



**PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS
COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS**

Cuadragésima cuarta reunión

Virtual

5 - 8 de mayo y 14 de mayo de 2025

CRITERIOS NUMÉRICOS DE RENDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS IONES NITRATO Y NITRITO EN DETERMINADAS MATRICES ALIMENTARIAS

(Documento preparado por el Grupo de trabajo electrónico (GTE) presidido en forma compartida por Australia y los Estados Unidos de América)

ANTECEDENTES

1. En su 51.^a reunión (2019), el Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios (CCFA) acordó adoptar un enfoque de gestión de riesgos que establecería niveles de entrada y de residuos de nitratos y nitritos en la *Norma general para los aditivos alimentarios* (NGAA) (CXS 192-1995). En su 52.^a reunión (2021), el CCFA solicitó al CCMAS lo siguiente:
 - i. establecer criterios para la detección de iones nitrato y nitrito en una variedad de matrices alimentarias, específicamente lácteos (queso), carne y mariscos; y
 - ii. proporcionar información sobre los métodos de detección disponibles que cumplan los criterios establecidos y, además, determinar si el método puede detectar ambos iones y, en caso afirmativo, si el método detecta cada ion por separado o solo en combinación.
2. El CCMAS, en su 42.^a reunión (2023), en respuesta a esta solicitud, señaló que era necesario seguir estudiando la cuestión para dar una respuesta al CCFA.
3. A pesar de que estaba previsto hacerlo, finalmente no se constituyó un GTE. Sin embargo, Australia y los Estados Unidos de América (EE.UU.) avanzaron en el trabajo y prepararon el documento CX/MAS 24/43/8.
4. El CCMAS, en su 43.^a reunión, señaló que era necesario seguir trabajando para responder a las preguntas del CCFA y acordó continuar sus esfuerzos en este asunto, por lo que restableció el GTE, con el siguiente mandato:
 - a. establecer criterios numéricos de rendimiento para la determinación de iones nitrato y nitrito en las matrices alimentarias enumeradas en el Apéndice 5, Anexo 2 de CX/FA 21/52/7, incluidos los niveles máximos (NM) adoptados en la NGAA y los niveles residuales más bajos propuestos;
 - b. revisar los métodos del Apéndice 5, Anexo 1 de CX/FA 21/52/7 y determinar si estos métodos cumplían los criterios numéricos de rendimiento establecidos para las matrices del Apéndice 5, Anexo 2 de CX/FA 21/52/7 tanto para los NM adoptados en la NGAA como para los niveles residuales más bajos propuestos;
 - c. debatir si los métodos determinaban tanto los iones nitrato como nitrito y, de ser así, si los métodos detectaban cada ion por separado o solo en combinación; y
 - d. debatir si los diferentes esquemas de determinación (es decir, separados o combinados) podrían tener repercusiones en la precisión y exactitud de los métodos.
5. Tras la 43.^a reunión del CCMAS, se estableció un GTE y desde entonces se han llevado a cabo dos rondas de consultas. La lista de participantes del GTE se encuentra en el Apéndice 4. Se recibieron comentarios de la Unión Europea y de la Federación Internacional de Lechería. Posteriormente, los Estados Unidos y Australia, como presidentes del GTE desarrollaron aún más el documento.
6. Este informe ha ampliado el documento de debate presentado en la 43.^a reunión del CCMAS e incluye la actividad posterior a dicha reunión para remediar las deficiencias anteriores, y responder plenamente a las preguntas del CCFA. El informe contiene los siguientes apéndices:

- i. Apéndice 1: criterios numéricos de rendimiento para los niveles máximos adoptados enumerados en la NGAA con métodos de ejemplo del Apéndice 3 que cumplen estos criterios.
- ii. Apéndice 2: criterios numéricos de rendimiento para los NM residuales propuestos más bajos según lo dispuesto en el Apéndice 5, Anexo 2, de CX/FA 21/52/7, con métodos de ejemplo del Apéndice 3 que cumplen estos criterios.
- iii. Apéndice 3: Lista de métodos en el Apéndice 5, Anexo de CX/FA 21/52/7 (más un método publicado recientemente) en los que se ha realizado una revisión y cuyos datos de validación del método se han resumido para su evaluación frente a los criterios numéricos de rendimiento.
- iv. Apéndice 4: Lista de participantes.

