
Desenvolvimento e Validação da análise simultânea de Nitrito e Nitrato de Sódio em salsicha por Cromatografia de Íons

Laís Santos Seabra¹, Leticia de A.P. Rodrigues²

¹Faculdade de Tecnologia SENAI CIMATEC, E-mail: lais_seabra@yahoo.com.br

²SENAI – CIMATEC, E-mail: leticiap@fielb.org.br

Desenvolvimento e Validação da análise simultânea de Nitrito e Nitrato de Sódio em salsicha por Cromatografia de Íons

Resumo: *Nitritos e nitratos atuam como agentes de cura em produtos cárneos. Tradicionalmente, a determinação destes aditivos é realizada via colorimétrica por espectrofotometria, método extremamente trabalhoso. Por isso, objetivou-se desenvolver e validar uma metodologia para determinação de nitrito e nitrato de sódio em salsicha através da cromatografia de íons, uma técnica de alta sensibilidade e precisão. Os parâmetros qualitativos obtidos foram: linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção e quantificação do método. A faixa linear de trabalho do método foi de 0 mg/kg a 2 mg/kg e 0 mg/kg a 10 para nitrito e nitrato, respectivamente. A recuperação média foi de 105,5% e 100,8% para o nitrito e nitrato, respectivamente. O método desenvolvido mostrou-se eficiente para análise de nitrito e nitrato em salsicha.*

Palavras-Chaves: Validação; Nitrito; Nitrato; Cromatografia de Íons; Salsicha.

Abstract: Nitrites and nitrates act as curing agents in meat products. Traditionally, the determination of these additives is performed via colorimetric spectrophotometry, an extremely labor intensive method. Therefore, the objective was to develop and validate a methodology for the determination of nitrite and sodium nitrate in sausage through ion chromatography, a technique of high sensitivity and precision. The qualitative parameters were: linearity, accuracy, precision, limit of detection and quantification of the method. The linear working range of the method was 0 mg / kg to 2 mg / kg and 0 mg / kg to 10 for nitrite and nitrate, respectively.. The average recovery was 105, 5%

and 100.8% for nitrite and nitrate, respectively. The method developed was efficient for analysis of nitrite and nitrate in sausage.

Keywords: Validation; Nitrite; Nitrate; Ion Chromatography; Sausage.

1. INTRODUÇÃO

A alimentação é um dos requisitos básicos para sobrevivência e manutenção da vida adaptando-se as mudanças oriundas da globalização, caracterizando a transição nutricional, que corresponde as mudanças do hábito alimentar e conseqüentemente da dieta das pessoas concomitantemente a mudanças sociais, econômicas e demográficas¹, da população que vem substituindo os alimentos *in natura* por alimentos processados². Tal fato tem preocupado a comunidade científica, bem como a Saúde Coletiva, já que esta última absorve a população com DCNT (Doenças Crônicas Não Transmissíveis) devido ao empobrecimento da dieta, decorrente do consumo excessivo de produtos processados.

Dentre as fontes de proteína de alto valor biológico, a carne é a mais consumida na alimentação humana, sua transformação em produtos cárneos após processamento na indústria resulta na obtenção de linguiças, mortadelas, salsichas, apresuntados, presuntos, hambúrgueres, charques e salames³. Esses alimentos embutidos são constituídos por carnes ou outras porções do animal após submissão a técnicas de moagem, adição de condimentos e aditivos, e armazenamento adequado, este processo resulta em alterações nas propriedades originais da carne⁴.

Segundo a Portaria⁴ da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) nº 540, de 27 de outubro de 1997, no item 1.2 aditivo alimentar é descrito como

(...) qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento. Esta definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais.

