

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

**EVOLUCIÓN DE LAS SALES NITRIFICANTES EN EL
PROCESO DE ELABORACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS
SALCHICHAS TIPO FRANKFURT**

TESIS DOCTORAL

M^a LUISA PÉREZ RODRÍGUEZ

MADRID, 1992

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA II
BROMATOLOGÍA Y TÉCNICAS ANALÍTICAS FARMACEÚTICAS

**"EVOLUCIÓN DE LAS SALES NITRIFICANTES EN EL PROCESO DE
ELABORACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS SALCHICHAS TIPO FRANKFURT"**

Tesis Doctoral que presenta **D^a M^a Luisa Pérez Rodríguez,**
para optar al Grado de Doctor en Farmacia.

DIRECTORAS:

Dra. Nieves Bosch Bosch
Dra. Mercedes García Mata
Profesoras Titulares

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

MADRID, 1992.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA II
(Bromatología y Técnicas Analíticas Farmacéuticas)

Ma ESPERANZA TORIJA ISASA, CATEDRATICA Y DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA Y TECNICAS ANALITICAS FARMACEUTICAS (NUTRICION Y BROMATOLOGIA II) DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

CERTIFICA: Que el presente trabajo titulado "Evolución de las sales nitrificantes en el proceso de elaboración y conservación de las salchichas tipo Frankfurt" se ha realizado en este Departamento bajo la dirección de la Dra. Da-Nieves Bosch Bosch y Dra. Da Mercedes García Mata y constituye la Memoria que presenta la Licenciada Da Ma Luisa Pérez Rodríguez para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos firmo el presente certificado en Madrid a tres de noviembre de mil novecientos noventa y dos.



DEPARTAMENTO
DE BROMATOLOGIA

Esperanza Torija



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA II
(Bromatología y Técnicas Analíticas Farmacéuticas)

NIEVES BOSCH BOSCH Y MERCEDES GARCIA MATA, PROFESORAS
TITULARES DEL DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA Y TECNICAS
ANALITICAS FARMACEUTICAS (NUTRICION Y BROMATOLOGIA II)
DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLU--
TENSE DE MADRID.

CERTIFICAN: Que el presente trabajo titulado: "Evolu-
ción de las sales nitrificantes en el pro
ceso de elaboración y conservación de las
salchichas tipo Frankfurt" se ha realizado
en este Departamento bajo nuestra direc-
ción y constituye la Memoria que presenta
la Licenciada **M^a Luisa Pérez Rodríguez** pa-
ra optar al Grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos firmamos el
presente certificado en Madrid, a tres de Noviembre -
de mil novecientos noventa y dos.



Deseo expresar mi más profundo agradecimiento :

-A las Dras. Dña. Nieves Bosch Bosch y Dña. Mercedes García Mata por la inestimable dirección y ayuda que me han prestado en todo momento.

-A la Dra. Esperanza Torija Isasa, Directora del Departamento de Nutrición y Bromatología II, por su interés y valiosos consejos.

-A todo el personal de la Escuela de la Carne de Madrid por su colaboración en la preparación de los sistemas modelo que se han realizado en sus instalaciones.

-A D. Jorge Zapico por su asesoramiento en el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos en este trabajo.

-A mis hermanos Marcelo y Marga que han contribuido en la informatización de la Memoria y me han alentado en todo momento, así como a Fernando Altolaquirre y a Juan Contreras por la colaboración técnica prestada.

-A todos mis compañeros del Departamento y a todos los que, con su ayuda, han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral.

A Jose y mi familia

ÍNDICE

	PÁGINA
1.-INTRODUCCIÓN.....	2
2.-PARTE GENERAL.....	7
2.1.-NITRATOS Y NITRITOS.....	7
2.1.1.- <u>Transformación del nitrato en nitrito</u>	10
2.1.2.- <u>Exposición humana a los nitratos y</u> <u>nitritos</u>	12
2.1.2.1.- <u>Metabolismo y transporte en fluidos</u> <u>biológicos</u>	15
2.1.2.1.1.- <u>Química de la nitrosación</u>	17
2.1.2.1.2.- <u>Formación de compuestos N-nitrosos</u> <u>"in vivo"</u>	21
2.1.2.1.3.- <u>Nitrosaminas y cáncer humano</u>	25
2.2.-HISTORIA DEL CURADO.....	30
2.3.-PAPEL DE LAS SALES NITRIFICANTES EN EL CURADO DE LAS CARNES.....	38
2.3.1.- <u>Condiciones de utilización</u>	39
2.3.2.- <u>Formación del color</u>	42
2.3.2.1.- <u>Mioglobina</u>	43
2.3.2.2.- <u>Mecanismo de reacción</u>	47
2.3.3.- <u>Formación del aroma</u>	51
2.3.4.- <u>Acción conservadora</u>	53
2.3.5.- <u>Efecto antioxidante</u>	60

<u>2.3.6.-Reacciones del nitrito con los constituyentes</u>	
<u>de la carne.....</u>	61
2.3.6.1.-Reacciones con proteínas.....	62
2.3.6.2.-Reacciones con el tejido adiposo.....	66
2.3.6.3.-Reacciones con glúcidos.....	68
2.3.6.4.-Reacciones con iones metálicos.....	69
2.3.6.5.-Formación de nitrato a partir de nitrito.	71
2.3.6.6.-Formación de gas.....	73
2.3.6.7.-Catálisis e inhibición de las reacciones.	74
2.4.-PRODUCTOS CÁRNICOS TRATADOS POR EL CALOR	79
<u>2.4.1.-Tecnología de la elaboración de los embutidos</u>	
<u>escaldados.....</u>	82
2.4.1.1.-Operación de picado y mezclado.....	82
2.4.1.2.-Embutido.....	86
2.4.1.3.-Tratamiento por el calor.....	88
2.4.1.4.-Ahumado.....	91
<u>2.4.1.4.1.-Tratamiento por los aromas de humo o</u>	
<u>condensados.....</u>	93
<u>2.4.2.-Materias primas o componentes de las</u>	
<u>salchichas tipo Frankfurt.....</u>	97
2.4.2.1.-Carne.....	98
2.4.2.2.-Grasa.....	100
2.4.2.3.-Agua.....	101
2.4.2.4.-Sal.....	103
2.4.2.5.-Especias.....	107
2.4.2.6.-Coadyuvantes del procesado con la cutter:	
Polifosfatos.....	110
2.4.2.7.-Emulgentes.....	115

2.4.2.8.-Espesantes y gelificantes.....	118
2.4.2.9.-Modificadores organolépticos.....	120
2.4.2.10.-Colorantes.....	121
2.4.2.11.-Coadyuvantes del curado.....	122
2.4.2.11.1.- <u>Ácido ascórbico y ascorbato de sodio</u>	123
2.4.2.11.2.- <u>Azúcares</u>	126
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	128
3.1.-DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	128
3.1.1.- <u>Salchichas comerciales</u>	128
3.1.2.- <u>Salchichas experimentales</u>	132
3.1.2.1.-Composición.....	134
3.1.2.2.-Proceso de elaboración.....	135
3.2.-MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	138
3.2.1.- <u>Nitrito y nitrato</u>	139
3.2.1.1.-Toma de muestra y preparación de la misma.....	139
3.2.1.2.-Extracción.....	142
3.2.1.3.-Clarificación.....	142
3.2.1.4.-Determinación de nitrito.....	143
3.2.1.5.-Determinación de nitrato.....	144
3.2.1.6.-Control del poder reductor del cadmio metálico.....	146
3.2.1.7.-Rectas de calibración espectrofotométrica.....	147
3.2.1.7.1.- <u>Recta de calibrado para nitrito sódico</u>	148

3.2.1.7.2.- <u>Recta de calibrado para nitrato</u> <u>potásico reducido</u>	150
3.2.1.8.- <u>Recuperación de nitrito y de nitrato</u> <u>en presencia de extracto de humo</u>	153
3.2.2.- <u>pH</u>	154
3.2.3.- <u>Humedad</u>	155
3.2.4.- <u>Grasa</u>	155
3.2.5.- <u>Proteína</u>	156
3.2.6.- <u>Cenizas</u>	156
3.2.7.- <u>Tratamiento estadístico</u>	157
3.3.- <u>APÉNDICE DE REACTIVOS Y MATERIAL</u>	158
3.3.1.- <u>Reactivos</u>	158
3.3.2.- <u>Material</u>	161
4.- <u>RESULTADOS</u>	164
4.1.- <u>TABLAS</u>	164
4.2.- <u>GRÁFICAS</u>	166
5.- <u>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</u>	295
5.1.- <u>COMPOSICIÓN DE LAS SALCHICHAS</u>	295
5.1.1.- <u>Salchichas comerciales</u>	295
5.1.2.- <u>Salchichas experimentales</u>	298
5.2.- <u>VALORES DE PH</u>	302
5.2.1.- <u>Salchichas comerciales</u>	302
5.2.2.- <u>Salchichas experimentales</u>	304
5.3.- <u>NIVELES RESIDUALES DE SALES DE CURADO</u>	306
5.3.1.- <u>Salchichas comerciales</u>	307
5.3.1.1.- <u>Con nitrito sódico (E-250)</u>	308

5.3.1.2.-Con nitrito sódico (E-250) y nitrato potásico (E-252).....	312
5.3.2.- <u>Salchichas experimentales</u>	315
5.3.2.1.-Formulaciones control.....	316
5.3.2.2.-Formulaciones con nitrito sódico.....	319
5.3.2.3.-Formulaciones con nitrato potásico.....	326
5.3.2.4.-Formulaciones con nitrito sódico y con nitrato potásico.....	330
5.3.3.- <u>Tratamiento estadístico</u>	334
5.3.3.1.-Evolución de los niveles residuales de sales nitrificantes.....	335
5.3.3.2.-Comparación entre el comportamiento individual del nitrito y nitrato y su evolución conjunta.....	338
5.3.3.3.-Comparación de las salchichas comerciales con las experimentales.....	340
6.-CONCLUSIONES.....	344
7.-BIBLIOGRAFÍA.....	350

1.-INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

La denominación de "salchichas tipo Frankfurt" se debe a que su descubrimiento, o puesta en práctica, fue realizado por un artesano chacinero en una localidad situada a unos 100 kilómetros de la ciudad alemana de Frankfurt (Amo Visier, 1980). Pese a no tratarse de un producto nacional, su consumo ha proliferado en España, así como en el resto del mundo, de una manera extraordinaria.

Como todo producto cárnico envasado, ofrece al fabricante, al vendedor y especialmente al consumidor una serie de ventajas interesantes. Entre otras, su fácil transporte, almacenamiento, conservación y preparación.

El ritmo de vida de la sociedad actual, caracterizada por una gradual desaparición de la tradicional ama de casa, obliga a un distanciamiento entre las compras para el hogar y a incorporar productos de fácil conservación y preparación, observándose un aumento en el consumo de productos elaborados o semielaborados que reducen el

tiempo en la preparación culinaria (Carrasco, 1992).

Las carnes transformadas suponen algo más de la cuarta parte del consumo total de carne de los hogares españoles. Entre ellas, son los productos cocidos los que tienen mayor importancia, con el 48,5% del consumo total, del cual el 5,8% corresponde a las salchichas tipo Frankfurt (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1991). El hecho de que la Secretaría General de Alimentación las considere, a efectos de estudios de consumo, como un grupo especial, dentro de los productos cárnicos transformados, es ya indicativo de su importancia en la alimentación de los españoles.

La elección y compra de los productos cárnicos se ve influenciada, en gran medida, por la impresión que provoca su color. La mayoría poseen un color rojizo debido al tratamiento con las sales nitrificantes del curado (nitritos y nitratos), cuyo efecto se extiende a la formación de un aroma típico, a la prolongación de la vida comercial y a la protección de las grasas frente a la oxidación.

No obstante, el interés existente en el papel del nitrito en las carnes curadas radica, principalmente, en un deseo de reducir el nivel de éste en la dieta, que se ha visto reflejado, en los últimos años, en la

modificación de las disposiciones legales para disminuir y limitar las sustancias de curado en los productos cárnicos.

Dicho deseo surgió motivado por el conocimiento de las implicaciones toxicológicas que conlleva la elevada reactividad química del nitrito. Además de su participación en la formación de metahemoglobina, en niños de corta edad, el nitrito se ha relacionado con la aparición de cáncer, a través de la formación de nitrosaminas tanto en el alimento como en el organismo humano.

No es extraño, por tanto, que una importante representación de la comunidad científica internacional haya centrado su atención en este problema y su esfuerzo se encuentre plasmado en la abundante bibliografía existente sobre el tema. En ella se describen numerosas teorías que intentan explicar el destino del nitrito en el medio cárnico, si bien, hasta el momento, ninguna ha sido concluyente.

Por todo ello, se consideró que sería interesante contribuir en esta línea de investigación, estudiando el comportamiento de las sales de curado durante la elaboración y posterior conservación de las salchichas tipo Frankfurt. Hemos seleccionado este producto cárnico,

tanto por su gran difusión en el mercado nacional, como por la posibilidad de reproducir, en planta piloto, su proceso de fabricación industrial.

En el desarrollo de este trabajo nos hemos planteado los siguientes objetivos:

1º/ Estudiar la influencia de la tecnología de elaboración de las salchichas tipo Frankfurt sobre la concentración de sales de curado adicionada inicialmente.

2º/ Estudiar la evolución de los niveles residuales de nitrito y nitrato en salchichas tipo Frankfurt comerciales, durante el periodo de vida útil señalado por los fabricantes.

3º/ Comparar dicha evolución con la experimentada por los sistemas modelo, elaborados en planta piloto, con diferentes concentraciones de aditivos nitrificantes.

4º/ Definir mediante una ecuación matemática el nivel residual de sales de curado en función del tiempo de conservación de estos productos cárnicos.

5º/ Comparar el comportamiento individual del nitrito y del nitrato en los procesos de curado con el que experimentan en la nitrificación mixta.

2.-PARTE GENERAL

2.- PARTE GENERAL

2.1.- NITRATOS Y NITRITOS

Frecuentemente se tiende a unificar las denominaciones nitritos y nitratos, aunque constituyen dos clases de compuestos de naturaleza química diferente. Como ocurre con otras muchas moléculas de configuraciones químicas semejantes, los nitratos y nitritos presentan propiedades biológicas totalmente distintas. Quizá la tendencia a reagrupar ambos compuestos sea debida a que el nitrato, en determinadas condiciones, puede transformarse en nitrito y viceversa.

Los nitratos son muy estables en un amplio rango de pH, en cambio, los nitritos son muy reactivos. El ión nitrito, que es la parte básica del ácido nitroso (HNO_2), con un pKa de 3,36, puede reaccionar con numerosos grupos funcionales de origen alimentario o endógeno; es también un agente reductor, solamente oxidable por oxidantes químicos o por los sistemas enzimáticos adecuados, al

mismo tiempo que un agente oxidante de numerosos sustratos reducidos (Saint-Blanquat, 1980). Estas diferentes posibilidades explican la complejidad química de estos compuestos y, sobre todo, su reactividad en los diversos medios biológicos con implicaciones tanto prácticas (desde el punto de vista tecnológico), como toxicológicas, que analizaremos más adelante.

El nitrato se encuentra ampliamente extendido en la Naturaleza. Probablemente, más del 90% del nitrógeno absorbido por las plantas es en forma de este ión (Christy y col., 1973). Su presencia en el suelo es una consecuencia natural de la bioquímica del nitrógeno, si bien, el empleo masivo, a nivel mundial, de abonos nitrogenados, supera la capacidad de las plantas para utilizarlo y ocasiona una acumulación de nitrato. Fritsch y Saint Blanquat (1990) hablan incluso de una "invasión de nitratos" en los suelos y en las capas freáticas.

Sin embargo, la presencia del nitrito en los alimentos es poco común, salvo excepciones en las que su origen se encuentra en la reducción bacteriana del nitrato. El motivo de su escasez puede atribuirse, nuevamente, a su inestabilidad química, particularmente a valores de pH ácidos, a los que puede transformarse en nitrato y óxido nitroso y/o reaccionar con muchos componentes de los alimentos incluyendo aminas, fenoles y

tioles. Los productos de reacción pueden ser nitrógeno elemental a partir de aminas primarias, N-nitroso compuestos a partir de aminas secundarias y terciarias, C-nitroso y -nitrofenoles a partir del fenol y S-nitrosotioles a partir del tiol.

Existe también un origen intencionado tanto del nitrito como del nitrato en los alimentos. Ambos se emplean como aditivos alimentarios, esencialmente para la conservación de productos de charcutería, en forma de sales sódicas y potásicas:

-nitrato potásico	E-252
-nitrato sódico	E-251
-nitrito potásico	E-249
-nitrito sódico	E-250

Las normas de identidad y pureza de estos aditivos se encuentran recogidas en la legislación española (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1982).

De hecho sólo los nitritos son activos; se utilizan nitratos como sustrato inicial, pero, en el medio alimentario, se produce una reducción parcial a nitritos. El curado con nitrato depende necesariamente de determinadas especies de bacterias que tienen la facultad de producir esta reacción (bacterias reductoras del

nitrato).

2.1.1.- Transformación del nitrato en nitrito

El nitrato, en el medio alimentario, es muy estable químicamente en un amplio rango de pH. Sin embargo, puede ser reducido a nitrito en contacto con metales como ocurre durante el cocinado de alimentos en utensilios de aluminio (WHO, 1977).

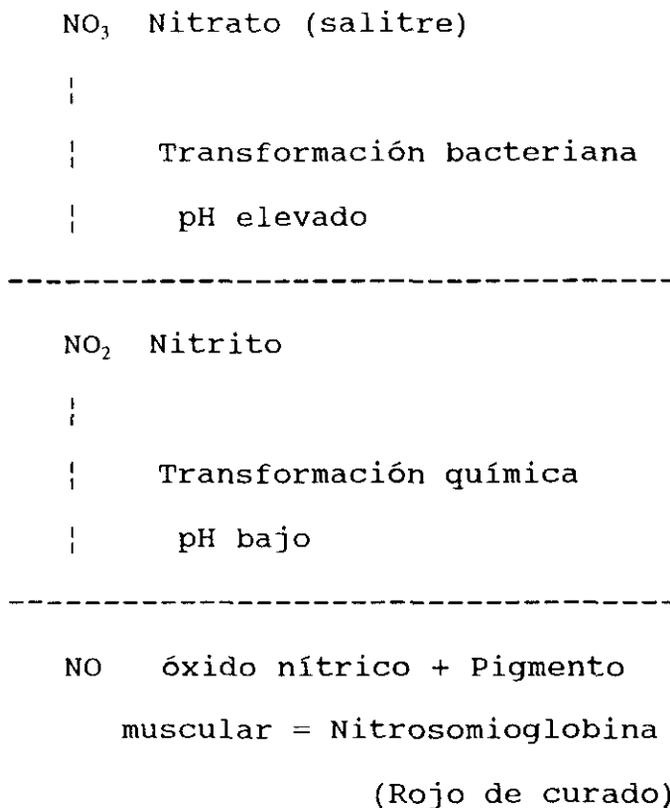
Muchas plantas y microorganismos contienen sistemas enzimáticos capaces de utilizar nitrato con producción de nitrito, óxidos de nitrógeno, nitrógeno e incluso amonio. Recientemente, ha surgido la evidencia de la presencia de sistemas enzimáticos nitrato-reductasa en algunos tejidos de mamíferos, como partes del tracto gastrointestinal (Ward y col., 1986). Sin embargo, aún no se ha resuelto si la carne fresca en forma de músculo esquelético, es capaz o no de reducir el nitrato, pero parece poco probable si se considera que sus constituyentes, mioglobina y hemoglobina, no se convierten en sus formas nitrosil durante el almacenamiento, como hubiese ocurrido si se hubiera formado nitrito. Por el contrario, el almacenamiento de espinacas y otros vegetales, en presencia de bacterias, promueve la rápida reducción de, al menos, parte de su contenido de nitrato a nitrito

(Phillips, 1968; Lin y Yen, 1980).

Cuando se utiliza el nitrato como aditivo, se produce su reducción a nitrito por las nitrato-reductasas de origen microbiano. La carne contiene naturalmente enterobacterias, vibrion, micrococos y lactobacilos capaces de producir nitrato-reductasa. Además, durante el procesado para el curado de la carne se producen frecuentemente contaminaciones bacterianas que incrementan esta capacidad. La conversión ocurre más rápidamente en bacon no empaquetado que en la variedad envasada al vacío (Cavett, 1962), una diferencia que ha sido atribuída, sorprendentemente, a la baja actividad reductora de las bacterias anaerobias.

En general, la reducción de los nitratos a nitritos es lenta. Necesita una temperatura de 4 a 6 °C, un medio micro-aerófilo y la presencia de pequeñas cantidades de azúcares. La mayor parte de las especies bacterianas que realizan esta función muestran un suficiente metabolismo sólomente a un elevado pH. Sin embargo, el pH óptimo para una suficiente degradación del nitrito a óxido nitroso, participante en la reacción de la mioglobina, se encuentra, en productos cárnicos, por debajo de 5,7 (Wirth, 1992).

Esquema nº 1.- Dependencia de la degradación del nitrato y nitrito del pH (Según Wirth, 1992).



Los nitratos, una vez transformados en nitritos, se comportan como tales.

2.1.2.- Exposición humana a los nitratos y nitritos

Como componentes fundamentales del ciclo global del nitrógeno, los nitratos y nitritos se encuentran en el ambiente. La mayor fuente de exposición humana al nitrato

es la ingestión oral del ión preformado (Hartman, 1982). Las principales contribuciones proceden de los vegetales y del agua potable, y en menor proporción de las carnes curadas. Aunque los niveles permitidos de nitrato y de nitrito adicionados a la carne han disminuído en los últimos años, otros factores han conducido a un incremento neto de exposición al nitrato para muchas poblaciones. Por ejemplo, el aumento de emisiones de óxidos de nitrógeno a partir de la combustión de carburantes y su deposición como un componente de la lluvia ácida (Brimblecombe y Stedman, 1982) y el incremento de la utilización de fertilizantes nitrogenados (White, 1983).

Aparte de las fuentes exógenas, varios estudios recientes han señalado, como otra fuente de exposición al nitrato, la biosíntesis endógena de nitrato en mamíferos a partir de la L-arginina (Marletta, 1988; Leaf y col., 1990).

Se ha postulado que la exposición a nitrato y nitrito posee varios efectos perjudiciales para la salud. Aunque Hartman (1982) ha sugerido algunos efectos directos del nitrato "per se", no se ha probado acción toxicológica a los niveles normales de exposición. Los principales efectos del nitrato parecen ser mediados indirectamente a través de sus metabolitos endógenos, nitrito y compuestos N-nitrosos, la mayoría de los cuales poseen conocidos y

graves efectos tóxicos.

Los niveles ingeridos de nitrito y compuestos N-nitrosos a partir de fuentes alimentarias exógenas son, habitualmente, muy bajos. Sin embargo, los niveles ingeridos de su precursor, nitrato, y los niveles de nitrito y compuestos N-nitrosos formados endógenamente en algunos fluidos del organismo humano son mucho mayores.

Mientras la exposición al nitrito, por sí mismo, tanto mediante ingestión como mediante formación endógena dentro del organismo tiene importantes consecuencias para la salud, en relación a la formación de metahemoglobina, su más controvertido riesgo, el cáncer, se relaciona con su papel como precursor de nitrosaminas.

Son numerosos los factores que determinan los niveles de nitrito endógeno y la formación de compuestos N-nitrosos a partir del nitrato de la dieta, algunos relacionados con los efectos de estados de enfermedad preexistentes (p.ej. aclorhidria gástrica, infección del tracto urinario) , algunos con la actividad metabólica de las bacterias en ciertos lugares del organismo (p.ej. el estómago, boca y vejiga urinaria) y otros a procesos básicos de los mamíferos (recirculación del nitrato salivar).

La complejidad de esta relación entre la exposición al nitrato y el potencial para causar enfermedad se ve además incrementada en muchas ocasiones en las que su metabolismo es sólo uno de los muchos factores etiológicos sospechosos. Un ejemplo extremo es el cáncer gástrico que, aunque asociado en algunos estudios con la exposición elevada a nitratos, es una enfermedad con una etiología muy compleja. En ella se piensa que son importantes una multitud de factores ambientales irritantes (NaCl y aspirina), déficits nutricionales (proteínas, vitaminas, antioxidantes) y el propio huésped (reflujo biliar, pérdida de acidez estomacal, infección pilórica por Helicobacter), algunos de los cuales son bastante independientes del potencial del nitrato para ser un precursor del nitrito y de los compuestos N-nitroso genotóxicos (Preussmann y Tricker, 1988).

2.1.2.1.- Metabolismo y transporte en fluidos biológicos.

Después de su ingestión, el nitrato pasa de la boca al estómago y después se absorbe muy rápidamente a nivel del intestino delgado. Una cierta fracción, difícil de estimar, se recicla a nivel enterohepático y, sobre todo, por las glándulas salivares (Bartholomew y Hill, 1984). Finalmente, una proporción significativa del nitrato

ingerido (55-65%) se excreta por vía urinaria (Packer y col., 1989).

Es decir, el nitrato ingerido y, presumiblemente, el formado endógenamente se distribuye en mayor o menor medida por los diferentes compartimentos del organismo. En varios de ellos, la infección bacteriana puede dar lugar a la conversión en nitrito por acción de nitrato-reductasas bacterianas. Por tanto, en la boca, el estómago aclorhídrico y la vejiga urinaria infectada, el metabolismo bacteriano del nitrato proporciona una importante dosis de nitrito, ya que los niveles de esta sal procedentes de la dieta son extremadamente bajos, comparándolos con los encontrados en aquellos lugares colonizados por bacterias (Packer y Leach, 1991).

Las implicaciones sanitarias de esta transformación tienen especial interés cuando el nitrito se forma en el estómago y parte superior del intestino delgado de los niños, aumentando el riesgo de metahemoglobinemia, como ya se ha indicado anteriormente. Otro riesgo del metabolismo del nitrato en el organismo es la formación de compuestos N-nitrosos. La hipótesis de que la exposición al nitrato podría estar implicada en la aparición de cáncer humano surge del conocimiento de que los compuestos N-nitrosos forman una familia de sustancias altamente cancerígenas que pueden originarse "in vivo" en el hombre así como en

alimentos tratados con nitrito o nitrato. Para Hill (1991) la magnitud del riesgo potencial sólo puede apreciarse después de revisar la química, la formación y la carcinogenicidad de este tipo de compuestos, mientras que la epidemiología es necesaria para determinar la magnitud del riesgo real.

A continuación realizaremos una breve revisión de los puntos señalados por dicho autor.