DEBATE

Establecer criterios numéricos de rendimiento para la determinación de iones de nitrato y nitrito en las matrices alimentarias enumeradas en el Apéndice 5, Anexo 2 de CX/FA 21/52/7, así como para los NM adoptados en la NGAA

7. «NM residual (mg/kg)» en el Apéndice 5, Anexo 2 de CX/FA 21/52/7 se proporcionó el NM para el desarrollo de criterios numéricos de rendimiento. La única subcategoría (producto) incluida en el Anexo 2 con un NM adoptado en CXS 192-1995 fue «01.6.2.1 (Queso madurado, incluida la corteza)». Conviene notar que podría haber un número de subcategoría mal asignado para el queso procesado.
8. Para los niveles máximos adoptados en CXS 192–1995 (Revisión 2024), en el Apéndice 1 se presentan criterios numéricos de rendimiento y ejemplos de métodos aplicables. De manera similar, los criterios numéricos de rendimiento y los ejemplos de métodos aplicables que cumplen con dichos criterios para el «NM residual (mg/kg)» más bajo en el Apéndice 5, Anexo 2 de CX/FA 21/52/7 en la matriz de alimentos enumerada se presentan en el Apéndice 2.

Revisar los métodos del Apéndice 5, Anexo 1 de CX/FA 21/52/7 y determinar si estos métodos cumplen con los criterios numéricos de rendimiento establecidos para las matrices del Apéndice 5, Anexo 2 de CX/FA 21/52/7, así como los niveles máximos adoptados en la NGAA

9. Los métodos enumerados en el Apéndice 5, Anexo 1 de CX/FA 21/52/7 se han cotejado con los datos de rendimiento disponibles y se enumeran en el Apéndice 3. El Apéndice 3 abarca 74 sugerencias de métodos de 10 países miembros, una organización miembro u organizaciones de elaboración de normas, además de un método publicado recientemente, con algunas repeticiones (18 casos en los que la presentación del método fue repetida por otro miembro u organización).
10. Cuando los métodos presentados no incluían alimentos dentro de su alcance, o eran solo un resumen de métodos, se consideraron «no adecuados para una revisión más profunda» (13 casos). Esto dejó 43 métodos para consideración frente a los criterios numéricos de rendimiento (de los cuales 14 fueron métodos estandarizados por AOAC, NMKL, ISO, IDF o EN) para distintos ámbitos alimentarios, entre los que se incluían individualmente o en algunos casos, combinaciones de: carne y productos cárnicos, alimentos para bebés, vegetales y productos vegetales, leche y productos lácteos, frutas y mariscos. Solo un método tenía «Pescado y productos pesqueros» en su alcance y en este caso «mariscos (mejillones y almejas)». Muchos métodos involucraban «colorimetría/reacción de Griess» {algunos automatizados con análisis de flujo segmentado (SFA) o análisis de inyección de flujo (FIA)} y medían «NO₂ y NO_x (NO₃ por sustracción)»; mientras que otro grupo más grande incluía 'HPLC' con varios detectores y medía «NO₂ y NO₃ individualmente».
11. Cabe señalar que solo un número limitado de métodos publicados antes de 2005 proporcionaban un conjunto completo de datos de validación para la comparación con los criterios numéricos de rendimiento. Los métodos publicados entre 1995 y 2005 tendían a proporcionar datos de LOD o LOQ y precisión. Antes de 1995, la publicación de datos de validación era poco común y los métodos estandarizados desde 2010 tienden a incluir datos de ensayos colaborativos (una excepción es NMKL No. 194:2013). Los artículos publicados sobre investigación de métodos normalmente solo proporcionan la validación de un único laboratorio, pero pueden comparar los resultados con métodos estándar o utilizar un material de referencia certificado en su validación.
12. En el caso de los alimentos en los que se utiliza nitrito/nitrato como «aditivo», se ha buscado reducir los niveles «residuales» en los alimentos cuando esto no aumenta los casos de botulismo. Esto condujo a más estudios sobre el nivel endógeno de varios alimentos y a métodos con LOQ más bajos en general. Cuando un método estandarizado cumplía los criterios y se probaba en colaboración, dicho método se incluía preferentemente en la lista en contraste con un «método validado por un solo laboratorio». Solo en ausencia de un método validado por múltiples laboratorios (MLV) se debe considerar un método validado por un solo laboratorio (SLV). Cuando se enumeran los métodos MLV y SLV para la determinación de nitrito o nitrato en una subcategoría de alimentos, los métodos SLV solo se enumeran a título informativo.