Os nitritos e os nitratos atuam como agentes de cura em produtos cárneos, com objetivo de proporcionar uma coloração rósea e sabor típico dos produtos curados. Além disso, inibem ou retardam o crescimento microbiano, prolongando a vida de prateleira desses alimentos. Também apresentam excelentes propriedades antioxidantes, evitando a rancidez dos produtos cárneos³. A aplicação destes sais – nitritos e nitratos – em níveis elevados pode ocasionar sérios riscos à saúde humana, pela possibilidade de efeitos tóxicos agudos e crônicos. Em especial, o

nitrito, onde cerca de 1,0 g já é tido como dose letal para o adulto. Os nitritos ingeridos em excesso unem-se irreversivelmente à hemoglobina e originam a metahemoglobina, que, então, se torna menos eficaz em transportar o oxigênio para todo o corpo⁶. Outro aspecto toxicológico importante em relação à ingestão de nitritos é a possibilidade de estes interagirem com aminas e amidas, dando origem a compostos N-nitrosos, como as nitrosaminas que, sob certas condições de exposição, são agentes potencialmente mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos³.

Quanto maior a quantidade e frequência do consumo de alimentos processados, maior a ingesta e o acúmulo destes aditivos, e conseqüentemente maior o grau de toxicidade promovido pelos mesmos⁷.

Independentemente de sua quantidade nos alimentos, os nitratos e nitritos tendem a formar composto N-nitrosos. Considerando-se uma dieta normal, a quantidade de nitrato ingerido situa-se em torno de 100 mg ao dia, sendo os principais representantes, carnes e linguiças, e as hortaliças (até 200 mg ao dia) e raízes, estes últimos devido ao uso de fertilizantes⁸.

A adição de nitritos e nitratos em alimentos é oficialmente regulamentada, na maioria dos países. Contudo, as orientações quanto ao seu emprego têm sofrido alterações nos últimos anos, principalmente nos países em desenvolvimento. No Brasil, o órgão regulamentador, ANVISA, estabeleceu os limites máximos de 150 e 300 mg.kg⁻¹, respectivamente⁹.

Tradicionalmente, a determinação de nitrito e nitrato de sódio é realizada através de método colorimétrico específico, oriundo de diazotação dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido, formando ácido alfa-naftilamino-p-azobenzeno-p-sulfônico, de coloração rósea, via espectrometria. No caso do nitrito a determinação ocorre de forma direta, já no caso do nitrato é realizada uma determinação indireta pelo mesmo método precedido da sua redução em coluna de cádmio¹⁰. Tal metodologia é extremamente trabalhosa.

Diante da importância industrial e os possíveis aspectos toxicológicos causados por esses aditivos é imprescindível a detecção e o monitoramento dos seus teores através do uso de técnicas de quantificação de alto padrão e sensibilidade como a Cromatografia de Íons, método desenvolvido no começo dos anos 1940, onde cátions e ânions são separados através de uma resina de troca iônica específica. O efeito de separação é baseado na distribuição entre duas

fases: uma fase é estacionária e a segunda é uma fase móvel que flui em uma determinada direção, onde parâmetros como fator de retenção, seletividade e resolução são avaliados¹¹.

É de fundamental importância que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para comprovar, por meio da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida, através do cumprimento de protocolos implantados pelo INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial),¹² mediante análise crítica de parâmetros como: precisão (obtido pela repetitividade), exatidão (obtido pela recuperação), linearidade, LDM (limite de detecção do método) e LQM (limite de quantificação do método)¹³.

Em suma, tendo em vista as consequências no âmbito da Saúde Pública, oriundas do consumo excessivo de alimentos processados, devido entre outros fatores a presença residual de nitrito e nitrato de sódio, é imprescindível o uso de técnicas aprimoradas e confiáveis na quantificação desses sais em alimentos, com limite de detecção abaixo do valor máximo estabelecido em legislação, de forma rápida e precisa. Nesse contexto o presente artigo tem como objetivo desenvolver e validar o método por Cromatografia de Íons para a determinação simultânea de nitrito e nitrato de sódio em salsicha.

