = 0,8 mg/kg), une bonne précision (nitrite et nitrate Inter-assay %RSD = 0,34-1,4 ; 0,60-1,4), une récupération moyenne de nitrite = 92-102 % ; nitrate = 97-104 %). Cependant, cette méthode n'a été validée que pour une série de viandes conservées et non conservées, mais semble adaptable à d'autres matrices alimentaires. Dans cet article, plusieurs méthodes alternatives adaptées aux viandes mais non répertoriées dans l'annexe 1, appendice 5 du document CX/FA 21/52/7, sont également fournies et comparées dans le tableau 2.
24. Coviello et al 2020<sup>11</sup> ont fait un bon résumé en indiquant qu'au cours des 15 dernières années, de nombreuses méthodes ont été rapportées dans la littérature pour la séparation et la détection du nitrite et (ou) du nitrate sur la base de techniques spectrophotométriques, chimiluminescentes, électrochimiques, chromatographiques, électrophorétiques capillaires, spectrofluorimétriques et électrochimiluminescentes. Cependant, les méthodes spectrophotométriques sont sujettes à diverses interférences et à un manque de sélectivité. En ce qui concerne les méthodes chromatographiques, la chromatographie en phase gazeuse nécessiterait une réaction de dérivation des nitrites et des nitrates, et la chromatographie en phase liquide cacherait le risque d'oxydation des nitrites, principalement lorsqu'un milieu acide est utilisé. La chromatographie ionique (IC) couplée à la détection de conductivité (CD) offrirait une bonne reproductibilité ainsi qu'une sensibilité et une sélectivité élevées.

## CONCLUSION

25. Il convient de rappeler que le CCMAS fournit des critères de performance numériques et que toute méthode validée susceptible de répondre à ces critères avec le produit et la disposition peut être utilisée.
26. Comme indiqué ci-dessus, il existe certaines méthodes normalisées qui répondent à certains des critères des appendices 1 et 2, mais pas à tous. Toutefois, grâce à des mises à jour des techniques existantes, le taux de conformité des méthodes normalisées pourrait être augmenté de manière significative. L'étude « 09.3.3 (Substituts de saumon, caviar et autres produits à base d'œufs de poisson) » était remarquable car aucune méthode validée avec une sensibilité suffisante n'a été identifiée. Essayer de parvenir à un système d'analyse unique pour déterminer les nitrites et les nitrates séparément et répondre à toutes les exigences actuelles en matière de produits et de dispositions serait un défi, mais pas nécessairement irréalisable, et avec la validation pour les fromages et les poissons, Afanda et al. (2025)<sup>10</sup> la perspective semble être bonne.
27. De même, avec une gamme appropriée de matériaux de référence certifiés et d'autres mesures de QA et de QC, ainsi qu'un nettoyage approprié des extraits, les schémas de détermination basés sur l'IC/CD, la spectroscopie avec FIA/SFA automatisé ou CE pourraient fournir des techniques disponibles et pratiques pour le contrôle de routine avec des LD/LQ, la précision et l'exactitude requises.

## RECOMMANDATION

28. Le Comité, à sa 44<sup>e</sup> session est invité à examiner les résultats mis en évidence dans le présent rapport sur la réponse à donner aux demandes du CCFA;

<sup>8</sup>Butt et al. (2001), Simultaneous determination of nitrite and nitrate by normal phase ion-pair liquid chromatography Talanta 55 (4) p789-97

<sup>9</sup>Aggrawal et al. (2020), Simultaneous determination nitrate and nitrite in spinach and meat by ion chromatography Thermo Fisher Appl. note an73450

<sup>10</sup> Afanda, et al.(2025) Analysis of Chloride, Nitrite and Nitrate in Processed Meat using Microwave Extraction and Two-Dimensional Ion Chromatography." Journal of Food Composition and Analysis: 107323

<sup>11</sup>Coviello et al. (2020) Validation of an analytical method for nitrite and nitrate determination in meat foods for infants by ion chromatography with conductivity detection. Foods 9.9 (2020): 1238.

- i. à examiner et convenir des critères de performance numériques pour les nitrates et les nitrites figurant à l'appendice 1 et à l'appendice 2 et les soumettre au CCFA pour examen;
- ii. à décider si des travaux supplémentaires sont nécessaires pour trouver des méthodes applicables aux appendices 1 et 2 lorsqu'aucune n'a pu être identifiée à partir de l'appendice 3; et
- iii. à examiner les données de validation des méthodes incluses dans l'appendice 3 et déterminer si ces informations doivent être complétées.

**Appendice 1: Critères de performance numériques pour les limites maximales (LM) adoptées**

Additif alimentaire	Sous-catégorie pour laquelle une valeur a été fournie	Limites maximales adoptées (CXS 192-1995)*	Critères de performance de la méthode calculée en fonction de la limite maximale (mg/kg)					Exemples de méthodes applicables répondant aux critères
			Plage d'appl.min. (mg/kg)	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)	Précision (RSD <sub>R</sub> (%))	Récupération (%)	
01.6 ( <i>Cheese and analogues</i> )								
Nitrate	01.6.2 ( <i>Ripened cheese</i> )	35 mg/kg as residual NO <sub>3</sub> ion.	25.2 - 44.8	3.5	7	18.7	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> - ISO 14673-3   IDF 189-3: 2004 <b>Single-laboratory validation</b> - ISO 14673-2   IDF 189-2: 2004 <sup>^</sup>
08.0 ( <i>Meat and meat products, including poultry and game</i> )								
Nitrite	08.2.2 (Heat-treated processed meat, poultry, and game products in whole pieces or cuts/)	80 mg/kg as residual NO <sub>2</sub> ion.	60.1 – 99.9	8	16	16.5	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> - AOAC Method 973.31; NMKL 165: 2000 Ed.; <b>Single-laboratory validation</b> - Afanda et al., (2025); lammarino et al. 2013; Ferreira et al. (2008) for Ham; Siu et al., 1998 for Salami and Ham
Nitrite	08.3 (Processed comminuted meat, poultry, and game products)	80 mg/kg as residual NO <sub>2</sub> ion.	60.1 – 99.9	8	16	16.5	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> - AOAC Method 973.31; NMKL 165: 2000 Ed.; <b>Single-laboratory validation</b> - Afanda et al., (2025); lammarino et al., 2013; Ferreira et al., (2008) for Ham; Siu et al., 1998 for Salami and Ham

Notes: \* Spécification des limites maximales dans la norme CXS 192-1995 Révision 2024.

<sup>^</sup> En l'absence de LD ou de LQ spécifiés dans la méthode, le rapport d'étude collaborative n'étant pas disponible à ce stade et s'appuyant sur des données de validation internes, la validation est désignée comme SLV, bien que le statut SLV puisse être revu avec des données supplémentaires.