13. Los métodos que cumplen los criterios respectivos se han incluido en el Apéndice 1 y el Apéndice 2. En algunos casos, como el «Nitrito 09.3.3 (Sucedáneos de salmón, caviar y otros productos pesqueros a base de huevas)» tenía criterios de LOD/LOQ muy bajos, que podrían lograrse con metodologías más nuevas, pero probablemente no con los métodos «estandarizados» existentes, y no se pudo encontrar ningún método publicado con SLV apropiado a partir de los métodos enumerados en el Apéndice 3 o búsquedas bibliográficas recientes, por lo que tiene «**Validación de múltiples laboratorios**: no disponible; **Validación de un solo laboratorio**: no disponible».

Debatir si los métodos determinan tanto los iones nitrato como nitrito y, en caso afirmativo, si los métodos detectan cada ion por separado o solo en combinación

14. Para la última discusión sobre las repercusiones en la precisión y exactitud de los métodos, fue necesario ampliar el número de variaciones del método, ya que algunos miden el ion nitrato pero suponen que el nitrito es intrascendente o miden el nitrito y un «nitrito total más nitrato» (NO_x), por lo que a cada método se le ha asignado una de las siguientes cinco variaciones en el Apéndice 3 en respuesta a esta pregunta.

- NO₂ y NO₃ individualmente,
- Solo NO_x,
- Solo NO₂,
- Solo NO₃,
- NO₂ y NO_x (NO₃ por sustracción)

15. Como se indicó anteriormente, los métodos que utilizan «HPLC» con varios detectores, cromatografía iónica (CI) y electroforesis capilar (CE) generalmente miden «NO₂ y NO₃ individualmente».

16. Algunos métodos que utilizan «colorimetría/reacción de Griess» se automatizaron con análisis de flujo segmentado (SFA) o análisis de inyección de flujo (FIA) para medir «NO₂» y luego tendrían una porción de prueba separada para someterse a reducción (columnas de Cd o V (III), o Zn) para medir NO_x (como NO₂), con la concentración de nitrato calculada por resta y aplicación de un factor. En otros casos, se asumió que el nivel de nitrito era bajo y, por lo tanto, la porción de prueba sufriría una reducción, midiendo el NO_x pero informando como concentración de nitrato.

Debatir si los distintos sistemas de determinación (por separado o combinados) pueden influir en la precisión y exactitud de los métodos

17. Los métodos que determinan nitrato y nitrito en una variedad de matrices (productos básicos) podrían dejar de ser apropiados si los niveles máximos permitidos se redujeran significativamente con respecto a lo que se requería históricamente. La mayoría de los métodos estandarizados se publicaron en 2006 o antes, con dos excepciones, NMKL No. 194:2013 y EN 12014-2:2018, por lo que la mayoría se desarrollaron antes de los avances tecnológicos recientes en la instrumentación disponible comercialmente (incluidos FIA/SFA, HPLC, IC y CE en ese período) y las mejoras que respaldan los ensayos colaborativos y los informes del rendimiento del método. Podríamos esperar un LOD/LOQ mejorado si estos estándares se actualizaran con instrumentación más nueva y ensayos colaborativos. Sin embargo, también debe tenerse en cuenta que, a medida que se buscan NM más bajos y, en consecuencia, LOD/LOQ, las diversas interferencias se harían más evidentes (y cada técnica las tendría, ya sea de la matriz, las químicas o el equipo involucrado) y podrían requerir pasos adicionales o técnicas híbridas para mitigar la interferencia. También podría aceptarse una técnica de compromiso que no fuera la más sensible, pero que ofreciera un rendimiento, una viabilidad y una aplicabilidad satisfactorios en condiciones normales de laboratorio, en todos o en la mayoría de los productos.
18. Por ejemplo, se ha descubierto que el análisis mediante HPLC, IC y reacción de Griess podría arrojar resultados similares para soluciones acuosas. Sin embargo, la grasa y la proteína agotarían la eficacia de una columna de HPLC y de la célula de espectrometría para la colorimetría, pero mientras que la desproteínización de la solución de Carrez del extracto funcionaría bien con los análisis basados en la reacción de Griess, la solución de Carrez no se recomendaría como solución clarificante para los métodos de cromatografía iónica. Los parámetros de la reacción de Griess han sido bien estudiados por Mohamed *et al.* 2008.¹ Merino *et al.* 2000² informaron de que la solución de Carrez no era recomendable como solución clarificante para los métodos de cromatografía iónica, y también estudiaron la velocidad de agotamiento de los picos de nitrito y nitrato en el jamón. El estudio establece que el pH de la matriz en el momento de la adición de nitrito o nitrato

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

² 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

es el que más influye en la estabilidad de estos iones, y concluye que cuanto mayor es el pH, mejor es la recuperación.