2. METODOLOGIA

2.1. Materiais e reagentes

Todos os padrões empregados, nitrito de sódio (Sigma Aldrich, Lote: BCBR7891V, Validade: 30/04/2018) e nitrato de sódio (Inorganic Ventures, Lote: K2-N0X02132, Validade: 07/07/2020), foram de pureza analítica com certificação da ISO GUIA 34, e a água ultrapura foi obtida a partir de um sistema de purificador de água (Sartorius, arium comfort II).

2.2. Instrumentação e condições analíticas

Para a realização deste experimento, as amostras de carne foram homogeneizadas usando um processador (Philips Wallita, Brasil), e posteriormente pesadas em balança analítica (Ohaus Adventur, USA). Logo após, seguiu-se o experimento utilizando os instrumentos citados a seguir: micropipetas de volume variável de 1000 μL e 10000 μL (Brand, Alemanha), banho maria com agitador magnético (Fisatom, Brasil), termômetro de vidro de mercúrio, agitador magnético (Fisatom, Brasil), bomba a vácuo, e filtro de seringa 0,45 μm ,

Foi utilizado também um sistema de cromatografia de íons com detector UV-Vis, modelo 844 UV/VIS Compact IC, da Metrohm Company (Herisau, Suíça), juntamente com o amostrador 858 Professional Sample Processor, consistindo de uma bomba peristáltica de gradiente GP40, um detector UV-VIS, um gabinete LC20, uma pré-coluna de ânions Metrosep A Supp 4/5 Guard e uma coluna de separação de ânions Metrosep A Supp S 240/40.

Os resultados foram obtidos e analisados através do software Magic Net 3.1 e IC Net 2.3, utilizado para a geração de todos os dados cromatográficos.

Para detecção dos analitos (nitrito e nitrato de sódio) no cromatógrafo de íons injetou-se 20 μ L das amostras, para obtenção dos resultados após 20 minutos de análise. Não houve controle de temperatura.

2.3. Preparo da amostra e Método de análise

Trata-se de uma pesquisa quantitativa e laboratorial, onde realizou-se testes com amostras de salsicha comercializada na cidade de Salvador-Bahia, através da construção de uma curva analítica no Cromatógrafo de Íons com detector UV-Vis, com parâmetros de qualidades exigidos para tal fim.

Utilizou-se instruções do DOQ-CGCRE-008 do INMETRO para validar o método aplicado no experimento em questão. Os parâmetros avaliados foram: Precisão (através da repetitividade), Exatidão (através da recuperação), Linearidade, e os Limites de Detecção e Quantificação do Método - LDM e LQM, já que estes constituem o sistema de garantia de qualidade em laboratórios de análise de alimentos.

Para avaliar a exatidão e precisão, foram preparadas e analisadas dez replicatas de uma amostra de salsicha contendo adição de padrão em concentrações conhecidas de nitrito e nitrato de sódio - 500 μ L, adicionados as amostras após pesagens das mesmas, para controlar com criticidade a qualidade da análise, garantindo segurança aos dados obtidos. Todas as replicatas foram analisadas por um mesmo analista, utilizando os mesmos equipamentos.

Avaliou-se a linearidade através da construção de duas curvas analíticas no cromatógrafo de íons com detector UV-Vis, com padrões de nitrito e nitrato de sódio em cinco níveis de concentração, na faixa de 0,10 mg/kg a 2,00 mg/kg e 0,50 mg/kg a 10,00 mg/kg,

respectivamente. Utilizou-se o método de regressão linear para obter a equação da reta no formato $y = ax + b$ e o coeficiente de correlação.

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

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

A amostra (salsicha de carne) foi adquirida na cidade de Salvador – Bahia, obtida de forma aleatória no comércio popular, previamente triturada em processador para, em seguida, ser tratada segundo procedimento analítico descrito na figura 1.

