



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO**



**DETERMINAÇÃO DE NITRATO EM VEGETAIS (ALFACE, ESPINAFRE),  
COMERCIALIZADOS EM MERCADOS EM JOÃO PESSOA**

**BRUNO VIDAL MACEDO**

**João Pessoa – PB**

**2015**

**BRUNO VIDAL MACEDO**

**DETERMINAÇÃO DE NITRATO EM VEGETAIS (ALFACE, ESPINAFRE),  
COMERCIALIZADOS EM MERCADOS EM JOÃO PESSOA**

**Trabalho de conclusão de curso  
apresentado à coordenação do  
curso de Farmácia do  
Departamento de Ciências  
Farmacêuticas, do Centro de  
Ciências da Saúde, da  
Universidade Federal da Paraíba,  
como pré-requisito para obtenção  
do título de Farmacêutico  
Generalista.**

**Orientador (a): Prof. Dr. Hemerson  
Iury Ferreira Magalhães**

**João Pessoa – PB**

**2015**

M141d Macedo, Bruno Vidal.

Determinação de nitrato em vegetais (alface, espinafre),  
comercializados em mercados em João Pessoa / Bruno Vidal Macedo. - -  
João Pessoa: [s.n.], 2015.

22f.: il. -

Orientador: Hemerson Iury Ferreira Magalhães.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO

BRUNO VIDAL MACEDO

**DETERMINAÇÃO DE NITRATO EM VEGETAIS (ALFACE, ESPINAFRE),  
COMERCIALIZADOS EM MERCADOS EM JOÃO PESSOA**

Aprovada em: **03/03/2015**

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Hemerson Iury Ferreira Magalhães  
Orientador – UFPB

---

Prof. Pablo Queiroz Lopes  
Avaliador – UFPB

---

Prof. Tenio Araújo Bezerra de Melo  
Avaliador – UFPB

## RESUMO

A busca cada vez maior por uma alimentação saudável, faz com que frutas e vegetais sejam consumidos em abundância, entretanto esses alimentos podem acumular substâncias como o nitrato, que quando ingerido é reduzido a nitrito, que tem efeito metahemoglobinizante e pode ser convertido em outros compostos n-nitrosos que apresentam efeitos cancerígenos, mutagênicos e teratogênicos. Esse trabalho teve como objetivo realizar a determinação de nitrato em vegetais (alface, espinafre) comercializados em mercados em João Pessoa a partir de metodologia espectrofotométrica proposta por CATALDO e colaboradores(1975), que se baseia na nitração do ácido salicílico sob condições altamente ácidas, o qual pode ser lido em espectrofotômetro a 410nm, em solução básica (pH>12), além de validar a metodologia. Foram analisadas 3 amostras de alface e de espinafre provenientes de 3 mercados diferentes. Os Resultados apresentados demonstram que a metodologia produz resultados satisfatórios, porém não foi possível validar a metodologia. Os teores de nitrato encontrados em alface foram mais altos que os encontrados em alguns estudos, porém ainda estão dentro do se encontra na literatura. Os alfaces apresentaram teores dentro dos limites e foram considerados seguros para o consumo. Duas das três amostras de espinafre apresentaram valores muito acima do permitido e são considerados impróprios para o consumo. Os resultados demonstram que os vegetais que são comercializados nos mercados de João Pessoa não passam por processos de fiscalização, o que deveria ser feito regularmente, pois substancias como o nitrato podem causar grandes danos à saúde humana.