19. El estudio de Croitoru 2012³ puso de manifiesto las posibles interferencias en la cuantificación de la reacción de Griess y no solo por el color rojo de frutas y verduras, por ejemplo, la remolacha, y ha indicado que hay sustancias capaces de imitar la reacción de Griess, por lo que ya no se la puede considerar específica para el anión nitrito. Las mediciones espectrofotométricas deben emplearse con precaución, con la formación de sustancias distintas del colorante azoico esperado, por lo que sugerir una separación cromatográfica resolvería los problemas planteados por tales interferencias (que serían más evidentes a concentraciones más bajas).
20. En el caso de los métodos de espectrofotometría que utilizan la reacción de Griess para nitrito y una reacción de Griess paralela con reducción de Cd, V(III) o Zn para cuantificar NOx y la concentración de nitrato por sustracción, aunque bien establecidos, los resultados fueron más precisos cuando las determinaciones de nitrito y NOx se completaron en paralelo con instrumentación FIA/SFA automatizada para estabilidad y reproducibilidad junto con una columna de reducción en línea. En los métodos ISO 6635 y de columna de Cd, se ha demostrado que el hierro, el cobre, el cloruro u otros metales en cantidades superiores a 1 mg L⁻¹ o material orgánico en una muestra podrían disminuir la eficiencia de conversión al recubrir la superficie activa del elemento reductor. El Cd ha sido clasificado como un agente cancerígeno sospechoso (Carranzo, 2012,⁴ Ferreira *et al.*, 1998),⁵ pero este riesgo podría mitigarse (pero no eliminarse) con las columnas de reducción en línea. También podríamos esperar que la incertidumbre en la medición relativa para las concentraciones de nitrito y NOx de rango medio sea similar, pero como resta, las concentraciones de nitrato de rango medio calculadas tendrían una incertidumbre estándar combinada más alta.
21. En la reacción de Griess con métodos de columna de Cd, la reacción de reducción dependería principalmente del transporte de masa de nitrato a la superficie de Cd/Cu; la eficiencia reductora de la mezcla de Cd/Cu debe verificarse cuidadosamente. Cuando las soluciones son demasiado alcalinas o la superficie metálica está demasiado inactiva, solo se produce una reducción parcial del nitrato a nitrito. Cuando las soluciones son demasiado ácidas o contienen metales altamente electronegativos, el nitrato puede reducirse más que el nitrito. Ambas situaciones darían lugar a una conversión incompleta de nitrato a nitrito y una consiguiente disminución de la recuperación y el sesgo de resultados (Cruz y Martins Loução, 2002,⁶ Beheshti *et al.* 2023).⁷
22. Beheshti *et al.* 2023¹¹ compararon tres métodos, BS EN 12014-2 (HPLC UV/Vis), ISO 6635 y columna de Cd, para medir nitrato en 11 vegetales importantes con un amplio rango desde niveles bajos (como tomate y sandía) a niveles muy altos de nitrato (como lechuga, espinaca y apio). Se evaluaron los méritos y limitaciones de cada técnica desde diferentes aspectos.
23. En el caso de los IC con detección conductométrica, resultó difícil medir concentraciones bajas de nitrito en presencia de cloruro en masa (Butt *et al.* 2001).⁸ Había varias técnicas disponibles para mitigar estos problemas, por ejemplo, Aggrawal *et al.* 2020⁹ sometieron extractos de muestras a una serie de pasos de limpieza antes del análisis mediante un sistema IC con un cartucho Dionex OnGuard II RP eliminando sustancias hidrófobas como hidrocarburos aromáticos de las muestras. En el cartucho Dionex OnGuard II Ag/H se sobreponen en capas las resinas de los cartuchos Dionex OnGuard II Ag y Dionex OnGuard II H. El cartucho Dionex OnGuard II Ag elimina el cloruro, bromuro y yoduro de las muestras, mientras que en esta aplicación el cartucho Dionex OnGuard II H atrapa la plata que pudiera haberse lixiviado del cartucho Ag y otros cationes encontrados en la muestra. El método demostró tener una buena precisión con RSD <0,2 % y <5 % (n=9) para el tiempo de retención y el área de pico, respectivamente. Las recuperaciones del homogeneizado de carne y de la muestra de espinacas en suspensión oscilaron entre el 89 y el 100 %. Un método reciente desarrollado y validado por Afanda *et al.*, 2025¹⁰ utilizando IC bidimensional (2D-IC) con