Para a realização do ensaio, desenvolveu-se o método, cujo princípio consiste na extração dos analitos da amostra, após eliminação de interferentes (proteína e gordura) através do uso da água de extração, obtida através de água ultrapura aquecida sob agitação magnética até atingir 80°C, e posterior leitura no Cromatógrafo de Íons, conforme figura 1.

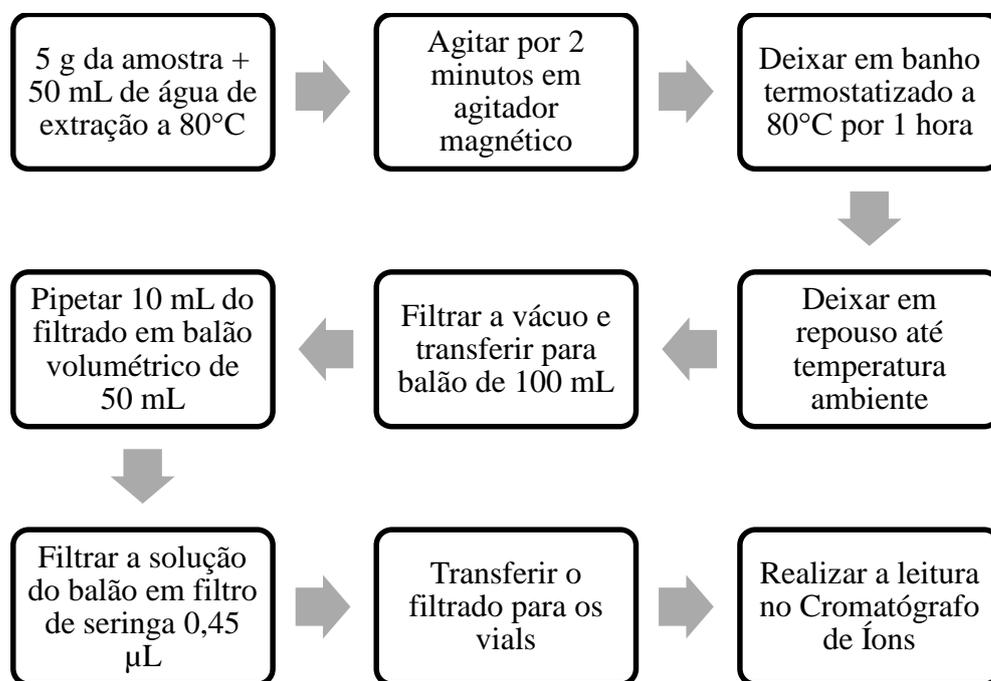


FIGURA 1: Fluxograma do tratamento da amostra e quantificação simultânea de nitrito e nitrato de sódio em salsicha.

As filtrações sequenciais são necessárias para obtenção de uma alíquota incolor, clara, em temperatura ambiente, isenta de interferentes, a exemplo de compostos sólidos como sais. Características essenciais para a correta quantificação dos analitos no equipamento de cromatografia de íons. Além disso, é importante salientar o uso da água de extração durante todo o procedimento, inclusive para avolumar o extrato contido nos balões volumétricos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No desenvolvimento de métodos é indispensável que o mesmo seja validado, a fim de garantir sua efetividade, aplicabilidade e reprodutibilidade, de modo também a garantir a confiabilidade dos resultados encontrados. Desse modo, os resultados relacionados à validação do método encontram-se na tabela 1.