2.1.2.1.1.- Química de la nitrosación

De forma general, la síntesis química de los compuestos N-nitrosados se resume en la acción del ácido nitroso, sobre un grupo adecuado que presenta un nitrógeno secundario. Si dicho grupo es una amina secundaria, el producto es una N-nitrosamina; si se trata de una amida, da lugar a N-nitrosamidas; la urea origina N-nitrosoureas, etc.

El pH óptimo de la reacción, así como la estabilidad del producto, varía con el sustrato :

Esquema nº 2.- Valores de pH óptimo de N-nitrosación para diferentes sustratos (Según Hill, 1991).

Compuesto nitrogenado	pH óptimo de N-nitrosación
Amina secundaria	3,0-3,5
Amina terciaria	3,0-3,4
Sales de amonio cuaternario	5,6
Aminoácidos (prolina)	2,5
Amidas, alquilureas, etc.	<2

La toxicidad de las nitrosaminas fue reconocida por primera vez en 1937 por Freund, quien señaló dos casos de envenenamiento accidental por inhalación de dimetilnitrosamina. Sin embargo, la formación de este tipo de compuestos era de escaso interés hasta que Magee y Barnes (1956) publicaron que la dimetilnitrosamina era un potente hepatocarcinógeno en ratas. Esta publicación marcó el comienzo de un interés mundial en la carcinogénesis de los compuestos N-nitrosos. Desde entonces, se han publicado numerosos trabajos sobre las relaciones estructura-actividad carcinogénica de las N-nitrosaminas, que han mostrado que un gran número de estos compuestos son cancerígenos (Magee y col., 1976). Además, los

compuestos probaron ser carcinógenos organotrópicos, dependiendo la localización del tumor, de la naturaleza de la amina y del animal objeto del test.

Mientras las N-nitrosaminas son específicas del "órgano-diana" y originan tumores en lugares alejados del de su introducción en el organismo, las N-nitrosamidas y N-nitrosoureas actúan localmente y causan tumores sólo en el lugar de aplicación. Las N-nitrosaminas no actúan como mutágenos directos sino que necesitan activación mediante enzimas microsomales, en el ensayo de mutagénesis en Salmonella; también necesitan ser activados en el organismo, pero este proceso, que se relaciona con el organotropismo de estos compuestos, es mal entendido. En contraste, las N-nitrosamidas o las N-nitrosoureas son mutágenos de acción directa que no requieren activación, ya que se hidrolizan fácilmente dando intermediarios activos, y por ello son capaces de actuar en el lugar de introducción en el organismo.

Existe evidencia de que tanto las nitrosaminas como las nitrosamidas son transformadas, unas mediante enzimas y las otras por hidrólisis, en metabolitos activos similares. Estos serían agentes alquilantes (RN_2^+ ó $>C^+$) que atacan posiciones determinadas de los componentes macromoleculares de los tejidos (Iglesias y col., 1984).

La química de los compuestos N-nitrosos ha sido revisada recientemente por Shuker (1988) y su carcinogenicidad y toxicología por Rowland (1988).

En la bibliografía, los compuestos N-nitrosos se clasifican con diferentes criterios. Se pueden clasificar como volátiles y no volátiles: Los nitrosocompuestos volátiles son las N-nitrosaminas en las que las cadenas laterales alquílicas son cadenas hidrocarbonadas simples no substituídas o con sustituyentes aromáticos simples, mientras que los compuestos no volátiles incluyen las N-nitrosoamidas, N-nitrosoureas o N-nitrosopéptidos, etc. También se pueden describir como "compuestos N-nitroso totales" (Massey, 1988), generalmente, cuando han sido analizados mediante una reacción de grupo que detecta el número de enlaces N-nitroso. Este ensayo no da información sobre el tipo de compuesto N-nitroso o sobre su carcinogénesis relativa. Los compuestos N-nitroso volátiles totales incluyen sólo aquellos que pueden detectarse mediante cromatografía gaseosa. En algunos estudios los compuestos N-nitroso no volátiles se refieren sólo a los N-nitrosoaminoácidos encontrados en la orina humana normal (Tricker y col., 1989). Cuando se comparan cuantitativamente los resultados de distintos estudios, es necesario tener en cuenta las diferencias entre estas definiciones.

2.1.2.1.2.- Formación de compuestos N-nitrosos

"in vivo"

Se conoce un considerable número de mecanismos de formación de compuestos N-nitrosos (Challis y Challis, 1982; Shuker, 1988). Sin embargo, no todos los mecanismos potenciales de nitrosación parecen ser relevantes respecto a la formación de estos compuestos en el organismo, ya que la fisiología y disponibilidad del sustrato en los diferentes lugares donde puede formarse nitrito (boca, estómago, vejiga urinaria, colon, vagina) serán desfavorables para muchos de ellos (Leach, 1988).

Para estos lugares, donde el medio es fundamentalmente acuoso, los dos mecanismos de mayor importancia serán las reacciones de nitrosación catalizadas por ácidos y las mediadas por bacterias, siendo las primeras particularmente importantes para el estómago de acidez normal, y las segundas para la mayoría de los lugares restantes .

Puesto que el pH óptimo para la nitrosación es, como hemos visto, habitualmente inferior a 4, el único lugar del organismo en el que podrían producirse nitrosaminas en grandes cantidades mediante la reacción catalizada por ácidos es el estómago ácido como ha sido demostrado por

Fine y col.(1977) y Ohshima y Bartsch (1981). Sin embargo, en 1968, Sander demostró que la reacción de N-nitrosación podía ser catalizada por acción bacteriana a valores de pH neutros, y utilizando como sustrato tanto nitrato como nitrito. Este trabajo fue confirmado y ampliado por numerosos grupos, pero recientes estudios no pudieron diferenciar entre la catálisis mediante enzimas bacterianas y la catálisis de la reacción en medio ácido, debida a las condiciones originadas por el metabolismo bacteriano. El problema fue resuelto por los cuidadosos estudios de Calmels y col.(1985) y Leach y col. (1985), revisados por Leach (1988), que mostraron la existencia de una enzima bacteriana que catalizaba la N-nitrosación de aminas secundarias.

Las reacciones del nitrito catalizadas por ácidos se conocen bien. El nitrito, por sí mismo, no es un agente nitrosante activo, sin embargo, N_2O_3 , N_2O_4 , H_2ONO^+ y NO^+ , que proceden químicamente del comportamiento del nitrito en solución ácida, sí lo son. El balance entre las diferentes especies químicas que se forman depende del pH concreto. Se conocen una serie de catalizadores (tiocianato, cloruro) e inhibidores (amonio, urea y vitamina C) de estas reacciones, algunos de los cuales pueden ser importantes para la regulación de la N-nitrosación en el medio ácido del estómago (Archer, 1984; Shuker, 1988).

Las reacciones de N-nitrosación, mediadas bacterianamente, tienen un pH óptimo en el intervalo 6-8 (Calmels y col., 1985; Leach y col., 1987a, 1987b; Leach, 1988), y son las más probablemente responsables de la formación de N-nitrosocompuestos en los lugares del organismo con pH neutro (boca, estómago aclorhídrico y vejiga urinaria). Estos son de particular interés, con respecto a la formación de estos compuestos, ya que son fácilmente colonizados por bacterias nitrato-reductoras que proporcionan elevados niveles del sustrato, nitrito.

La N-nitrosación catalizada por bacterias parece ser una vía secundaria de las enzimas relacionadas con la reducción bacteriana del nitrato y del nitrito y está restringida, por tanto, en primera instancia a aquellos organismos que las poseen. Sin embargo, no todas las especies bacterianas que poseen normalmente estas enzimas reductoras, demuestran una actividad significativa de N-nitrosación (Packer y Leach, 1991). Así como las reacciones de N-nitrosación catalizadas por ácidos dependen de factores relativamente bien caracterizados, como la concentración de nitrito, el pH y la presencia de catalizadores e inhibidores, las reacciones mediadas bacterianamente, dependen en un alto grado de la composición concreta de la flora bacteriana en relación a la actividad de N-nitrosación de sus miembros. Esto varía considerablemente entre los diferentes individuos, dada la

gran diversidad existente en la composición de las diferentes floras gástricas.

Al menos dos mecanismos distintos parecen ser empleados por las diferentes especies bacterianas en relación a su actividad de N-nitrosación. Uno implica a la nitrato- reductasa en bacterias reductoras de nitrato, como Escherichia coli, y otro a la nitrito- reductasa en bacterias desnitrificantes como Pseudomonas aeruginosa. Ambos mecanismos, revisados por Packer y Leach (1991), muestran cinéticas de reacción bastante consistentes con la mediación enzimática bacteriana, aunque difieren en la velocidad de reacción. La razón de esta diferencia probablemente está relacionada con su capacidad para producir óxido nítrico a partir del nitrito. El óxido nítrico (NO), por sí mismo, no es un agente nitrosante. Sin embargo, es rápidamente oxidado, en presencia de trazas de oxígeno, a N_2O_3 y N_2O_4 , y ambos son potentes agentes nitrosantes a pH neutro en solución acuosa. Aunque estos óxidos de nitrógeno reaccionan rápidamente con agua, produciendo NO_2^- y NO_3^- , existen aminas con un considerable rango de basicidad que compiten eficientemente por los agentes nitrosantes y producen el correspondiente compuesto N-nitroso (Shuker, 1988).

Las reacciones de N-nitrosación mediadas por macrófagos y presumiblemente aquellos otros tipos de

células de mamíferos que producen NO a partir de L-arginina pueden producirse asociadas a la biosíntesis endógena de nitrato (Hibbs y col., 1987). En el caso de los macrófagos, el metabolismo de la L-arginina a NO sólo ocurre tras una estimulación inmunológica, durante la que se elabora un enzima específico implicado en este proceso. El NO generado es, presumiblemente, oxidado a NO₂ por el oxígeno molecular; éste sigue luego otras reacciones, produciendo N₂O₃, N₂O₄, NO₂⁻ y NO₃⁻. Cualquier sustrato nitrosable presente será nitrosado por el N₂O₃ ó N₂O₄ antes de que reaccionen con las moléculas próximas de agua para formar NO₂⁻ y NO₃⁻ (Miwa y col., 1987). Esto resultará en una formación local de compuestos N-nitrosos potencialmente genotóxicos en el lugar de la respuesta inflamatoria y en un daño potencial del tejido.

2.1.2.1.3.- Nitrosaminas y cáncer humano

Alrededor del 90% de los más de 300 nitrosocompuestos que han sido investigados en laboratorios de experimentación con animales han causado cáncer (IFT, 1987).

Ninguna especie animal que, hasta el momento, haya sido sometida a test, ha resultado resistente a dimetilnitrosamina (DMN) o dietilnitrosamina (DEN), las

dos nitrosaminas comúnmente encontradas en los alimentos (Lijinsky y Taylor, 1977). Por lo tanto, el consenso común de los investigadores en este campo es que no se puede esperar que los humanos sean resistentes a dicha exposición (Weisburger y Rainieri, 1975; IFT, 1987).

Una propiedad interesante de las nitrosaminas es que son particularmente efectivas cuando la exposición se realiza por vía oral, a pequeñas dosis y durante un largo periodo. Esto es particularmente relevante para la situación humana (Concon, 1988).

Además ya hemos visto que los nitrosocompuestos pueden formarse en el interior del organismo, y la dieta puede influir sobre la cantidad y el tipo de N-nitrosocompuesto formado (Wagner y Tannenbaum, 1985).

Respecto a las reacciones de formación de compuestos N-nitrosos en el organismo, todas están claramente influenciadas por una serie de factores como el pH, el nivel de ingestión de nitrato y la presencia de catalizadores e inhibidores de la reacción. Aquellos lugares donde el papel de las bacterias tiene la oportunidad de ser dominante para determinar la extensión de la formación de compuestos N-nitrosos (estómago aclorhídrico, vejiga urinaria infectada) tendrán además otra serie de variables que modulan la exposición a estos

compuestos. Por una parte, la composición de la flora bacteriana en relación a su actividad nitrato y nítrito reductasa y de N-nitrosación; y éstas, a su vez, estarán abiertas a una modulación importante a partir de aquellos factores como el potencial redox externo y la capacidad donadora de electrones en cada lugar del organismo, además de la competición entre las diferentes especies bacterianas para colonizar cada lugar. Dada la complejidad e interacción de factores que se espera que regulen la formación de compuestos N-nitrosos, a partir del nitrato, relacionados tanto con el huésped como con la flora microbiana, parece poco probable que exista una relación simple entre la exposición a nitrato y el riesgo de cáncer por formación endógena de compuestos N-nitrosos (Packer y Leach, 1991).

Hill (1991) ha realizado una amplia revisión de los estudios epidemiológicos que intentan relacionar la exposición a nitrato con el cáncer humano. Son muchos los autores que encuentran una correlación entre dicha exposición y distintos tipos de cáncer (de esófago, estómago, colon y vejiga, principalmente), e incluso con la aparición de malformaciones congénitas del sistema nervioso central en recién nacidos.

Así, por ejemplo, los índices incrementados de cáncer gástrico en ciertas áreas de Colombia se han atribuido a

los elevados niveles de nitrato en el agua de bebida en estas zonas. Esta situación se considera relacionada con los elevados índices de gastritis atrófica en las poblaciones de alto riesgo, que resultan en hipoacidez del estómago, seguido por colonización del mismo por bacterias, reducción del nitrato a nitrito y, como consecuencia, formación de compuestos nitrosos. Se considera como compuesto sospechoso a una nitrosocianamida (Concon, 1988).

Hill y col. (1973) señalaron que, aunque en circunstancias normales más del 80% del nitrato de la dieta procede de los alimentos, la ingesta total aumenta cuando lo hace la concentración de nitrato en el agua de bebida. Cuando el contenido de nitrato del agua alcanza 100 mg NO₃ /L, el agua supone un 70% de la ingesta total de nitrato. Por tanto, para el propósito de llevar a cabo un estudio epidemiológico, sería aconsejable comparar el riesgo de cáncer en áreas con diferentes niveles de nitrato en el agua de bebida. También se ha observado una correlación entre el uso de nitrato como fertilizante y la incidencia de cáncer gástrico (Armijo y Coulson, 1975). Estos resultados han sido apoyados por muchos estudios y contradichos por muchos otros.

Finalmente, se puede pensar que el nivel de nitrosaminas en los alimentos es demasiado bajo para

presentar ningún riesgo real. Sin embargo, debemos recordar que no estamos expuestos a un solo tipo de nitrosaminas, como se puede juzgar a partir de los muchos tipos de precursores de éstas que pueden estar presentes en los alimentos y en el ambiente. Además, también estamos expuestos a otros tipos de carcinógenos y compuestos importantes toxicológicamente. Los experimentos de Schmähl (1976) parecen ser reveladores en este sentido. Cuatro hepatocarcinógenos: DMN, DEN, nitrosomorfolina y p-dimetilaminobenceno, cuando se administran juntos, cada uno a dosis subcarcinógenas, producen cáncer de hígado en más de la mitad de las ratas después de un periodo de ensayo de 600 días. Individualmente, a las mismas dosis usadas en combinación, no se desarrolla tumor.

Cuando las cantidades de nitrosaminas totales en alimentos, agua y otras fuentes son añadidas a aquellas formadas a través del tracto alimentario (que pueden ser numerosas), el aporte total de nitrosaminas a las poblaciones modernas puede ser considerable. Visto desde esta perspectiva, Concon (1988) señala que cualquier carcinógeno, incluso en cantidades traza, asume considerable significación.

2.2.- HISTORIA DEL CURADO

La conservación de la carne mediante desecación ha sido practicada durante miles de años. La desecación puede efectuarse mediante eliminación directa del agua, o indirectamente mediante la adición de sal. Esto último llegó a conocerse como "curado" -término que aparece en la región norte de Alemania en la Edad Media, según Wirth (1992)- y condujo a la gran variedad de productos cárnicos curados actualmente disponibles.

Según Cassens (1990), las prácticas de curado actuales evocan no sólo los primeros procesos de salado sino también los procedimientos asociados de ahumado, mediante combustión de madera, y desecación al sol.

El origen del uso del nitrato en el curado de la carne se perdió en la historia, pero es cierto que la conservación de la carne con sal precedió al uso intencionado del nitrato durante muchos siglos (Binkerd y Kolari, 1975). La mayoría de los relatos históricos citan la contaminación de la sal con salitre (nitrato potásico), sin embargo, el efecto enrojecedor de los nitratos no fue mencionado hasta los últimos tiempos romanos.

Dando un salto en la historia, se suceden, a finales del siglo XIX, una serie de observaciones científicas

independientes que no sólo establecieron las bases de la química del curado de la carne, sino que, además, resultaron útiles para mejorar el proceso de curado y proporcionar información vital para las decisiones reguladoras gubernamentales.

Durante el citado siglo habían ocurrido cambios significativos en el curado de la carne: Se estableció el curado húmedo o salmuera, emergieron rudimentarios sistemas de bombeo vascular de fluídos de curado, apareció la aguja perforada de bombeo, el salitre se había incluido firmemente en la fórmula de curado, la ciencia, tecnología y control de calidad se habían convertido en parte integral de la industria del envasado (Binkerd y Kolari, 1975).

Polenske (1891) demostró que el nitrato era reducido a nitrito por acción bacteriana. Pocos años más tarde dos científicos alemanes añadieron, independientemente, información importante. Lehmann, en 1899, observó que hirviendo piezas de carne en agua que contenía nitrito y ácido libre aparecía en la carne un color rojo brillante. Esto no ocurría cuando se utilizaba nitrato, por lo que concluyó que el nitrito y no el nitrato era la sustancia responsable de la reacción de curado. Durante el mismo año Kisskalt (1899) publicó sus resultados de una experiencia muy similar. Además observó que si la carne se hervía en

agua con nitrato el cambio de color no se producía a menos que primero los dejara en reposo por unos días antes del calentamiento. Su conclusión fue la misma: Que el nitrito, en lugar del nitrato, proporcionaba el típico color a los productos curados.

Posteriormente, en 1901 se publicó el clásico trabajo del fisiólogo inglés Haldane, quien explicó el mecanismo de formación de este color rojo por la combinación del óxido de nitrógeno (NO) con el pigmento de la carne, la mioglobina.

Hoagland (1908) confirmó el trabajo de Haldane mediante una serie de estudios con hemoglobina, carnes curadas y salchichas. Entre sus conclusiones estaban las siguientes: El color rojo de la carne salada, no cocinada, a la que se había añadido salitre como conservante, era debido a la presencia de nitrosohemoglobina. El pigmento se formaba por la acción del óxido nítrico sobre la hemoglobina, habiéndose formado éste por reducción del nitrito en la carne. Si el nitrito se añadía a la carne alcalina no había acción sobre la coloración debido al hecho de que no era reducido a óxido nítrico. Sin embargo, los agentes reductores naturales, como el ácido natural de la carne, produjeron la reducción y subsiguiente cambio de color. También dio posteriores pruebas de que el salitre era reducido a nitrito en la carne por acción bacteriana

y/o enzimática y que por sí solo no afectaba al color.

Por tanto, a comienzos del siglo XX se disponía de un básico conocimiento del mecanismo de curado. Hasta esta época, los procesos de curado de la carne estaban diseñados para la conservación de aquella sin refrigeración. A partir de 1906 se produjeron cambios significativos en la formulación (adición directa de nitrito, disminución de la concentración de sal y uso de ascorbato o isoascorbato y fosfato) y en el procesado y marketing de los productos cárnicos curados (mejoras en la refrigeración, empaquetado y técnicas de procesado) que también tuvieron un impacto en la industria de la carne curada. Estos cambios y su influencia sobre el riesgo potencial del botulismo son estudiados en orden cronológico por Cervený (1980).

El estudio del uso directo del nitrito como sal de curado fue consecuencia del entendimiento de la química básica y de las reacciones implicadas en la producción del color de la carne curada y del papel de los microorganismos en la reducción del nitrato a nitrito.

Durante algún tiempo, había existido preocupación por el hecho de que la reducción bacteriana del nitrato era imposible de controlar. El nivel de nitrito final era bastante variable y eran frecuentes desarrollos de color

irregulares o insatisfactorios y contaminaciones de las carnes durante el proceso de curado. Kerr y col. (1926) encontraron que el contenido de nitrito de 54 muestras de carne curada oscilaba de 2 a 960 ppm. Una solución a este problema de la variabilidad en el nivel de nitrito era la adición directa de una cantidad controlada de nitrito bien a la salmuera o directamente a la carne que se iba a utilizar para un procesado posterior.

El cambio más importante para evitar el riesgo potencial de botulismo causado por los productos cárnicos curados ha sido, según Cervený (1980), el desarrollo de un económico y eficaz sistema de refrigeración mecánica que se extiende desde la operación de procesado de la carne, a lo largo del sistema de distribución y en la cocina del consumidor. La industria cárnica, tal como la conocemos actualmente, no podría haberse desarrollado sin una buena refrigeración.

En 1925, cuando se permitió legalmente en Estados Unidos la adición directa de nitrito a la carne, se creía que su única función era el desarrollo del color. A finales de los años 20, los científicos demostraron los efectos antimicrobianos del nitrito y las investigaciones en este sentido han continuado a lo largo de los años. Sin embargo, la pregunta sobre cómo disminuir la concentración de nitrito y mantener la protección contra el bajo número

de esporas de Clostridium botulinum normalmente encontradas en carnes curadas, no puede aún ser contestada.

Después del desarrollo de los modernos sistemas de refrigeración, la industria del procesado de la carne ya no tiene que acudir a elevados niveles de sal y ahumado para conservar las carnes curadas. Una reducción gradual de la concentración de sal en las carnes curadas a lo largo de los años ha reducido el efecto conservador de este ingrediente. En los productos de hoy en día la sal es parte de un sistema inhibidor complejo que también incluye el nivel de nitrito, pH y temperatura de almacenamiento (Cervený, 1980).

A finales de 1960, se alzaron preguntas sobre el uso de nitritos en carnes curadas y su combinación con compuestos nitrogenados en la carne, o en el organismo humano, para formar **nitrosaminas**.

A comienzos de 1970, un grupo de científicos tanto de la industria como del gobierno americano llevó a cabo un programa de investigación conjunto para conocer más precisamente el papel antimicrobiano del nitrito en los productos cárnicos curados modernos. Los resultados de estas investigaciones confirmaron los primeros estudios en los que se mostraba que el nitrito inhibe el crecimiento

del Clostridium botulinum (Christiansen y col., 1973; 1974; 1975; Hustad y col., 1973).

La Secretaría de Agricultura citó a un Panel de expertos en 1973 con el fin de evaluar la información relativa a la presencia de nitrosaminas en alimentos, evaluar la significación de la salud pública y problemas específicos identificados con el uso de nitritos en alimentos, y para determinar si existían métodos de procesado alternativos. Basándose en la información presentada y en la revisión bibliográfica, el Panel de expertos realizó las siguientes recomendaciones en 1974 (USDA, 1975):

- 1.- Evitar el uso de sales de nitrato en el proceso de curado de todo producto cárnico o avícola con excepción de los productos curados desecados y salchichas fermentadas.
- 2.- Limitar a 150 ppm. el nivel de sal de nitrito permitido para adicionar a la carne curada en todo producto procesado, con la excepción del bacon y productos curados desecados.
- 3.- Reducir de 200 a 125 ppm, o menos, el nivel de nitrito residual.

De esta manera, se reduciría la exposición del

consumidor al peligro potencial de nitrosaminas, mientras se mantuvieron suficientes niveles de nitrito para proteger al consumidor contra el peligro real de intoxicación botulínica. En Septiembre de 1977, el Panel de Expertos remitió a la Secretaría de Agricultura un informe final (USDA, 1978) que incluye una recomendación para la cantidad añadida y residual de NaNO_2 , KNO_3 , y ascorbato e isoascorbato sódicos usados en cada clase de producto curado.

En resumen, de acuerdo con Cassens (1990), el trabajo realizado durante los últimos años del siglo XIX y comienzos del XX reveló el modo de acción del nitrito como un agente de curado, y seguidamente las regulaciones sobre su uso fueron puestas en práctica. El trabajo científico subsiguiente produjo información sobre la química fundamental del nitrito y reveló su importancia en la inhibición microbiana. Otros esfuerzos científicos establecieron las propiedades carcinogénicas específicas de las nitrosaminas. Finalmente, el citado autor concluye: "Como resultado de los diez años de esfuerzo empleados en el problema nitrito-curado de la carne, se produjo una gran cantidad de información, se realizaron cambios positivos y significativos y se aprendieron lecciones. Pero el problema que rodea el uso del nitrito como un agente del curado de la carne no se solucionó completamente. El mejor consejo para el futuro es

permanecer cauteloso y observador mientras se invierte en ciencia y política".

2.3.- PAPEL DE LAS SALES NITRIFICANTES EN EL CURADO DE LAS CARNES

El interés existente en el papel del nitrito en las carnes curadas es el resultado de un deseo de reducir el nivel de nitrito en la dieta, intentando minimizar los riesgos del consumo de nitrosaminas preformadas y la formación de nitrosaminas a partir de los nitritos ingeridos y las aminas secundarias y terciarias de los alimentos.

Sin embargo, la importancia relativa de las carnes curadas como fuente de nitrito en la dieta debería mantenerse en la perspectiva de que existen muchas otras fuentes susceptibles de contribuir significativamente a la ingesta diaria, incluyendo ciertos vegetales frescos, alimentos deshidratados,... y fuentes endógenas como la saliva, contenido intestinal e infecciones del estómago y la vejiga (Roberts y Dainty, 1991).

El nitrito aporta a la carne curada su característico color y aroma y es importante en el control de bacterias, particularmente Clostridium botulinum. Su importancia en el curado de la carne ha sido el tema de numerosas

revisiones (Krol y Tinbergen, 1974; Binkerd y Kolari, 1975; Ingram, 1976; Tinbergen y Krol, 1977 ; Sofos y col., 1979a; Benedict, 1980; Hannan, 1981; Gray y col., 1981; Roberts y col., 1981).

2.3.1.- Condiciones de utilización

En el Código de Charcutería francés (Code de la Charcuterie, de la Salaison et des Conserves de Viandes, 1980) se definen tres tipos de salazón:

- Lenta, con nitrato sólomente
- Rápida, con nitrito sólomente
- Mixta, con mezcla de nitrato-nitrito.

La utilización de nitrato sólo para el curado de las carnes ha quedado relegada, actualmente, a los productos sometidos a maduración-desección (jamones, salchichones) que se fabrican lentamente.