³ 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

⁴ 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

⁵ 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

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

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

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

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

¹⁰ 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

filtración en línea y purificación SPE luego de la extracción asistida por microondas para cloruro, nitrito y nitrato simultáneos mostró buena sensibilidad (nitrito = 0,2, nitrato = 0,8 mg/kg) y precisión (nitrito y nitrato entre ensayos %RSD = 0,34-1,4; 0,60-1,4), recuperación media de nitrito = 92-102 %; nitrato = 97 – 104 %). Sin embargo, este método solo ha sido validado para una serie de carnes conservadas y no conservadas, aunque parece adaptable a otras matrices alimentarias. En este artículo también se proporcionan varios métodos alternativos adecuados para las carnes pero que no figuran en el Apéndice 5, Anexo 1 de CX/FA 21/52/7 y se comparan en el Cuadro 2.

24. Coviello *et al.* 2020¹¹ dieron un buen resumen al afirmar que durante los últimos 15 años, se han reportado numerosos métodos en la literatura para la separación y detección de nitrito y (o) nitrato basados en técnicas espectrofotométricas, quimioluminiscentes, electroquímicas, cromatográficas, electroforéticas capilares, espectrofluorimétricas y electroquimioluminiscentes. Sin embargo, los métodos espectrofotométricos están sujetos a diversas interferencias y falta de selectividad. En cuanto a los métodos cromatográficos, la cromatografía de gases necesitaría una reacción de derivación tanto del nitrito como del nitrato, y la cromatografía de líquidos ocultaría el riesgo de oxidación de los nitritos, principalmente cuando se utiliza un medio ácido. La cromatografía iónica (IC) acoplada a la detección por conductividad (CD) ofrecería una buena reproducibilidad y una sensibilidad y selectividad elevadas.

CONCLUSIÓN

25. Se debe recordar que el CCMAS proporciona criterios numéricos de rendimiento y cualquier método validado de manera colaborativa que pueda cumplir esos criterios con el producto y la disposición que se pueden utilizar.
26. Como se indicó anteriormente, existen algunos métodos estandarizados que cumplen algunos de los criterios de los apéndices 1 y 2, aunque no todos; sin embargo, con la actualización de las técnicas existentes, la tasa de conformidad de los métodos estandarizados utilizados podría incrementarse significativamente. La categoría de alimentos «09.3.3 (Sucedáneos de salmón, caviar y otros productos pesqueros a base de huevas)» tuvo especial relevancia ya que no se identificaron métodos validados con suficiente sensibilidad. Intentar conseguir un sistema analítico único para determinar el nitrito y el nitrato individualmente y satisfacer todos los productos y disposiciones actuales sería un desafío, pero no necesariamente inalcanzable, y con la validación para quesos y pescados, el trabajo de Afanda *et al.* (2025)¹⁰ parece una buena perspectiva.
27. Además, con una gama adecuada de materiales de referencia certificados y otros controles de calidad y aseguramiento de la calidad, junto con una limpieza de extractos adecuada, los esquemas de determinación basados en 2D-IC/UV, IC/CD, espectroscopia con FIA/SFA automatizados o CE podrían proporcionar técnicas disponibles y prácticas para el control de rutina con el LOD/LOQ, la precisión y la exactitud requeridos.

RECOMENDACIÓN

28. Se invita al CCMAS, en su 44.^a reunión, a examinar las conclusiones destacadas en este informe en respuesta a las solicitudes del CCFA; y:
- i. considerar y acordar los criterios numéricos de rendimiento para los nitratos y nitritos en los apéndices 1 y 2 y remitirlos al CCFA para su consideración;
 - ii. decidir si es necesario realizar más trabajo para obtener métodos aplicables correspondientes a los apéndices 1 y 2 cuando no se haya podido identificar ninguno en el Apéndice 3; y
 - iii. examinar los datos de validación de los métodos incluidos en el Apéndice 3 y si esta información necesita ser complementada.