Tabela 1: Dados obtidos da Validação

Parâmetros	Nitrito (NaNO_2)	Nitrato (NaNO_3)
Sensibilidade	2,902 ((área / (mg/kg))	2,756 ((área / (mg/kg))
Linearidade	Até 2 mg/kg	Até 10 mg/kg
Coefficiente de correlação “r”	0,9997	0,9990
LDM	3,1724 mg/kg	3,7362 mg/kg
LQM	9,6134 mg/kg	11,3219 mg/kg
Repetitividade (%CV)	4,8%	2,6%
Recuperação (Média)	105,5%	100,8%

Os parâmetros analisados comprovam que há evidência objetiva, de que os requisitos para aplicação do método desenvolvido foram atendidos. Os resultados demonstrados na tabela 1, ficaram dentro dos padrões estabelecidos pela AOAC (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists)¹⁴. Para a exatidão, a recuperação deve estar na faixa de 90% a 110%, o que pode ser constatado na tabela 1, e 2 respectivamente. Além da precisão satisfatória obtida, segundo o desvio padrão encontrado como observa-se na tabela 2, e também já detectado pelo coeficiente de variância demonstrado na tabela 1. Bem como, evidencia a excelente repetitividade do método validado.

No entanto conforme, a tabela 1, o limite de detecção e quantificação encontrados para o nitrito e o LQM do nitrato apresentaram-se superiores a faixa de trabalho definida na construção da curva de ambos os analitos. Desse modo, é imprescindível a leitura de novas replicatas do branco, ou, se necessário a ampliação da faixa de trabalho, e conseqüentemente da linearidade da curva, de ambos os analitos. Sabe-se que para validação de método, é necessário o cumprimento de diversos parâmetros, como exatidão e precisão, sendo assim a inadequação dos parâmetros em questão (LDM e LQM) não invalidam a contribuição científica do presente estudo, bem como sua aplicabilidade na rotina laboratorial.

Tabela 2: Percentual de Recuperação obtida nas 10 replicatas analisadas para Nitrito e Nitrato de Sódio.

Quantidade		Recuperação (%)	DPR ^b
Adição padrão (%)	Valor Encontrado ± DP ^a (%)		
100 NaNO ₂	173 ± 8,23	105,5	4,8
100 NaNO ₃	973,1 ± 25,3	100,8	2,6

^a Desvio padrão

^b Desvio padrão relativo

Os resultados encontrados para a avaliação da linearidade estão demonstrados no Gráfico 1 e 2.

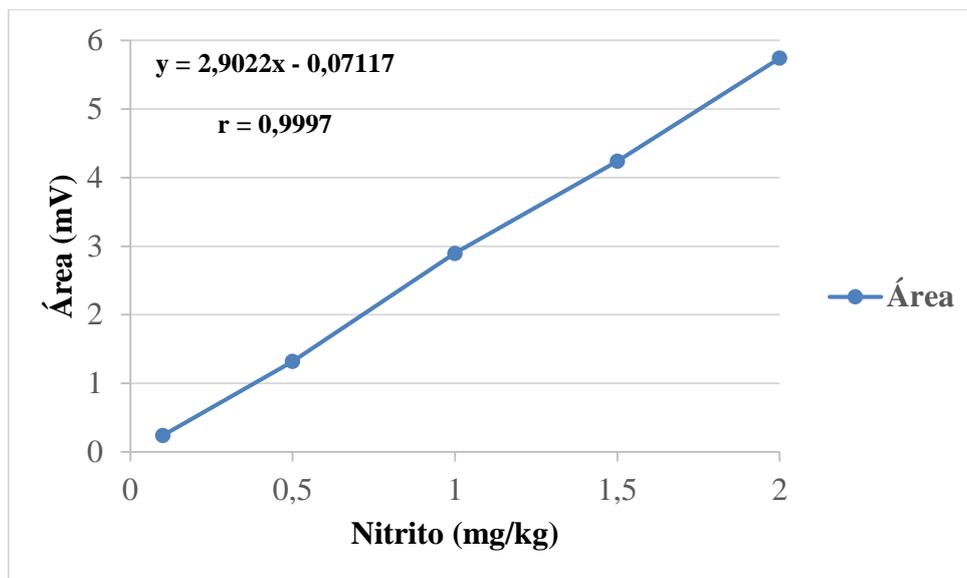


Gráfico 1: Curva analítica de Nitrito de Sódio.