Las razones por las que el nitrito ha desplazado al nitrato en la mayoría de los procesos de curado de la carne derivan de las ventajas que posee como agente directo del curado, frente al carácter indirecto del nitrato. Por una parte, el requerimiento de una reducción bacteriana para que el nitrato sirva como "fuente" de

nitrito, prolonga, innecesariamente, el tiempo del procesado. Por otra parte, resulta difícil controlar la cantidad de nitrito que se obtiene a partir de una determinada concentración inicial de nitrato, lo que puede conducir no sólo a un exceso de nitritos residuales, sino también a accidentes de fabricación. El salitre es un oxidante enérgico que utilizado en exceso, puede transformar de forma irreversible la mioglobina en metamioglobina, responsable de coloraciones no deseadas. Por el contrario, si es insuficiente, no se obtendrá un color de curado adecuado.

Por ello, cuando se descubrió que el uso directo de los nitritos aceleraba el desarrollo del color, éstos comenzaron a utilizarse en combinación con los nitratos (salazón mixta). Su finalidad es la de acelerar el curado inicial por acción de los nitritos, con un ahorro considerable de tiempo y, posteriormente, el nitrato se encarga de conservar el color de los productos acabados durante el almacenamiento. Este tipo de salazón es particularmente útil en los productos cocidos que se presentan en lonchas envasadas al vacío. Si la estabilización del pigmento no es perfecta y si el vacío es insuficiente, se produce una reoxidación (Durand y col., 1988). La adición de nitrato estabiliza el color; las nitrato-reductasas que no son totalmente destruidas por la cocción (sobre todo si ésta es moderada)

transforman el nitrato en nitrito. Este aporte de "nitrito retardado" puede permitir al pigmento formarse de nuevo.

La tendencia actual es la utilización de nitrito como único agente productor del color. En Francia y Alemania se utiliza mezclado con el cloruro sódico, en determinadas concentraciones, denominándose a esta mezcla "sal nitritada".

En la Reglamentación española referente a la elaboración de productos cárnicos tratados por el calor, se autoriza el uso de nitrito sódico (125 ppm), de nitrato sódico o potásico (200 ppm), o de ambos conjuntamente (250 ppm) (Ministerio de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, 1982).

En Alemania sólo se permite el empleo de "sal con nitrito para curado" en la elaboración de embutidos escaldados. De acuerdo con Wirth (1992) esta decisión se encuentra fundamentada desde el punto de vista tecnológico ya que, en su opinión, el nitrato es totalmente innecesario en la tecnología del embutido escaldado. Debido al tratamiento térmico la destrucción de microorganismos reductores de nitrato es efectiva y éste ya no es utilizado, es decir, que se pierde para el proceso de curado y para la estabilización microbiana del embutido escaldado. Su empleo, por tanto, sería ineficaz

y perjudicaría al contenido residual de nitrito más nitrato en el producto final.

Los principales efectos que se manifiestan en el curado de la carne y de los productos cárnicos son los siguientes (Goutefongea ,1991; Wirth, 1992):

1. Formación del color ("rojo de curado")
2. Formación del aroma ("aroma de curado")
3. Acción conservadora ("inhibidor de microorganismos")
4. Efecto antioxidante ("protección de las grasas frente a la oxidación").

2.3.2.- Formación del color

En la formación del color rojo de curado el pigmento muscular mioglobina reacciona con el óxido nítrico (NO), el cual se forma a partir del nitrito en medio ácido. La misma reacción se produce con la hemoglobina, el pigmento de la sangre, que se puede encontrar también en pequeñas concentraciones en la materia prima para productos cárnicos curados. El compuesto óxido nítrico mioglobina o hemoglobina, que es el denominado "rojo de curado", es relativamente estable a la luz y al oxígeno.

A continuación indicaremos algunas características

del pigmento muscular así como los diferentes mecanismos de reacción con el nitrito, propuestos en la bibliografía.

2.3.2.1.- **Mioglobina**

En la síntesis química de la molécula de mioglobina es característico un átomo de hierro central. Por ello, la formación de mioglobina en el organismo animal se encuentra ligada, entre otras cosas, a una suficiente provisión de hierro en dicho organismo.

Este pigmento rojo, que se encuentra en la célula muscular, es una sustancia química que presenta una gran actividad reactiva. Cuando se produce un aporte intenso de oxígeno a la mioglobina el tono del color es rojo claro (oximioglobina), lo cual se evidencia en la superficie de un corte reciente de carne fresca (Badui, 1981). Cuanto menor es la presencia de oxígeno más oscuro se torna el tono del color. Sin embargo, ante una marcada acción del oxígeno (oxidación) se oxida el átomo de hierro central de la mioglobina pasando de la forma divalente a la trivalente, originándose así la metamioglobina, de color gris marrón no deseable. Esta misma reacción se produce también por calentamiento o por influencia de la sal común.

Por tanto, todos los productos cárnicos contienen metamioglobina gris y todos ellos presentan una mezcla de colores a partir de ésta y de compuestos de pigmentos rojos deseados (mioglobina, oximioglobina y nitrosomioglobina).

El esquema general de sucesos durante el curado es que cuando el nitrito se adiciona inicialmente a la carne, el color se modifica del rojo púrpura de la mioglobina al marrón de la metamioglobina. Con el tiempo y condiciones reductoras, el color pasa al rojo bastante oscuro de la nitrosilmioglobina. La desnaturalización por el calor (si se utiliza) convierte el pigmento en el estable nitrosilhemocromo, que presenta un color rosa.

Un objetivo importante en la elaboración de productos cárnicos es que la proporción de metamioglobina sea lo más pequeña posible.

Esquema nº 3.- Influencia del contenido de metamioglobina en el color del producto (Según Wirth, 1992):

% de metamioglobina en el pigmento total	Color del producto
< 30%	rojo intenso
30 a 50%	rojo
50 a 60%	rojo amarronado
60 a 70%	marrón rojizo
>70%	gris, marrón

La mioglobina también reacciona con el monóxido de carbono formando un compuesto de color rojo claro (carboximioglobina). Si la concentración de CO en el humo para ahumado es suficiente puede haber una influencia sobre el color en las zonas periféricas de los embutidos escaldados ahumados. Cuando la acción es muy intensa se origina una apertura de la molécula de mioglobina apareciendo, como consecuencia, compuestos indeseables de color verde, similares a los pigmentos biliares.

En presencia de agentes reductores, la mioglobina puede dar lugar a otros dos pigmentos de color verde. La sulfomioglobina, si el agente reductor es un compuesto sulfhidrilo, y la colemioglobina si es el ascorbato u otro

no sulfhidrilo (por ejemplo, cuando se emplean de 3 a 5 g de ácido ascórbico/kg de pasta de embutido, en lugar de 0,3 a 0,5 g/kg). Estos dos pigmentos son producidos más frecuentemente por la acción bacteriana y si estas condiciones se mantienen se convierten por oxidación y desnaturalización de la proteína en porfirinas libres y oxidadas de color amarillo o incoloro (Lawrie, 1967; Bodwel y McClain, 1976).

Dado que el pigmento muscular se encuentra en la célula del músculo, componente determinante de todo embutido escaldado, es decir, de la carne, también es factor determinante para la formación del color. Sólo con el suficiente pigmento muscular se logra un suficiente color de curado.

Existe una gran variabilidad de porcentajes de pigmento muscular en las diferentes partes musculares de las distintas especies animales. El contenido del pigmento depende , sobre todo, de los siguientes factores:

a/Especie animal

El vacuno posee en promedio el doble de contenido en mioglobina en el músculo (aproximadamente 300 a 400 mg/100 g de carne) respecto del cerdo (100 a 200 mg/100 g de carne, aproximadamente). La carne de ternera presenta

menor cantidad de pigmento muscular (50 a 100 mg/100 g de carne, aproximadamente).

b/Alimentación

El contenido de mioglobina del músculo depende del sistema de cría (el pastoreo o la alimentación verde produce un mayor contenido en mioglobina).

c/Edad de los animales

La carne de animales más viejos presenta mayor cantidad de pigmento que la de los animales jóvenes.

d/Región de la canal

Los músculos que realizan mayor esfuerzo presentan, en general, más mioglobina que aquellos que cumplen una función menor.

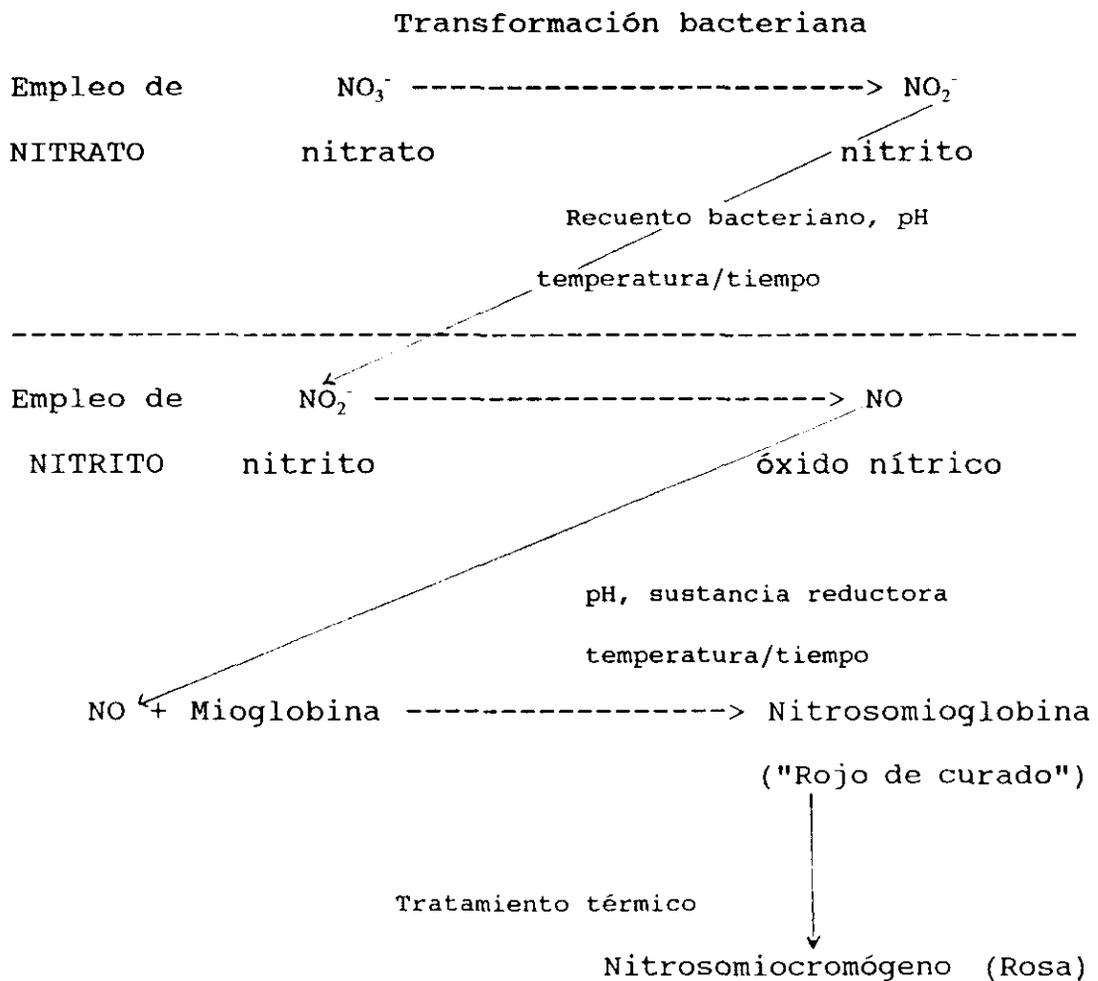
2.3.2.2.- Mecanismo de reacción

La formación de óxido nítrico a partir de nitrito y la reacción de éste con el pigmento muscular o con el de la sangre se ve afectada por factores como la temperatura, pH, oxígeno, y sustancias reductoras, de forma que la

formación de un color suficiente de curado depende en gran medida de la tecnología.

Tanto con el uso del nitrato como del nitrito se deben valorar una serie de factores que influyen sobre la formación del color de curado:

Esquema nº 4.- Mecanismo de reacción (simplificado), de la formación de color de curado en embutidos escaldados. (Según Wirth, 1992).



La cantidad mínima de nitrito necesaria, para la formación del color de curado en la carne y productos cárnicos es de 30 a 50 ppm (Wirth, 1992). Para Hustad y col. (1973) aproximadamente 40 ppm son suficientes para obtener y mantener un color de curado estable.

El mecanismo de la reacción entre el nitrito y la mioglobina ha sido estudiado por numerosos autores desde su descubrimiento por Haldane (1901), en especial por Hornsey (1956), Tarladgis (1962), Fox y Thomson (1963), Fox (1966), Fox y Ackerman (1968) y Lee y Cassens (1976). Aunque prácticamente todos los autores están de acuerdo en considerar un estadio transitorio de la forma metamioglobina, la fase de nitrosación puede ser explicada por tres mecanismos diferentes:

a/ Reducción química del nitrito a NO por el medio reductor de la carne, nitrosación de la metamioglobina produciendo nitrosometamioglobina, y después reducción de este compuesto a nitrosilmioglobina. Este mecanismo haría intervenir los grupos SH (Mirna y Hofmann, 1969) y el efecto favorable del ascorbato se inscribiría en esta hipótesis.

b/ Reducción de metamioglobina a mioglobina por NADH en

presencia de FMN o FAD. Reducción del nitrito a NO por la oxidación parcial de la mioglobina y nitrosación según el esquema de Koizumi y Brown (1971).

c/ Finalmente, según Walters y col. (1968), intervención del ferricitocromo C como transportador de NO y de NADH deshidrogenasa.

Más recientemente Cheah (1976) ha retomado esta última hipótesis al mostrar el papel de la lacticodeshidrogenasa en la formación de NADH a partir de NAD y de lactato.

En el curso del calentamiento, la nitrosilmioglobina se transforma en nitrosilmiocromógeno por ruptura de la unión globina-Fe, simultáneamente a la desnaturalización de la globina y la fijación sobre Fe de un segundo agrupamiento NO (Lee y Cassens, 1976; Renerre y Rougie, 1979). De esta manera dos moles de nitrito en vez de uno se combinarían con un mol del pigmento desnaturalizado por el calor. Globalmente, se puede admitir que, para las cantidades normales de nitrito adicionado a la carne, del 5 al 15% pueden fijarse a los pigmentos (Cassens y col., 1979).

Independientemente de la formación de pigmento, el nitrito es igualmente un elemento fundamental para la

estabilidad del color de los productos curados. Según Goutefongea (1980), el color del jamón cocido conservado bajo vacío no es estable más que en presencia de una cantidad mínima de nitrito residual, cantidad tanto más elevada cuanto que el vacío es menos perfecto.

2.3.3.- Formación del aroma

Por acción del nitrito sobre la carne y los productos cárnicos se manifiesta un típico aroma y un típico sabor distinto de aquel que se origina a partir de un producto tratado solamente con sal común y que se designa como "aroma de curado".

La relación entre el nitrito y el aroma fue descrita por primera vez por Brooks y col. (1940), y el primer estudio riguroso del papel esencial que juega el nitrito en la formación del aroma de curado fue realizado por Cho y Bratzler (1970).

Mottram y Rhodes (1974) mostraron, apoyándose en los resultados obtenidos en la degustación del bacon, que la intensidad del sabor "bacon" aumenta casi linealmente con la cantidad de nitrito añadida, si bien por encima de 1.500 mg/kg el incremento del aroma era pequeño. Wasserman y Talley (1972) obtienen resultados comparables en

relación con salchichas tipo Frankfurt. Además son suficientes cantidades relativamente pequeñas de nitrito añadido (25 ppm) para obtener el sabor característico, mientras que no se encuentran diferencias significativas entre salchichas curadas con 75 ó 150 mg/kg de nitrito. Con dosis demasiado elevadas (300 ppm) se observa una degradación de este sabor, posiblemente debido a fenómenos de oxidación (Touraille y Goutefongea, 1985).

La mayoría de los autores que han estudiado la influencia del nitrito sobre el sabor (Bailey y Swain, 1973; Mottram y col., 1984), han tratado de identificar el o los componentes responsables. Por cromatografía gaseosa han sido aislados un gran número de compuestos volátiles, pero resulta siempre difícil interpretar este tipo de resultados, puesto que las diferencias de sabor podrían ser simplemente debidas a la presencia de un compuesto determinado, a su ausencia o simplemente a una modificación de las proporciones relativas de dos compuestos (Goutefongea, 1991).

En la revisión realizada por Gray y col. (1981), sobre el aroma de la carne curada, se indica que, hasta entonces, ningún estudio había tenido éxito al intentar identificar los componentes particulares responsables del aroma de la carne curada. Bailey y col. (1980), sin embargo, señalaron que el nitrito retardaba la formación

de aldehídos C6-C12 que se esperan a partir de la oxidación de los ácidos oleico y linoleico. Para Morrisey y Apte (1988) sería razonable pensar que la ausencia de estos aldehídos es la responsable de las diferencias de aroma entre las carnes curadas o no, en lugar de la presencia de compuestos procedentes de la reacción con el nitrito.

Según Wirth (1992), para la formación del típico aroma a curado, en el producto cárnico, son suficientes de 20 a 40 ppm de nitrito.

2.3.4.- Acción conservadora

A principios de siglo ya se conocía que el nitrito a dosis relativamente pequeñas inhibía el desarrollo de gran número de especies microbianas, y que su poder inhibitor era mayor en medio ácido (Grindley, 1929). Sin embargo, el carácter bacteriostático del nitrito fue puesto en duda hasta que Tarr (1941) mostró la dependencia entre el efecto inhibitor y el pH del medio (aquel era marcadamente mayor a niveles de pH por debajo de 6,0).

Posteriormente, se ha reconocido este poder frente a un gran número de cepas principalmente de clostridios, estafilococos y bacilos, aunque las investigaciones

también han revelado una mayor resistencia de algunas bacterias, por ejemplo, salmonelas, lactobacilos y Clostridium perfringens (Ingram, 1974).

El mecanismo de acción no se conoce totalmente, aunque existen varias hipótesis al respecto. Tompkin (1983) realiza una amplia revisión de los trabajos relacionados con las propiedades antimicrobianas del nitrito y entre sus conclusiones hace referencia al gran interés despertado por el denominado "factor Perigo". El factor se basaba en la observación de que cuando el nitrito se calentaba en un medio de cultivo en el laboratorio, se formaba una sustancia desconocida que resultó ser un potente inhibidor del crecimiento de las células vegetativas de Clostridium sporogenes.

Posteriormente, se postuló que el factor podría formarse a partir del nitrito que desaparece durante el calentamiento. Finalmente, se concluye que resulta poco probable que el factor Perigo sea de importancia en la carne curada comercialmente, ya que en el proceso inhibitorio se combinan los efectos de muchas condiciones e ingredientes: pH del producto, nivel de sal, nitrito residual, nivel de esporas botulínicas viables y células vegetativas, temperatura, nivel de ascorbato o isoascorbato, nivel de hierro "disponible" en el producto, tipo de carne y otros ingredientes de la formulación, el

proceso térmico aplicado al producto, el crecimiento de flora competitiva y el posible papel del tipo de fosfato (Greenberg, 1973a, 1973b; Ingram, 1974).

Entre las diferentes posibilidades que se barajan respecto al mecanismo mediante el cual el nitrito causa la inhibición del crecimiento microbiano se incluyen el bloqueo de grupos sulfhidrilos en las células bacterianas, un efecto a nivel del transporte de electrones, y la reacción del óxido nítrico con un compuesto esencial unido al hierro dentro de la célula germinada (Cassens, 1990).

Sin duda, la acción inhibidora de los nitritos que ha despertado el mayor interés entre los científicos y la población, en general, ha sido la que se manifiesta sobre el Clostridium botulinum . Dicho interés ha quedado reflejado en un importante número de trabajos publicados sobre este bacilo causante de numerosas y graves intoxicaciones alimentarias.

Las bases bioquímicas de esta inhibición han sido tratadas por Benedict (1980) quien manifiesta que el efecto inhibidor de los nitritos resulta de :

a) La reacción u oxidación de compuestos bioquímicos celulares; b) de una restricción de la asimilación del hierro y c) de la modificación de la permeabilidad de membranas celulares.

Para otros autores (Tompkin y col., 1977), la acción del nitrito se basa en prolongar la fase de latencia y dicha demora es función de la concentración de nitrito utilizado.

Leistner (1974) y Roberts e Ingram (1977) llegan a las mismas conclusiones, es decir, que 100 ppm de nitrito incorporados a los productos sometidos a un tratamiento térmico son suficientes para asegurar la protección antibotulínica. Esta cantidad puede además ser disminuída añadiendo ácido ascórbico (Sofos y col., 1979b): En salchichas tipo Frankfurt conservadas a 27°C, se pone de manifiesto que utilizando cantidades comprendidas entre 20 y 40 ppm de nitrito no hay efecto sobre el crecimiento y la toxicidad del Cl. botulinum, pero si se adicionaba 0,2% de ácido ascórbico se prolongaba significativamente el plazo de aparición de la toxina.

Según Wirth (1992), las especies que originan intoxicación alimentaria, como son Cl. botulinum, salmonelas, estafilococos, son frenadas en su desarrollo por concentraciones de nitrito de 80 a 150 ppm.

Para Roberts y Dainty (1991) resulta difícil interpretar si todos los factores que influyen en la inhibición, interaccionan para controlar el crecimiento microbiano o si simplemente actúan en combinación. Gran

parte de la respuesta de crecimiento bacteriano puede ser explicada por el pH y la aw del producto, la concentración de nitrito presente y la temperatura de almacenamiento.

Una cuestión aparte es si los niveles de nitrito residual implican algún grado de seguridad microbiológica. Los productos que contienen más nitrito inicialmente son, menos probablemente, soporte de crecimiento de Cl. botulinum (Christiansen y col., 1973; Hustad y col., 1973; Roberts y col., 1981), pero ha habido desacuerdo durante muchos años entre los microbiólogos sobre si la estabilidad inherente y seguridad microbiana de un producto se refleja mejor en el nivel de nitrito añadido o en el residual.

Experimentos realizados por Pivnick y Chang (1974) mostraron que el nivel de nitrito residual no era la principal fracción antimicrobiana, sino que el nitrito que se perdía en el sistema cárnico era más probablemente inhibidor de microorganismos. Intentando explicar sus resultados en un homogeneizado de cerdo, Christiansen y col. (1978) sugirieron que las esporas de Cl. botulinum germinaban irregularmente a lo largo del periodo de almacenamiento, mientras los niveles de nitrito residual caían con el tiempo. Se señaló que las esporas que germinaban cuando permanecía nitrito detectable morían, mientras que si germinaba un número suficiente cuando no

quedaba nitrito residual, daba lugar a crecimiento y producción de toxina. Esta explicación parece poco probable al aplicarla a productos curados experimentales que contenían isoascorbato, los cuales no contenían nitrito residual (detectable) durante más de seis meses de almacenamiento, pero en los que la producción de toxina no tuvo lugar. Sin embargo, en un producto experimental idéntico, excepto que no contenía isoascorbato, se producía el crecimiento y la toxina del Cl. botulinum en presencia de nitrito residual (Roberts y Thomas, 1982). Por tanto, la sugerencia ofrecida por Christiansen y col. (1978) parece no ser la explicación completa.

Se han realizado esfuerzos sustanciales para cuantificar las contribuciones relativas de los numerosos factores que se combinan para dar seguridad microbiológica (Roberts e Ingram, 1973; Hauschild, 1982; Hauschild y col., 1982), y las nuevas aproximaciones propusieron que deberían conducir rápidamente a un entendimiento pleno, probablemente basado en modelos matemáticos (Gibson y col., 1988 ; Roberts, 1989).

Cuando surgió la controversia sobre la continuación o prohibición del uso de nitrito como agente de curado de la carne, debida al descubrimiento de sus riesgos toxicológicos, el papel del nitrito en la seguridad microbiológica se convirtió en un punto crítico, cuyo

centro de actividad fue el tema del botulismo potencial. El balance beneficio-riesgo se mantuvo, durante varios años, en equilibrio hasta que se estableció definitivamente, en opinión de Cassens (1990), la importancia del nitrito como un componente inhibidor en la carne curada. Además, se obtuvo un mayor entendimiento del papel del nitrito en términos de control microbiano y como consecuencia directa se logró un uso del nitrito más efectivo y optimizado.

A pesar de que algunos autores (Butler, 1980; Miller, 1980) consideran que los nitritos son difícilmente reemplazables para conseguir la seguridad antibotulínica, Wirth (1992) opina que la acción del nitrito respecto a la estabilidad del producto (conservabilidad, capacidad de almacenamiento) ha sido sobrevalorada. Para este autor, el tratamiento calorífico y la refrigeración de los productos poseen mayor acción sobre la conservabilidad de los mismos, que el propio nitrito.

2.3.5.- Efecto antioxidante

Se reconoce que el nitrito posee también un efecto inhibidor sobre la degradación oxidativa de la grasa de los productos cárnicos, aunque, en este caso, se desconoce la necesaria concentración mínima.

En efecto, numerosos autores indican que los valores del índice de ácido tiobarbitúrico (TBA), considerado como testigo del estado de oxidación de los lípidos, eran más bajos, en igualdad de los restantes factores, en los productos tratados con nitrito (Greene y Price, 1975; Igene y col.. 1979; McDonald y col., 1980b).

Morrisey y Apte (1988) consideran que la formación de hexanal es el parámetro más importante y consistente relacionado con los cambios producidos durante la oxidación de ácidos grasos insaturados aislados de ternera, cerdo y pescado cocinados. La conclusión más importante de su estudio es la ausencia de niveles significativos de hexanal en todos los sistemas que contenían nitrito.

Westerberg (1973) había propuesto la siguiente interpretación: El nitrito al reaccionar con el hierro hemínico, lo mantendría bajo la forma de Fe (II), reduciendo así la probabilidad de existencia de Fe(III),

que es un catalizador de la oxidación. Trabajos más recientes han demostrado que el fenómeno es más complejo y todavía no elucidado (McDonald y col., 1980a; Gray y col., 1981).

Mientras en la carne el poder antioxidante del nitrito resulta beneficioso, en el organismo vivo, su carácter oxidante y su afinidad por la hemoglobina son, como veremos más adelante, los factores responsables de su toxicidad directa.

2.3.6.- Reacciones del nitrito con los constituyentes de la carne

El nitrito, sustancia química altamente reactiva, adicionado a la carne con el propósito del curado, puede ser parcialmente recuperado en el producto acabado como nitrito residual. Se sabe que cierta cantidad del nitrito inicialmente añadido se combina con pigmentos o sigue otras reacciones. Sin embargo, una parte sustancial del nitrito "desaparece", es decir, se convierte en alguna forma no detectable con la metodología utilizada.