¹¹ 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.

Apéndice 1: Criterios numéricos de rendimiento para los NM adoptados

Aditivo alimentario	Subcategoría para la cual se proporciona un valor	Niveles máximos adoptados (CXS 192-1995)*	Criterios de rendimiento del método calculado en función del nivel máximo (mg/kg)					
			Rango mín apl. (mg/kg)	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	Precisión (RSD _R (%))	Recuperación (%)	Ejemplos de aplicación métodos que cumplan con los criterios
01.6 (Queso y productos análogos)								
Nitrato	01.6.2 (Queso madurado)	35 mg/kg as residual NO ₃ ion.	25,2 – 44,8	3,5	7	18,7	80 – 110	Validación multilaboratorio - ISO 14673-3 I IDF 189-3: 2004 Validación de un solo laboratorio - ISO 14673-2 I IDF 189-2: 2004 [^]
08.0 (Carne y productos cárnicos, incluidos los de aves de corral y caza)								
Nitrito	08.2.2 (Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, tratados térmicamente en piezas enteras o en cortes)	80 mg/kg como ion NO ₂ residual.	60,1 – 99,9	8	16	16,5	80 – 110	Validación multilaboratorio - Método AOAC 973.31; NMKL 165: Edición 2000; Validación en un solo laboratorio - Afanda et al., (2025); lammarino et al. 2013; Ferreira et al. (2008) para jamón; Siu et al., 1998 para salami y jamón
Nitrito	08.3 (Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados y elaborados)	80 mg/kg como ion NO ₂ residual.	60,1 – 99,9	8	16	16,5	80 – 110	Validación multilaboratorio - Método AOAC 973.31; NMKL 165: Edición 2000; Validación de un solo laboratorio - Afanda et al., (2025); lammarino et al., 2013; Ferreira et al., (2008) para jamón; Siu et al., 1998 para salami y jamón

Notas: * Especificación de niveles máximos en CXS 192-1995, revisión de 2024.

[^] Como no hay LOD o LOQ especificados en el método, el informe del estudio colaborativo no está disponible en este momento y con base en datos de validación internos, la validación se designa como SLV, aunque el estado de SLV se puede revisar con datos adicionales.

Apéndice 2: Criterios numéricos de rendimiento para los NM residuales propuestos más bajos para disposiciones representativas en productos lácteos (queso), carne y mariscos según lo establecido en el Apéndice 5 del Anexo 2 de CX/FA 21/52/7.

Aditivo alimentario	Subcategoría para la cual se proporciona un valor	NM residual más bajo propuesto (mg/kg)	Notas	Criterios de rendimiento del método calculados en función del NM residual propuesto más bajo					Ejemplos de aplicación métodos que cumplan con los criterios
				Rango mín apl. (mg/kg)	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	Precisión (RSD _R (%))	Recuperación (%)	
01.6 (Queso y productos análogos)									
Nitrato	01.6.2.1 (Queso madurado, incluida la corteza)	7	As NO ₃	4,5 – 9,5	0,7	1,4	23,9	80 – 110	Validación multilaboratorio - ISO 14673-3 IDF 189-3: 2004 Validación de un solo laboratorio - ISO 14673-2 IDF 189-2: 2004 [^]
Nitrito	01.6.14 (Queso elaborado) <i>*(véase la nota 1)</i>	2	As NO ₂	1,1 – 2,9	0,2	0,4	28,8	80 – 110	Validación multilaboratorio: no disponible. Validación de un solo laboratorio: no disponible.
08.0 (Carne y productos cárnicos, incluidos los de aves de corral y caza)									
Nitrato	Se propone el mismo residual en varias categorías de alimentos, incluida la 08.2.1.1 (Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, curados (incluidos los salados) y sin tratar térmicamente, en piezas enteras o en cortes)	7	As NO ₃	4,5 – 9,5	0,7	1,4	23,9	80 – 110	Validación multilaboratorio: no disponible. Validación de un solo laboratorio - Afanda, et al., (2025); Ferreira et al., (2008) for Ham
Nitrito	08.2.1.3 (Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, fermentados y sin tratar térmicamente, en piezas enteras o en cortes)	33	As NO ₂	23,6 – 42,4	3,3	6,6	18,9	80 – 110	Validación multilaboratorio - EN 12014-3:2005, NMKL 165: Edición 2000; Método AOAC 973.31; Validación de un solo laboratorio - Afanda, et al., (2025), Ferreira et al., (2008) for Ham; Siu et al., 1998 for Salami, Ham
09.0 (Pescado y productos pesqueros, incluidos moluscos, crustáceos y equinodermos)									
Nitrito	09.3.3 (Sucedáneos de salmón, caviar y otros productos pesqueros a base de huevos)	4,4	As NO ₂	2,7 – 6,1	0,44	0,88	25,6	80 – 110	Validación multilaboratorio: no disponible. Validación de un solo laboratorio: no disponible.