**Palavras-chaves:** Alface, espectrofotometria, espinafre, nitrato, vegetais.

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES, TABELAS E GRÁFICOS

<b>Figura 1 – Ciclo biogeoquímico do nitrogênio e suas rotas no meio ambiente.....</b>	<b>6</b>
<b>Figura 2 – Reação de Nitração.....</b>	<b>11</b>
<b>Tabela 1– Absorbâncias do padrão.....</b>	<b>13</b>
<b>Tabela 2– Média das absorbâncias.....</b>	<b>13</b>
<b>Gráfico 1 – Curva Padrão de nitrato de sódio.....</b>	<b>13</b>
<b>Tabela 3 – Absorbâncias – alface.....</b>	<b>14</b>
<b>Tabela 4 – Absorbâncias – espinafre.....</b>	<b>14</b>
<b>Tabela 5 – Concentração das amostras.....</b>	<b>14</b>
<b>Tabela 6 – Concentração de <math>\text{NO}_3^-</math>.....</b>	<b>14</b>
<b>Tabela 7 – Absorbâncias do padrão congelado.....</b>	<b>15</b>

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. JUSTIFICATIVA.....	11
3. OBJETIVOS.....	12
4. METODOLOGIA.....	13
5. RESULTADOS.....	15
6. DISCUSSÃO.....	18
7. CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

## 1 – Introdução

O nitrogênio é tido como um dos principais nutrientes mais exigidos no solo pelos vegetais, a exigência de muitas espécies como alface, espinafre dentre outros em relação a este nutriente é crescente e constante em todo o ciclo, sendo muito importante seu suprimento nos seis primeiros meses de vida da planta. Neste período, uma faixa de 23% do total de nitrogênio absorvido é exportada para as flores e frutos (LYRA, 2007).

Os nitratos são compostos nitrogenados e estão presentes na natureza com abundância. São encontrados no solo, na água e em plantas, sendo portanto distribuídos em alimentos de origem animal e vegetal. São também usados como aditivos alimentares, nas formas de sais de sódio e potássio em conserva, produtos cárneos e queijos. (BORSATO et al., 1989).

O nitrogênio é o elemento mais abundante na atmosfera, sendo que, o nitrato é formado na natureza a partir do ciclo biogeoquímico do nitrogênio atmosférico e sua captação por microrganismos nitrificantes requerendo para isso, a quebra de uma ligação tripla covalente de excepcional estabilidade, entre os dois átomos de nitrogênio ( $N\equiv N$ ) para produzir amônia ( $NH_3$ ) ou nitrato ( $NO_3^-$ ). Este processo pode ser obtido por processos industriais ou naturais sendo denominado de fixação do nitrogênio - Figura 01 - (BLOOM, 1997; MOREIRA & SIQUEIRA, 2002).

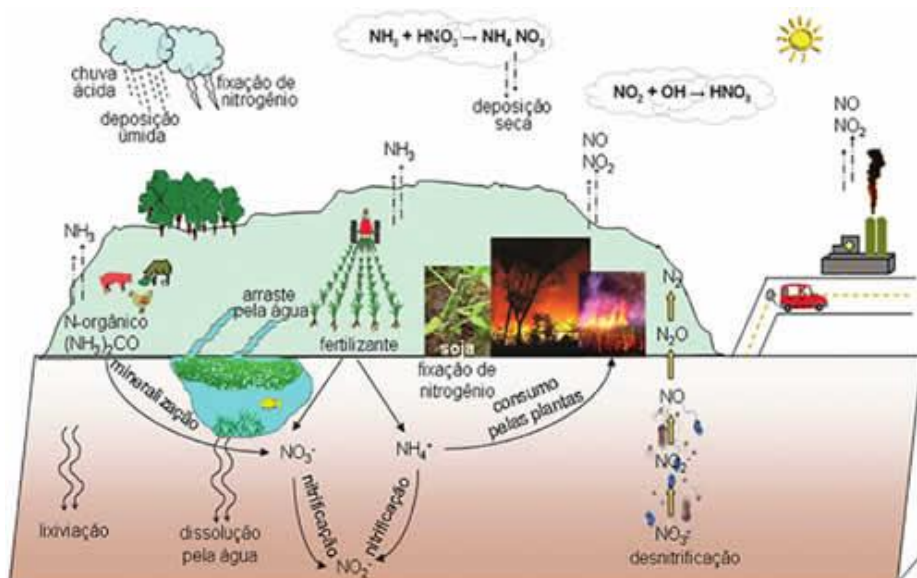


Figura 1: Ciclo biogeoquímico do nitrogênio e suas rotas no meio ambiente. Fonte: Cardoso, Machado, Pereira (2008).