La carne es un sistema biológico extremadamente complejo que ofrece un enorme número de constituyentes que podrían formar una gran variedad de productos a partir de

la reacción con nitrito u óxido nítrico. Por otra parte, el procedimiento de curado introduce manipulaciones físicas adicionales, así como aditivos y, a veces, factores microbiológicos.

Pruebas de que el nitrito reacciona cuando es añadido a la carne son, no sólo los efectos ya mencionados sobre su color, aroma y conservabilidad, sino también el hecho de que parte del nitrito adicionado "desaparezca".

2.3.6.1.- Reacciones con proteínas

La composición típica del músculo es, aproximadamente, 70% de agua, 20% de proteína, 9% de grasa y 1% de cenizas (Cassens y col., 1979). Ésta puede variar, dependiendo de la localización y origen del músculo o corte utilizado, la especie animal, edad, alimentación, etc.

Las proteínas pueden subdividirse en varios tipos: miofibrilares, sarcoplasmáticas, particulares y del tejido conectivo. La proteína miofibrilar es la que representa la mayor proporción, puede extraerse en solución salina y está compuesta por varias proteínas específicas (miosina, actina, etc) de variadas propiedades y funciones. Las proteínas sarcoplasmáticas son solubles en agua y , aparte

de la mioglobina, representa numerosos enzimas. Las proteínas particulares proceden de los orgánulos celulares como la mitocondria y el retículo sarcoplasmático, y entre las proteínas del tejido conectivo, el colágeno es el componente principal.

También existen otras sustancias nitrogenadas no proteicas como aminos, aminoácidos, péptidos, vitaminas, carnosina, anserina, nucleótidos y productos de la ruptura de ácidos nucleicos.

Por tanto, además de la mioglobina, las proteínas cárnicas ofrecen un importante número de puntos de reacción potenciales para el nitrito. La reacción del nitrito con la mioglobina (y hemoglobina) da lugar a la formación del color de curado y ha sido tratada en el apartado 2.3.2.

Se sabe que el nitrito reacciona con grupos sulfhidrilo para formar nitrosotioles, y un gran número de investigadores han estudiado la formación de estos compuestos en la carne. En 1969, Mirna y Hofmann señalaron la existencia de dicha reacción. Teóricamente, la cantidad de grupos SH disponibles, en las condiciones habituales de curado de la carne, es ampliamente suficiente para fijar todo el nitrito ya que la relación molar NaNO_2 /SH es de aproximadamente 1/9.

Mirna (1970) encontró que en carne curada con 177 ppm de nitrito sódico, un 4-8% del nitrito añadido podía liberarse a partir de la actomiosina utilizando iones metálicos pesados (Hg^{2+} , p.ej.) que rompen los nitrosotioles. No obstante, los estudios posteriores de Olsman y Krol (1972) y Kubberød y col. (1974) han puesto en evidencia que la formación de nitrosotioles representa sólo una pequeña proporción del nitrito que se pierde en una carne curada normal. Esta se ha fijado, mediante estudios realizados con ^{15}N en un 5-15% (Cassens y col., 1977).

Además de los grupos SH, el nitrito puede reaccionar con el grupo α -amino (reacción de Van Slyke), con el grupo ϵ -amino de la lisina, el nitrógeno indólico del triptófano y con la tirosina (C-nitrosación) (Kurosky y Hofmann, 1972). Nakai y col. (1978) dan prueba directa de que el nitrito reacciona con el nitrógeno indólico del triptófano. La velocidad de reacción es extremadamente lenta cuando se consideran las condiciones de pH, temperatura, y concentración encontrada en la carne curada. También se pone de manifiesto que la reacción puede ocurrir cuando el residuo triptofílico está en la estructura proteica (Ito y col., 1979).

En los trabajos realizados sobre la reacción de las proteínas con nitrito, seguidos por hidrólisis y análisis

de los aminoácidos se ha podido comprobar la formación de 3-nitrotirosina y 3,4-dihidroxifenilalanina a partir de albúmina sérica de bovino, cuando la nitrosación ocurre bajo condiciones similares a aquellas encontradas en el estómago humano (Knowles y col., 1974).

Woolford y col. (1976) investigaron el concepto de que la reacción del nitrito con proteínas cárnicas, distintas a la mioglobina, es una vía mayoritaria para la pérdida de nitrito. Se demostraba la incorporación de nitrito sódico marcado ($\text{Na}^{15}\text{NO}_2$) a la albúmina sérica de bovino y a la miosina, a valores de pH menores y similares a los encontrados en la carne. En una semana se observaba una pérdida del 60% de las 200 ppm del nitrito añadido a la citada proteína a pH 5,5 y 20°C; casi la mitad del nitrógeno de nitrito desaparecido se recuperó como ^{15}N ligado a la proteína. En el caso de la miosina del 10 al 20% del nitrógeno incorporado estaba presente como 3-nitrotirosina.

Rougie y Goutefongea (1981) con la misma técnica del nitrito marcado, observaron la fijación del ^{15}N del nitrito sobre las fracciones sarcoplásmica, miofibrilar y estroma y señalaron un aumento de las cantidades fijadas en el curso de la cocción.

Goutefongea y col. (1974) incubaron miofibrillas

aisladas con nitrito y encontraron que alrededor del 10% de la cantidad inicial añadida se fijaba a las miofibrillas. La creatina y creatinina, que se encuentran en el músculo, reaccionan con nitrito bajo condiciones ácidas para producir primero sarcosina y luego N-nitrosarcosina (Archer y col., 1971). La creatinina además reacciona para producir creatinina-5-oxima o bien 1-metilhidantoin-5-oxima.

En resumen, las proteínas de la carne son el principal constituyente con el que reacciona el nitrito y explican la mayor proporción del nitrito que escapa a la detección analítica durante el curado. El nitrito ligado a proteína ha sido objeto de preocupación en el análisis del nitrito libre ya que dependiendo de las condiciones del método, una parte de él puede liberarse y cuantificarse. Además, el nitrito ligado a la proteína representa una reserva sustancial de capacidad de nitrosación (Ito y col., 1983).

2.3.6.2.- Reacciones con el tejido adiposo

La fracción lipídica del músculo está compuesta mayoritariamente por triglicéridos (depósitos grasos) y fosfolípidos (componentes de membrana), y varía enormemente no sólo en la cantidad presente, sino también

en sus propiedades, como el grado de saturación (dependiente de la especie).

Muchas carnes curadas contienen importantes cantidades de lípidos, pero con la excepción del bacon, se ha dado escasa importancia a la reacción del nitrito con los lípidos. El bacon ha sido un caso excepcional debido a la presencia, relativamente frecuente, de pequeñas cantidades de nitrosopirrolidina en él después del calentamiento. Gray y Randall (1979) realizaron una revisión sobre el tema.

Frouin y col. (1975) han mostrado la posibilidad para el NO de reaccionar con los ácidos grasos insaturados.

Woolford y Cassens (1977) utilizando nitrito marcado, recuperaron 20-25% del nitrógeno a partir del tejido adiposo del bacon, si bien ésto es una evidencia indirecta de la reacción del nitrito con lípidos, ya que el tejido adiposo también contiene proteínas. El estudio directo de la interacción nitrito-tejido adiposo, realizado por Goutefongea y col. (1977) puso de manifiesto que de un 2 a un 5% aproximadamente estaba asociado a la fracción conjuntiva y una porción más pequeña lo estaba a los lípidos. Además pusieron en evidencia la fijación de nitrito en relación con el número de dobles enlaces, mediante la incubación de ácidos grasos y mono y

triglicéridos que presentaban diferentes grados de insaturación.

Walters y col. (1979) estudiaron la reacción del óxido nítrico con palmitodioleína y sugirieron la intervención de los dos dobles enlaces del triglicérido. Cuando se calentaba este compuesto con morfolina se producía la nitrosación de la amina secundaria. Los autores relacionaron sus descubrimientos con la formación de N-nitrosopirrolidina en bacon.

Para Cassens y col. (1977), en su estudio sobre el destino del nitrito, el porcentaje de nitrito unido a lípidos es del 1 al 5% del total adicionado.

2.3.6.3.- Reacciones con glúcidos

El contenido de glúcidos de la carne es, generalmente, bajo, principalmente en forma de glucógeno o sus metabolitos. Lawrie (1967) estima que el típico músculo de mamífero (después del rigor mortis, pero antes de los cambios degradativos) contiene, sobre peso húmedo, un 0,90% de ácido láctico, 0,17% de glucosa-6-fosfato, 0,10% glucógeno, y 0,01% de glucosa. A veces, se adicionan azúcares durante el proceso de fabricación para proporcionar condiciones reductoras o servir como sustrato

para la fermentación.

Mirna y Coretti (1977) mostraron que el nitrito reacciona con azúcares aminados para dar 2,5-anhidroderivados inestables que se convierten fácilmente en los correspondientes aldehídos. Ellos señalaron que existen cantidades relativamente grandes de glucosamina y galactosamina asociadas con el tejido conectivo y, por tanto, la conversión mediante el nitrito de los azúcares aminados en aldehídos podría tener interés respecto a la pérdida de nitrito.

Cassens y col. (1979) señalan un interés creciente en la reacción de Maillard ya que algunos autores encontraron que durante la misma se forman muchos compuestos heterocíclicos con nitrógeno nitrosable (pirrolidina, tiazolidinas,...) que reaccionan con el nitrito.

2.3.6.4.- Reacciones con iones metálicos

El componente mineral del músculo consiste mayoritariamente en fósforo (a menudo en forma de ésteres), potasio, sodio, magnesio y otros minerales como calcio y cinc, que están presentes en pequeñas concentraciones.

El proceso de curado supone la adición de cloruro sódico con el consiguiente aumento de iones metálicos bivalentes libres (Swift y Berman, 1959; Ando y col., 1973).

Ya en 1943, Gibson mostró que los iones metálicos (Fe^{2+} y Cu^{2+}) ejercían un efecto catalítico sobre la velocidad de reducción de metahemoglobina en presencia de ácido ascórbico. Desde entonces, varios estudios han revelado el efecto potenciador de los iones metálicos sobre la formación del pigmento del color de curado, así, por ejemplo, lo hacen el Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} en presencia de ácido ascórbico (Weiss y col., 1953) y el Fe^{2+} en presencia de cisteína o ácido ascórbico (Sielder y Schweigert, 1959; Reith y Szakaly, 1967).

Se sabe que los iones metálicos afectan al nivel de nitrito residual en la carne curada (Olsman y Krol, 1972; Olsman, 1974; Ando, 1974). Puesto que la carne posee una capacidad reductora endógena (Rose y Peterson, 1953; Walters y Taylor, 1963; Ando y Nagata, 1970), se ha sugerido que la oxidación de nitrito a nitrato ocurre sólo al elevado potencial redox anterior al calentamiento de la carne (Möhler, 1971). Muchos investigadores postularon que el nitrito desaparece a través de un proceso reductor mediado por donadores de electrones como los grupos sulfhidrilo y los iones metálicos traza (Rose y Peterson,

1953; Olsman y Krol, 1972; Olsman, 1974).

Ando (1974) estudió el efecto de varios iones metálicos sobre la descomposición del nitrito y, en ausencia de ascorbato, sólo el Fe^{2+} causó una pérdida de nitrito, pero en su presencia, el efecto del Fe^{2+} fue más pronunciado y el Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} y Zn^{2+} mostraron efectos similares. Lee y col. (1981) utilizaron un sistema cárnico con un 2% de NaCl y 156 ppm de NaNO_2 para estudiar el efecto de varios iones metálicos sobre el nitrito residual. Encontraron que Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} causaban una disminución del nitrito mientras Ca^{2+} y Mg^{2+} no tuvieron ningún efecto.

2.3.6.5.- Formación de nitrato a partir de nitrito

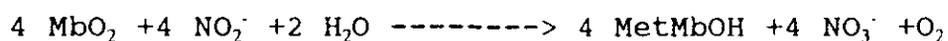
La formación de nitrato en los productos cárnicos tratados sólomente con nitrito ha sido señalada frecuentemente. Möhler (1971) encontró que alrededor del 20% del nitrito adicionado a un producto curado de vacuno se convertía en nitrato en dos horas, antes del calentamiento, después del cual se producía pequeña formación de nitrato. Herring (1973) señaló que el 30% del nitrito añadido a bacon se convertía en nitrato en menos de una semana y la conversión continuaba hasta alcanzar un nivel de alrededor del 40% del nitrito añadido a las 10

semanas del almacenamiento.

Newmark y col. (1974) sugirieron que el ascorbato sódico juega un papel en la formación de nitrato a partir de nitrito en bacon. También en este producto, concretamente en el tejido adiposo, se ha observado una producción de nitrato concomitante con una disminución del nitrito dosificado; aproximadamente el 8% del nitrito añadido es transformado en dos semanas (Goutefongea y col., 1977).

Lee y col. (1978) también encontraron en sistemas modelo que cuando el ascorbato y metamioglobina estaban presentes, la mayoría del nitrito añadido se convertía en nitrato. En carnes curadas se formaba un nivel detectable de nitrato en ausencia de ascorbato, pero en su presencia aumentaba dicho nivel.

Möhler (1974) ha propuesto un mecanismo para la formación de nitrato a partir de nitrito. El cree que la primera reacción del nitrito es una oxidación de la mioglobina (Fe II) a metamioglobina (Fe III), con la producción simultánea de nitrato en una reacción autocatalítica. Este autor predijo la siguiente ecuación:



y concluyó que el nitrato adicional podía formarse, además, como resultado de una oxidación secundaria en la que la dismutación del ácido nitroso podría jugar un papel, así como la oxidación del NO.

2.3.6.6.- Formación de gas

El nitrógeno del nitrito puede perderse en un sistema cárnico curado si se forman y liberan gases de nitrógeno. Walters y Taylor (1964) realizaron una incubación anaeróbica de malaxado de músculo fresco de cerdo a pH 6,0 y confirmaron que la formación del gas óxido nítrico dependía de la concentración de nitrito y se reducía por el tratamiento térmico. Los autores concluían que el nitrito podría competir con otros aceptores de electrones del proceso reductor del sistema respiratorio enzimático mamífero. En trabajos posteriores (Woolford y col., 1972; Walters y Casselden, 1973) se demostró que también se producía N_2O y se sugirió que el N_2 era un producto gaseoso minoritario.

Fujimaki y col. (1975) consideran que la formación de gas es la causa de que parte del nitrito desaparezca, y Frouin (1977) aseguraba que podía liberar NO a partir de carne curada mediante vacío parcial o elevado.

Sebranek y col. (1973) consiguieron retener los productos gaseosos formados durante la etapa de picado en cutter al vacío de la carne tratada con nitrito marcado y encontraron NO y N₂, siendo el primero el que se presentaba en mayor concentración. Aunque no pudieron realizar una cuantificación adecuada, sugirieron que ambos gases representaban alrededor del 5% del nitrógeno de nitrito inicialmente adicionado.

2.3.6.7.- Catálisis e inhibición de las reacciones del nitrito

Existen numerosos factores que pueden inhibir o potenciar las reacciones del nitrito. Entre ellos se encuentran el pH, la temperatura, concentración de las sustancias reaccionantes, etc. Pero quizás el objetivo en el que los investigadores han invertido un mayor esfuerzo haya sido tratar de encontrar métodos para inhibir o bloquear la formación de nitrosaminas.

Para Cassens y col. (1979) el método más fácil y directo para controlar las reacciones del nitrito en la carne sería modificar la cantidad de nitrito adicionado, así como controlar las materias primas y las condiciones de procesado.

El concepto de **"nitrito disponible"** es el tema de una publicación de Fan y Tannenbaum (1973). En ella se indica que la concentración de nitrito es de gran importancia ya que la reacción de éste con aminas secundarias depende de la concentración de la amina y del cuadrado de la concentración del nitrito. Señalan, además, que el nitrito que ha reaccionado, en las diferentes vías posibles en un alimento, o el nitrito ligado, deja de estar disponible para la nitrosación de aminas, con la excepción de las reacciones de descomposición o transnitrosación.

Las **propiedades naturales de la carne** ofrecen la posibilidad de controlar el nitrito residual. Por ejemplo, Lee y col. (1976) encontraron que si se utilizaba músculo blanco, el contenido de nitrito residual era menor en el producto curado que si se utilizaba músculo rojo. Atribuyeron este efecto al menor pH encontrado en el músculo blanco.

El **cloruro sódico** empleado en el curado de la carne también influye en las reacciones del nitrito. Sin embargo, las conclusiones encontradas en la bibliografía al respecto son contradictorias. Mientras para unos (Hildrum y col., 1975) la sal activa la nitrosación de prolina en medios fuertemente ácidos y la inhibe en medios neutros ó débilmente ácidos, para otros (Fiddler y col., 1978) no tiene efecto sobre la formación de

dimetilnitrosamina.

Algunos autores encuentran un efecto adverso de la sal sobre la intensidad del color y la formación de nitrosilmioglobina (Reith y Szakaly, 1967), mientras Fujimaki y col. (1975) muestran una potenciación del desarrollo del color. Estos últimos apuntan un incremento del nitrito residual por efecto del NaCl, pero Lee y Cassens (1980) demuestran en bacon y en sistemas modelo que cuanto mayor es el nivel de NaCl, menor el nitrito residual o analizable. Olsman y Krol (1972), por el contrario, no observan ningún efecto de la sal sobre la velocidad de disminución del nitrito durante el almacenamiento de la carne.

Respecto a los **iones metálicos** presentes en la carne, Keefer (1976) considera que los compuestos de hierro pueden actuar atrapando óxido nítrico, y , por tanto, inhibiendo la capacidad de formación de nitrosaminas. Sin embargo, también pueden considerarse como un potencial de nitrosación si se producen cambios en el estado de oxidación o de coordinación.

Uno de los hallazgos más significativos ha sido el del efecto inhibitor del **ascorbato** sobre la formación de nitrosaminas, tanto en sistemas modelo (Mirvish y col., 1972) como en salchichas Frankfurt (Fiddler y col., 1972).

Mirvish y col.(1972), proponen como mecanismo de inhibición del ascorbato, la competición por el nitrito disponible, o para ser precisos, por el N_2O_3 ó $H_2NO_2^+$. El anión ascorbato es nitrosado 240 veces más rápidamente que el ácido ascórbico (pKa 4,29), posiblemente debido a su mayor actividad nucleofílica. A pH entre 3 y 5, donde la proporción del anión es significativa, la reacción con nitrito es tan rápida que la formación de N_2O_3 es factor limitante de la velocidad. Se han realizado numerosos test bajo condiciones comerciales y se ha podido establecer la utilidad del ascorbato para inhibir la formación de nitrosaminas en carnes curadas, hasta el punto de convertirse en un proceso industrial aceptado.

Borensteni (1976) sugirió que las **sales de EDTA** catalizan el efecto reductor del ascorbato.

Pensabene y col. (1976) obtuvieron éxito en el uso de **ascorbil ésteres**, solubles en la fase lipídica, en sistemas modelo. Tanto en éstos (Pensabene y col., 1978) como en cerdo (Fiddler y col., 1978) se ha observado un efecto inhibitor de la nitrosación de pirrolidina con el **α -tocoferol** (dispersable en agua), incluso más eficaz que el del ascorbato.

Mirvish y col. (1975) mostraron que el **ácido gálico**, componente mayoritario de los taninos bloqueaba la

formación de N-nitroso compuestos.

Toda sustancia que compita por el nitrito sería capaz de inhibir la formación de N-nitrosaminas, según indican Gray y Dugan (1975). Los agentes reductores como **cisteína** y **glutathion** y los **grupos funcionales fenólicos** como tocoferol y propilgalato serían capaces de bloquear la nitrosación. Möhler y col. (1975) señalan que también el **exceso de proteínas** presente en el estómago inhibiría la formación de nitrosaminas.

Entre las sustancias que se han encontrado capaces de catalizar la reacción entre el nitrito y las aminas secundarias para formar nitrosaminas, varios autores señalan al **tiocianato** (Boyland y col., 1971; Fan y Tannenbaum, 1973; Boyland y Walker, 1975). Este es un constituyente normal de la saliva humana y es más abundante en fumadores que en no fumadores.

Otra posibilidad es la encontrada por Roller y col. (1979), los cuales indican que los **disolventes halocarbonados** reaccionan con aminas secundarias disueltas en ellos para dar intermediarios que, en presencia de nitrito insoluble, forman N-nitroso compuestos.

Nagata y Ando (1972) encontraron que la **nicotinamida** en presencia de ascorbato sódico promovía no sólo la

descomposición del nitrito, sino también la formación de óxido nítrico a partir de él.

Los trabajos de Kim y col. (1981) y de Archer (1984) revisan la química de la inhibición por vitamina C y de la catálisis e inhibición en general, respectivamente.

2.4.- PRODUCTOS CARNICOS TRATADOS POR EL CALOR

Se denomina "productos cárnicos tratados por el calor" a todo producto preparado esencialmente con carnes y/o despojos comestibles de una o varias de las especies animales de abasto, aves y caza autorizadas, que se han sometido en su fabricación a la acción del calor, alcanzando en su punto crítico una temperatura suficiente para lograr la coagulación total o parcial de sus proteínas cárnicas y, opcionalmente, a ahumado y/o maduración (Presidencia del Gobierno, 1981).

Esta definición engloba a una amplia gama de productos cárnicos cuya Norma Genérica de Calidad clasifica en nueve grupos, atendiendo fundamentalmente a la conservación o no de una cierta integridad anatómica (jamón cocido o productos picados, respectivamente), o al tipo de ingrediente caracterizante.

Las salchichas tipo Frankfurt, objeto de este estudio, se encuadran en el cuarto grupo de la clasificación: " Lo integran los productos cárnicos tratados por el calor y **picados**, fabricados con carne y grasa, embutidos en tripa natural o artificial, pudiendo ser quitada la tripa después de la cocción y con un calibre máximo de 45 milímetros de diámetro". La denominación de estos productos será "salchicha cocida", pudiendo llevar a continuación el tipo de salchicha.

Los productos cárnicos picados están constituidos principalmente de **músculo** y **tejido adiposo**, y una de sus características más destacadas es su elevado contenido en lípidos. A estos constituyentes principales se les agrega **sal** y **agua** y otros ingredientes y aditivos, que difieren según sea el tipo de producto que se vaya a elaborar.

La trituración o picado precede siempre a la aplicación del tratamiento por el calor. A consecuencia del picado, el tejido muscular y el adiposo quedan transformados en pasta, más o menos fina, pudiéndose establecer entre los constituyentes lipídicos y proteicos interacciones que confieren cierta estructura a la pasta. Para conseguir esto se aprovechan las propiedades funcionales de lípidos y proteínas (Girard y Calderón, 1983).

El sabor de estos productos se debe tanto a las modificaciones químicas y bioquímicas que experimentan los constituyentes durante la elaboración como a las interacciones entre ellos. Ricos en grasa y proteínas, su valor nutritivo se ve incrementado por su elevado grado de división, que aumenta su digestibilidad.

Entre los productos cárnicos picados, las pastas finas o emulsiones cárnicas, base para la elaboración de las salchichas Frankfurt, son los que poseen el más elevado grado de fragmentación de la materia prima.

López y Carballo (1991) describen la pasta fina como una emulsión de aceite en agua, donde las proteínas son los emulgentes y señalan dos parámetros que definen a esta emulsión: La capacidad de emulsión, cuyos principales responsables son las proteínas miofibrilares, y la estabilidad de emulsión. Para Hammer (1992), sin embargo, la masa del embutido escaldado no debería ser considerada como una emulsión, sino que se podría representar como una suspensión, o sea, una distribución de partículas sólidas (grasa) en una fase líquida (principalmente agua) en la que existe una pequeña proporción también de grasa emulsionada.

2.4.1.- Tecnología de la elaboración de los embutidos escaldados

Describiremos el proceso general de elaboración de las pastas finas, haciendo especial hincapié en las consideraciones referentes a salchichas cocidas tipo Frankfurt.

2.4.1.1.- Operación de picado y mezclado

La maquinaria utilizada generalmente para realizar el picado o triturado de la carne y grasa, así como su mezcla entre sí, con el agua y con otros ingredientes y aditivos es la denominada cutter. Consiste en una artesa circular que gira en torno a un eje vertical, en cuyo interior se encuentra un juego de cuchillas, montadas sobre un eje horizontal, que gira a gran velocidad. El número de cuchillas puede variar entre dos y doce, así como su forma y orden de montaje sobre el eje; su velocidad de rotación se sitúa entre 1.500 y 6.000 r.p.m. La mayor parte de las cutters pueden trabajar a dos o tres velocidades; otros modelos, más desarrollados, están provistos de un regulador continuo de velocidad o están dispuestos para el trabajo a vacío o cuentan con una cúpula anti-ruido. La capacidad de las cutters más pequeñas es de 60 litros y para grandes producciones se

utilizan equipos de hasta 1.200 litros.

Actualmente existen otros equipos, diseñados con fines específicos, como el conseguir un elevado grado de triturado, entre los cuales podemos citar las micropicadoras, el molino coloidal y el turbo molino KS (Karl Schnell).

Existen diferentes procesos para elaborar la pasta fina. El más antiguo y clásico es el siguiente: Se coloca el magro en la artesa de la cutter, se agrega la sal y se somete el conjunto a una primera fase de trituración para destruir las paredes celulares del tejido muscular, con la consiguiente liberación de proteínas solubles. A continuación se añade el agua, que en su totalidad o en parte puede ser en forma de hielo, a temperaturas comprendidas entre 0 y -10°C, con el propósito de disminuir la temperatura final de la mezcla. Cuando aquella es absorbida por la carne, se obtiene una pasta magra, la cual carece de estructura bien consolidada. Una vez obtenida la pasta magra, se agrega la grasa, previamente picada y refrigerada y se continúa la acción de la cutter hasta obtener una mezcla homogénea.

Existen numerosas variantes del proceso descrito, según los tipos de producto que se desea obtener y los usos y costumbres de cada región.

En la elaboración de la pasta fina puede utilizarse carne fresca, congelada o presalada congelada. El presalado-congelado permite mantener el poder de retención de agua que tiene la carne en pre-rigor. Si se emplea carne que se ha congelado durante el pre-rigor, con o sin presalado, debe de ser triturada sin descongelar, dado que su descongelación aceleraría considerablemente la formación de ácido láctico y la degradación del ATP (rigor a descongelación), con la consiguiente pérdida del poder de retención de agua (Hamm, 1973).