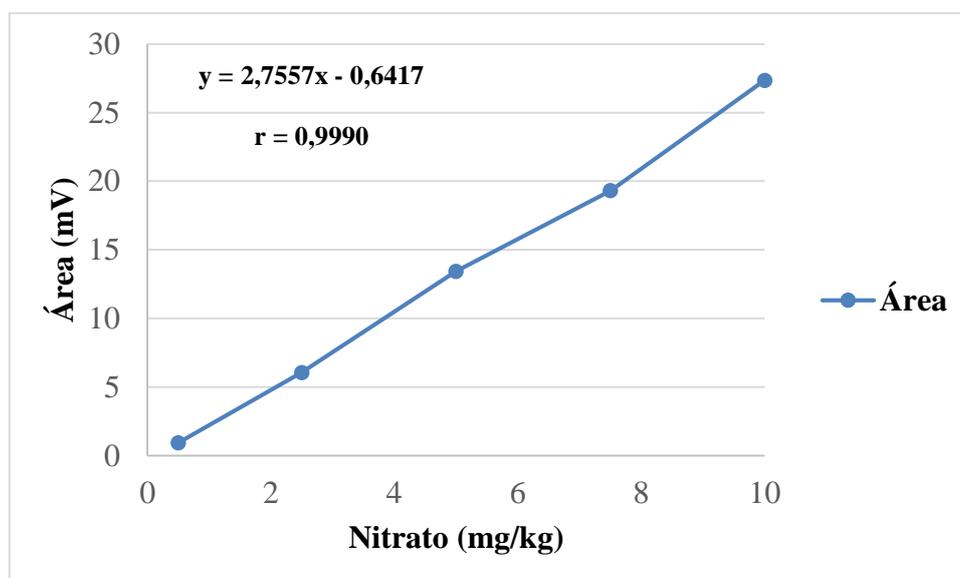


Gráfico 2: Curva analítica de Nitrato de Sódio.

O coeficiente de correlação linear foi igual a 0,9997 e 0,9990 para nitrito e nitrato, respectivamente, superior ao determinado pela AOAC de $> 0,995$, o que garante a capacidade do método de obter resultado proporcional à concentração dos analitos das amostras.

O cromatograma apresentado na figura 2 demonstra a leitura dos analitos na curva analítica calibrada, onde os picos são nitidamente visualizáveis, livres de interferentes, de fácil

detecção, afirmando mais uma vez a confiabilidade do método desenvolvido e validado, conforme cromatograma da leitura dos padrões, de acordo com a figura 3.



Figura 2: Cromatograma da amostra de salsicha com adição de padrão de nitrito e nitrato de sódio.