**Appendice 2: Critères de performance numériques pour les LM résiduelles proposées les plus basses pour les dispositions représentatives dans les produits laitiers (fromage), la viande et les fruits de mer, comme prévu dans l'annexe 2 de l'appendice 5 du document CX/FA 21/52/7.**

Additif alimentaire	Sous-catégorie pour laquelle une valeur a été fournie	LM résiduelle proposée la plus basse (mg/kg)	Notes	Critères de performance de la méthode calculée en fonction de la limite maximale résiduelle proposée la plus basse (mg/kg)					Exemples de méthodes applicables répondant aux critères
				Plage d'appl.min. (mg/kg)	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)	Précision (RSD <sub>R</sub> (%))	Récupération (%)	
01.6 ( <i>Cheese and analogues</i> )									
Nitrate	01.6.2.1 ( <i>Ripened cheese, includes rind</i> )	7	As NO <sub>3</sub>	4.5 – 9.5	0.7	1.4	23.9	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> - ISO 14673-3   IDF 189-3: 2004 <b>Single-laboratory validation</b> - ISO 14673-2   IDF 189-2: 2004 <sup>^</sup>
Nitrite	01.6.4 ( <i>Processed cheese</i> ) <i>*(see note 1)</i>	2	As NO <sub>2</sub>	1.1 – 2.9	0.2	0.4	28.8	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> – not available. <b>Single-laboratory validation</b> – not available.
08.0 ( <i>Meat and meat products, including poultry and game</i> )									
Nitrate	Same residual proposed in multiple food categories including 08.2.1.1 ( <i>Cured (including salted) non-heat treated processed meat, poultry, and game products in whole pieces or cuts</i> )	7	As NO <sub>3</sub>	4.5 – 9.5	0.7	1.4	23.9	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> – not available. <b>Single-laboratory validation</b> - Afanda, et al.,(2025);Ferreira et al., (2008) for Ham
Nitrite	08.2.1.3 ( <i>Fermented non-heat treated processed meat, poultry, and game products in whole pieces or cuts</i> )	33	As NO <sub>2</sub>	23.6 – 42.4	3.3	6.6	18.9	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> - EN 12014-3:2005, NMKL 165: 2000 Ed.; AOAC Method 973.31; <b>Single-laboratory validation</b> - Afanda, et al., (2025), Ferreira et al., (2008) for Ham; Siu et al., 1998 for Salami, Ham
09.0 ( <i>Fish and fish products, including molluscs, crustaceans, and echinoderms</i> )									
Nitrite	09.3.3 ( <i>Salmon substitutes, caviar, and other fish roe products</i> )	4.4	As NO <sub>2</sub>	2.7 – 6.1	0.44	0.88	25.6	80 – 110	<b>Multi-laboratory validation</b> – not available. <b>Single-laboratory validation</b> – not available.

Notes 1. La sous-catégorie ne correspond pas à la description de l'appendice 2, car la catégorie alimentaire n° 01.6.1 est « Fromage non affiné » ; tandis que la catégorie alimentaire n° 01.6.4 est « Fromage fondu ».

<sup>^</sup>. En l'absence de LD ou de LQ spécifiés dans la méthode, le rapport d'étude collaborative n'étant pas disponible à ce stade et s'appuyant sur des données de validation internes, la validation est désignée comme SLV, bien que le statut SLV puisse être revu avec des données supplémentaires.



**Appendice 3. Liste des méthodes figurant dans l'annexe, appendice 5 du document CX/FA 21/52/7 (plus une méthode récemment publiée) pour lesquelles un examen a été entrepris et les données de validation de la méthode résumées pour évaluation par rapport aux critères de performance numériques.**

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
1	Australia	QIS 12641 (based on Kirk, R.S. and R. Sawyer, "Pearson's Composition and Analysis of Food". 9 <sup>th</sup> Edition, Longman, New York, 1991	?						
2	Australia	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater - 4110 B.	Ion Chromat. with Chemical Suppression of Eluent Conductivity	Water / Wastewater Water (not suitable for further review)	NO <sub>2</sub> & NO <sub>3</sub> individually				
3	Australia	based on AOAC 973.31 <a href="#">see Chile Line 10.</a>							
4	Brazil	NMKL 165 (nitrites and nitrates) 2000 Ed.	10 g sample + 0.5 g activated charcoal + 5 mL saturated borax + 50 mL water (80°C), placed in a boiling water bath 15 min extn. With IC-UV. Nitrite and/or nitrate in foodstuffs by ion chromatography.	meat and meat products, baby food, vegetables, and cheese.	NO <sub>2</sub> & NO <sub>3</sub> individually	1 mg/kg (NO <sub>2</sub> ); 10 mg/kg NO <sub>3</sub> (Merino et al. 2000)	5 and 25 mg/kg for nitrite and nitrate ions, respectively	RSD <sub>R</sub> % 5.8 - 27.7 Nitrite, 5.6 - 21.1 Nitrate.	96–108% and 96–107% recovery for Nitrite and nitrate ions respectively.
5	Brazil	NMKL 194 (nitrites and nitrates). <a href="#">See EU line 50.</a>							
6	Brazil	ISO 2918 (nitrites). <a href="#">See EU line 35.</a>							
7	Brazil	ISO 3091 (nitrates)	Extraction of a test portion with hot water, precipitation of the proteins and filtration. Reduction of the extracted nitrates to nitrite by metallic cadmium. Development of a red colour by addition of sulphanilamide and N-I - naphthylethylenediamine dihydrochloride to the filtrate and photometric measurement at 538 nm.	meat and meat products	NO <sub>x</sub> only. Requires ISO 2918 determination for NO <sub>2</sub> subtraction and calculation of NO <sub>3</sub> .			The difference between the results of two determinations carried out simultaneously or in rapid succession, by the same analyst, shall not be greater than 10 % of the mean value.	
8	Chile	Wootton M, Kok SH, Buckle KA (2006) Determination of nitrite and nitrate levels in meat and vegetable	A range of fresh and processed meat and vegetable products was analysed by HPLC for nitrite and nitrate contents.	vegetable products and most meats, provided	NO <sub>2</sub> & NO <sub>3</sub> individually				

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
		products by high performance liquid chromatography. J Sci Food Agric 36:297-304		satisfactory results, but some meat products subject to matrix interference.					
9	Chile	McMullen SE, Casanova JA, Gross LK, Frank J, Schenck FJ (2005) Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in vegetable and fruit baby foods. J AOAC Int 88:1793-1796	Nitrate and nitrite were separated on a hydroxide-selective anion exchange column using online electrolytically generated high-purity hydroxide eluant and detected using suppressed conductivity detection.	fruit and vegetable baby foods.	NO2 & NO3 individually				
10	Chile	AOAC Method 973 (should be 973.31)	5g meat/40ml 80°C water to 500mL extn. - Colorimetry (NED - Griess reaction).	Cured meat, including in canned corned beef and luncheon meat	NO <sub>2</sub> only.	1.13 mg/kg Est. (Mohamed et al. 2008)	3.77 mg/kg Est. (Mohamed et al. 2008)	NA	78- 85% (Mohamed et al. 2008)
11	Chile	Merino et al (2000) JAOACI Vol. 83, No.2, validation of NMKL 165 (nitrites and nitrates) <a href="#">see Brazil line 4.</a>							
12	Chile	Wootton et al (2006) <a href="#">see Chile Line 8.</a>							
13	Chile	Pandurangappa et al. (2011) Quantification of Nitrite/Nitrate in Food Stuff Samples Using 2-Aminobenzoic Acid as a New Amine in Diazocoupling Reaction. Food Anal. Methods (2011) 4:90-99.	The proposed method is based on the diazotization of nitrite with 2-aminobenzoic acid and its subsequent coupling with N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride in aqueous medium to form an azo dye.	vegetable, fruit juice, and milk powder	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)	0.056, 0.062, 0.078 µg ml <sup>-1</sup> in Tomato, Orange and Moosambi respectively (values may be in food juice diluted in water).	1.07, 1.80, 2.30 µg ml <sup>-1</sup> in Tomato, Orange and Moosambi respectively.	RSD = 1.16-2.02%	99.3 – 103% spike recovery
14	Chile	Chou et al (2003) A High Performance Liquid Chromatography Method for Determining Nitrate and Nitrite Levels in Vegetables. Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 11, No. 3, 2003, Pages 233-238	Fifty mL of deionized (DI) water was added to the well-homogenized sample weighed 1g in a 100 mL volumetric flask. The flask in 80°C bath for 20 min., shaken and cooled, and diluted to 100 mL with DI water. Portion filtered through a 0.45 µm syringe filter. Analysis by HPLC-UV (213 nm), Luna	vegetables	NO2 & NO3 individually	5 mg/kg	NA	Repeated trials all obtained CV values less than 1.5%,	The recoveries of nitrate and nitrite spiked were in the range of 96.6 ~ 108.7% and 98.9 ~ 105.7%, respectively