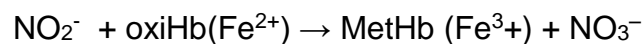


Nas hortaliças, especialmente folhosas, o nitrogênio desempenha papel fundamental no crescimento e no rendimento dos produtos colhidos. Um adequado suprimento de nitrogênio está associado à alta atividade fotossintética e ao crescimento vegetativo vigoroso (CASTELLANE, 1994; FILGUEIRA, 2000). Em alface, doses elevadas de nitrogênio proporcionam maior massa e maiores acúmulos de macronutrientes nas folhas (PEREIRA et al., 1989; ALVARENGA et al., 2000; FERREIRA et al., 2000).

Além disso, vale ressaltar que os nitratos podem ser adicionados a alimentos principalmente derivados do leite (queijos) com o intuito de conferir melhoramento das características organolépticas dos alimentos (cor, sabor), e principalmente possuir atividade preventiva na formação e proliferação de esporos de bactérias como o *Clostridium botulinum*, responsável pelo botulismo (FRANCO et al., 2001; ORDÓNEZ, 2005).

A concentração de nitrato é um importante índice da qualidade dos alimentos. Quando ingerido pelo homem, o nitrato sofre ação microbiana na saliva e é reduzido a nitrito, o qual reage com aminas e dá origem a compostos nitrosos, como as nitrosaminas, que são carcinogênicos. Em crianças, o nitrito pode provocar a metemoglobinemia, doença que causa o impedimento do transporte de oxigênio dos alvéolos pulmonares para os tecidos, o que pode levar à morte (WOLFF & WASSERMAN, 1972; SWANN, 1975).

Os principais riscos associados a ingestão de alimentos de origem vegetal contaminados com altas concentrações de nitrato são a sua redução endógena a nitrito e produção de metemoglobinemia. O nitrito entrando na corrente sanguínea oxida o ferro ( $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ ) da hemoglobina, produzindo metemoglobina (GUERREIRO et al., 2012).



Esta forma de hemoglobina é inativa e incapaz de transportar o  $\text{O}_2$  para a respiração normal das células dos tecidos pulmonares, causando a metemoglobina, e as células acabam sofrendo anóxia (FAQUIN, 2004)

Os níveis máximos da concentração desses compostos em alimentos é objeto de regulamentação. Segundo a Norma Européia N<sup>o</sup>. 1881/ 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos gêneros

alimentícios, o limite máximo permitido para alface cultivada durante o período de inverno é de 4500 mg de  $\text{NO}_3^-$ /Kg de massa fresca. Já a alface cultivada durante o verão, deve apresentar um limite de 3500 mg  $\text{NO}_3^-$ /Kg de massa fresca. (UNIÃO EUROPÉIA, 2006)

Em relação à ingestão, a Organização Mundial para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelecem como admissíveis as doses diárias de 3,65 mg do íon  $\text{NO}_3^-$  (nitrato) e 0,133 mg do íon  $\text{NO}_2^-$  (nitrito) / Kg de massa corpórea. De acordo com o Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), fica estabelecido para o nitrato uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0 a 5,0 mg/Kg de massa corpórea e uma IDA de 0 a 0,2 mg/Kg de massa corpórea para o nitrito (FAQUIN, 2004)

Existem várias técnicas as quais podem ser empregadas para a determinação de nitrato em vegetais como a potenciometria, a quimioluminescência, a fluorescência, cromatografia (de íons e líquida de alta eficiência, porém a espectrofotometria ainda é a técnica analítica mais utilizada nesse aspecto, por conta de baixo custo e simplicidade de aplicação (XIMENES et al., 2000).