Notas 1. La subcategoría no coincide con la descripción del Anexo 2, ya que la categoría de alimentos n.º 01.6.1 es «Queso no madurado», mientras que la categoría de alimentos n.º 01.6.4 es «Queso elaborado».

[^]. En ausencia de LOD o LOQ especificados en el método, el informe del estudio colaborativo no está disponible en este momento y con base en datos de validación internos, la validación se designa como SLV, aunque el estado de SLV se puede revisar con datos adicionales.

Apéndice 3. Lista de métodos en el Apéndice 5, Anexo de CX/FA 21/52/7 (más un método publicado recientemente) en los que se ha realizado una revisión y los datos de validación del método se han resumido para su evaluación frente a los criterios numéricos de rendimiento (El contenido del cuadro figura en inglés).

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
1	Australia	QIS 12641 (based on Kirk, R.S. and R. Sawyer, "Pearson's Composition and Analysis of Food". 9 th 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 ₂ & NO ₃ individually				
3	Australia	based on AOAC 973.31 see Chile Line 10.							
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 ₂ & NO ₃ individually	1 mg/kg (NO ₂); 10 mg/kg NO ₃ (Merino et al. 2000)	5 and 25 mg/kg for nitrite and nitrate ions, respectively	RSD _R % 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). See EU line 50.							
6	Brazil	ISO 2918 (nitrites). See EU line 35.							
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 _x only. Requires ISO 2918 determination for NO ₂ subtraction and calculation of NO ₃ .			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 ₂ & NO ₃ individually				

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
		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.	NO ₂ & NO ₃ 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 ₂ 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) see Brazil line 4.							
12	Chile	Wootton et al (2006) see Chile Line 8.							
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	NO ₂ & NO ₃ (NO ₃ by subtraction)	0.056, 0.062, 0.078 µg ml ⁻¹ in Tomato, Orange and Moosambi respectively (values may be in food juice diluted in water).	1.07, 1.80, 2.30 µg ml ⁻¹ 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	NO ₂ & NO ₃ 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

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
			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							

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
		horticultural products. (see EU Line 27)							
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 EU Line 30)							
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 EU Line 31)							
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 EU Line 27)	Also see similar principle used by R-BIOPHARM Enzymatic BioAnalysis https://food.r-biopharm.com/wp-content/uploads/2012/06/roche_ifu_nitrate_10905658035_en-v9_2019-11.pdf						
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 EU line 29)							

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
24	Colombia	AOAC 973.31-1996(1997) (see Chile line 10)	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	NO ₂ & NO ₃ 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. So not suitable for review inclusion. 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). (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.	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 but check 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	NO ₂ & NO ₃ 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.	

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
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	NO ₃ 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 dialyzing unit of continuous flow system, into slightly alkaline buffer solution and reduced to NO ₂ by Cd column. NO ₂ 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).	NO _x only (unless nitrite quantified and subtracted from NO _x 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 NO ₂ solutions are nearly identical. Thus, NO ₃ or NO ₂ 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	meat products	NO ₂ & NO _x (NO ₃ 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 _r = 5.7 - 8.1% RSD _R = 9.5-14.0% for NaNO ₂ /kg (2 meats, precision for high nitrite unacceptable at 30.7%). RSD _r = 4.3 – 7.8% RSD _R = 9.1 – 10.7% for NaNO ₃ /kg (3 meats).	NA

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
			calculated from the difference between 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)	NO ₂ & NO ₃ 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. See IDF line 72							
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. See IDF line 73							
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. See IDF line 74							

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
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	NO ₂ 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	NO ₂ & NO ₃ 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.	NO ₂ & NO ₃ 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.

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
			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 See Chile line 9							
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. See Brazil line 4 and Chile line 11.							
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						

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
		Journal of Chromatography A 789 (1-2), 213-219	LoD, no precision or accuracy. Thus, not 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.	NO ₂ & NO ₃ 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.	NO ₂ & NO ₃ 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.