La grasa puede ser añadida a la cutter triturada o en estado de emulsión. Esta emulsión se prepara, por separado, con grasa, lactoproteína y agua hirviendo. incorporadas por este orden a una cutter. Al final de la trituración (5 a 7 minutos) se añade del 1,5 al 2,0% de sal. Durante la operación, la temperatura no debe bajar de 45°C, obteniéndose así la denominada "emulsión caliente", materia prima para la fabricación de la pasta fina. El empleo de esta emulsión tiene la ventaja de que, modificando la proporción o las características de la lactoproteína utilizada, se puede actuar sobre la viscosidad de la pasta obtenida, con lo que se consigue controlar mejor la calidad del producto final y aumentar los rendimientos.

La presencia de aire durante la operación del

triturado puede provocar modificaciones en la materia prima utilizada, que inciden desfavorablemente sobre el color, sabor y consistencia del producto final. Para evitar estas alteraciones se dispone de cutters provistas de cámara de vacío. Girard y Renerre (1983) demostraron que el triturado a vacío mejora el color del producto porque se reduce la formación de metamioglobina, de color marrón oscuro, y se incrementa la del nitrosopigmento de color rosa, propio de los productos curados cocidos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Klettner y Ambrosiadis (1980), quienes, por otra parte, detectaron un efecto muy desfavorable sobre el sabor (enranciamiento) producido por el aire ocluido en pastas que se prepararon bajo presión parcial de nitrógeno o de dióxido de carbono, sin que este efecto se produjera en pastas testigo, elaboradas al ambiente.

En cuanto al efecto del vacío sobre la consistencia del producto final, varios autores (Wirth, 1973a y b; Reichert y Holl, 1974; Klettner y Ambrosiadis, 1980), han constatado que el triturado bajo vacío mejora la consistencia. Además, da lugar a un incremento del peso específico de la pasta (Gandemer y col., 1982), efecto que puede incidir negativamente en la aceptación por parte del consumidor, quien por un peso y precio dado adquiere menos volumen de producto comercial.

Las técnicas de picado y mezclado descritas presentan el inconveniente de no permitir un control adecuado de la composición del producto final a consecuencia de la variabilidad de la composición de la materia prima, concretamente en lo referente al contenido de grasa extra e intramuscular de la carne magra y al contenido de agua y tejido conjuntivo aportado por la grasa. Para solventar este problema, en las modernas instalaciones de gran capacidad, se utilizan las líneas de "preblending" y "blending", en las que se realiza un mezclado previo de la pasta magra, por una parte, y la grasa, por otra, pasando a continuación por una estación de dosificado, para continuar con la etapa de mezcla final, en la que se estructura la pasta fina (Frentz y Migaud, 1976). Un control continuo de la composición de la materia prima al inicio de la línea de fabricación y de la dosificación a la salida de los premezcladores permite obtener una pasta final de composición uniforme.

2.4.1.2.- Embutido

La pasta o masa cruda es un producto intermedio que a través del tratamiento por calor adquiere las características del producto final (embutido escaldado). Para este proceso de calentamiento, la masa, que es pastosa, viscosa y posee capacidad para fluir, requiere

una envoltura protectora. En la mayoría de los embutidos escaldados se emplean tripas; la tripa otorga al embutido la forma y la estabilidad definitiva (Müller, 1992). Antes se empleaban solamente tripas obtenidas del sacrificio de los animales, hoy en cambio se utilizan fundamentalmente tripas artificiales.

Cuando a finales del siglo XIX se crearon máquinas para el procesado de la carne, que sustituían al hombre en la elaboración manual de la masa, se cambiaron los hábitos de consumo de carne por el consumo de embutidos. Esto trajo consigo que las tripas naturales resultaran insuficientes para las necesidades de las fábricas de embutidos. Así es que se trató por un lado de cubrir la falta de tripas naturales mediante la importación y por el otro crear quien las reemplazara (tripa artificial). Ya que Alemania, durante la 1ª Guerra Mundial no podía importar, se favoreció la investigación para conseguir tripas artificiales, perfeccionándose así la envoltura alternativa con qué embutir.

Las tripas artificiales que se ofrecen hoy no presentan ninguna desventaja con respecto a las tripas naturales e incluso frente a determinados requisitos pueden llegar a superarlas. Se elaboran a partir de productos naturales regenerados, como por ejemplo de la celulosa y del colágeno de pieles de vacunos, y también a

partir de material sintético a base de materias primas petroquímicas: Poliamida, copolímero PVDC, etanodiol éster del ácido politereftálico (poliéster), polietileno y polipropileno.

El embutido se puede realizar a mano (llenando y atando) o mecánicamente, con variantes específicas según la especialidad. Para salchichas escaldadas de pequeño calibre se emplean tripas desprendibles de hidrato de celulosa, y para ser consumidas tripas de colágeno reconstituído elaboradas a partir de la piel de vacuno.

En algunos casos se puede prescindir del embutido, para lo que se le da forma a la pasta en moldes adecuados; la forma se mantiene por la coagulación provocada por una corriente eléctrica.

2.4.1.3.- Tratamiento por el calor

El tratamiento por calor se aplica en los embutidos para consolidar la coagulación de la estructura proteica característica del embutido escaldado, para eliminar los microorganismos, inactivar las enzimas y obtener las características sensoriales deseadas (color, sabor, consistencia).

La coagulación de las proteínas miofibrilares estructurales (solubles en sal) comienza aproximadamente a los 40°C y finaliza aproximadamente a los 60°C. Por el contrario, las proteínas sarcoplasmáticas hidrosolubles, a unos 50°C, están en gran parte disueltas e incluso a 70°C no están totalmente desnaturalizadas. La desnaturalización térmica del pigmento muscular mioglobina comienza también a los 65°C. Con la desnaturalización de la proteína cárnica se construye una trama estable que fija en su malla partículas de grasa y agua. Por lo tanto, para la formación de una estructura proteica adecuada se requiere una temperatura de calentamiento de por lo menos 65°C y mejor aún de 70°C.

La inactivación de las enzimas propias de la carne tiene lugar, salvo algunas excepciones, a temperaturas de 60 a 75°C.

El calor modifica al producto también en sus características sensoriales y nutritivas. El grado de estas modificaciones depende de diversos factores, por ejemplo, calidad de la materia prima, tipo y formato de la tripa o envase, efecto del tratamiento calorífico (temperatura, tiempo) y proceso de calentamiento.

Finalmente, y sobre todo, el tratamiento provoca la eliminación de los microorganismos; el efecto alcanzado en

esta eliminación determina en gran medida la conservabilidad del producto (Stiebing, 1992).

Con la operación de **cocción-ahumado en estufa** se consigue la estabilización bacteriana del producto, a la vez que éste adquiere su color típico en el interior y en el exterior y el sabor y aroma propios del producto ahumado (Girard y Calderón, 1983).

Para esta operación se recomienda un calentamiento escalonado para evitar que las proteínas del estroma se contraigan y formen grietas, que dejan escapar los jugos. Se pueden distinguir dos grandes etapas (Girard, 1991). La primera se desarrolla de forma que se obtenga en el corazón del producto una temperatura próxima a los 54-55°C. En esta etapa, el grado higrométrico es elevado de forma que se faciliten las transferencias de calor hacia el producto charcutero.

La cocción del producto y la estabilización bacteriana se efectúan en la segunda etapa de subida de la temperatura. Además, según los autores alemanes (Wirth, 1973a), el tratamiento progresivo permite limitar las pérdidas de grasa y de agua en el momento de la cocción.

En pequeñas instalaciones, la **cocción** se suele realizar **en agua**, que puede ser salada y coloreada,

durante unos minutos (8 a 10, para salchichas de Frankfurt) a 75°C (Amo Visier, 1980).

2.4.1.4.- Ahumado

El recurso del ahumado es el medio más antiguo de conservación de la carne utilizado por el hombre. Poco tiempo después del descubrimiento del fuego y, observando que en la zona del humo no había moscas, el hombre colgó allí los trozos del producto de su caza y comprobó que se conservaban mejor y adquirirían un sabor particular y agradable (Durand y col., 1988).

En el norte de Europa, junto con el salado y secado, es uno de los procedimientos más antiguos para conservar los alimentos. La técnica del ahumado se mantuvo inalterable a través de los siglos. Por lo general, el embutido para ser ahumado era colgado en el interior de torres de mampostería o cámaras, a continuación se encendía en el piso de la cámara el material generador de humo. Para obtener mayores temperaturas (ahumado caliente) se quemaba madera. Posteriormente se efectuó también el calentamiento mediante gas, electricidad o mediante intercambiadores de calor con vapor. El aumento de los establecimientos de producción junto con las necesidades de los elaboradores de productos cárnicos, originaron la

automatización y estandarización así como también un acortamiento del procesado de nuevos productos en condiciones de ahumado. Este desarrollo tuvo lugar fundamentalmente en los últimos 30 años y se ha perfeccionado en los pasados 10 años por la necesidad de limitar el contenido de hidrocarburos policíclicos aromáticos perjudiciales para la salud.

De acuerdo con Müller (1992), hoy en el ahumado de embutidos escaldados no es la conservación el aspecto más importante, sino la aromatización, el olor a humo y , en parte, el aumento de la firmeza (endurecimiento) de las tripas naturales y de colágeno, como también la activación para la formación de la piel propia en el caso de salchichas sin piel. Este aumento de la firmeza (provocado por determinadas sustancias componentes del humo) es apreciado sobre todo en la elaboración de salchichas en lata, mientras que para salchichas como producto fresco puede provocar una dureza de la tripa indeseable.

La conservabilidad de los embutidos escaldados tiene lugar a través de un tratamiento por calor, el cual, unido a un almacenamiento en refrigeración otorga una determinada conservación al embutido. En los embutidos escaldados ahumados, envasados en tripas naturales o de colágeno reconstituído, las sustancias bacteriostáticas o bactericidas del ahumado retardan la formación de la

untuosidad superficial de la tripa.

2.4.1.4.1.- Tratamiento por los aromas de humos o condensados

Esta tecnología está basada en la obtención, a partir del humo producido por un generador clásico, de un aroma natural de humo merced a diversas técnicas (Girard, 1991):

- Condensación en un condensador a frío.
- Dilución del humo en un circuito de agua.
- Condensación de las partículas sólidas del aerosol en un campo electrostático.

Se distingue del proceso tradicional en el sentido de que, por motivos esencialmente higiénicos, el producto no se somete directamente a la acción del humo y que, por razones prácticas, el tratamiento final por el aroma del humo, no sigue forzosamente a la fase de producción del humo.

Los aromas de humo se comercializan bajo diferentes formas:

- En estado de soluciones acuosas o hidroalcohólicas, en titulaciones del 2 al 10% de extracto activo de humo recogido y purificado.

- Bajo la forma de solución del 3 al 5% en vinagre.

- En estado pulverulento sobre soporte de sal, de especias o de goma arábiga de 0,2 a 5%.

Las modalidades de utilización de los condensados de humo son igualmente diversos. Pueden aplicarse mediante la adición directa a la masa en la cutter (salchichas tipo Frankfurt), por inmersión del producto en una solución de aroma de humo, mediante inyección, pulverización o atomización. Esta última técnica, de aplicación más reciente, permite lograr resultados excelentes, tanto desde el punto de vista del gusto como sobre el de la coloración.

La composición química de las soluciones de humo líquido es muy compleja y la presencia o ausencia de ciertos compuestos químicos depende de la temperatura de combustión de la madera, de la humedad relativa, de la circulación de aire en el curso de la combustión.

Los principales componentes de estos aromas son los ácidos, fenoles, carbonilos y alcoholes. Se han podido

identificar por cromatografía 34 componentes, pero se han encontrado al menos 50. Los principales ácidos identificados son el ácido fórmico, acético, propiónico, vanílico y siríngico. En general, el contenido en fenol de los aromas es de 6 mg/ml pero varía en función del pH .

Esquema nº5.- Importancia tecnológica de los diferentes componentes del humo (Según Durand y col., 1988).

Modo de acción	Tipos de compuestos
1º/ Sobre la conservación:	
a/Acción antimicrobiana	Aldehidos(formaldehido) Acidos(acético,fórmico) Fenoles
b/Acción antioxidante	Fenoles, fenol-aldehídos y ácidos.
2º/ Sobre los caracteres organolépticos:	
a/Aroma:	Fenoles(guayacol, siringol) Compuestos carbonílicos Lactonas
b/Color:	Compuestos carbonílicos fenolaldehidos
c/Textura de la tripa:	Aldehídos(formaldehido)

Acción bacteriostática.- En la acción bacteriostática directa del ahumado participan, además del formaldehído, numerosas sustancias, especialmente algunas fracciones fenólicas. La presencia de ácidos puede reforzar también esta acción indirectamente. Del mismo modo que para las otras actividades (aroma y color), la densidad del humo, su composición, su temperatura y el tiempo de acción son preponderantes.

Acción antioxidante.- Durante el ahumado los productos fijan unos compuestos de marcada acción antioxidante, en particular los fenoles (siringol). Esta acción es, evidentemente, digna de interés ya que favorece la conservación.

Aroma.- Si los compuestos fenólicos son de primera importancia, parece que ellos solos no pueden conferir un aroma satisfactorio a los productos y que la presencia de compuestos carbonílicos, de lactonas y de furanos les complementa armoniosamente. Parece, sin embargo, que los compuestos del humo no sean más que precursores de los aromas. Se puede pensar que intervienen en numerosas reacciones favorecidas notablemente por el calor y que tienen lugar entre otros compuestos carbonílicos; las funciones aminas de las proteínas conducen así a reacciones semejantes a las de Maillard.

Color.- El medio reductor y ácido que constituye el humo favorece la transformación del nitrito en ácido nitroso y como consecuencia la formación de la nitrosomioglobina roja. Sin embargo, la coloración característica de los productos ahumados está asociada a otras reacciones, especialmente a las de los grupos NH_2 proteicos con el aldehído glicólico, el gioxal, el metilgloxal y el formaldehído: Los aldehídos parecen, en efecto, más activos que otros compuestos carbonílicos. Sin embargo, los compuestos fenólicos, no parecen tener un papel muy importante puesto que están difundidos en la fase lipídica y no reaccionan con los grupos NH_2 de las proteínas. Sí lo hacen, sin embargo, con los compuestos carbonílicos para formar unas sustancias resinosas que confieren un aspecto brillante al producto.

2.4.2.- Materias primas o componentes de las salchichas tipo Frankfurt

En la elaboración de salchichas tipo Frankfurt se utilizan unas primeras materias , carne y grasa, que son esenciales para la preparación de la pasta, y otras materias cuyos efectos y propiedades tienen una gran importancia para el tecnólogo, como son la sal, el agua, especias, polifosfatos, etc. También se utilizan aditivos nitrificantes, a los que hemos dedicado especial atención

en los apartados anteriores, y sustancias coadyuvantes del curado.

A continuación vamos a realizar un estudio de los principales ingredientes que entran a formar parte de la composición general de los embutidos escaldados y de las salchichas tipo Fankfurt, en particular.

2.4.2.1.- **Carne**

Todos los procedimientos tecnológicos de fabricación de productos cárnicos están influenciados por la capacidad de retención de agua (CRA) de la carne. En los productos cárnicos cocidos a base de pastas finas, interesa que la materia prima tenga una elevada CRA. Por ello, aunque tradicionalmente para la elaboración de embutidos escaldados se utiliza la carne de porcino, hoy existe una tendencia a introducir entre sus ingredientes carne de vacuno, la cual posee mayor CRA y comunica al embutido mejor color (López y Carballo, 1991).

Los numerosos estudios realizados, principalmente aplicando la técnica de la resonancia magnética nuclear (RMN), demuestran que las proteínas miofibrilares son las responsables directas de la retención de agua por el músculo (Fennema, 1977). El conocimiento de las

propiedades funcionales de las proteínas miofibrilares (capacidad de retención de agua, de emulsión de grasa y de gelificación) ha sido la base del desarrollo de la industria cárnica moderna. Ésta utiliza, además, otras proteínas de origen vegetal, como las de soja, o de origen animal, como los caseinatos, cuyas propiedades funcionales permiten compensar la pérdida de funcionalidad de los productos con bajo contenido de carne. (Flores y Bermell, 1984).

La cantidad de agua inmovilizada dentro del tejido muscular depende de la disposición de los filamentos de actina y miosina. El entramado proteico está constituido por una red tridimensional de filamentos delgados y gruesos dentro de la unidad de la fibra muscular. Cuando decrece la cohesión entre los filamentos de actina y miosina, la longitud del sarcómero aumenta, lo cual facilita una mayor retención de agua. En cambio, cuando este entramado es muy denso, por efecto del solapamiento de los filamentos, la longitud del sarcómero disminuye y, como consecuencia, queda muy poco espacio para albergar a las moléculas de agua. En esta distensión y acortamiento del sarcómero intervienen tanto la carga eléctrica de las proteínas como la presencia de ATP que impide la unión de los filamentos de actina y miosina.

En definitiva, todos los factores que afectan a las

proteínas miofibrilares tienen una influencia importante sobre la CRA de la carne. Entre ellos merecen citarse el pH, los cambios post-mortem y, como veremos más adelante, el efecto de determinadas sales (cloruro sódico y fosfatos).

2.4.2.2.- Grasa

Se utiliza, generalmente, grasa de porcino porque tiene un punto de fusión (24°C) inferior a la de vacuno (32°C), es mucho más maleable y comunica un aroma y sabor más agradable.

Existen estudios sobre la composición de ácidos grasos y su capacidad para ser emulsionados. Los ácidos grasos de cadena corta son mucho más emulsionables que los de cadena larga, también lo son más los ácidos grasos insaturados. El último factor que influye en la capacidad de emulsión es la cantidad de grasa libre, pero no está aún esclarecido cómo actúa. Parece ser deseable que se formen, por lipólisis, mono y diglicéridos que tienen carácter emulgente (López y Carballo, 1991).

La grasa se puede añadir cruda o previamente escaldada para desnaturalizar el tejido conjuntivo y favorecer su manejo. Otro ingrediente que se ha empleado

en ocasiones es la corteza de cerdo que previamente se somete a un triturado muy fino en molinos coloidales.

2.4.2.3.- Agua

El agua es uno de los ingredientes mayoritarios en la composición de los embutidos escaldados. Hammer (1992) le atribuye dos efectos importantes,

-Efecto disolvente: La capacidad para ligar el agua y grasa de la masa del embutido escaldado está condicionada por el gel que forman las proteínas de la célula muscular tras añadir agua y sal a la masa. Estas proteínas son solubles en agua (proteínas sarcoplasmáticas) y en sal y se liberan durante el proceso de picado. Las proteínas que tienen importancia en la ligazón de grasa y agua son las solubles en sal. Para lograr su solubilización o imbibición es necesario, además de la sal, una suficiente cantidad adicionada de agua. La óptima capacidad para la ligazón de agua y grasa de la masa se manifiesta con la adición de un 100 a 120% de agua a la carne magra; si la cantidad de agua es mayor o menor, la capacidad disminuye. Por lo tanto, al embutido escaldado se le debe agregar agua si se quieren evitar fallos en la producción provocados por la separación de gelatina y grasa. Dicha separación hace que los productos pierdan aroma, sean

desabridos y no presenten la característica consistencia al morderlos.

-Efecto regulador de la temperatura: El grado de picado de la carne magra determina la cantidad de proteínas de la célula disueltas en la masa, la distribución de aquellas y, por consiguiente, la estabilidad de la masa. El picado fino origina, dentro de cierto límite, una mejor distribución de las proteínas estructurales (éstas no son solamente las proteínas miofibrilares sino también las del tejido conectivo) y una mejor estabilización, pero provoca simultáneamente, debido a la acción de las cuchillas, un efecto mecánico más pronunciado y una mayor elevación de la temperatura que en el picado menos enérgico. Así se puede producir, en mayor o menor medida, una desnaturalización proteica por acción del calor. Por esta desnaturalización se pierde la facultad para la fijación de agua y estabilización de la grasa.

También es importante la temperatura ambiente. En los ambientes no climatizados se origina un calentamiento muy rápido de la masa cuando las temperaturas son elevadas. Cuando se presentan temperaturas ambientales bajas se ha observado que la masa magra no se homogeneiza con el agregado de tocino pues en ese caso el aire actúa como refrigerante. Para conservar una óptima temperatura de picado se emplea como regulador de la misma el hielo o

agua , de acuerdo con la situación térmica.

En la Norma Genérica de Calidad para productos cárnicos tratados por el calor (Presidencia del Gobierno, 1981) se especifica que "el agua utilizada en el proceso de fabricación y limpieza de utensilios y maquinaria que estén en contacto con los productos será potable desde los puntos de vista físico, químico y bacteriológico".

2.4.2.4.- Sal

Es el aditivo más antiguamente conocido y desempeña múltiples funciones,

-Papel bacteriostático: La sal común no es un agente antiséptico propiamente dicho, aunque sí frena y detiene el crecimiento de la mayoría de las bacterias, cuando se utiliza a concentraciones suficientes. Se considera generalmente que a la concentración del 10% inhibe el crecimiento de numerosos microorganismos, mientras que a la concentración del 5%, su acción no se hace sentir más que sobre los anaerobios. Antiguamente, se conservaba la carne durante plazos bastante largos con concentraciones de sal del 7 al 8%. Hoy día, la evolución del gusto de los consumidores ha hecho bajar las dosis utilizables por debajo del 3%, lo que ha hecho obligatorio el tener que

recurrir a algún otro procedimiento, frío, por ejemplo, para completar la acción bacteriostática de la sal (Goutefongea, 1991).

De hecho, la acción de la sal está en relación con su concentración en la fase acuosa o concentración de la salmuera en el producto (Hammer, 1992), que influye sobre la actividad de agua (a_w) en el producto. El valor a_w nos brinda información sobre las especies microbianas con posibilidades de crecer en el producto examinado. Incluso dentro de una misma especie la tolerancia a la sal varía, como en el caso del Clostridium botulinum cuyos límites para el tipo B y E, respectivamente, son de a_w 0,94 y 0,97 (Sinell, 1981). En general, para lograr una estabilidad microbiológica es deseable un bajo valor de a_w .

No obstante, en la elaboración de productos cárnicos se choca rápidamente con las limitaciones tecnológicas y sensoriales. En embutidos escaldados no se puede reducir discrecionalmente el contenido de agua porque se requiere la adición de ella. No es posible aumentar la dosis de sal por encima del límite indicado sin que se origine un marcado sabor a salado. Por tanto, su combinación con otros agentes es imprescindible para que dichos productos conserven su estabilidad.

-Efecto sobre el sabor: La sal común es la única sustancia que disuelta en agua provoca un sabor salado puro sobre la lengua, por lo que el valor de su índice de sabor se considera igual a 1 (Guyton, 1984).

Los embutidos escaldados, en general, poseen 1,6 a 2,2% de sal común. Las variaciones en un 10% en el contenido de sal, por ejemplo de 2,0 a 2,2% originan una modificación detectable en la intensidad del sabor salado (Hammer, 1992). Es preciso señalar que la formación de un complejo con las proteínas, complejo estable al frío pero que se destruye por el calentamiento, no deja más que una parte de sal, la parte libre, para producir este gusto salado. Esto explica que con un mismo contenido en sal, un producto crudo parece menos salado que cuando está cocido (Goutefongea, 1991).

La sal común, además del efecto directo de "salado" sobre los nervios gustativos de la lengua, tiene una influencia adicional sobre el aroma del producto. En cantidades tales que no provoque un excesivo sabor a salado, la sal permite que en el embutido escaldado se destaque mejor el aroma propio de la carne, formándose, en combinación con las especias, un aroma armónico en el producto. Para ello se requiere una dosificación de sal superior al 1,4% (Hammer, 1992).

-Acción sobre las proteínas: Las sales influyen sobre la hidratación, o sea, la imbibición de la proteína. Mediante el aumento de la fuerza iónica, la sal aumenta la solubilidad de las proteínas musculares (Saffle y Galbreath, 1964), favoreciéndose así la manifestación de sus propiedades tecnológicas (poder emulsificante, ligante, etc.).

La concentración de sal en la que las proteínas cárnicas solubles en sal presentan una imbibición máxima y en la que la pasta o masa magra posee su máxima capacidad de fijación de agua, es de un 5% de sal común en relación al peso de la masa magra. El efecto del cloruro sódico sobre la CRA de la carne depende del pH de la misma (Flores y Bermell, 1984). A valores de pH por encima de 5,0, es decir, del punto isoeléctrico (PI) , el cloruro sódico incrementa notablemente la CRA, mientras que a valores inferiores sucede todo lo contrario. En este fenómeno parece ser que juegan un papel importante los iones cloruro, que ejercen una interacción más fuerte con las proteínas que los iones sodio (Offer y Trinick, 1983). Según Hamm (1982), los iones cloruro, por encima del PI debilitan las uniones entre los grupos de signo contrario de las cadenas proteicas y llegan a interaccionar con los grupos cargados positivamente. Esto lleva consigo un aumento de la carga eléctrica negativa de las moléculas que se repelen entre sí, relajándose la estructura

proteica y aumentando la CRA. A valores de pH por debajo del PI, los iones cloruro neutralizan las cargas positivas de las proteínas de manera que, al disminuir la repulsión entre ellas, se produce una contracción de la estructura proteica que origina una pérdida de la CRA.

-Acción sobre las grasas: La sal favorece la oxidación y el enranciamiento de las grasas, lo que constituye un efecto negativo.

2.4.2.5.- Especies

Las especias son partes de ciertas plantas que por su contenido natural en sustancias saborizantes y aromatizantes están indicadas como ingredientes para condimentar o potenciar el sabor, y deben ser adecuadas para el consumo.

Las especias no sólo actúan aportando sabor. También actúan de manera positiva sobre la digestión y además de otros efectos sobre el funcionamiento fisiológico del hombre. No son pocas las que inhiben el desarrollo de microorganismos y el enranciamiento. También se les adjudica un aumento en la capacidad para la fijación de agua. Todas estas acciones dependen de la dosificación de

las mismas. Aparte del efecto de condimentación en la elaboración de embutidos escaldados no es posible aplicar ninguno de los otros efectos sin que el producto exceda en dicha condimentación (Hammer, 1992).

En la formación de la impresión del sabor, además de la sensación que tiene lugar en la cavidad bucal, contribuye una sensación olfativa que es el aroma. Las sustancias que intervienen principalmente en la formación de la impresión del aroma son los aceites esenciales.

El contenido de compuestos que otorgan el aroma y el sabor de las especias varía según su procedencia geográfica, las condiciones de crecimiento, los factores climáticos, cuidados, época de cosecha, almacenamiento y condiciones de transporte. Es posible que en los embutidos escaldados tras el procesado para mezclar especias de igual composición porcentual, aparezcan casos en que los productos presenten diferente sabor, dado que las especias pueden tener diferente procedencia o haber estado almacenadas durante tiempos distintos.