## **2 – Justificativa**

Diante da problemática apresentada se faz importante o estudo das concentrações dessas substâncias nitrogenadas em vegetais, uma vez que os nitratos são compostos que apesar de serem encontrados naturalmente em vegetais, podem surgir também em produtos agrícolas a partir de uso excessivo de fertilizantes e assim, ofertados em abundância aos consumidores pela alimentação e bebidas, principalmente a água, devido à alta solubilidade dos nitratos.

Os vegetais produzidos de forma convencional e orgânica são comumente vendidos em feiras livres e mercados públicos, por feirantes e produtores menores, que muitas vezes não tem nenhum controle de qualidade ou mesmo conhecimento sobre os riscos do acúmulo dessas substâncias nos vegetais que comercializam. Devido as diferenças no cultivo, adubação, colheita, transporte, acondicionamento, esses vegetais podem apresentar concentrações consideradas acima das permitidas pelos órgãos regulatórios, gerando a necessidade de se monitorar os vegetais comercializados em feiras, mercados e supermercados em geral.

### **3 – Objetivos**

#### **3.1 – Objetivos Gerais**

Determinar as concentrações de nitratos em vegetais, comercializados em mercados de João Pessoa – Paraíba.

#### **3.2 – Objetivos Específicos**

3.2.1 - Determinar as concentrações de nitratos em amostras de alface e espinafre utilizando metodologia espectrofotométrica;

3.2.2 - Determinar se essas amostras estão dentro dos limites estabelecidos pelos órgãos regulatórios;

3.2.3 - Padronizar a metodologia de determinação de nitrato em vegetais no Laboratório de Toxicologia.

## 4 – Metodologia

Para a determinação de nitratos em alface e espinafre, foram escolhidos três mercados de João Pessoa (denominados de “A”, “B”, “C”), onde as amostras desses vegetais foram coletadas. Coletou-se uma amostra de alface e uma de espinafre em cada mercado, totalizando 6 amostras (3 de alface e 3 de espinafre). A metodologia escolhida foi a de CATALDO e colaboradores (1975), metodologia espectrofotométrica baseada na nitração do ácido salicílico sob condições altamente ácidas, o qual pode ser lido em espectrofotômetro a 410nm, em solução básica (pH>12) após adição de hidróxido de sódio.

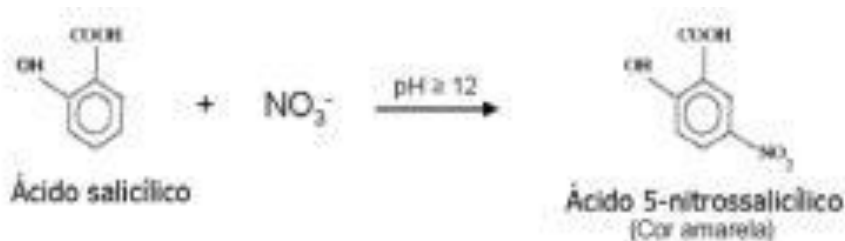
### 4.1 - Preparação da amostra

As amostras foram preparadas e secas em estufa a 50°C. Pesou-se 0,1g de cada amostra e suspensas em 10 mL de água destilada. A suspensão foi incubada em banho Maria a 45°C por 1 hora, com agitação a cada 15 minutos.

Após o banho Maria, a suspensão foi centrifugada a 5000 rpm por 15 minutos para sedimentar resíduos de tecidos vegetais, descartou-se o sobrenadante e reservou o extrato para análise.

### 4.2 - Procedimento analítico

Para a análise, foi aliqotado 0,2mL do extrato e adicionou 0,8mL da solução de ácido salicílico, e deixou em repouso por 20 minutos a temperatura ambiente. Foi adicionado lentamente 19mL de NaOH. Essa mistura foi resfriada a temperatura ambiente e levada para ser lida no espectrofotômetro a 410nm, contra um branco de reagentes (Figura 02).