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
			C18 HPLC column (5 µm, 250 × 4.6 mm i.d.), mobile phase 0.01 M octylammonium orthophosphate of aqueous 30% (v/v) methanol of pH 7.0 for the mobile phase at flow rate of 0.8 mL/min, injection volume 10 µL.						
15	Chile	Connolly et al (2001) Rapid determination of nitrate and nitrite in drinking water samples using ion interaction liquid chromatography. Analytica Chimica Acta 441 53-62		Water (not suitable for further review)					
16	Chile	Ferreira et al. (2008) Quantification of residual nitrite and nitrate in ham by reverse-phase high performance liquid chromatography/diode array detector. Talanta 74:1598-1602	RP-HPLC/diode array detection for nitrites and nitrates in ham. Using a HyPurity C18, 5 µm column & gradient elution with 0.01M n-octylamine and 5mM tetrabutyl-ammonium hydrogensulphate to pH 6.5.	Ham (cooked and dried)		Nitrites and nitrates with 0.019 and 0.050 mg/kg, respectively.		Coefficients of variation lower than 2.89% and 5.47% were obtained for nitrite and nitrate, respectively (n = 6).	Recoveries of residual nitrite/nitrate ranged between 93.6% and 104.3%.
17	Chile	UNE-EN 12014-1: 1997. Food products. Determination of nitrate and / or nitrite content. Part 1: General. (see EU Line 26)							
18	Chile	UNE-EN 12014-1 / AI: 2001. Food products. Determination of nitrate and / or nitrite content. Part 1: General. (see Chile line 17 & EU Line 26)	Note: this provides only amendments to UNE-EN 12014-1: 1997; it is till only a summary of EN methods for foodstuffs. So not suitable for review inclusion.						
19	Chile	UNE-EN 12014-2: 2018. Food products. Determination of nitrate and / or nitrite content. Part 2: Method by high performance ion exchange liquid chromatography (HPLC / IC) for the determination of nitrate content in vegetables and							

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
		horticultural products. (see <a href="#">EU Line 27</a> )							
20	Chile	UNE-EN 12014-3: 2006. Food products. Determination of nitrate and / or nitrite content. Part 3: Spectrometric determination of nitrate and nitrite content in meat products after enzymatic reduction of nitrate to nitrite. (see <a href="#">EU Line 30</a> )							
21	Chile	UNE-EN 12014-4: 2006. Food products. Determination of nitrate and / or nitrite content. Part 4: Method by ion chromatography (IC) for the determination of nitrate and nitrite content in meat products. (see <a href="#">EU Line 31</a> )							
22	Chile	UNE-EN 12014-5: 1997. Food products. Determination of nitrate and / or nitrite content. Part 5: Enzymatic determination of nitrate content in food based on vegetables, for children and babies. (see <a href="#">EU Line 27</a> )	Also see similar principle used by R-BIOPHARM Enzymatic BioAnalysis <a href="https://food.r-biopharm.com/wp-content/uploads/2012/06/roche_ifu_nitrate_10905658035_en-v9_2019-11.pdf">https://food.r-biopharm.com/wp-content/uploads/2012/06/roche_ifu_nitrate_10905658035_en-v9_2019-11.pdf</a>						
23	Chile	UNE-EN 12014-7: 2000 Food products. Determination of nitrate and / or nitrite content. Part 7: Continuous flow method for the determination of nitrate content in vegetables and products derived from vegetables after reduction with cadmium. (see <a href="#">EU line 29</a> )							

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
24	Colombia	AOAC 973.31-1996(1997) (see <a href="#">Chile line 10</a> )	Nitrites in cured meat – colorimetric method	Cured meat, including in canned corned beef and luncheon meat					
25	Colombia	AOAC 935.48-1996	Nitrates and Nitrites in meat – Xylenol method. Nitrate ion react with 2,4-xylenol in sulfuric acid, steam-distilled and measured at 450 nm. Nitrite is oxidise to nitrate with potassium permanganate and determined by difference.	Meat	NO2 & NO3 individually				
26	EU	EN 12014-1 1997. Revision-AI (1999). Foodstuffs — Determination of nitrate and/or nitrite content — Part 1: General considerations. European Committee for Standardization (CEN)	Note: this is only a summary of EN methods for foodstuffs. <b>So not suitable for review inclusion.</b> Note:EN decided to not consider any methods involving the use of open sources of spongy cadmium on the grounds of its potential threat to the environment. As a result, the only methods available for inclusion in this standard were vertical methods for the particular substance of interest.						
27	EU	EN 12014-2 1997. Foodstuffs — Determination of nitrate and/or nitrite content — Part 2: HPLC/IC method for the determination of nitrate content of vegetables and vegetable products. European Committee for Standardization (CEN). <b>(This reference has been replaced by EN 12014-2:2018, with lower LOQ, extensively revalidated and precision data in Annex B), inclusion of iceberg lettuce verified by interlaboratory testing, update of HPLC/IC-conditions and chromatograms in Annex A.</b>	For Liquid samples, e.g. vegetable juice – shake and filter. For Solid samples, e.g. leaf vegetable and Pasty samples, e.g. mashed vegetables, homogenize and weigh approximately 10 g of material add approximately 400 ml of hot water (approximately 80°C) & place into a boiling water bath for 15 min. & dilute to 500 ml. Filter. For low nitrate, make appropriate adjustments, to the initial test portions and volumetric ratios butcheck modified method performance. The determination is performed either by reverse-phase HPLC and UV detection, or by IC and conductivity or UV detection.	Vegetables and vegetable products including Liquid samples e.g. vegetable juice; Solid samples, e.g. leaf vegetable; Pasty samples, e.g. mashed vegetables	NO2 & NO3 individually (Laboratory experience has shown that this analytical method is also suitable for the determination of nitrite in other matrices; however, this has not been validated in the interlaboratory test scheme cited here).		25 mg/kg nitrate. Note, modifications allowed for low concentrations but require performance checks. Beheshti et al 2023 reports LOQ of 0.2 mg/kg for nitrate	naturally contaminated Beetroot juice, Puréed carrots, and Iceberg lettuce repeatability of 7.2, 12.7 & 6.26%; and Reproducibility of 26.3%, 46.2% & 19.6% respectively.	