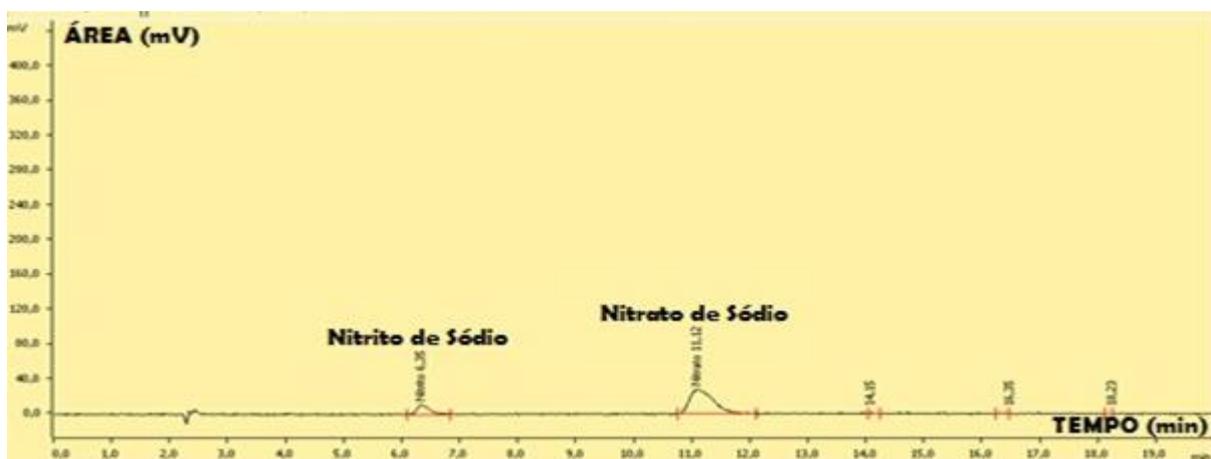


Figura 3: Cromatograma obtido das leituras dos padrões de nitrito e nitrato de sódio.

Os resultados obtidos referentes à adição de padrão de nitrito e nitrato em amostra de salsicha estão indicados na tabela 2, e nesta pode-se constatar a boa recuperação das amostras, e de níveis satisfatórios de reprodutibilidade e repetibilidade. Como viés do método também nota-se a exclusão de dois resultados ao total que apresentaram-se distante da faixa de exatidão trabalhada de 90 a 110%, para nitrito e nitrato respectivamente, além da perda do último analito na leitura do nitrato.

Diversos estudos no campo da cromatografia também têm sido realizados a fim de demonstrar a eficiência de tecnologias alternativas na detecção de íons de nitrito e nitrato de sódio em produtos cárneos. Tendo em vista a relevância do aprimoramento de técnicas na detecção desses íons, esses métodos têm sido desenvolvidos e validados para aplicabilidade na rotina analítica. Em um desses estudos constatou-se uma excelente recuperação da análise de nitrato em produtos cárneos através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), de 98,02% a 98,99%, e um excelente coeficiente de correlação ($r=0,997$), ambos inferiores ao estudo em questão que foi de 100,8% e $r=0,999$, respectivamente. Ainda assim, o método de HPLC desenvolvido obteve uma excelente recuperação, demonstrando-se adequado na determinação de nitratos em amostras de carnes¹⁵.

Quanto á aplicabilidade analítica da técnica de Cromatografia de Íons há uma ampla diversidade de estudos científicos em amostras de água, onde concentrações de analitos, como, amônio, nitrito e nitrato entre outros elementos são detectados em águas salinas e salobras de modo rápida e eficaz, respeitando os requisitos de reprodutibilidade e sensibilidade exigidos em técnicas analíticas, em especial, quando não convencionais¹⁶.

A literatura vem contribuindo para o avanço e aplicabilidade de experimentos alternativos, desde que validados, que substituam técnicas convencionais, a fim de dinamizar a rotina laboratorial. Como a determinação de amônia em rochas sedimentares por Cromatografia de Íons, em substituição ao método clássico de *Kjeldahl*, que assim como esse estudo demonstrou-se um método simples, sensível e mais rápido do que o método convencional¹⁷.

Outras técnicas alternativas na determinação de nitrito e nitrato de sódio em alimentos como salsicha também tem sido desenvolvidas como a técnica de eletroferese capilar (CE), que se mostrou eficiente na separação, identificação e quantificação desses analitos. Apesar de necessitar de ajustes na extração a fim de aperfeiçoar os limites de detecção, de acordo com a conclusão do experimento¹⁸.

4. CONCLUSÃO

O interesse da comunidade científica á cerca dos benefícios e implicações á saúde do uso de conservadores alimentícios como o nitrito e nitrato remontam ao século passado, muitos desses e muito dos estudos atuais quantificam esses íons através da técnica espectrofotométrica UV-Vis, o que torna a pesquisa aqui demonstrada inovadora, no sentido de complementar e

aperfeiçoar o método de quantificação desses aditivos, propiciando automação e otimização do procedimento analítico Além de dinamizar o processo analítico, agilizando a rotina laboratorial e conseqüentemente a obtenção de resultados com maior rapidez para tomada de decisão pela indústria e órgãos fiscalizadores. E, também redução dos resíduos gerados quando comparado com o método tradicional espectrofotométrico.