**Figura 02** – Reação de Nitração

Fonte: CATALDO et al., 1975

A curva padrão de nitrato foi construída utilizando uma solução de nitrato de sódio(1mg/mL) como o padrão. As alíquotas utilizadas foram de 0,5; 6; 12; 18; 24 e 30mL da solução e completou-se cada com 100mL de água destilada. Retirou-se 0,2 mL de cada alíquota e semelhante a amostra, foram adicionados 0,8ml da solução de ácido salicílico, repouso por 20 minutos a temperatura ambiente, depois adicionou-se os 19mL de NaOH lentamente, resfriou a temperatura ambiente e realizou a leitura a 410nm contra um branco de reagentes.

#### **4.4 - Validação**

Para a padronização da metodologia escolhida, foram analisados os parâmetros de robustez, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). Os dados obtidos foram analisados no Microsoft Excel 2013.

##### **4.4.1 - Limite de detecção (LD)**

LD é a menor concentração do analito que o procedimento analítico consegue diferenciar.

##### **4.4.2 - Limite de quantificação (LQ)**

LQ é a menor quantidade de analito na amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão.

##### **4.4.3 - Robustez**

Mede a sensibilidade que um método apresenta frente a pequenas variações de parâmetros analíticos, como temperatura, pH da amostra, fabricante dos solventes e operador.

## 5 – Resultados

### 5.1 - Curva Padrão

Para a confecção da curva padrão de nitrato, foram realizadas leituras em triplicata, obtendo-se os seguintes resultados:

Concentração	A1	A2	A3
0.5mL	0,036	0,035	0,036
6mL	0,140	0,143	0,141
12mL	0,160	0,161	0,162
18mL	0,357	0,162	0,357
24mL	0,371	0,395	0,371
30mL	0,400	0,456	0,456

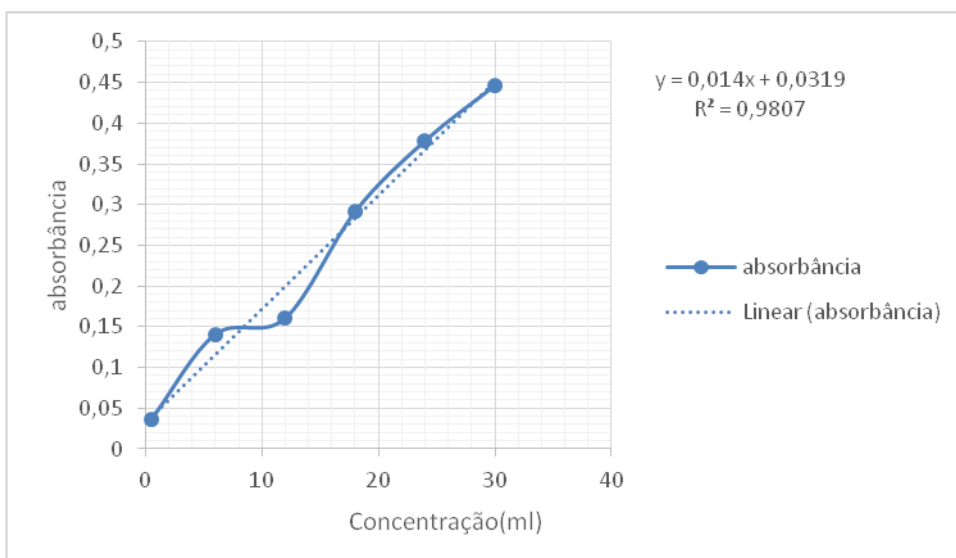
**Tabela 1 – Absorbâncias do padrão**

A partir da leituras das concentrações em triplicata, obteve-se a média das absorbâncias e obteve-se a seguinte tabela:

Concentração	Absorbância
0,5mL	0,036
6mL	0,141
12mL	0,161
18mL	0,292
24mL	0,379
30mL	0,447