También durante el calentamiento de los embutidos escaldados se pueden producir modificaciones en la intensidad del aroma de las especias. Algunos de estos cambios se basan en la disminución en los aceites esenciales de los componentes de bajo punto de ebullición,

los que por el efecto catalítico de los iones de metal se unen formando productos del tipo de la resina. Éstos, desde el punto de vista sensorial, pueden tener un efecto neutro o perjudicial o pueden otorgar nuevos componentes gustativos.

Las especias naturales y algunos extractos de especias contienen pigmentos que pueden originar en el corte del embutido coloraciones puntiformes o superficiales.

En síntesis, se puede afirmar que con el empleo de especias naturales se debe contar con las diferencias en el contenido de sustancias activas que originan, en el embutido escaldado, un efecto de diferente intensidad, una modificación del sabor y diferencias en el color.

En la Norma Genérica de Calidad para productos cárnicos tratados por el calor (Presidencia del Gobierno, 1981) se especifica que "los condimentos, especias y aditivos deberán reunir las condiciones higiénico-sanitarias necesarias para evitar contaminaciones en el producto a que van destinados. Se almacenarán en condiciones tales que se evite su alteración y/o contaminación".

2.4.2.6.- Coadyuvantes para el procesado con la cutter:

Polifosfatos

Los polifosfatos y las sales neutras de distintos ácidos (citratos, lactatos, acetatos y tartratos) son coadyuvantes para el procesado con la cutter, dado que favorecen el efecto de imbibición de la sal común sobre la carne magra durante dicho procesado. Sin embargo, el mecanismo de acción de ambos tipos de coadyuvantes es diferente.

Hammer (1992) señala que los difosfatos poseen un efecto específico sobre la actomiosina, originando la separación en actina y miosina. Este es el efecto del ATP en la "carne caliente" y en el músculo vivo. Si en la masa se encuentra, además del agua, como disolvente, la sal común y simultáneamente el difosfato, entonces se eleva notablemente la imbibición de las proteínas miofibrilares porque las mismas son divididas en actina y miosina.

El citrato, lactato, acetato y tartrato por el contrario, ayudan a la imbibición proteica por una elevación en la intensidad iónica de la masa. Este es el mismo efecto inespecífico que provoca la adición de sal común.

La familia de los polifosfatos (E-450) que cubre una

gama bastante amplia de productos es, a la que, después de la pareja nitrato-nitrito, los profesionales de la charcutería-salazón están más ligados. (Durand y col., 1988).

El estudio de su utilización comenzó en los años 1950 en Alemania (Ellerkamp y Hannerland, 1952) y en 1954, Bendall publicaba sus primeros resultados sobre la comparación de los efectos de los diferentes polifosfatos sobre el rendimiento a la cocción. Posteriormente, se han realizado numerosos trabajos, entre ellos el de Hamm (1972), y se ha llegado a comprender su modo de acción, que es la resultante de varios fenómenos:

-Acción sobre el pH: El punto isoeléctrico de las proteínas constituyentes de las carnes utilizadas en charcutería se sitúa entre 5,1-5,2 , pH en el que su poder de retención de agua es mínimo. Las mezclas comerciales de polifosfatos utilizados tienen un pH (en solución acuosa al 1%) inferior a 9, pero próximo a este valor. La adición de polifosfatos a la carne eleva pues su pH de 0,2 a 0,5 unidades (teniendo en cuenta las dosis utilizadas y el poder tampón de la carne) y por ello mismo aumenta su poder de retención de agua desplazando el pH de la zona isoeléctrica.

No obstante, el aumento del poder de retención de

agua obtenido por el empleo de los polifosfatos es superior al observado por la elevación de la misma amplitud del pH por otro medio cualquiera. La elevación del pH no es pues el único factor a tener en cuenta (Durand y col., 1988; Goutefongea, 1991).

-Formación de complejos con los cationes Ca y Mg: Los polifosfatos son aptos para formar complejos con los cationes alcalinotérreos Ca y Mg. Estos mismos cationes existen en la carne en dosis pequeñas pero no despreciables (respectivamente, 9 y 20 mg por 100 g de tejido fresco). Además, se sabe (Goutefongea, 1969) que una parte de estos cationes está ligada a las proteínas miofibrilares y que la importancia de la fracción ligada aumenta en el curso del establecimiento del rigor mortis. Según la teoría de Hamm (1960), este fenómeno de fijación catiónica correspondería a la formación de puentes entre las cargas negativas aportadas por las cadenas polipeptídicas de las proteínas por intermedio del Ca y Mg, puentes que tienen por efecto el encoger la red proteica y por ello, reducir el poder de retención de agua. La formación de complejos entre los polifosfatos y estos cationes permitiría ,pues, romper un cierto número de puentes y producir así una relajación de la red proteica que se traduciría por un aumento del poder de retención de agua.

Sin embargo, se comprobó experimentalmente que secuestrantes enérgicos como el EDTA (ácido etilendiaminotetracético) no incrementan la CRA de la carne (Flores y Bermell, 1984). Hoy día se admite que el efecto de los fosfatos está basado, fundamentalmente, en su interacción con las proteínas miofibrilares.

-Disociación de la actomiosina: Es posible que el incremento de la CRA producido por los fosfatos incorporados al músculo, en fase de rigor y post-rigor, sea debido a la disociación del complejo actomiosina que origina una relajación de la matriz proteica. Parece ser, también, que los fosfatos solubilizan las proteínas miofibrilares (Flores y Bermell, 1984), las cuales, al salir de la matriz proteica incrementan notablemente su CRA.

En la industria cárnica, los fosfatos se utilizan en combinación con el cloruro sódico, cuya presencia imparte al sistema unas propiedades electroquímicas y coloidales diferentes (Hamm, 1971). Concretamente, el incremento de la CRA causado por los fosfatos es más fuerte en presencia de NaCl. La adición de sal común a la carne provoca un aumento de su CRA que se atribuye a un incremento de la repulsión electrostática entre las cargas por la existencia de enlaces cruzados entre las moléculas de actina y miosina. Si los aniones fosfato disocian estos

enlaces, las cadenas polipeptídicas se separan, posibilitando el aumento de las fuerzas eléctricas de repulsión. A los valores de pH normales de la carne, es decir, por encima del PI, la disociación de las cadenas proteicas por los fosfatos es más intensa y también es mayor la repulsión electrostática entre las mismas a causa del aumento de cargas negativas de los aniones cloruro, lo cual se traduce en un aumento considerable de la CRA.

En la elaboración de pastas finas las fibras musculares quedan como un sistema miofibrilar desintegrado a causa de la destrucción del sarcolema, con lo que se libera el complejo de actomiosina. En este caso, la acción de los aniones cloruros y fosfatos provoca un aumento adicional de la CRA de la carne.

Los coadyuvantes para el procesado con la cutter además de elevar la capacidad para ligar el agua y la grasa de la masa, reducen o impiden la separación de gelatina y de grasa que se origina en el tratamiento por calor. El difosfato es el que, en este aspecto, logra la mayor actividad. Poseen además otras propiedades entre las que cabe destacar:

-Favorecen el efecto de los antioxidantes, por ejemplo de la vitamina C y sus sales, ya que pueden fijar oligoelementos que, como el hierro, catalizan la

oxidación. De este modo, los polifosfatos, pero también los citratos, aseguran una mejor estabilidad del color de las salazones y limitan la oxidación de los lípidos. Esta acción de los polifosfatos es poco conocida a pesar de que ha sido objeto de estudios desde 1961 (Suri, 1961).

-Actúan de forma benéfica sobre la calidad microbiológica de los productos, impidiendo la multiplicación o favoreciendo la destrucción de los gérmenes: Micrococos, estafilicocos, enterobacterias, Clostridium perfringens . Roberts e Ingram (1977) comprueban tanto una inhibición, como una estimulación del Clostridium botulinum en las salazones.

Además de esta acción directa, los polifosfatos permiten un calentamiento a temperatura más elevada para un mismo rendimiento y como consecuencia aumenta la destrucción térmica de los microorganismos.

2.4.2.7.- Emulgentes

Los mono y diglicéridos formados por ácidos grasos comestibles y sus ésteres con ácido láctico o ácido cítrico son emulgentes. Están compuestos por una parte hidrófila que se orienta hacia la fase acuosa y una lipófila o hidrófoba que penetra en la fase adiposa. Se

emplean para disminuir la tensión entre dos fases no miscibles, como son agua y grasa. De esta manera, dependiendo de su formación química, permiten la distribución estable de grasa en agua, el agua es la fase externa o continua que envuelve las partículas finas de grasa; en una emulsión de agua en grasa es la grasa la que envuelve las partículas pequeñas de agua.

Los mono y diglicéridos formados por ácidos grasos comestibles están compuestos por el alcohol, glicerina y ácidos grasos que son componentes del organismo de los mamíferos, tales como es el ácido palmítico, esteárico, oleico o linoleico. Los ácidos láctico o ácido cítrico, se esterifican con los grupos $-OH$ libres de la glicerina. La parte soluble en agua está constituida por los grupos OH libres y la parte soluble en grasa la constituyen los otros ácidos grasos.

Para caracterizar la tendencia de los emulgentes a favorecer la formación de emulsiones de agua en grasa o de grasa en agua, se introdujo el concepto de valor "HLB" que significa equilibrio hidrófilo-lipófilo y es la relación porcentual de los pesos de los grupos hidrofílicos respecto de los lipofílicos en una molécula de emulsionante. Emulsionantes con un valor HLB inferior a 9 favorecen la formación de emulsiones de agua en grasa; los emulsionantes con un valor HLB superior a 11 favorecen la

emulsión grasa en agua. De esta manera es posible emplear emulgentes para cada problema de emulsión.

Al embutido escaldado se le considera frecuentemente y de manera simplificada, como una emulsión del tipo grasa en agua y es posible calcular cuál es el valor HLB que debería poseer el emulsionante para poder emulsionar grasa en el producto cárnico (Puolanne y Terrell, 1983).

En los embutidos escaldados, los emulgentes no actúan como tales, es decir, reduciendo o evitando la separación de la grasa y de la gelatina, o sólo muy escasamente. La causa es que la masa del embutido escaldado no debe ser considerada como una emulsión, sino como una suspensión, o sea, una distribución de partículas sólidas (grasa) en una fase líquida (principalmente agua) en la que existe una pequeña proporción también de grasa emulsionada.

En la lista positiva de aditivos para productos cárnicos tratados por el calor (Ministerio de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, 1982) se autorizan los mono y diglicéridos de ácidos grasos (E-471) y sus ésteres acéticos, lácticos, cítricos, tartáricos, etc. (E-472), así como sucroésteres (E-473) y sucroglicéridos (E-474) en un 0,5 por 100 sobre producto graso.

2.4.2.8.- Espesantes y gelificantes

Los espesantes y gelificantes alimentarios, a veces llamados gomas hidrosolubles o hidrocoloides, son macromoléculas que se disuelven o dispersan fácilmente en el agua para producir un aumento muy grande de la viscosidad y en ciertos casos, un efecto gelificante.

Según su origen se distinguen:

- Las gomas de origen vegetal, esencialmente de naturaleza glucídica.
- Las gomas de origen animal de naturaleza proteica (caseinatos y gelatina).

La gelatina, el caseinato, los almidones (no modificados químicamente), etc. se consideran como nutrientes y la reglamentación autoriza su empleo de manera que no sobrepasen en el producto cárnico los siguientes límites (Ministerio de Trabajo, Sanidad, y Seguridad Social, 1982):

- En proteína..... 3%
- En almidón.....10%
- En azúcares..... 5%
- Dextrinas y derivados..... 1,5%

Entre los agentes espesantes y gelificantes de naturaleza glucídica prescritos como aditivos se autoriza el empleo de un 1 por 100 máximo total:

<u>Origen botánico</u>	<u>Tipo</u>	<u>nº CEE</u>
Extractos de algas	Alginatos	E-400 a 402
		E-405
	Agar-agar	E-406
	Carragenatos	E-407
Extractos de semillas	Goma garrofín	E-410
	Goma guar	E-412
Exudados de microorg.	Goma xantana	E-415
Derivados de celulosa	Carboximetil- celulosa	E-466
	(sólo en salchichas que se comercializan sin piel).	

2.4.2.9.- Modificadores organolépticos

El ácido glutámico es un aminoácido que se encuentra en el cuerpo humano así como en la musculatura y órganos de los animales y en las plantas. Se presenta en las proteínas y en los péptidos pero también en forma libre o como sal. En el año 1908 se aisló por primera vez en el Japón. La forma más efectiva es la forma L libre; las proteínas que contienen ácido glutámico no son efectivas. En la actualidad, este ácido se produce industrialmente por fermentación a partir de las melazas o de hidrolizados azucarados de almidón. El ácido una vez saturado con sodio nos da el glutamato sódico que se purifica y cristaliza en cristales blancos inodoros. Esta sal se emplea en todo el mundo como potenciador del sabor. Como tal, aumenta la palatabilidad de un alimento.

El modo de acción no es conocido. Se ha podido demostrar solamente que el glutamato monosódico no tiene efecto alguno sobre los cuatro sabores de base. Se puede considerar al glutamato de sodio como condimento dado que posee un sabor propio entre dulce y salado y provoca una típica sensación de "plenitud" y "calidez" en la boca (Hammer, 1992). Este autor señala dos mecanismos de acción: Uno es la elevación de la sensibilidad de los botones gustativos de la lengua y el otro la elevación del flujo salival y la provocación de una sensación de

"repleción" en la boca. Estos dos últimos efectos aumentarían la percepción por una impresión aromática en la zona olfativa nasal.

Otros modificadores organolépticos autorizados por la legislación (Ministerio de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, 1982) son: Glucodeltalactona, aromas naturales, artificiales (que se encuentran incluidos en las listas positivas), extractos y oleorresinas, hidrolizado de proteínas, hidrolizado de levaduras y extractos de humo.

2.4.2.10.- Colorantes

La coloración roja característica de los productos de charcutería, es debida a la formación del nitrosopigmento. Esta coloración puede, sin embargo, reforzarse artificialmente por ciertos colorantes autorizados.

Durante mucho tiempo el colorante utilizado fue el Carmín de cochinilla cuyo principio colorante, el ácido carmínico, confiere a los productos a los que se añade un bello color rojo vivo, estable a la luz y al aire y particularmente apreciado en las pastas crudas. En las pastas finas cocidas, ha sido frecuentemente reemplazado por los carotenoides, cuyo color es menos vivo (Durand y col., 1988).

También es una práctica corriente la coloración de las tripas de ciertos salchichones cocidos y salchichas también cocidas. Incluso, durante mucho tiempo, la salchicha de Strasbourg (carne de vaca y de cerdo) se ha diferenciado de la salchicha de Frankfurt (cerdo puro) de la misma tecnología, por su color exterior. La primera es clásicamente roja, la segunda amarilla.

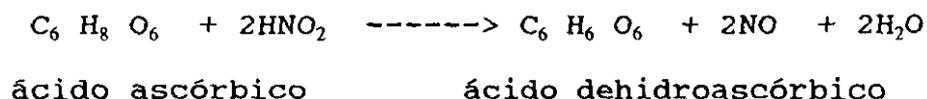
La legislación española autoriza el uso de conservantes tanto naturales (carotenoides, xantofilas, antocianos, etc) como artificiales (tartracina, amarillo de quinoleina, azorrubina, etc.). Mientras los primeros pueden usarse según las buenas prácticas de fabricación (BPF), la dosis máxima de los colorantes artificiales es de 300 ppm (Ministerio de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, 1982).

2.4.2.11.- Coadyuvantes del curado

A continuación nos referiremos a aquellas sustancias que de forma directa o indirecta favorecen la acción de los agentes nitrificantes sobre la formación y posterior estabilización del color en los productos cárnicos.

2.4.2.11.1.- Acido ascórbico y ascorbato de sodio

Las sustancias coadyuvantes del curado más efectivas en el enrojecimiento y estabilización del color del embutido escaldado son el ácido ascórbico o su sal sódica, el ascorbato de sodio. El ácido ascórbico es una sustancia fuertemente reductora. En presencia de nitrito, favorece la formación de óxido de nitrógeno liberándolo a partir del dióxido de nitrógeno, según la siguiente reacción:



Esta reacción puede ser violenta, especialmente cuando las concentraciones de ambos reactivos son elevadas y el pH más ácido, y conducir a un desprendimiento de vapores nitrosos. Cuando se produce de forma controlada, el aumento de NO supone la transformación de una mayor cantidad de mioglobina en nitrosomioglobina ("rojo de curado"): El proceso de curado se acelera y se intensifica (Wirth, 1992). Su acción permite reducir la cantidad de nitrito residual en los productos curados (Brown y col., 1974) y reduce, por tanto, las posibilidades de formación de nitrosaminas.

La acción del ácido ascórbico o del ascorbato sobre

el nitrito, en el medio cárnico, no se limita a la simple reacción de óxido-reducción descrita anteriormente. Se producen fenómenos complejos todavía mal explicados. Hay ciertamente un bloqueo del nitrito libre o del NO por el ácido ascórbico o el ascorbato. Este bloqueo explicaría la reducción neta de los contenidos en nitrito residual de los productos a los cuales se ha añadido ácido ascórbico o ascorbato, con relación a los que no contienen estos compuestos. El papel "antinitrosamina" de estos dos aditivos puede estar también asociado a este mismo bloqueo (Durand y col., 1988).

Simultáneamente, también actúa el ácido ascórbico por desplazamiento del potencial redox que limita la formación de metamioglobina en la pasta. Debido a la mayor cantidad de nitrosomioglobina formada y a la disminución en la proporción de metamioglobina en la sustancia colorante total se logra, mediante el ácido ascórbico-ascorbato, un mejor color y conservación del mismo. En efecto, en presencia de estas sustancias, el nitrosohemo es más estable, es decir, menos sensible a la influencia del aire y de la luz. Para explicar este fenómeno, Durand y col. (1988) citan varias hipótesis:

- El ácido ascórbico o el ascorbato, como antioxidantes que son, protegen al pigmento de la oxidación por el aire y la luz. Si para la formación del pigmento es suficiente

una adición de 300 mg/kg de estas sustancias, para asegurar la estabilidad del color se necesitan cantidades mayores (500 a 700 mg), principalmente en productos envasados en película transparente, bajo vacío y cortados en lonchas .

- La disociación del pigmento está favorecida por la presencia de peróxidos. El ácido ascórbico o ascorbato, actuando en sinergia con los tocoferoles, frenaría la formación de peróxidos.

- La disociación del pigmento supone la liberación de NO. Según el esquema de reacción indicado, un exceso de nitrito o de NO libre frenaría la disociación. Se puede pensar que el complejo "ácido ascórbico o ascorbato-NO" libera progresivamente el radical y que éste puede recombinarse con el pigmento. Este efecto es particularmente apreciado en los productos de larga duración.

Respecto a la acción de estos aditivos sobre el nitrato, todos los autores están de acuerdo al reconocer que ni el ácido ascórbico, ni el ascorbato tienen acción directa sobre el nitrato potásico, salvo, eventualmente, desfavorable. En presencia de nitrato y de aire en exceso, el NO puede reoxidarse a NO₂ y provocar la aparición de sabores desagradables.

El empleo de algunos ácidos que disminuyen el pH puede combinarse con la adición de ácido ascórbico/ascorbato. Esta mezcla intensifica la acción de aquellos. Por razones sensoriales, sólo se emplean el ácido láctico y cítrico, así como el ácido glucónico formado a partir del glucono-delta-lactona.

2.4.2.11.2.- Azúcares

Su papel es el de reforzar el poder reductor del medio y sobre todo el de servir de medio nutritivo a las bacterias responsables de la reducción de los nitratos a nitritos. Su presencia se justifica, por tanto, en los casos en que se utiliza nitrato o la mezcla de sal nitrito-nitrato, ya que necesitan el desarrollo de la flora reductora, aunque son cada vez menos empleados (Goutefongea, 1991).

Los azúcares también pueden emplearse de forma abusiva como carga de materia seca para protegerse contra un exceso de contenido en agua del producto. Para evitarlo la reglamentación fija los límites de contenido en azúcares admisibles (Ministerio de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, 1982).

3.-PARTE EXPERIMENTAL

3.- PARTE EXPERIMENTAL

3.1.- DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras objeto del presente trabajo son salchichas tipo Frankfurt, que se han clasificado, atendiendo a su procedencia, en:

1.-Salchichas comerciales: adquiridas en establecimientos comerciales minoristas de Madrid.

2.-Salchichas experimentales: elaboradas en planta piloto.

3.1.1.- Salchichas comerciales

Se han seleccionado cuatro marcas comerciales, representativas del mercado nacional.

El criterio de selección se ha basado en dos

aspectos. Por una parte, en el tipo de agente nitrificante utilizado en su elaboración y , por otra, en la disponibilidad de productos con fecha de fabricación lo más reciente posible.

Así se han adquirido dos marcas de salchichas tipo Frankfurt (marcas 1 y 2) que declaran la utilización de nitrito sódico como único aditivo nitrificante y otras dos (marcas 3 y 4) que declaran la adición de nitrito sódico y de nitrato potásico. El tiempo transcurrido entre la fecha de elaboración indicada en sus respectivos envases y el momento de su adquisición y análisis se indica a continuación:

<u>MARCA</u>	<u>TIEMPO (días)</u>
1	11
2	7
3	5
4	11

De cada una de las marcas señaladas se han tomado 15 envases pertenecientes al mismo lote de fabricación, y se han mantenido en refrigeración hasta el momento de su análisis periódico.

Todos los productos seleccionados se comercializan envasados al vacío en bolsas de película transparente, en las que constan los datos correspondientes al etiquetado, según la Norma Genérica de Calidad para los productos cárnicos tratados por el calor (Presidencia del Gobierno, 1981). Según dicha normativa, la relación de ingredientes y aditivos se debe realizar en orden decreciente de proporciones, con excepción del agua. Además, los aditivos se pueden relacionar individualmente o haciendo referencia al grupo de acción al que pertenecen.

La composición, peso neto y periodo de consumo preferente de cada producto, según la información obtenida del envase, se recogen en el Cuadro I.

CUADRO I.- COMPOSICION DE LAS SALCHICHAS COMERCIALES*

MARCA	1	2	3	4
CARNE	Cerdo,vacuno	Cerdo,vacuno	Cerdo,vacuno,ave	Cerdo,vacuno
GRASA	Panceta	-	Panceta	-
AGUA	+	+	+	+
ALMIDON	+	-	H-4383	-
SAL	+	+	+	+
PROTEINA	Vegetal	+	Añadida	De leche
CASEINATO	+	-	-	-
AZUCAR	+	+	-	Dextrosa
PIMENTON	-	-	+	-
ESPECIAS	+	+	+	+
ESTABILIZANTES	E-450 E-402	E-450 b,c,a	E-450 a,b,c E-466	E-450 c
CONSERVADORES	E-202,E-216 E-250	E-202,E-217 E-250	E-202,E-216 E-250,E-252	E-202 E-250,E-252
ANTIOXIDANTE	E-301	E-301	E-301,E-331	E-301
POTENCIADOR DEL SABOR	E-621	-	E-621	-
HIDROLIZADO DE PROTEINAS	-	-	+	-
MODIFICADORES ORGANOLEPTICOS	Agentes de humo natural	-	-	-
COLORANTE	-	-	E-120	-
PESO NETO (g)	160	165	160	250
DURACION(meses)	5	3	4	3

*Información obtenida del envase

3.1.2.- Salchichas experimentales

Se han elaborado en planta piloto, y en cuatro ocasiones diferentes o lotes, cuatro formulaciones de salchichas tipo Frankfurt, lo que hace un total de 16, que difieren básicamente en el tipo y cantidad de agente nitrificante utilizado, así como en la adición o no de extracto de humo (Cuadro II).

La selección, tanto de los ingredientes como del proceso de fabricación de estos productos, es el resultado de la consideración de los dos criterios que hemos considerado más importantes:

- Simular la producción comercial y disponer así de modelos de comportamiento de las sales nitrificantes, comparables con las salchichas que se consumen habitualmente.

- Reducir, en lo posible, el número de variables para simplificar el sistema modelo y facilitar la posterior discusión de resultados.

A continuación detallaremos los ingredientes comunes a las 16 formulaciones, así como el proceso seguido para su elaboración.

CUADRO II. – CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS FORMULACIONES EXPERIMENTALES

LOTE	FORMULACION	NITRITO SODICO (mg/kg)	NITRATO POTASICO (mg/kg)	EXTRACTO DE HUMO (2 g/kg)
1	1	–	–	–
1	2	125	–	–
1	3	–	200	–
1	4	125	200	–
2	1	–	–	+
2	2	250	–	+
2	3	–	200	+
2	4	250	200	+
3	1	75	–	+
3	2	250	–	+
3	3	–	200	+
3	4	75	200	+
4	1	75	–	–
4	2	250	–	–
4	3	–	200	–
4	4	75	200	–

3.1.2.1.- Composición de las salchichas experimentales

Basándonos en los dos criterios indicados en el apartado anterior, y en la información facilitada por los responsables de la Escuela de la Carne de Madrid (comunicación personal), hemos seleccionado la siguiente composición de la pasta fina, base de todas las salchichas elaboradas en planta piloto:

-Magro de cerdo.....	39%
-Papada de cerdo.....	38%
-Hielo.....	23%

El resto de los ingredientes y aditivos utilizados, expresados en gramos por kilogramo de pasta, han sido los siguientes:

-Sal fina.....	22,0 g/kg
-Ascorbato sódico (E-301).....	0,5 g/kg
-Polifosfatos (E-417).....	3,0 g/kg
-Glutamato monosódico.....	1,0 g/kg
-Especias:	
.pimienta blanca.....	3,0 g/kg
.pimentón dulce.....	2,0 g/kg
.nuez moscada.....	0,5 g/kg
.canela.....	1,0 g/kg
.mustaza líquida.....	10,0 g/kg

La presencia de nitrito, nitrato y extracto de humo depende de cada formulación (Cuadro II).

Debemos recordar que todas las salchichas pertenecientes a un mismo lote de fabricación han sido elaboradas a partir de la misma pasta base, mientras que en las salchichas pertenecientes a diferentes lotes pueden existir pequeñas variaciones en la composición tanto del magro como de la papada de cerdo , ya que éstos proceden de los animales disponibles, en cada momento, en el matadero.

3.1.2.2.- Proceso de elaboración

Se encuentra esquematizado en la Figura 1, y consta de las siguientes fases:

1.-Picado del magro y papada de cerdo, por separado, en picadora marca Gesa, tipo 32, con placa de 4-6 mm. de diámetro.