O método analítico via cromatografia mostrou-se com repetitividade adequada na determinação dos teores de nitrito e nitrato em amostras de salsicha. Além disso, apresentaram exatidão, precisão e linearidade satisfatórias. Desse modo, o método desenvolvido e validado apresentou-se eficiente na determinação simultânea de nitrito e nitrato de sódio em salsicha por Cromatografia de Íons. Ainda assim, o mesmo requer aprimoramento no momento da extração a fim de eliminar possíveis perdas dos analitos analisados.

5. REFERÊNCIAS

1. Conte, FA. Efeitos do consumo de aditivos químicos alimentares na saúde humana. *Revista Espaço Acadêmico*, n°181, 06/2016.
2. Polônio, MLT.; Peres, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos a saúde: desafios para a saúde pública brasileira. Rio de Janeiro. *Cad. Saúde Pública* 08/2009.
3. Scheibler JR, *et al.* Análise dos teores de nitritos e nitratos de embutidos produzidos em municípios do Vale do Taquari – RS. *Revista Destaques Acadêmicos*, vol.5, n°4, 2013.
4. Soares, GM; Ferreira, EC; Marchioro, A.A. Quantificação de nitrito e nitrato em diferentes produtos embutidos de carne, como bacon, mortadela, salsicha e linguiça. *SaBios: Rev. Saúde e Biologia* out/dez 2014; vol. 9, n° 3, p. 85-93 apud Pardi, MC et al. In: *Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne: Tecnologia da Carne e de subprodutos*. Goiânia: UFG, 2001.
5. BRASIL. Portaria n° 540, SVS/MS, de 27 de outubro de 1997. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária.

6. Nitrini SMOO, *et al.* Determinação de nitritos e nitratos e linguiças comercializadas na região de Bragança Paulista. *LECTA*, v.18, n°1, p. 91-96, 2000.
7. BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Básica. *Módulo 11: Alimentação saudável e sustentável*. Brasília: Universidade de Brasília, 2007.
8. Iamarino LZ, *et al.* Nitritos e Nitratos em produtos cárneos enlatados e/ou embutidos. *Revista Gestão em Foco*, edição n°07, 2015.
9. BRASIL. Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos, e seus Limites Máximos de Uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos. Portaria n°. 1004, de 11 de dezembro de 1998. Brasília: Ministério da Saúde, 1998.
10. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, p. 509-510, 1985.
11. Mendham, J; Barnes, JD; Denney, RC; Thomas, MJK. *Vogel: Análise Química Quantitativa*. 6° edição, 2002.
12. INMETRO (Instituto Nacional De Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). *Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos*. DOQ-CGCRE-008 Revisão 04. Jun. 2011.
13. Cecchi, HM. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. 2° edição, editora UNICAMP, 2003.
14. AOAC International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis. *Journal of AOAC International*, vol.85, n°05, 2002.
15. Siddiqui MR; Wabaidur SM; Othman ZAAL; Rafiquee MZA. Rapid and sensitive method for analysis of nitrate in meat samles using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 151, p. 861–866, 2015.

16. Monteiro LR *et al.* Caracterização iônica de águas salinas e salobras por cromatografia de íons. Oceanografia e Políticas Públicas. Santos, SP, Brasil, 2011.
17. Pontes FVM *et al.* Application of a Purge-and-Trap System for Fixed-NH₄⁺ Determination by Matrix Interference Free Ion Chromatography in Oil Reservoir Rocks. J. Braz. Chem. Soc., vol. 21, n° 6, 1126-1128, 2010.
18. Petrucci, JFS; Pereira, EA; Cardoso, AA. Determinação de Nitrito e Nitrato em Alimentos por Eletroferese Capilar. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). *Anuais: 31° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2008.