**Tabela 2 – Média das absorbâncias**

A partir das medias, a curva padrão foi construída:



**Gráfico 1 – Curva Padrão de nitrato de sódio**

## 5.2 - Determinação das amostras

Cada amostra foi analisada em triplicata e foram obtidos os seguintes valores e o cálculo das médias:

Amostra	A1	A2	A3	Média
Alface "A"	0,024	0,027	0,024	0,025
Alface "B"	0,055	0,051	0,047	0,051
Alface "C"	0,043	0,043	0,036	0,041

**Tabela 3 – Absorbâncias - alface**

Amostra	A1	A2	A3	Média
Espinafre "A"	0,121	0,145	0,143	0,136
Espinafre "B"	0,034	0,041	0,035	0,037
Espinafre "C"	0,108	0,102	0,109	0,106

**Tabela 4 – Absorbâncias - espinafre**

A concentração das amostras pode ser obtida através da fórmula:  $C_a = A_a \cdot FC$ , onde  $C_a$  é a concentração da amostra,  $A_a$  a absorbância da amostra e  $FC$  é o fator de calibração, calculado pela média dos valores de Concentração do padrão/Amostra do padrão. O  $FC$  calculado com os valores obtidos do padrão, foi de 53,84. Aplicando esse valor em conjunto com a média das absorbâncias de cada amostra, os seguintes valores são encontrados:

Amostra	A	B	C
Alface	1,346 mg/mL	2,746 mg/mL	2,189 mg/mL
Espinafre	7,340 mg/mL	1,974 mg/mL	5,724 mg/mL

**Tabela 5 – Concentração das amostras**

A partir da análise das amostras foi possível mensurar a concentração de  $\text{NO}_3^-$ , já que o valor da concentração encontrado acima corresponde a solução de 1mL (0,2mL do extrato da amostra e 0,8mL de ácido salicílico). Por uma regra de três simples e encontrou-se a concentração de  $\text{NO}_3^-$  (em ppm ou  $\mu\text{g/g}$ ) presente nas amostras:

Amostra	A	B	C
Alface	1345ppm	2745ppm	2185ppm
Espinafre	7340ppm	1970ppm	5720ppm

**Tabela 6 – Concentração de  $\text{NO}_3^-$**



### 5.3 - Validação do método analítico

#### 5.3.1 - Limite de detecção (LD)

Foi estabelecido que ele é três vezes superior ao desvio padrão de uma série de medidas de branco, a partir da análise de uma amostra de branco, o LD encontrado foi de 0,012.

#### 5.3.2 - Limite de quantificação (LQ)

O menor valor do analito encontrado foi de 0,007.

#### 5.3.3 - Robustez

O padrão foi submetido a ciclos de alterações de temperatura (congelamento/descongelamento) e uma nova leitura foi feita:

Concentração	A1	A2	A3	Média
0.5mL	0,009	0,010	0,006	0,008
6mL	0,086	0,086	0,082	0,087
12mL	0,080	0,089	0,098	0,089
18mL	0,160	0,090	0,119	0,123
24mL	0,259	0,201	0,149	0,203
30mL	0,150	0,145	0,212	0,169

**Tabela 7 – Absorbâncias do padrão congelado**

Comparando os dados obtidos com a 1 leitura do padrão, pode -se inferir que o método, nas condições estudadas e apresentadas pelo laboratório, não foi robusto.

## 6 – Discussão

O nitrato é a principal fonte de nitrogênio, considerando condições normais de aeração e cuidados com o solo, sendo portanto, a forma inorgânica nitrogenada mais absorvida, preferencialmente pelas plantas. Quando absorvido pelos vegetais, o nitrato é convertido em amônio e em seguida incorporado, constituindo-se em aminoácidos e outros compostos nitrogenados que vão levar a formação de proteínas e outras diversas macromoléculas ou ainda pode ser armazenado nos vacúolos (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000; SILVEIRA et al., 2001; SHAN et al., 2012).