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
28	EU	EN 12014-5 1997. Foodstuffs — Determination of nitrate and/or nitrite content — Part 5: Enzymatic determination of nitrate content of vegetable-containing food for babies and infants. European Committee for Standardization (CEN).	Nitrate is reduced by reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) to nitrite in the presence of the enzyme nitrate reductase (NR). The amount of NADPH oxidized during the reaction is stoichiometric to the amount of nitrate. The decrease in NADPH is measured by means of its light absorbance at 340 nm.	Vegetable containing foods for babies and infants	NO3 only.	NA	50 mg/kg nitrate ion	See EN 12014-5: 1997 Annex B Precision data	NA
29	EU	EN 12014-7 1998. Foodstuffs — Determination of nitrate and/or nitrite content — Part 7: Continuous flow method for the determination of nitrate content of vegetables and vegetable products after Cadmium reduction. European Committee for Standardization (CEN)	Homogenise frozen vegetable, weigh 40g, add 35g extraction buffer (only needed if nitrite is to be detn.) & 325g water. Homogenise and filter. Test portion extracted with water, filtered. Portion of nitrate ions diffuses in dializing unit of continuous flow system, into slightly alkaline buffer solution and reduced to NO2 by Cd column. NO2 ion quantitated colorimetrically after Griess reaction & absorbance measurement between 520-540nm.	Vegetables and vegetable products (precision data provided for beetroot (2), lettuce (3), endive, spinach).	NOx only (unless nitrite quantified and subtracted from NOx to quantify Nitrate. (see EN 12014-7: 2000 Annex E Nitrite analysis).	NA	50 mg/kg nitrate ion	See EN 12014-7: 2000 Annex C Precision data (acceptance criteria repeatability and reproducibility ≤5%).	NA. Note- absorbance maxima of beetroot extract & diazotized NO2 solutions are nearly identical. Thus, NO3 or NO2 values corrected for blank absorption for beetroot extracts & increasing MU.
30	EU	EN 12014-3 2005. Foodstuffs — Determination of nitrate and/or nitrite content — Part 3: Spectrometric determination of nitrate and nitrite content of meat products after enzymatic reduction of nitrate to nitrite. European Committee for Standardization (CEN)	Weigh, 10 g of the homogenized sample. Add about 50 ml of water and homogenize, & sodium hydroxide to adjust pH-value to 8,0 to 8,5. Heat the flask for 15 minutes in a boiling water bath, shaking several times. Cool, add 4 ml each of Carrez solutions No. 1 and No. 2, shaking & dilute to 200mL, filter. Nitrite in extract treated with sulfanilamide and NED. The formed red compound is measured spectrometrically at λ=540 nm. Nitrate extract is converted into nitrite by nitrate reductase. The treated as above for nitrite, the sample nitrate content is calculated from the difference between	meat products	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)		1.4 mg/kg for sodium nitrite and 3.6 mg/kg for sodium nitrate. Or 0.93 mg/kg as Nitrite ion, and 2.6 as Nitrate ion. (Note 2) Applicable for total nitrite and nitrate content from 5 mg/kg up to 125 mg/kg calculated as sodium nitrite.	See EN 12014-3: 2006 Annex A Precision data in 2002 interlab. test, RSD <sub>r</sub> = 5.7 - 8.1% RSD <sub>R</sub> = 9.5-14.0% for NaNO <sub>2</sub> /kg (2 meats, precision for high nitrite unacceptable at 30.7%). RSD <sub>r</sub> = 4.3 – 7.8% RSD <sub>R</sub> = 9.1 – 10.7% for NaNO <sub>3</sub> /kg (3 meats).	NA

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
			the spectrometric measurements.						
31	EU	EN 12014-4 2005. Foodstuffs — Determination of nitrate and/or nitrite content — Part 4: Ion-exchange chromatographic (IC) method for the determination of nitrate and nitrite content of meat products. European Committee for Standardization (CEN).	Weigh, 10g homogenized sample. Add 50 ml of water at 50 °C to 60 °C and mix. Add 50 ml acetonitrile, mix gently, cool to room temperature and dilute to 200ml with water. Filter with fluted filter paper and then 0.45 µm membrane filter. Prepare blank replacing the test portion by 10 ml of water. The nitrate and nitrite contents determined by ion-exchange chromatography (IC) and ultraviolet (UV) detection at a wavelength of 205 nm, isocratic Lithium borate gluconate buffer solution /acetonitrile mobile phase at 1 ml/min, ≥40 µL injection.	meat products, vegetables and baby food. (Nitrite in meat products greater than 40 mg/kg)	NO2 & NO3 individually	The limit of detection (LOD) for nitrate was 10 mg/kg (EFSA 2017)	50 mg/kg nitrate ion; 40 mg/kg as nitrite ion	See EN 12014-4: 2006 Annex B Precision data.	NA
32	EU	EN ISO 14673-1:2004. Milk and milk products — determination of nitrate and nitrite contents - Part 1: method using cadmium reduction and spectrometry. ISO, Geneva. <a href="#">See IDF line 72</a>							
33	EU	EN 14673-2:2004. Milk and milk products — determination of nitrate and nitrite contents — Part 2: method using segmented flow analysis (routine method). ISO, Geneva. <a href="#">See IDF line 73</a>							
34	EU	EN 14673-3:2004. Milk and milk products — determination of nitrate and nitrite contents — Part 3: method using cadmium reduction and flow injection analysis with in-line dialysis (routine method). ISO, Geneva. <a href="#">See IDF line 74</a>							

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
35	EU	ISO 2918:1975 Meat and meat products -- Determination of nitrite content (Reference method).	Extraction of a test portion with hot water, precipitation of the proteins and filtration. In the presence of nitrite, development of a red colour by the addition of sulphanilamide and N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride to the filtrate and photometric measurement at 538 nm.	meat and meat products	NO2 only.	No validation data.			
36	EU	ISO 4099:1984 Cheese -- Determination of nitrate and nitrite contents -- Method by cadmium reduction and Photometry (withdrawn and replaced by ISO 14673-1:2004   IDF 189-1:2004; ISO 14673-2:2004   IDF 189-2:2004; & ISO 14673-3:2004   IDF 189-3:2004, thus not suitable for further review)							
37	EU	Butt et al 2001, Simultaneous determination of nitrite and nitrate by normal phase ion-pair liquid chromatography. Talanta 55 (4), 789-797	Normal phase ion-pair HPLC has been used for simultaneous separation of nitrite and nitrate using tetraethylammonium (TEA)+ as ion-pairing reagent and UV detector. The performance of the proposed method is compared with ion chromatography for quantification of the anions in food samples, such as spinach and lettuce.	spinach and lettuce	NO2 & NO3 individually	NA	NA	The developed method is capable of analyzing nitrite and nitrate in the presence of 50-fold concentration of chloride and sulfate with a maximum RSD of 10%, with shorter analysis time.	NA
38	EU	Siu et al 1998, Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. Journal of Chromatography A 804, 157-160	Ten grams of ham or salami, deionized water added to a final volume of 100mL. Homogenized in a blender heated and the temperature was maintained between 70°C and 80°C for 15 min. Cooled to room temp and centrifuged at 4960 g for 10 mins. Supernatant was removed and filtered successively with Whatman No. 2 & GF/A filters, and then through the 1.2 µm and 0.2 µm Acrodisc filters. Nitrate and nitrite were separated using Dionex	Meat products: Salami, Ham.	NO2 & NO3 individually	Detection limits for nitrate and nitrite from the extracts, 0.5 mg/kg and 0.3 mg/kg for the meat sample), respectively	Est. Nitrate and Nitrate 1.5mg/kg; 0.9 mg/kg respectively.	%RSD Nitrate 1.0-2.9% (N=5), Nitrite 2.3-1.7% (N=5).	Meat spike recoveries were between 90% and 100% for nitrate, and between 90% and 105% for nitrite.



Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
			DX500 with AD20 UV-Vis detector, isocratic conditions with an IonPac AG11guard column and AS11 analytical column—5 mM sodium hydroxide for 10 min, followed by a column wash with 100 mM sodium hydroxide for 5 min, and equilibration with 5 mM sodium hydroxide for 10 min. The injection volume was 25 µl and eluent flow-rate was 1 ml /min. Analytes were detected using UV detection at 225 nm.						
39	EU	McMullen et al 2005. Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in vegetable and fruit baby foods. Journal of AOAC International 88, 1793-1796 <a href="#">See Chile line 9</a>							
40	EU	Stalikas et al 2003 Ion chromatographic method for the simultaneous determination of nitrite and nitrate by post-column indirect fluorescence detection. Journal of Chromatography A 1002, 237-241	IC with post-column IFD to determine simultaneously nitrite and nitrate, at an emission wavelength of 355 nm after excitation at 270 nm.	Salami		Not specified, but this reviewer estimates LOD at ≈5mg/kg based on peak size & RSDs.			Recoveries from fortified samples salami compared to AOAC method was 95% Nitrate (N=3) and 96% Nitrite (N=3).
41	EU	Merino et al. 2000. Liquid chromatographic determination of residual nitrite/nitrate in foods: NMKL collaborative study. Journal of AOAC International 83, 365-375. <a href="#">See Brazil line 4 and Chile line 11.</a>							
42	EU	Di Matteo V and Esposito E, 1997. Methods for the determination of nitrite by high performance liquid chromatography with electrochemical detection.	This is a review of other papers where three different papers included either Fish and cured meats, or Meat products, or Meat. But all with different method parameters and only provided LoD, no precision or accuracy. <b>Thus, not</b>						