2.-Separación en cuatro fracciones de igual peso, del magro y papada picados . Cada una de las fracciones servirá de base para la elaboración de cuatro formulaciones de salchichas, en cada lote.

3.-Mezcla y homogeneización del magro, hielo y resto de los ingredientes, salvo la grasa y la mostaza, en cutter marca Cato, durante tres minutos.

4.-Incorporación de la grasa y la mostaza y cutterado durante tres minutos más, hasta la obtención de una pasta fina y brillante.

5.-Reposo de la pasta durante, aproximadamente 20 horas, en cámara a temperatura de 1°C (fase de nitrificación).

6.-Embutido de la pasta en tripa artificial de diámetro 20-22 mm, en embutidora a vacío marca Cato.

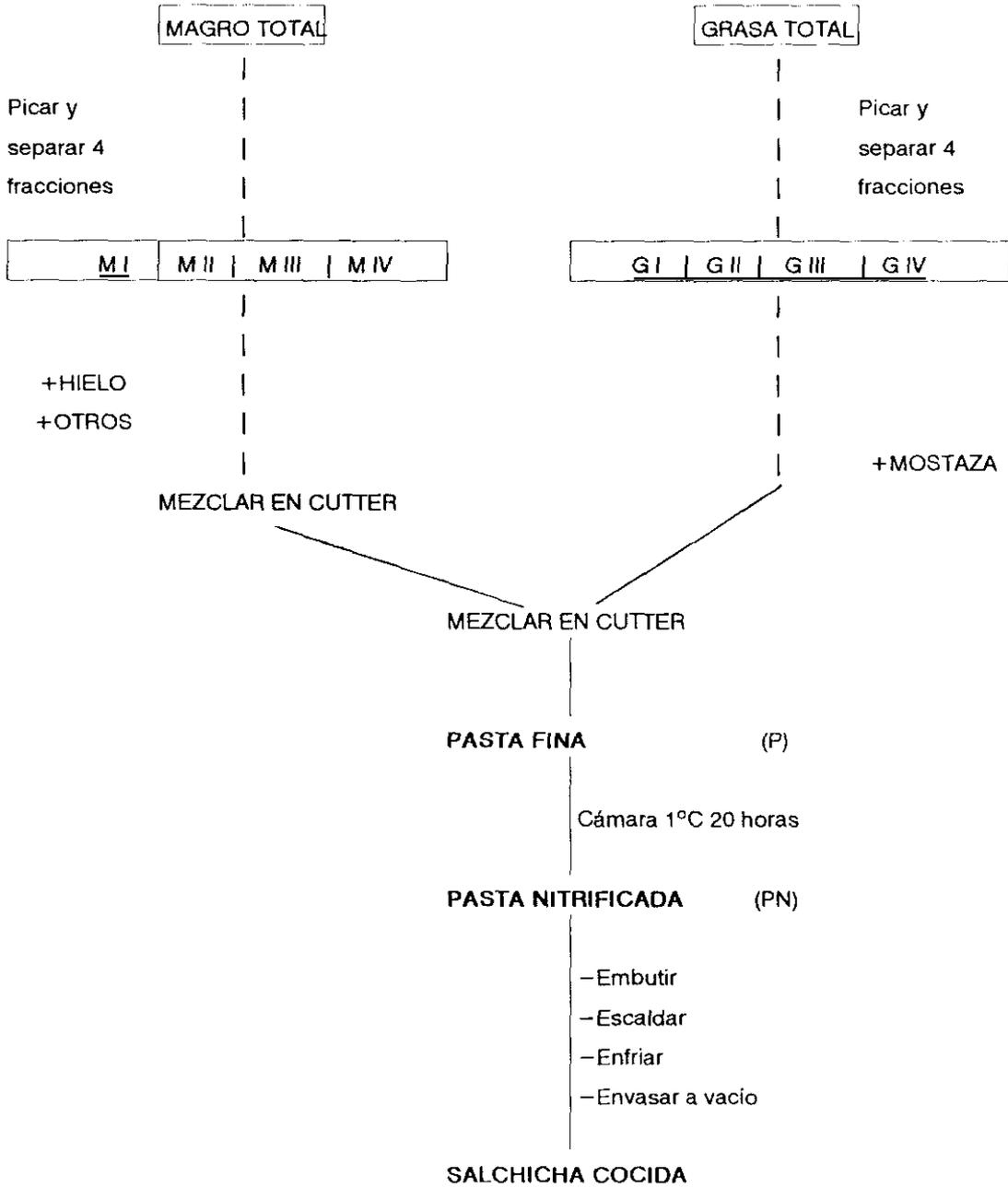
7.-Cocción en caldera , marca Liz, en agua a 75-80°C hasta alcanzar una temperatura interna en las piezas de 67°C (tiempo aproximado, 20 minutos).

8.-Inmersión de las salchichas en agua fría durante 15-20 minutos.

9.-Colgado en cámara hasta total enfriamiento.

10.-Envasado a vacío en envasadora Tecnotrip, en película transparente, colocando en cada envase de 6 a 7 salchichas.

FIGURA 1.- PROCESO DE ELABORACION DE LAS SALCHICHAS EXPERIMENTALES



Las muestras así obtenidas se conservan en refrigeración (3 °C) hasta el momento de su análisis. Éste se ha llevado a cabo tanto en la pasta fina recién elaborada, como en la pasta nitrificada obtenida en la etapa 5, y, periódicamente, en las salchichas envasadas durante, aproximadamente, cuatro meses.

3.2.- MÉTODOS DE ANÁLISIS

En todas las muestras de salchichas, tanto comerciales como experimentales, se han realizado las siguientes determinaciones, en diferentes puntos del muestreo:

- 3.2.1. Nitrito y nitrato
- 3.2.2. pH
- 3.2.3. Humedad
- 3.2.4. Grasa
- 3.2.5. Proteína
- 3.2.6. Cenizas
- 3.2.7. Tratamiento estadístico

3.2.1.- Nitrito y nitrato

Nos hemos basado en las normas AFNOR NF.V.04.409 y NF.V.04.410 (1974), para la determinación de nitritos y nitratos en los productos cárnicos, modificadas por García Mata (1985) y Bosch Bosch (1985).

La determinación cuantitativa del nitrito se basa en la reacción de Griess y consiste en la medida espectrofotométrica del derivado azoico obtenido al reaccionar el nitrito con una amina primaria (sulfanilamida) en medio ácido y, posteriormente, con un compuesto aromático (N-naftiletilendiamina).

Previamente, es necesario realizar la extracción en caliente y en medio alcalino de los nitritos y nitratos de las muestras, seguida de clarificación y filtrado.

El nitrato, una vez reducido a nitrito con cadmio metálico, se determina como se indica en los párrafos anteriores.

3.2.1.1.- Toma de muestra y preparación de la misma

Durante la elaboración de las distintas formulaciones de salchichas Frankfurt en planta piloto se han tomado

muestras representativas (200 g) de la pasta fina (P) a su salida de la cutter, y de la pasta nitrificada (PN) en el momento previo al embutido.

Inmediatamente después se han transportado al laboratorio en bolsa isotérmica y se han pesado tres alícuotas de 10g (p), con una precisión de 0,001g. Éstas han sido tratadas en mortero con sulfato sódico anhidro (20 g) para favorecer la disgregación de la muestra y posterior extracción de las sales nitrogenadas. Sin este tratamiento previo, las pastas sometidas a la acción del agua caliente daban lugar a la formación de la estructura típica del producto cocido, lo que dificultaba la extracción completa de las sales nitrogenadas.

En el caso de las salchichas envasadas, tanto comerciales como experimentales, se ha partido del contenido de un envase y se ha homogeneizado en un aparato de trituración convencional (Moulinex). Del homogeneizado se han tomado tres alícuotas de alrededor de 10 g, pesadas con la precisión indicada anteriormente, y se ha procedido a su análisis.

Las salchichas envasadas se han mantenido siempre en refrigeración, a 3°C, hasta el momento de sus análisis periódicos. Éstos se han realizado en los días que se indican en el Cuadro III, posteriores a su elaboración.

CUADRO III. – MOMENTOS DE MUESTREO DE LAS SALCHICHAS ENVASADAS (Días)

SALCHICHAS EXPERIMENTALES LOTE				SALCHICHAS COMERCIALES MARCA			
1	2	3	4	1	2	3	4
0	0	0	0	11	7	5	11
3	3	4	3	13	9	8	13
5	7	7	7	18	14	12	18
7	11	12	10	26	22	16	26
12	14	14	12	34	30	22	32
17	16	20	14	40	36	29	39
27	21	25	18	48	44	36	46
45	25	40	21	55	51	43	53
75	29	60	27	64	60	54	61
120	37		34	78	74	68	69
	45		42	89	85	79	78
	57		59	96	92	86	92
	74		75	114	110	91	111
	101		101	132	–	125	132
	121		124	149	145	145	145

3.2.1.2.- Extracción

Se introducen los "p" g de muestra en un matraz erlenmeyer de 500 ml y se añade cantidad suficiente de solución saturada de borax (5 ml) para conseguir un pH próximo a 8. La función de este medio alcalino es favorecer la estabilidad del nitrito.

Asimismo, se añaden 100 ml de agua destilada a una temperatura superior a 70°C. Calentamos en un baño maría de agua hirviente durante 15 minutos, agitando varias veces a lo largo de este periodo de tiempo. A continuación se enfría y se trasvasa su contenido a un matraz aforado de 200 ml.

Los nitratos y nitritos de la muestra se encontrarán solubilizados en el medio acuoso.

3.2.1.3.- Clarificación

Sobre el contenido del matraz de 200 ml se añaden 2 ml de reactivo Carrez I, se agita y se adicionan 2 ml del reactivo Carrez II. Ambos reactivos deben emplearse en el orden indicado, ya que el ferrocianuro potásico (Carrez II), adicionado sólo, provoca la desaparición del nitrito (Frouin y col., 1980).

Después de agitar convenientemente, se completa el volumen hasta la señal de enrase del matraz con agua destilada, se agita de nuevo y se deja en reposo durante 30 minutos. A continuación se filtra a través de papel de filtro plegado, exento de nitritos y de nitratos, y a partir del líquido filtrado se realizan las determinaciones analíticas de ambas sales nitrogenadas.

3.2.1.4.- Determinación de nitrito

En un matraz aforado de 100 ml se introduce una alícuota del líquido filtrado medida exactamente (V_1) y agua destilada hasta un volumen aproximado de 60 ml. Se añaden sucesivamente 10 ml del reactivo de sulfanilamida (sol. I), y 6 ml de ácido clorhídrico (sol. II), se agita y se deja en reposo durante un tiempo de 5 minutos en la oscuridad y a temperatura ambiente.

A continuación, se adicionan 2 ml del reactivo clorhidrato de N-nafil-1-etilendiamina (sol. III), se agita y se mantiene a temperatura ambiente durante 15 minutos en la oscuridad. Transcurrido este tiempo se completa el volumen con agua destilada hasta la señal de enrase, se mezcla y se mide la absorbancia de la solución coloreada en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 538 nm, frente a un blanco de reactivos.

3.2.1.5.- Determinación de nitrato

El método se basa en la reducción de los nitratos a nitritos mediante columna de cadmio metálico esponjoso y posterior determinación de los nitritos totales. Por diferencia entre éstos y los nitritos iniciales de las muestras, se calcula el contenido de nitratos de las mismas.

En el reservorio situado en la parte superior de la columna de cadmio (Fig. 2) se introduce un volumen (V_2) del líquido filtrado obtenido anteriormente (apartado 3.2.1.3.) y 5 ml de solución tampón amoniacal de pH=9,6-9,7. Una vez que ha pasado a través de la columna todo el líquido depositado en el reservorio, se van añadiendo, en el mismo, fracciones de aproximadamente 25 ml de agua destilada. Los líquidos eluidos de la columna se recogen en un matraz aforado de 100 ml hasta obtener un volumen próximo a la señal de enrase. Finalmente, completamos el volumen con agua destilada.

De estos líquidos reducidos se toma un volumen (V_3) en el que se determinan los nitritos totales por el método espectrofotométrico descrito en el apartado 3.2.1.4.

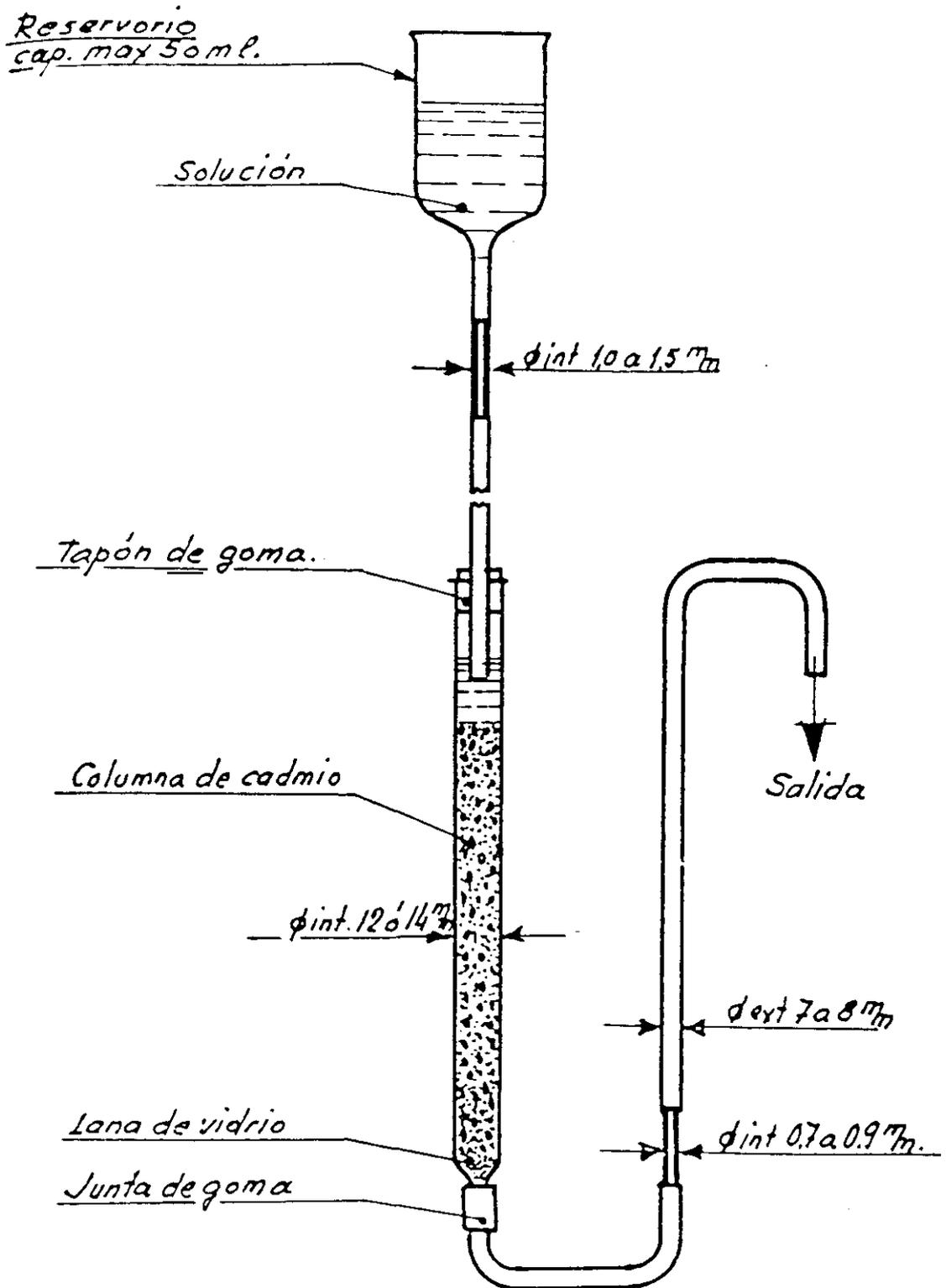


FIGURA 2. – COLUMNA PARA LA REDUCCION DE NITRATOS

3.2.1.6.- Control del poder reductor del cadmio metálico

Antes de comenzar a utilizar la columna como medio reductor, debe realizarse un **pretratamiento del cadmio** ; éste debe repetirse como operación previa a cada una de las determinaciones analíticas del nitrato. Consiste en hacer pasar a través del cadmio 25 ml de ácido clorhídrico 0,1N, seguido de dos fracciones, de 25 ml cada una, de agua destilada y de 25 ml de solución tampón amoniacal (pH = 9,6-9,7).

Por otra parte, es necesario realizar un **control periódico de la capacidad reductora del cadmio metálico**. Con esta finalidad, se hacen pasar a través de la columna 20 ml de una solución patrón de nitrato potásico (Merck) preparada para obtener, tras una reducción completa, una nueva solución que diluída convenientemente contenga 1 µg de nitrito sódico por mililitro. Simultáneamente, se adicionan 5 ml de solución tampón amoniacal que proporciona el medio alcalino necesario para que se verifique la reducción de los nitratos.

Una vez eluídos los líquidos indicados, pasamos a través de la columna varias fracciones de agua destilada hasta recoger, en un matraz aforado, alrededor de 100 ml. Completamos el volumen con agua destilada y realizamos la

determinación analítica indicada en el apartado 3.2.1.4. para cuantificar el nitrito obtenido después de la reducción del nitrato potásico.

El poder reductor del cadmio metálico debe ser próximo al 100% en todas las columnas utilizadas. Si la capacidad reductora no fuese la adecuada, inferior al 97%, se procede a la **reactivación del cadmio**. Para ello, lo ponemos en contacto con una solución de ácido clorhídrico 2N durante un minuto aproximadamente y lavamos, después, con varias fracciones de agua destilada para eliminar totalmente dicho ácido. A continuación, se realiza de nuevo el control del poder reductor.

3.2.1.7.- Rectas de calibración espectrofotométrica

Hemos preparado soluciones patrón de NaNO_2 y de KNO_3 (Merck) y realizado las diluciones adecuadas para la obtención de las rectas de calibrado necesarias para la cuantificación de los contenidos de nitrito y de nitrato de las muestras.

3.2.1.7.1.- Recta de calibrado para nitrito sódico

Se construye partiendo de una solución de nitrito sódico al 0,1% (P/V). Transferimos 5 ml, exactamente medidos, de esta solución, a un matraz aforado de 1.000 ml y completamos el volumen con agua destilada.

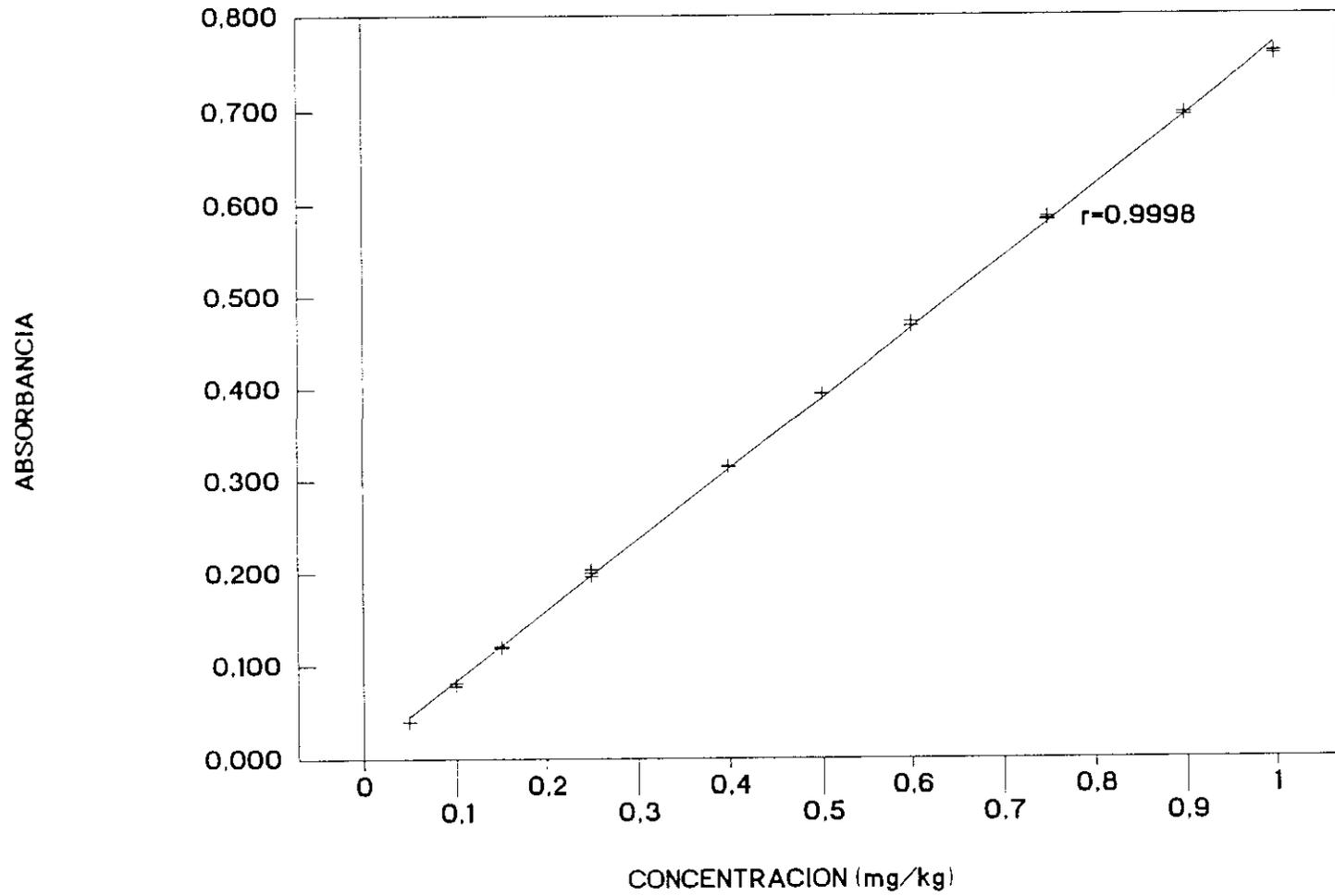
A partir de la solución madre (5 µg/ml), se preparan soluciones patrón de concentraciones comprendidas entre 0,05 y 1,00 µg/ml. Para ello se transfieren volúmenes de 1, 2, 3, 5, 8, 10, 12, 15, 18 y 20 ml de la solución madre a los correspondientes matraces aforados de 100 ml y se adiciona agua destilada hasta un volumen aproximado de 25 ml. Se añaden, en el orden indicado en el apartado 3.2.1.4., las soluciones I, II y III. Finalmente, se completa el volumen de los matraces con agua destilada hasta la señal de enrase.

Se obtienen así soluciones coloreadas cuyas absorbancias medimos en el espectrofotómetro seleccionando una longitud de onda de 538 nm.

La recta de regresión correspondiente a la escala elaborada entre las concentraciones de las soluciones patrón de nitrito sódico y las absorbancias leídas en el espectrofotómetro queda reflejada en la Gráfica nº 1, y se

GRAFICA nº 1.- RECTA DE CALIBRACION 1

NITRITO SODICO



define mediante la siguiente ecuación:

$$C = 1,3109 A - 0,0093$$

El coeficiente de correlación (r) obtenido es igual a 0,9998.

El límite de detección es de 0,1 $\mu\text{g NaNO}_2/\text{ml}$ en la solución final coloreada.

3.2.1.7.2.- Recta de calibrado para nitrato potásico reducido

Se construye a partir de una solución de nitrato potásico preparada al 0,1465% (P/V). Transferimos distintos volúmenes (2, 4, 5, 6, 8 y 10 ml), medidos exactamente, de esta solución madre a los correspondientes matraces aforados de 100 ml y completamos el volumen con agua destilada hasta la señal de enrase.

De cada una de estas soluciones, tomamos 10 ml que, junto con 5 ml de la solución tampón amoniacal de pH comprendido entre 9,6 y 9,7, hacemos pasar a través de las columnas rellenas con cadmio metálico esponjoso. Los líquidos eluidos se recogen en matraces aforados de 100 ml y se va completando el volumen con las distintas fracciones de agua destilada que dejamos pasar a través de

las columnas. Después de enrasar con agua destilada, transferimos 10 ml de cada una de estas soluciones a una segunda serie de matraces aforados de 100 ml, y realizamos la determinación analítica del nitrito, procedente de la reducción del nitrato, siguiendo los mismos pasos que indicábamos en el apartado 3.2.1.4., a partir de la adición de los reactivos necesarios para el desarrollo de la coloración.

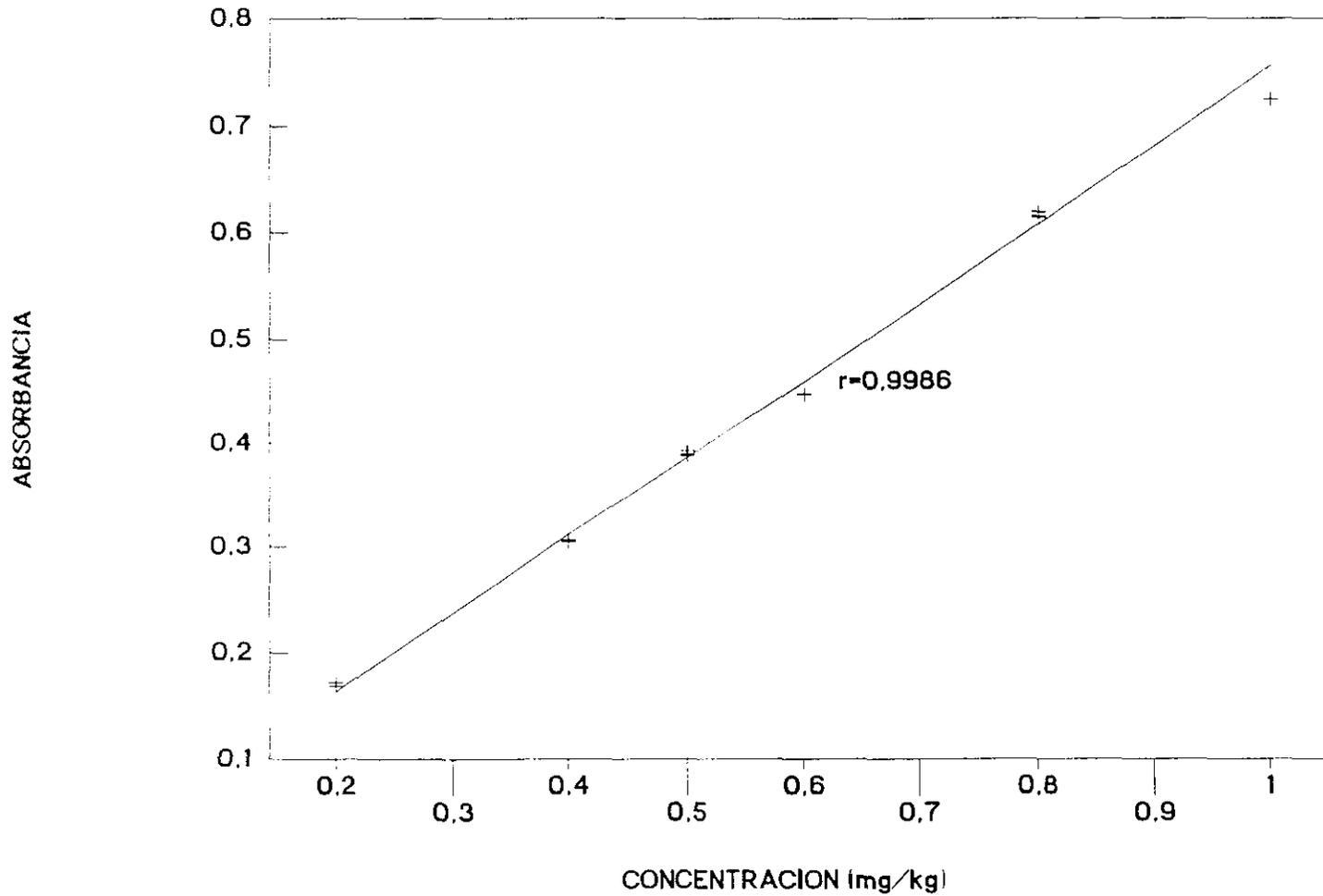
La recta de regresión correspondiente a la escala elaborada entre las concentraciones de las soluciones patrón de nitrato potásico reducido (expresadas en NaNO_2) y las absorbancias leídas en el espectrofotómetro a 538 nm queda reflejada en la Gráfica nº 2, y se define mediante la ecuación siguiente:

$$C = 1,4027 A - 0,0378$$

El coeficiente de correlación (r) es igual a 0,9986.