Estudos para quantificação dos teores de nitrato existem desde o início do século XX, onde os valores apresentados de  $\text{NO}_3^-$  em vegetais podem ser superiores a 500 ppm, podendo ser até maiores, dependendo do solo, das condições de adubo, utilização de fertilizantes (GARDES et al., 1986; JUSTINO et al., 2006).

No trabalho realizado, o método espectrofotométrico se mostrou adequado para a determinação de  $\text{NO}_3^-$  nos vegetais analisados, entretanto não foi possível padronizar alguns pontos da metodologia (como recuperação e robustez) de forma adequada, não homogeneidade nas vidrarias e reagentes, necessitando ainda a repetição de alguns pontos a fim de padronizar de modo adequado a técnica no Laboratório de Toxicologia da UFPB. Dessa forma, os parâmetros analisados demonstram que a metodologia não foi robusta, mas foi capaz de demonstrar resultados satisfatórios.

Vale salientar que na determinação da curva de calibração o coeficiente de correlação de linearidade da reta foi 0,98 semelhante ao mostrado em trabalhos na literatura (CATALDO et al., 1975; MANTOVANI et al., 2005).

Ainda no ano de 2005, Mantovani e colaboradores apresentaram a comparação de diversas metodologias para quantificação de nitrato em tecido vegetal, citando a metodologia de CATALDO e colaboradores (1975), a qual é capaz de apresentar resultados em média 241% maiores que os demais.

Além disso, quando se compara os valores obtidos com a literatura, como o trabalho de BORSATO e colaboradores (1989), que emprega a mesma metodologia que a utilizada por este trabalho, percebe-se que os teores encontrados são superiores que os descritos por BORSATO, entretanto os

quantitativos de nitrato presentes em alface ainda estão dentro do descrito por outros trabalhos.

A avaliação das amostras A e C de espinafre apresentaram valores muito altos, se comparados à literatura, enquanto que a amostra B apresentou valores baixos, porém dentro dos níveis apresentados pela literatura (RICHARDSON et al., 1992).

Comparando os valores encontrados com os limites estabelecidos pelos órgãos regulatórios, vemos que as amostras de alface atendem aos limites de 3500 ppm. Já os valores de espinafre A e C se encontram muito acima dos permitidos, tornando-os impróprios para o consumo, pois além dos riscos de metemoglobinemia citados no início deste trabalho, os principais nutrientes que seriam aproveitados na alimentação não estarão presentes DIBB et al., 2005.

"Alguns dos impactos de N, P e K sobre a qualidade dos vegetais foram revisados por Salunkhe e Desai (1988). Esses autores citam pesquisas que mostram que aplicações generosas de N tendem a diminuir o teor de vitamina C em vegetais (espinafre, beterraba, couve e couve-de-bruxelas), enquanto aplicações de K tendem a aumentar o teor desta vitamina. Observou-se que a adubação nitrogenada afeta positivamente os níveis de caroteno em cenoura e espinafre, mas aplicações pesadas de N podem afetar negativamente a qualidade dos vegetais em decorrência do acúmulo de nitrato, que é potencialmente danoso."

Devido a origem de plantio e cultivo desses vegetais, ser desconhecida, os mesmos foram obtidos em feiras livres, não sendo possível saber que alteração as amostras de espinafre sofreram para apresentarem teores tão elevados, pode-se sugerir um excesso de uso de fertilizantes e agrotóxicos, que causam o acúmulo de N nos vegetais. A amostra B por outro lado, apresentou teor muito mais baixo, sendo considerada segura para o consumo.

## **7 - Considerações Finais**

A busca cada vez maior por uma alimentação saudável, com mais produtos orgânicos e de origem natural, como os frutos e vegetais, faz com que essas hortaliças sejam consumidas em abundância, entretanto ainda há pouco conhecimentos aos riscos associados do consumo desses alimentos com acúmulo de substâncias como o nitrato, que causam danos a saúde humana, além de diminuir os nutrientes.