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
		Journal of Chromatography A 789 (1-2), 213-219	considered suitable for further review.						
43	EU	Iammarino et al. 2013. Endogenous levels of nitrites and nitrates in wide consumption foodstuffs: results of five years of official controls and monitoring. Food Chemistry, 140, 763-771	in-house validated ion chromatographic method with electrochemical detection. In this work the results obtained from 5 years of official controls and monitoring focused on tracing quantifiable amounts of nitrites and nitrates in 1785 samples: 200 fresh meats (beef, pork, horse and chicken), 1195 meat products (fresh meat preparations, cured meats and other meat products), 180 dairy products ("mozzarella" cheeses, short and lengthy maturation cheeses), 120 shellfishes (mussels and clams) and 90 leafy vegetables (fresh and frozen spinaches and lettuces). Analyses performed from 2007 to 2011 using a validated ion chromatography with conductivity detection method.	fresh meats (beef, pork, horse and chicken); meat products (fresh meat preparations, cured meats and other meat products); dairy products ("mozzarella" cheeses, short and lengthy maturation cheeses); shellfish & leafy vegetables.	NO2 & NO3 individually	Nitrate = 3.2 mg/kg. Nitrite = 1.5 mg/kg	Nitrate = 9.6 mg/kg; Nitrite = 4.5 mg/kg	Intermediate precision Nitrite @ 75, 150, 225 mg/kg = 2.6, 3.0 & 2.4%; Nitrate @125, 250, 375 mg/kg = 3.6, 2.6 & 3.9%	Nitrite mean recovery = 98.7%; Nitrate mean recovery = 98.3%
44	EU	Croitoru MD, 2012. Nitrite and nitrate can be accurately measured in samples of vegetal and animal origin using an HPLC-UVNIS technique. Journal of Chromatography B, 911, 154-161	HPLC-UV/VIS method, for matrices including vegetal samples based on a pre-column derivatization of nitrite anion using the Griess reaction and direct determination of nitrate using its UV absorbance. A chromatographic process with detection at two wavelengths allows the determination of both anions in one run (23 min with column re-equilibration included).	vegetables and fruits were tested: white & red potatoes, red & white onion, garlic, beetroot, carrot, parsley, celery, parsnip, tomatoes, cucumbers, cabbage, red cabbage, lettuce, radish, different types of apples, oranges, kiwi, strawberries, lemon, and tangerine.	NO2 & NO3 individually	In the case of vegetables, the limits of detection 0.2 mg/kg. For the vegetables and fruits were tested, no interferences were recorded and only about 5% of the samples fall under the LODs.	0.6 mg/kg	Using the spike studies described under recovery with 5 samples for every type of product tested), the coefficients of variations recorded for every concentration level did not exceed 5%.	For accuracy, a spiked samples technique used. The content of nitrate and nitrite present in samples before spiking subtracted from final values using potato, onion & apple samples. Recovery range 97.20 and 103.55% for nitrate and 98.29 and 104.05% for nitrite.

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
45	EU	Oztekin et al 2002. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in meat products and vegetables by capillary electrophoresis. Food Chemistry 76, 103-106	Meat products (10 g) were weighed in a beaker. DI water (150 ml) added, blended & suspension incubated 15min at 50°C. Cooled & diluted to 250 ml, filtered with filter paper & 0.45-mm cellulose acetate filter disc, internal standard (KSCN) added and made to volume. Separations with a commercial CE injection system with an on-column variable UV-Visible detector at 210 nm. The fused silica capillaries 75 mm I.D., capillary length was 75 cm, and the length to the detector was 60 cm. Washing for 2 min with 0.1 mol/l HCl and 2 min with buffer between runs was applied.	Cured meat products and fresh vegetables - Salami, Ham, Turkey sausage, Sausage, Spinach, Parsley, Dill, Leek	NO2 & NO3 individually	LOD for nitrite corresponding to a signal/noise ratio of three is 0.105 µg/ml and for nitrate is 0.099 µg/ml. Corresponds to 4 mg/kg nitrite in real samples.		Reproducibility of the method for six successive injections of turkey sausage sample, give 4.51 %RSD for NO2, and 2.54 %RSD for NO3.	Four cured meat products and four vegetables, with recovery data for nitrite 94-103% and nitrate 92-106%.
46	EU	Ensafi et al., 2004. Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis. Analytical Sciences 20 (12), 1749-1753	For the beef sausage, 5.0 g of sample was mixed and homogenized. The mixed sample digested carefully by heating of solution content in water for 2 h. The mixture was filtered (Whatman No. 1) and diluted to 100 ml. Analysis by a flow injection spectrophotometric method for simultaneous determination of nitrite and nitrate based on the catalytic effect of nitrite on the oxidation of Pyrogallolsulfonephthalein with bromate in acidic media.	Water and sausage samples	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)	The detection limits for nitrite were 1.6 ng ml <sup>-1</sup> and for nitrate were 3.0 ng ml <sup>-1</sup> (S/N = 3). LOD provided only for water samples, not the sausage.		The relative standard deviation (n = 10) was 2.8% and 3.7% at 0.080 µg ml <sup>-1</sup> nitrite and nitrate, respectively.	To validate the accuracy of the proposed method, the results were compared with a Griess standard method using increasing concentrations 94-103% NO2 recovery, & 110-94% NO3 recovery.
47	EU	Casanova et al., 2006. Use of Griess reagent containing vanadium(III) for post-column derivatization and simultaneous determination of nitrite and nitrate in baby food. Journal of AOAC International 89 (2), 447-451	Ion chromatographic/ spectrophotometric method (Griess reaction and spectrophotometric detection @ 535 nm) and AOAC Method 993.03 yielded comparable results for various baby foods that contained incurred nitrate. The reduction of nitrate to nitrite was accomplished by the online post-column addition of VCl <sub>3</sub> rather than by using Cd. Nitrate and nitrite ions were extracted from the fruit and vegetable	baby food – including Carrots, Spinach, Green beans, Banana, Squash, Mango, Grapes.	NO2 & NO3 individually	LOD not specifically stated.	≤4 mg/kg. LOQ not specifically stated.	Spike recoveries for 4 baby food (sample N=5) Nitrite 1.3% - 19.4% RSD; Nitrate 2.4% - 7.9	Recoveries of NOx from various fortified baby food fruits and vegetables (25–400 ppm) ranged from 82 to 107%.