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
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	NO ₂ & NO ₃ 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 NO ₂ , and 2.54 %RSD for NO ₃ .	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	NO ₂ & NO ₃ (NO ₃ by subtraction)	The detection limits for nitrite were 1.6 ng ml ⁻¹ and for nitrate were 3.0 ng ml ⁻¹ (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 ⁻¹ 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% NO ₂ recovery, & 110-94% NO ₃ 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 ₃ 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.	NO ₂ & NO ₃ 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 NO _x from various fortified baby food fruits and vegetables (25–400 ppm) ranged from 82 to 107%.

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
			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	NO ₂ & NO _x (NO ₃ by subtraction)	For a sample of 5.0 g, the determination limit of the method was 20 and 13 mg kg ⁻¹ 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.	NO ₂ & NO _x (NO ₃ by subtraction)	Detection limits (3σ) of 0.5 and 3 ng ml ⁻¹ 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 ₂ & NO _x (NO ₃ by subtraction)	5 mg/kg (meat products – EFSA 2017 p 16)			

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
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	NO ₂ (by FIA) & NO ₃ (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	NO ₂ & NO ₃ (NO ₃ by subtraction)	Detection limit for NaNO ₂ was 3 mgkg ⁻¹ and for NaNO ₃ 5mgkg ⁻¹ .		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 NO ₂ & between 2 and 5% for NO ₃ .	
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)	NO ₂ only				
54	EU	Liang et al., (1994) Catalytic spectrophotometric determination of nitrite using the chlorpromazine	Kinetic methods. In a 0.2 mol l ⁻¹ acetic acid–6.6 × 10 ⁻³ mol l ⁻¹ oxalic acid medium at 20 °C, 5 × 10 ⁻³ mol l ⁻¹ chlorpromazine hydrochloride (CPH)	Rain and river water (not suitable for further review).	NO ₂ only				

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
		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 galloxyaniline(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.	NO ₂ 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	NO ₂ 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	NO ₂ only	4.5 ng/ml = 0.0045 mg/L		15 samples can be analyzed per hour with a relative precision of ca.2.8%	

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
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	NO ₂ 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	NO ₂ 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 (μ 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 μ g L ⁻¹	Food	NO ₂ 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 ⁻¹ 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).	NO ₂ 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	NO ₂ only	0.0025 mg/L			

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
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 NO ₂ - 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 NO ₂ - 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 galloyanine 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 δ 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			

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
			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	NO ₂ 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 th 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 (NO ₃), nitrite (NO ₂), 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.					

Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
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 Chile line 14							
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	NO ₂ & NO _X (NO ₃ 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.	NO ₂ & NO _X (NO ₃ 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	Milk and milk products - hard, semi-hard and soft cheeses of various ages,	NO ₂ & NO _X (NO ₃ by subtraction)	The detection limits of the method are 0,5 mg of nitrate ions	Accessing the collaborative study report prior to year	See ISO 14673-3 IDF 189-3: 2004 section 11 for precision. Reproducibility -	


Línea #	País	Referencia al método	Principio	Ámbito de la matriz	NO ₂ y NO ₃ en forma individual o combinada	Límite de detección (LOD)	Límite de cuantificación (LOQ)	Precisión	Recuperación
		reduction and flow injection analysis with in-line dialysis (Routine method) Note: This eWG received information that while this methods is widely used, the equipment is not commercially available anymore.	portions of the de-fatted solution by 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.	2000 has proved 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 Eyseloin/joints	NO ₂ & NO ₃ 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.: Ion Chromatography with Chemical suppression of eluent conductivity

Colorimetry – NED: Colorimetric method - diazotization-coupling reaction of sulfanilamide with N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (NED). Griess reaction.

NA – Not available.

 This reference not considered suitable for further review

 This reference repeated and thus consolidated under one referred line row

Note 2. To convert: mg sodium nitrite (NaNO₂)/kg food sample x 46.005/68.995 = mg NO₂ ion / kg food sample.

To convert: mg sodium nitrate (NaNO₃)/kg food sample x 62.005/84.995 = mg NO₃ ion / kg food sample.

LISTA DE PARTICIPANTES**PRESIDENCIA**

Estados Unidos de América
Patrick Gray

COPRESIDENCIA

Australia
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 Lacom

International Dairy Federation (IDF)

Aurelie Dubois