A metodologia empregada no trabalho apresentou resultados satisfatórios, no que diz respeito a quantificação, e se mostrou como uma forma rápida e simples de medir o teor desses compostos.

Os resultados obtidos confirmam que os vegetais que são comercializados nos mercados de João Pessoa não passam por processos de fiscalização, algo que deveria ser feito regularmente, pois o acúmulo de nitratos em alimentos é danoso à saúde humana.

## Referências

BLOOM, A J. Nitrogen as a limiting factor: Crop acquisition of ammonium and nitrate. In *Ecology in Agriculture*, L. E. Jackson, ed., Academic Press, San Diego, CA, 145-172, 1997.

BORSATO D, GARDES B JL, KAWAKOE MAF. Teores de nitratos e nitritos em conservas de carne comercializadas em Londrina (PR); *Semina*, 10(4):235-238, 1989.

GARDES B JL, BORSATO D, SILVA LCN. Determinação do teor de nitratos em vegetais da região de Londrina (PR) por complexação do ácido salicílico. *Semina*, 7(2):60-61, 1986.

BREDEMEIER C, MUNDSTOCK CM. Regulation of nitrogen absorption and assimilation in plants. *Cienc. Rural* 30(2):365-372, 2000.

CARDOSO, A. A.; MACHADO, C. M. D.; PEREIRA, E. A. Biocombustível, o mito do combustível limpo. *Química Nova na Escola*, 28:9-11, 2008.

CATALDO DA, HAROON M, SCHRADER LE, YOUNGS VL. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 6:71-80, 1975.

FAQUIN V. Acúmulo de nitrato em hortaliças e saúde humana. Lavras, UFLA/FAEPE, 7 p. 2004.

FRANCO, B. D. G. M. et al. *Microbiologia dos Alimentos*. v.2, Editora Atheneu, p. 139-145, São Paulo, 2001.

GUERREIRO RS, SÁ, MS, RODRIGUES, LAP. Avaliação do teor de nitrito e nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. *RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, 5(1):77-91, 2012.

JUSTINO GC, CAMBRAIA J, OLIVA MA, OLIVEIRA JA. Uptake and reduction of nitrate in two rice cultivars in the presence of aluminum. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 41(8):1285-1290, 2006.

LYRA, G. B. Estimativa dos níveis ótimos econômicos de irrigação e de adubação nitrogenada nos mamoeiros (*Carica papaya* L.) cultivar Golden e do híbrido UENF Caliman 01. 2007. 160f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2007.

MOREIRA FMS, SIQUERA, JO. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 625p., 2002.

ORDÓNEZ JA. Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal. Porto Alegre: ARTMED, 2005. v. 2

RICHARDSON, S.J.; HARDGRAVE, M. Effect of temperature, carbon dioxide enrichment, nitrogen form and rate of nitrogen fertilizer on the yield and nitrate content of two varieties of glasshouse lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59:345-349, 1992.

SHAN AYKV, OLIVEIRA LEM, BONOME LTS, MESQUITA AC. Metabolic assimilation of nitrogen in rubber tree seedlings grown with nitrate or ammonium. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 47(6):754-762, 2012.

SILVEIRA; J.A.G.; COSTA, R.C.L.; OLIVEIRA, J.T.A. Drought-induced and recovery of nitrate assimilation and nodule activity in cowpea plants inoculated with *Bradyrhizobium* spp. under moderate nitrate level. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32:187-194, 2001.

UNIÃO EUROPÉIA. Regulamento (CE) nº 1881/2006, de 19 de dezembro de 2006. Fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos gêneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*, Bruxelas, 19 dez. 2006. 364/5 – 364/24.

WOLFF IA, WASSERMAN AE. Nitrates, nitrites, and nitrosamines. *Science*, 177:15-19, 1972.

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