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
			baby foods with 50–60°C water or with buffer, followed by clarification with acetonitrile and centrifugation.						
48	EU	Andrade et al. 2003. A flow-injection spectrophotometric method for nitrate and nitrite determination through nitric oxide generation. Food Chemistry 80, 597-602.	Method is based on the reduction of nitrite and nitrate to nitric oxide, with subsequent reaction with iron (II) and thiocyanate in an acid medium, forming FeSCNNO+. The absorbance of the complex, with a maximum at 460 nm, is proportional to the nitrite and nitrate concentrations.	vegetables and meat products	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)	For a sample of 5.0 g, the determination limit of the method was 20 and 13 mg kg <sup>-1</sup> of nitrate and nitrite, respectively.	NA	Precision comparable to reference spectrophotometric method (AOAC reference method for the determination of nitrate in foodstuffs).	Accuracy comparable to reference spectrophotometric method (AOAC reference method for the determination of nitrate in foodstuffs).
49	EU	Kazemzadeh et al., 2001. Sequential flow injection spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in various samples. Analytica Chimica Acta 442, 319-326	Method based on the reaction of nitrite with safranin O to form a diazonium salt which caused the reddish-orange dye colour of the solution to be changed to blue in acidic media, and which absorbs at 520 nm. The injected sample in the flow injection system is split in two streams. One of the streams is transported through a reductor microcolumn containing copperised cadmium, where nitrate is reduced to nitrite. The two streams are then mixed and treated with the appropriate reagents.	Meat, flour, cheese etc.	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)	Detection limits (3σ) of 0.5 and 3 ng ml <sup>-1</sup> were obtained for nitrite and nitrate, respectively (presumably for the sample in solution)	NA		
50	EU	NMKL (Nordic Committee on Food Analysis), 2013. Determination of nitrate and/or nitrite in foodstuffs and water by spectrophotometry after zinc reduction and Griess reaction. NMKL No. 194. This method has only been evaluated in a single laboratory validation study, but over several days, and with satisfactory results available in the method.	Spectrophotometric method for the determination of nitrate/nitrite content in foodstuffs and water after zinc reduction and Griess reaction. (The Griess reaction is specific for nitrite. Analysis of nitrate by this reaction requires chemical or enzymatic reduction of nitrate to nitrite prior to the diazotization reaction (Tsikas D. 2007)	vegetables (lettuce), meat products, baby food, dairy product (milk) and surface water - method validated for above foods	NO <sub>2</sub> & NO <sub>x</sub> (NO <sub>3</sub> by subtraction)	5 mg/kg (meat products – EFSA 2017 p 16)			

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
51	EU	Chung et al. 2011. Nitrate and nitrite levels in commonly consumed vegetables in Hong Kong. Food Additives and Contaminants, 4, 34-41	Levels of nitrate and nitrite were determined by ion chromatography and flow injection analysis, respectively.	vegetables - leafy, legumes, root and tuber, and fruiting	NO2 (by FIA) & NO3 (by IC) individually	Nitrite 0.8 mg/kg, Nitrate 4 mg/kg.	NA	NA	NA
52	EU	Leth et al., 2008. Nitrite and nitrate content in meat products and estimated intake in Denmark from 1998 to 2006. Food Additives and Contaminants, 25, 1237-1245	Nitrite and nitrate were extracted from the samples by mixing 5 min with hot water (70°C). Protein was precipitated with addition of Carrez solution I and II and the suspension was filtrated. The filtrate was injected in a FIA system, where sulphanilamide and N-(1-naphthyl)-Ethylenediammonium-chloride were added to the carrier stream to react with nitrite to form a violet azo colour which was measured spectrophotometrically at 540 nm. For nitrate, after injection, the carrier stream went through a Cd-column where nitrate was reduced to nitrite which subsequently reacted to form the azo colour.	Liver paste; paté; fatty meat intended to be used in sandwiches; lean meat intended to be used for sandwiches; salami; sausages for dinner; medium fat and fat pork meat for dinner	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)	Detection limit for NaNO2 was 3 mgkg <sup>-1</sup> and for NaNO3 5mgkg <sup>-1</sup> .		Article reporting a survey where for QA/QC reference material of freeze-dried dill and a recovery experiment for both nitrate and nitrite. Depending on sample type and concentration level an average recovery of 100% for nitrate and 95% for nitrite was found and RSD% between 2 and 4% for NO2 & between 2 and 5% for NO3.	
53	EU	Koupparis et al., (1982) Determination of nitrite in waters by using a stopped-flow analyzer. Analyst 107, 1309-1315.	Automatic kinetic methods for the determination of nitrite in waters with a stopped-flow analyser are described. The methods are based on the diazotisation of sulphanilamide, the product being coupled with N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride to form a highly coloured azo dye, which is measured at 540 nm. The sample throughput for routine analysis can be up to 360 samples per hour in the range 0.025–2.00 mg/L of nitrite-nitrogen	Water(not suitable for further review)	NO2 only				
54	EU	Liang et al., (1994) Catalytic spectrophotometric determination of nitrite using the chlorpromazine	Kinetic methods. In a 0.2 mol l <sup>-1</sup> acetic acid–6.6 × 10 <sup>-3</sup> mol l <sup>-1</sup> oxalic acid medium at 20 °C, 5 × 10 <sup>-3</sup> mol l <sup>-1</sup> chlorpromazine hydrochloride (CPH)	Rain and river water (not suitable for further review).	NO2 only				

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
		hydrogen-peroxide redox reaction in acetic-acid. Medium. Analyst 119, 2113-2117	was oxidized by $5 \times 10^{-2} \text{ mol l}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ with the reaction being catalysed by nitrite ions. The maximum absorbance is proportional to the nitrite concentration; this allows the determination of nitrite in the range 0.003–1.500 mg/L.						
55	EU	Ensafi et al., (1999) Ultra-trace analysis of nitrite in food samples by flow injection with spectrophotometric detection. Fresenius Journal of Analytical Chemistry 363 (1), 131-133	Spectrophotometry. A flow injection system with spectrophotometric detection is proposed for the determination of low levels of nitrite based on its catalytic effect on the oxidation of gallocyanine(GC) by bromate in acidic media. The dye reacts to a colorless compound, thus decrease in absorbance of GC at 530 nm. Sample prep.- 5g sample, 50mL hot water(80°C) blended. Dilute to 300mL, heat steam bath for 2hrs, then dilute to 500mLs, filter and analyses against aqueous standards.	Food samples. Validated only on sausage.	NO2 only	0.01 µg/mL of Nitrite. Based on article should correspond to 1 mg Nitrate ion/kg sausage		The relative standard deviation for n = 10 of 0.040, 0.080 and 0.200 µg/mL of nitrite was 3.3, 2.8 and 2.1%, respectively.	Compared to results from Fiddler et al., (1984) J. Assoc. Off. Anal. Chem 67: p525-8 for three sausage samples range 3.0-4.4 mg/kg 101, 101, 99% recovery.
56	EU	Ghasemi et al., (2004) Kinetic spectrophotometric determination of nitrite based on its catalytic effect on the oxidation of methyl red by bromate. Analytical Letters 37 (10), 2205-2214.	Spectrophotometry. In acidic solution, methyl red (MR) is oxidized by bromate to form a colorless compound, with reaction accelerated by trace nitrite & measured by absorbance at 520 nm. nitrite can be determined in the range of 0.05–1.2 mg/kg.	Meat products	NO2 only	0.045 mg /kg		The standard deviation is 0.06 for six replications at 0.3 mg/kg.	
57	EU	Fang et al., (2002) Flow injection determination of nitrite in food samples by dialysis membrane separation and photometric detection. International Journal of Environmental Analytical Chemistry 82 (1), 1-6	Spectrophotometry. On-line dialysis preconcentration determination of nitrite by injection method. Nitrite penetrating dialysis membrane, is diazotised with sulphanilamide to form a diazonium action, which is subsequently coupled with N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride to form a stable purple azo dye, the absorbance of which is measured at 525 nm. Calibration curve was between 0.00125 mg/L and 3.2 mg/L.	method applied to determination of nitrite in food samples, including milk, sausage and fruit juices, with satisfactory results	NO2 only	4.5 ng/ml = 0.0045 mg/L		15 samples can be analyzed per hour with a relative precision of ca.2.8%	

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
58	EU	Chen et al., (1999) Flow-injection catalytic spectrophotometric determination of trace amounts of nitrite. Analytical Letters 32 (14), 2887-2897	Spectrophotometry. A flow-injection catalytic spectrophotometric method based on its catalytic effect on potassium bromate oxidation of acridine orange in phosphoric acid medium. Monitored by measuring the decrease in absorbance of acridine orange at 491.5 nm coupling with the stopped-flow technique.	Waters and food samples	NO2 only	2.2 ng/mL = 0.0022 mg/L		Up to 30 samples can be analyzed per hour with a relative precision of ca. 1.9%.	
59	EU	Ensafi et al., (1994) Selective kinetic spectrophotometric determination of nitrite in food and water. Analytical Letters 27 (1), 169-182	Spectrophotometry. Method based on its Nitrite reaction with Nile blue 2B in acidic medium and monitored spectrophotometrically at 595 nm for nitrite in the range 0.005 - 1.100 mg/L.	trace amounts of nitrite in sausage and water	NO2 only	0.001 mg/L		Ten replicates of 0.020 mg/L RSD=1%	
60	EU	He et al., (2007) Chemiluminescence microflow injection analysis system on a chip for the determination of nitrite in food. Food Chemistry 101 (2), 667-672	Chemiluminescence. Using microflow injection analysis ( $\mu$ FIA) system on a chip. Nitrite is sensed by the chemiluminescence (CL) reaction of luminol with ferricyanide that is the product of the reaction of ferrocyanide with nitrite in acidic medium. The linear range of the nitrite concentration is 8–100 $\mu$ g L <sup>-1</sup>	Food	NO2 only	0.004 mg/L		Nine replicates of 0.050 mg/L, RSD = 4.1%	
61	EU	Li et al., (2003) Spectrofluorimetric determination of total amount of nitrite and nitrate in biological sample with a new fluorescent probe 1,3,5,7-tetramethyl-8-(3',4'-diaminophenyl)-difluoroboradiaza-s-indacence. Talanta 61 (6), 797-802	Fluorescence. A new synthesized fluorescent probe, 1,3,5,7-tetramethyl-8-(3',4'-diaminophenyl)-difluoroboradiaza-s-indacence (TMDABODIPY), has been used to detect nitrite. When TMDABODIPY reacted with nitrite, a weak fluorescent triazole formed in 0.2 mol l <sup>-1</sup> HCl. The fluorescence quenching intensity linear over a nitrite concentration of 0.0025–0.02 mg/L.	Human serum and urine (not suitable for further review).	NO2 only	0.00002 mg/L			91.83-101.80% in human serum and urine
62	EU	Jie et al., (1999) A fluorescence quenching method for the determination of nitrite with indole. Microchemical Journal 62 (3), 371-376	Fluorescence. The method is based on the reaction between nitrite and the fluorescent indole to form a compound which has no fluorescence in acidic medium. Measured in 1 cm quartz cell with excitation and emission wavelengths of 285 and 350 nm, respectively, range 0.01–0.6 mg/L	Water and food samples	NO2 only	0.0025 mg/L			

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
63	EU	Jie et al., (1994) Fluorometric-determination of nitrite using a new reagent system. Analytical Letters 27, 1001-1008	Fluorescence. Method based on the reaction of nitrite with tyrosine to form a highly fluorescent compound in alkaline medium. The calibration graph is linear in the concentration range of nitrite 0.004-0.20 mg/L.	water and food samples	NO2 only	0.0002 mg/L			
64	EU	Jie et al., (1993) Fluorimetric determination of nitrite. Talanta 40 (7), 1009-1011	Fluorescence. Method based on the reaction of nitrite with tryptophan to form a highly fluorescent compound in alkaline medium. Appears to be prelude to Jie et al. 1994 with another publisher (not suitable for further review)	water and food samples	NO2 only				
65	EU	Gao Q, (2002) Uric acid-hexacyanoferrate (III)-luminol chemiluminescence system for the determination of trace nitrite. Chinese Journal of Analytical Chemistry 30 (7), 812-814.	Fluorescence. In acidic medium that NO2- can oxidize [Fe(CN)(6)](4-) to [Fe(CN)(6)](3-) based on the uric-[Fe(CN)(6)](3-)-luminol chemiluminescence system, the new method for the determination of nitrite was developed. The linear range for the determination of NO2- was 0.001 mg/L to 10 mg/L.	Water and food samples	NO2 only	0.00005 mg/L		RSD for the determination of samples (n=11) was 1.8% - 3.2%.	Between 95.7% - 105.8%.
66	EU	Kazemzadeh A, (2005) Development of new optical nitrite detector. Asian Journal of Chemistry 17 (2), 767-773	Optical sensor technology. A detector developed by immobilizing a direct indicator dye in an optical sensing film was fabricated by binding pyrogallol red to a cellulose acetate film that had previously been subjected to an exhaustive base hydrolysis. Nitrite can be determined for the range 0.006-1.50 mg/mL.	States potential application to food (not suitable for further review).	NO2 only	0.000001 mg/L			
67	EU	Kazemzadeh et al., (2005) Optical nitrite sensor based on chemical modification of a polymer film. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 61 (8), 1871-1875	Optical sensor technology. A detector developed by immobilizing a direct indicator dye in an optical sensing film for food and environmental monitoring. This sensor was fabricated by binding gallocyanine to a cellulose acetate film that had previously been subjected to an exhaustive base hydrolysis. Nitrite can be determined for the range 0.008–1.50 mg/L.ml with 3 $\delta$ detection limits of 1 ng/ml. The method is easy to perform and uses acetylcellulose as a carrier.	for food and environmental monitoring.	NO2 only	1 ng/mL or 0.000001 mg/L			



Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
			The reagents used for activating the cellulose support are inexpensive, non-toxic and widely available. Appears to be replicate of previous entry with another publisher. (not suitable for further review)						
68	EU	Fang et al., (2005) A dip-and-read test strip for the determination of nitrite in food samples for the field screening. Analytical Letters 38 (11), 1803-1811	Dipstick technology. Method for field screening of nitrite in aqueous samples based on the diazo-coupling reaction between the nitrite and the Griess reagents. The test strip has a circular sensing zone that contains two layers: the Griess reagents act as the sensing reagent and is immobilized in the bottom layer; the top layer is a cellulose acetate membrane that can be used as a dialysis membrane to remove the matrix from the sample, which can enhance the selectivity of this method. When the test strip was directly dipped into the samples, a color change of the test strip was observed, and the intensity of color that appears on the test strip is proportional to the concentration of nitrite in the range from 0.50 to 25 mg/L in food samples.;	Food samples	NO2 only	Under the experimental conditions, as low as 0.20 mg/L nitrite can be observed			
69	Indonesia	Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R. 1981. Pearson's Chemical Analysis of Foods. 8 <sup>th</sup> Edition, Churchill Livingstone, London, NY	analyze nitrate and nitrite is Spectrophotometric.						
70	Malaysia	Determination of Nitrite and Nitrate in Meat using Ion Chromatography (Methrohm): US Environmental Protection Agency, (EPA Method 9056A), Rev. 1, Nov. 2000	IC-Cond, sequential determination of anions including nitrate (NO3), nitrite (NO2), in aqueous samples, such as drinking water, wastewater, aqueous extracts of solids, and the collection solutions from the bomb combustion of solid waste samples.	Not specifically for food so would need to review Malaysia method validation in food matrices. Thus, not considered suitable for further review.					

Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
71	Thailand	Analysis of residual nitrates and nitrites in food is High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method - UV detector (Journal of Food and drug Analysis, Vol.11, No.3, 2003, p233-238) see <a href="#">Chile line 14</a>							
72	IDF	ISO 14673-1   IDF 189-1: 2004 — Milk and milk products — Determination of nitrate and nitrite — Part 1: Method using cadmium reduction and spectrometry	A test portion is dispersed in warm water, with precipitation of the fat and proteins, then filtration. The nitrate ions are reduced to nitrite ions in a portion of the filtrate by means of copperized cadmium. A red colour is developed in portions of both unreduced filtrate and the reduced solution, by addition of sulfanilamide and N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride. Spectrometric measurements are carried out at a wavelength of 538 nm. May be performed using automatic equipment, in particular by segmented flow analysis (SFA) or flow injection analysis (FIA)	Milk and milk products - whole and partly skimmed and skimmed dried milk; hard, semi-hard and soft cheeses; processed cheese; whey cheese, caseins and caseinates and dried whey	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)		Est. Nitrite = 0.56 mg/kg; Nitrate = 4.6 mg/kg (infant formula & milk powder)	See ISO 14673-1   IDF 189-1: 2004 section 11 for precision	
73	IDF	ISO 14673-2   IDF 189-2: 2004 — Milk and milk products — Determination of nitrate and nitrite — Part 2: Method using segmented flow analysis (Routine method)	A test portion is suspended in water. Part of the suspension is transferred to the analyser for dialysis. The nitrate ions are reduced to nitrite. The nitrite content is determined by a segmented flow analysis and spectrometric detection. Any nitrite present is determined as nitrate. A correction for the nitrite present can be applied after determination of the nitrite content.	Milk and milk products - milk, cheese, and liquid and dried milk products and infant foods.	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)	Accessing the collaborative study report prior to year 2000 has proved challenging, but in-house validation data has reported a LOD for cheese of 0.5 mg/kg.	Accessing the collaborative study report prior to year 2000 has proved challenging, but in-house validation data has reported a LOQ for cheese of 1 mg/kg	Reproducibility - For samples with a nitrate content <100 mg/kg: 15 mg/kg; for samples with a nitrate content ≥ 100 mg/kg: 20 % of the arithmetic mean of the results.	
74	IDF	ISO 14673-3   IDF 189-3: 2004 — Milk and milk products — Determination of nitrate and nitrite — Part 3: Method using cadmium	A test portion is suspended in a warm extraction buffer solution. Fat is separated by centrifuging and rapid cooling. Analyses are made of small portions of the de-fatted solution by	Milk and milk products - hard, semi-hard and soft cheeses of various ages,	NO2 & NOX (NO3 by subtraction)	The detection limits of the method are 0,5 mg of nitrate ions	Accessing the collaborative study report prior to year 2000 has proved	See ISO 14673-3   IDF 189-3: 2004 section 11 for precision. Reproducibility -	


Ligne #	Pays	Méthode de référence	Principe	Portée de la matrice	NO2 et NO3 séparément ou en combinaison	Limite de détection (LD)	Limite de quantification (LQ)	Précision	Récupération
		reduction and flow injection analysis with in-line dialysis (Routine method) Note: This eWG received information that while this method is widely used, the equipment is not commercially available anymore.	flow injection analysis (FIA). Inline dialysis is used to remove protein and remaining fat. The nitrate ions are reduced to nitrite ions by cadmium. The nitrite ions are reacted with sulfanilamide and N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride to give a red coloured azo dye. The colour is measured in a flow cell at maximum absorption of the dye at 540 nm with reference to the absorption measured at 620 nm.	and processed cheese; whey powder, milk powder and milk-based infant food.		per kilogram and 1,0 mg of nitrite ions per kilogram, respectively.	challenging	for samples with a nitrate content <100 mg/kg: 15 mg/kg; for samples with a nitrate content ≥100 mg/kg: 20 % of the arithmetic mean of the results.	
75		Afanda et al., (2025) Analysis of chloride, nitrite and nitrate in processed meat using microwave extraction and two-dim. IC, J. Food Comp. Anal., Vol.141,107323	Samples were extracted by microwave-assisted aqueous digestion, combined with automated inline solid phase extraction (SPE). Analysis by two-dimensional ion chromatography (2D-IC) method employing suppressed conductivity (chloride) and UV=210nm (nitrite and nitrate) detection	Uncured ham, Pork Loin Joint, Pork Fillet, Pork medallion, Mince pork, Bacon, Beef, Turkey breast, Lamb Mince meat, Rashers, Salami, Chorizo, Bacon Eyeloin/joints	NO2 & NO3 individually	Nitrite = 0.07 mg/kg; Nitrate = 0.27 mg/kg	Nitrite = 0.2 mg/kg; Nitrate = 0.8 mg/kg	Nitrite and nitrate Intra-assay %RSD = 1.0-1.9, 0.61-1,4  Nitrite and Nitrate Inter-assay %RSD = 0.34-1.4; 0.60-1.4	Nitrite mean recovery = 92-102%; Nitrate mean recovery = 97 – 104%. FAPAS inter-laboratory proficiency test results obtained with the method were satisfactory as z scores of – 1.1 and 0.3 were achieved for nitrite and nitrate, respectively

**Index:**

IC-Cond.: Chromatographie ionique avec suppression chimique de la conductivité de l'éluant

Colorimetry – NED: Méthode colorimétrique - réaction de diazotation-couplage du sulfanilamide avec le dichlorhydrate de N-(1-naphtyl)éthylènediamine (NED). Réaction de Griess.

NA – Non disponible.

 Cette référence n'est pas considérée comme appropriée pour un examen plus approfondi

 Cette référence est répétée et donc consolidée sous une seule ligne de référence

Note 2. Pour convertir : mg de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>)/kg d'échantillon alimentaire x 46,005/68,995 = mg d'ion NO<sub>2</sub> / kg d'échantillon alimentaire.

Pour convertir : mg de nitrate de sodium (NaNO<sub>3</sub>)/kg d'échantillon alimentaire x 62,005/84,995 = mg d'ion NO<sub>3</sub> / kg d'échantillon alimentaire.

**LISTE DES PARTICIPANTS****PRÉSIDENT****États-Unis d'Amérique**

Patrick Gray

**CO-PRÉSIDENT****Australie**

Richard Coghlan

**MEMBER NATIONS AND MEMBER ORGANIZATIONS  
ÉTATS MEMBRES ET ORGANISATIONS MEMBRES  
ESTADOS MIEMBROS Y ORGANIZACIONES MIEMBROS****AUSTRALIA - AUSTRALIE**

Neil Shepherd

**BELGIUM - BELGIQUE - BÉLGICA**

Franz Ulberth

**BOTSWANA**

Lephutshe Ada Senwelo

**BRAZIL - BRÉSIL - BRASIL**

Ana Claudia Araujo

**COSTA RICA**

Melina Flores

**EGYPT - ÉGYPTE - EGIPTO**

Mariam Barsoum Onsy

**FRANCE - FRANCIA**

Jean-Luc Deborde

**GERMANY - ALLEMAGNE - ALEMANIA**

Stephan Walch

Dr. Timo Kapp

**HUNGARY - HONGRIE - HUNGRÍA**

Krisztina Bakó-Frányó

Nikoletta Farago

**IRAN (ISLAMIC REPUBLIC OF) – IRAN  
(RÉPUBLIQUE ISLAMIQUE D') – IRÁN  
(REPÚBLICA ISLÁMICA DEL)**

Samaneh Eghtedari

Roya Noorbakhsh

**JAPAN - JAPON - JAPÓN**

SHIMIZU Yuumi

**REPUBLIC OF KOREA - RÉPUBLIQUE DE  
CORÉE - REPÚBLICA DE COREA**

Youngjun Kim

**SAUDI ARABIA - ARABIE SAOUDITE - ARABIA  
SAUDITA**

Mohrah Ali Alenazi

**SLOVAKIA - SLOVAQUIE - ESLOVAQUIA**

Vojsová Yveta

**SPAIN - ESPAGNE - ESPAÑA**

Sara Ares Santos

**THAILAND - THAÏLANDE - TAILANDIA**

Rungrassamee Mahakhaphong

Kittiporn Phuangsuk

Chitrlada Booncharoen

**UNITED KINGDOM - ROYAUME-UNI - REINO  
UNIDO**

Bhavna Parmar

**OBSERVERS - OBSERVATEURS – OBSERVADORES****NON-GOVERNMENTAL ORGANIZATIONS –  
ORGANISATIONS NON GOUVERNEMENTALES –  
ORGANIZACIONES NO GUBERNAMENTALES****Chambre de commerce internationale (ICC)**

Dr. Markus Lacorn

**International Dairy Federation (IDF)**

Aurelie Dubois