GRAFICA no 2.- RECTA DE CALIBRACION 2

NITRATO POTASICO REDUCIDO



3.2.1.8.- Recuperación de nitrito y de nitrato en presencia de extracto de humo

Hemos estudiado el efecto de la utilización de extracto de humo sobre la determinación espectrofotométrica de las distintas concentraciones de nitrito sódico y de nitrato potásico empleadas en la elaboración de las salchichas pertenecientes a los lotes 2 y 3. La cantidad de dicho extracto que se ha adicionado a estas muestras es de 2g/kg de masa.

Para ello se han preparado 500 ml de las soluciones patrón de nitrito sódico y de nitrato potásico (Merck) indicadas en el Cuadro IV.

Las distintas soluciones se han analizado inmediatamente después de su preparación (tiempo cero) y transcurridos los siguientes días de conservación en frigorífico : 2, 6, 9, 14, 16 y 65.

Los resultados obtenidos se expresan como porcentaje de recuperación de nitrito y de nitrato en las soluciones adicionadas de extracto de humo, respecto al nivel encontrado, en cada momento, en las correspondientes soluciones patrón sin extracto de humo.

Cuadro IV.-Soluciones patrón (ensayo con extracto de humo)

SOLUCIÓN	NITRITO (mg NaNO ₂ /L)	NITRATO (mg KNO ₃ /L)	EXTRACTO DE HUMO (2 g/L)
1	75	-	-
2	250	-	-
3	-	200	-
4	75	200	-
5	250	200	-
1a	75	-	+
2a	250	-	+
3a	-	200	+
4a	75	200	+
5a	250	200	+

3.2.2.- pH

El pH se ha determinado según se indica en los métodos oficiales y recomendados por el Centro de Investigación y Control de la Calidad (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1985).

Se han tomado 5 g de muestra previamente homogeneizada, con una precisión de 0,001 g, y se han mezclado con igual cantidad de agua destilada. Tras un reposo de 10 minutos, se introduce el electrodo del

pHmetro y se realiza la lectura correspondiente.

3.2.3.- Humedad

El contenido de agua de las muestras se ha determinado como pérdida de peso por desecación en estufa de vacío a una temperatura de 65°C y una presión inferior a 50 mm Hg (A.O.A.C., 1990).

Se pesan aproximadamente 5 g de muestra homogeneizada, con una precisión de 0,001 g, en cápsula de aluminio provista de tapa. Se mantienen en la estufa el tiempo necesario hasta la obtención de un peso constante.

3.2.4.- Grasa

Para la determinación del contenido graso de las muestras, se ha partido del producto previamente desecado según el método descrito en el apartado anterior. Aproximadamente 1 g de muestra se introduce en cartuchos de papel de filtro de peso conocido y se extrae la grasa con éter de petróleo de un intervalo de ebullición 40°-60°C (A.O.A.C., 1990).

La grasa se calcula como diferencia entre el peso

inicial del cartucho más la muestra y el peso del cartucho después de la extracción , evaporación del resto de éter, y desecación en estufa a 60°C.

3.2.5.- Proteína

Se parte de aproximadamente 0,2 g de la muestra previamente desecada y se realiza la determinación del nitrógeno total de la misma según el método oficial para carne y productos cárnicos (Ministerio de Sanidad y Consumo, 1985).

El contenido de proteína, expresado en tanto por ciento, se calcula multiplicando por 6,25 el porcentaje de nitrógeno total así obtenido.

3.2.6.- Cenizas

Las cenizas se han determinado por incineración de aproximadamente 1 g de muestra desecada en un horno a 450°C, expresándose el porcentaje sobre sustancia húmeda.

3.2.7.- Tratamiento estadístico

Con la finalidad de obtener una mayor información a partir de los resultados obtenidos del estudio de nitrito y de nitrato, hemos realizado un análisis de regresión lineal múltiple, aplicando el programa 1R del paquete estadístico BMDP.

3.3.- APÉNDICE DE REACTIVOS Y MATERIAL

3.3.1.- Reactivos

Todos los reactivos utilizados tienen calidad "para análisis".

a/ Determinación de proteínas:

- Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$)
- Sulfato potásico (K_2SO_4)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4 , $d=1,84$)
- Selenio en polvo
- Solución acuosa al 40% (P/V) de hidróxido sódico (NaOH)
- Solución acuosa al 4% de ácido bórico (H_3BO_3)
- Solución acuosa de ácido clorhídrico (HCl , $d=1,18$)
0,1 N
- Indicador: disolver 2 g de rojo de metilo y 1 g de azul de metileno en 1.000 ml de etanol al 95% (V/V)

b/ Determinación de grasa:

- Éter de petróleo con intervalo de punto de ebullición $40^\circ - 60^\circ \text{C}$.

c/ Determinación de nitratos y nitritos:

* Extracción:

- Solución acuosa al 5% (P/V) de borax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$). La disolución se realiza con agua tibia.

* Clarificación:

- Solución al 22% (P/V) de acetato de zinc, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, en solución acuosa al 3% (V/V) de ácido acético glacial (CH_3COOH): CARREZ I.
- Solución acuosa al 10,6% de ferrocianuro potásico, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$: CARREZ II.
- Tampón fosfato (pH=7): 61 ml de fosfato disódico ($\text{Na}_2\text{PO}_4\text{H} \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) 0,1 M y 39 ml de fosfato monosódico ($\text{NaPO}_4\text{H}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) 0,1 M.

* Formación del derivado azoico

- Solución al 0,2% (P/V) de sulfanilamida ($\text{NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{NH}_2$) en solución acuosa al 10% (V/V) de ácido clorhídrico (HCl, $d=1,18$): SOLUCIÓN I.
- Solución acuosa al 45% (V/V) de ácido clorhídrico (HCl, $d=1,18$): SOLUCIÓN II.
- Solución acuosa al 0,1% (P/V) de diclorhidrato de N-naftiletildiamina ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$): SOLUCIÓN III.

* Reducción de nitratos a nitritos

- Barras de cinc de 15 cm de longitud y de 5 a 7mm de diámetro, aproximadamente.
- Solución acuosa al 3,7% (P/V) de sulfato de cadmio ($3 \text{ CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$).
- Solución acuosa al 0,8% (V/V) de ácido clorhídrico (HCl , $d=1,18$); normalidad aproximada=0,1.
- Solución tampón amoniacal ($\text{pH}=9,6-9,7$): diluir 25 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl , $d=1,18$) en un volumen aproximado de 500 ml de agua. Agitar y añadir 50 ml de hidróxido amónico concentrado, (NH_4OH , $d=0,88$), completando el volumen del matraz aforado de 1.000 ml con agua destilada. Mezclar y ajustar el pH.

** Preparación del cadmio metálico esponjoso

Se introducen en dos cápsulas de porcelana de 3 a 5 barras de cinc y 500 ml de la solución de sulfato de cadmio al 3,7%. Transcurridas entre 1 y 2 horas, el cadmio esponjoso formado y depositado sobre las barras de cinc se separa con una varilla de vidrio y de lava dos veces con agua destilada. Trasvasamos el cadmio a un recipiente con ácido clorhídrico, aproximadamente 0,1 N, y lo trituramos con un homogeneizador convencional

durante 10 segundos. Posteriormente, se deja en reposo en la solución de ácido clorhídrico citada durante un tiempo de alrededor de 12 horas.

A continuación, decantamos el líquido sobrenadante y lavamos dos o tres veces con agua destilada. Rellenamos la columna de vidrio (Fig.2) con el cadmio metálico esponjoso obtenido, siempre interpuesto en agua, hasta alcanzar una altura de aproximadamente 15 cm, eliminando las posibles burbujas de aire formadas, con la ayuda de una varilla muy fina de vidrio.

La velocidad máxima de elución de los líquidos a partir de la columna debe ser de 3 ml/min.

3.3.2.- Material

El material utilizado en la realización del presente trabajo se relaciona a continuación:

- Balanza electrónica Mettler H31AR (sensibilidad 0,001 g)
- Medidor de pH Crison Mod. digit 501
- Digestor Büchi 425
- Destilador Büchi 320
- Estufa provista de sistema de vacío Heraeus

- Espectrofotómetro U.V.- Visible Perkin-Elmer,
Mod. 55
- Baños de agua hirviente
- Columnas de vidrio para la reducción del nitrato a
nitrito (Fig.2)
- Papel de filtro exento de nitrito y de nitrato,
marca Albet (diámetro=15 cm)
- Cápsulas de aluminio, provistas de tapa, de 60 mm
de diámetro y 25 mm de altura
- Crisoles de porcelana
- Material de uso frecuente en el laboratorio.

4.-RESULTADOS

4.- RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el estudio realizado se exponen en este capítulo agrupados en un total de treinta y dos tablas y noventa y cuatro gráficas.

Los resultados del análisis experimental de cada muestra, corresponden al promedio de la determinación por triplicado.

4.1.- TABLAS

Se han estructurado de la siguiente forma:

a/ Composición aproximada de las muestras

Se presentan los valores medios, desviación y coeficiente de variación de los contenidos de humedad, grasa, proteína y cenizas obtenidos en los diferentes momentos del muestreo (Cuadro III). Los resultados se expresan en gramos por cien gramos de sustancia fresca.

Tabla nº1.- Salchichas comerciales

Tablas nº2 a nº5.- Salchichas experimentales

b/ Valores de pH

Tabla nº6.- Salchichas comerciales

Tablas nº7 a nº10.- Salchichas experimentales

c/ Niveles residuales de nitrito y de nitrato

Se muestran los valores medios y desviaciones de las determinaciones por triplicado del nitrito (expresado en mg NaNO_2/kg) y del nitrato (en mg KNO_3/kg), así como de la suma de ambos.

Tablas nº11 a nº14.- Salchichas comerciales

Tablas nº15 a nº20.- Salchichas experimentales
curadas con nitrito sódico.

Tablas nº21 a nº24.- Salchichas experimentales
curadas con nitrato potásico.

Tablas nº25 a nº28.- Salchichas experimentales
con nitrificación mixta.

d/ Resultados de los ensayos de recuperación de nitrito sódico y nitrato potásico en presencia de extracto de humo: Tabla nº 29

e/ Parámetros estadísticos

Tabla nº30.- Comparación del comportamiento individual y conjunto del nitrito y nitrato.

Tabla nº31.- Comparación de las salchichas comerciales y experimentales curadas con nitrito sódico.

Tabla nº32.- Comparación de las salchichas comerciales y experimentales con nitrificación mixta.

4.2.- GRÁFICAS

En ellas se representan los siguientes datos:

a/ Evolución del pH durante el periodo de conservación:

Gráficas nº3 a nº6.- Salchichas comerciales

Gráficas nº7 a nº10.- Salchichas experimentales

b/ Participación porcentual del nitrito y del nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del contenido inicial de sales nitrificantes durante la conservación de las salchichas comerciales:

Gráficas nº11 y nº12.- Marcas comerciales que declaran nitrito sódico (1 y 2)

Gráficas nº15 y nº16.- Marcas comerciales que declaran nitrito sódico y nitrato potásico (3 y 4)

c/ Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) en el tiempo de conservación de las salchichas comerciales:

Gráficas nº13 y nº14.- Marcas que declaran nitrito sódico

Gráficas nº17 y nº18.- Marcas que declaran nitrito sódico y nitrato potásico

d/ Participación porcentual del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación de los agentes nitrificantes adicionados a las salchichas experimentales:

Gráficas nº19 a nº24.- Curadas con nitrito sódico

Gráficas nº31 a nº34.- Curadas con nitrato potásico

Gráficas nº39 a nº42.- Con nitrificación mixta

e/ Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación de las salchichas experimentales:

Gráficas nº25 a nº30.- Curadas con NaNO_2

Gráficas nº35 a nº38.- Curadas con KNO_3

Gráficas nº43 a nº46.- Con nitrificación mixta

f/ Tratamiento estadístico

Las rectas de regresión y coeficientes de correlación correspondientes al análisis estadístico aplicado a la evolución de los niveles residuales de aditivos nitrificantes (expresados en $\text{mg NaNO}_2/\text{kg}$, sobre sustancia seca) en el tiempo de conservación se recogen en las siguientes gráficas:

Gráficas nº47 a nº54.- Ln de la concentración de nitrito sódico en función del tiempo.

Gráficas nº55 a nº61.- Ln de la concentración total de nitrito más nitrato en función del tiempo.

Gráficas nº62 a nº69.- Ln de la concentración de nitrato en función del tiempo.

Gráficas nº70 a nº82.- Nitrato en función del nitrito y del tiempo.

g/ Comparación del comportamiento individual del nitrito y del nitrato (expresados en NaNO_2) con su evolución conjunta:

Gráficas nº83 a nº85.- Lote 1

Gráficas nº86 a nº88.- Lote 2

Gráficas nº89 a nº91.- Lote 3

Gráficas nº92 a nº94.- Lote 4

TABLA n°1.- COMPOSICION DE LAS SALCHICHAS COMERCIALES (g/100 g s.s.f.)

		MARCA 1	MARCA 2	MARCA 3	MARCA 4
HUMEDAD	-				
	x	55,41	55,05	62,88	55,03
	D.E.	0,66	0,90	0,62	0,90
	Cv%	1,18	1,63	0,98	1,63
GRASA	-				
	x	22,34	23,60	13,32	25,42
	D.E.	0,85	0,89	0,59	1,31
	Cv%	3,80	3,76	4,44	5,15
PROTEINA	-				
	x	14,27	15,38	12,71	14,41
	D.E.	0,13	0,25	0,27	0,48
	Cv%	0,89	1,65	2,14	3,33
CENIZAS	-				
	x	2,78	3,56	3,27	2,69
	D.E.	0,03	0,09	0,02	0,05
	Cv%	1,00	2,56	0,65	1,83
TOTAL		94,80	97,59	92,18	97,55

TABLA n°2.- COMPOSICION DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 1 (g/100 g s.s.f.)

		FORM.1	FORM.2	FORM.3	FORM.4
HUMEDAD	-				
	x	62,86	63,15	61,18	61,64
	D.E.	1,02	0,68	0,92	0,69
	Cv%	1,63	1,07	1,50	1,12
GRASA	-				
	x	18,96	17,70	20,81	20,67
	D.E.	1,07	1,14	1,47	1,18
	Cv%	5,65	6,46	7,08	5,71
PROTEINA	-				
	x	15,20	15,13	15,11	14,41
	D.E.	0,98	0,49	1,45	0,89
	Cv%	6,46	3,26	9,79	6,17
CENIZAS	-				
	x	1,42	1,75	1,19	1,48
	D.E.	0,03	0,10	0,10	0,07
	Cv%	1,88	5,48	8,56	3,65
TOTAL		98,44	97,73	98,29	98,20

TABLA n°3.- COMPOSICION DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 2 (g/100 g s.s.f.)

		FORM.1	FORM.2	FORM.3	FORM.4
HUMEDAD	-				
	x	52,20	53,28	51,72	51,12
	D.E.	1,38	1,13	1,24	1,26
	Cv%	2,65	2,12	2,40	2,46
GRASA	-				
	x	31,36	30,16	31,28	32,20
	D.E.	2,03	1,55	1,39	1,13
	Cv%	6,48	5,14	4,44	3,52
PROTEINA	-				
	x	12,48	12,00	13,43	11,15
	D.E.	0,53	0,63	0,32	0,24
	Cv%	4,22	5,29	2,38	2,18
CENIZAS	-				
	x	1,26	1,08	1,65	1,89
	D.E.	0,01	0,07	0,05	0,02
	Cv%	1,14	6,99	2,91	0,89
TOTAL		97,30	96,52	98,08	96,36

TABLA n°4. – COMPOSICION DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 3 (g/100 g s.s.f.)

		FORM.1	FORM.2	FORM.3	FORM.4
HUMEDAD	–				
	x	65,44	65,01	63,30	64,63
	D.E.	0,38	0,43	0,35	0,21
	Cv%	0,58	0,66	0,55	0,32
GRASA	–				
	x	15,68	16,62	18,08	16,23
	D.E.	0,37	0,54	0,36	0,47
	Cv%	2,38	3,23	2,00	2,91
PROTEINA	–				
	x	14,76	14,65	15,15	15,57
	D.E.	0,16	0,38	0,64	0,53
	Cv%	1,07	2,61	4,25	3,40
CENIZAS	–				
	x	1,73	2,43	1,84	1,73
	D.E.	0,03	0,13	0,08	0,03
	Cv%	2,00	5,19	4,15	1,75
TOTAL		97,61	98,71	98,37	98,16

TABLA nº5.- COMPOSICION DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 4 (g/100 g s.s.f.)

		FORM.1	FORM.2	FORM.3	FORM.4
HUMEDAD	-				
	x	63,60	61,29	62,06	61,08
	D.E.	0,70	0,91	0,90	0,77
	Cv%	1,11	1,48	1,45	1,26
GRASA	-				
	x	19,21	21,36	21,69	21,37
	D.E.	0,86	0,88	0,59	0,89
	Cv%	4,46	4,10	2,72	4,19
PROTEINA	-				
	x	13,77	13,77	12,54	14,08
	D.E.	0,01	0,33	0,15	0,22
	Cv%	0,07	2,40	1,24	1,60
CENIZAS	-				
	x	1,56	2,08	1,68	2,05
	D.E.	0,07	0,07	0,06	0,02
	Cv%	5,21	3,18	3,67	1,16
TOTAL		98,14	98,50	97,97	98,58

TABLA n°6. – VALORES DE PH DE LAS SALCHICHAS COMERCIALES

MARCA							
1		2		3		4	
TIEMPO	pH	TIEMPO	pH	TIEMPO	pH	TIEMPO	pH
11	6,23	7	6,62	5	6,52	11	6,06
13	6,22	9	6,59	8	6,52	13	6,07
18	6,22	14	6,58	12	6,52	18	5,98
26	6,38	22	6,69	16	6,52	26	6,02
34	6,27	30	6,65	22	6,53	32	6,01
40	6,36	36	6,65	29	6,56	39	6,08
48	6,33	44	6,65	36	6,53	46	5,94
55	6,31	51	6,60	43	6,36	53	5,95
64	6,41	60	6,76	54	6,36	61	5,95
78	6,36	74	6,78	68	6,37	69	5,91
89	6,45	85	6,78	79	5,98	78	5,70
96	6,58	92	6,91	86	6,21	92	5,85
114	6,45	110	6,71	91	6,37	111	6,03
132	6,47	145	6,74	125	6,30	132	5,99
149	6,52			145	6,35	145	5,99
MEDIA	6,37		6,69		6,40		5,97
D.E.	0,11		0,09		0,16		0,10
Cv%	1,73		1,39		2,46		1,62

TABLA n°7. – VALORES DE PH DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 1

LOTE 1				
ETAPA	F.1	F. 2	F. 3	F. 4
P	6,22	5,67	6,20	6,15
PN	6,20	5,60	6,11	6,07
TIEMPO				
0	6,44	6,29	6,32	6,31
3	6,19	6,11	6,26	6,21
5	6,28	6,18	6,28	6,22
7	6,11	6,21	6,28	6,19
12	6,05	6,10	6,19	6,21
17	5,98	6,06	6,09	6,26
27	5,92	5,78	5,97	6,15
45	6,12	5,95	6,16	6,06
75	6,22	5,83	6,18	5,97
120	6,51	6,16	6,40	6,20
MEDIA	6,18	6,07	6,21	6,18
D.E.	0,18	0,17	0,12	0,10
C.v%	2,90	2,73	1,98	1,59

TABLA n°8. – VALORES DE PH DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 2

LOTE 2				
ETAPA	F. 1	F. 2	F. 3	F. 4
P	6,24	6,33	6,35	6,40
PN	6,18	6,22	6,27	6,28
TIEMPO				
0	6,36	6,47	6,45	6,50
3	6,26	6,55	6,56	6,57
7	6,25	6,58	6,58	6,67
11	6,12	6,28	6,26	6,48
14	6,09	6,19	6,15	6,34
16	6,06	6,20	6,23	6,41
21	6,21	6,37	6,37	6,66
25	6,19	6,31	6,35	6,66
29	6,25	6,36	6,40	6,60
37	6,25	6,39	6,50	6,73
45	6,25	6,37	6,34	6,49
57	6,25	6,34	6,47	6,37
74	6,61	6,55	6,60	6,48
101	6,56	6,65	6,52	6,40
121	6,66	6,74	6,69	6,41
MEDIA	6,29	6,42	6,43	6,52
D.E.	0,18	0,16	0,15	0,12
C.v%	2,80	2,43	2,26	1,83

TABLA nº9. – VALORES DE PH DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 3

LOTE 3				
ETAPA	F. 1	F. 2	F. 3	F. 4
P	6,40	6,44	6,54	6,45
PN	6,46	6,47	6,48	6,50
TIEMPO				
0	6,60	6,63	6,72	6,64
4	6,55	6,61	6,71	6,65
7	6,46	6,42	6,47	6,43
12	6,12	6,25	6,35	6,26
14	6,06	6,16	6,22	6,14
20		6,12		6,10
25		6,10		6,06
40	5,95	6,37	6,14	6,09
60	6,23	6,55	6,49	6,24
MEDIA	6,28	6,36	6,44	6,29
D.E.	0,24	0,20	0,21	0,22
C.v. %	3,77	3,11	3,22	3,46

TABLA n°10. – VALORES DE PH DE LAS SALCHICHAS DEL LOTE 4

LOTE 4				
ETAPA	F. 1	F. 2	F. 3	F. 4
P	6,26	6,27	6,15	6,33
PN	6,23	6,12	5,95	6,20
TIEMPO				
0	6,60	6,65	6,54	6,85
3	6,54	6,53	6,43	6,72
7	6,33	6,29	6,06	6,40
10	6,30	6,29	6,09	6,50
12	6,35	6,43	6,19	6,54
14	6,39	6,45	6,31	6,62
18	6,30	6,34	6,12	6,50
21	6,37	6,37	6,12	6,57
27	6,32	6,34	6,12	6,54
34	6,29	6,33	6,07	6,56
42	6,35	6,32	6,06	6,51
59	6,18	6,16	5,90	6,51
75	6,09	6,08	5,78	6,16
101	6,20	6,23	5,93	6,38
124	6,03	6,13	5,83	6,34
MEDIA	6,31	6,33	6,10	6,51
D.E.	0,14	0,14	0,20	0,15
C.v.%	2,27	2,28	3,29	2,38

TABLA n°11. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LAS SALCHICHAS COMERCIALES: MARCA 1

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
11	23,45 ± 0,02	42,16 ± 1,45	52,44 ± 0,75	76,82 ± 1,10
13	22,67 ± 0,36	47,69 ± 2,71	55,22 ± 2,01	80,90 ± 2,94
18	19,26 ± 0,93	45,18 ± 2,70	50,10 ± 0,95	73,40 ± 1,39
26	18,32 ± 1,14	47,86 ± 0,39	50,99 ± 1,38	74,70 ± 2,02
34	12,97 ± 0,29	38,14 ± 0,65	39,00 ± 0,73	57,14 ± 1,07
40	10,87 ± 0,07	36,31 ± 1,11	35,66 ± 0,80	52,24 ± 1,17
48	10,29 ± 0,49	38,87 ± 1,72	36,82 ± 0,74	53,94 ± 1,08
55	8,61 ± 0,28	38,21 ± 0,44	34,69 ± 0,36	50,82 ± 0,53
64	8,04 ± 0,36	37,65 ± 0,42	33,75 ± 0,57	49,44 ± 0,84
78	8,26 ± 0,23	43,28 ± 1,18	37,80 ± 0,62	55,38 ± 0,91
89	5,72 ± 0,45	40,50 ± 0,69	33,38 ± 0,91	48,90 ± 1,33
96	6,67 ± 0,56	43,57 ± 0,88	36,42 ± 1,14	53,36 ± 1,67
114	5,63 ± 0,04	46,34 ± 2,51	37,26 ± 1,75	54,59 ± 2,56
132	4,76 ± 0,19	43,32 ± 1,94	34,33 ± 1,19	50,29 ± 1,74
149	4,26 ± 0,06	50,05 ± 2,29	38,42 ± 1,51	56,29 ± 2,21

TABLA n°12.- NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LAS SALCHICHAS COMERCIALES: MARCA 2

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
7	54,54 ± 0,53	70,41 ± 1,02	102,60 ± 0,82	150,31 ± 1,20
9	50,47 ± 1,41	80,14 ± 2,67	105,17 ± 2,91	154,07 ± 4,26
14	43,05 ± 0,99	71,27 ± 4,95	91,70 ± 4,24	134,34 ± 6,21
22	45,06 ± 1,43	76,97 ± 1,99	97,60 ± 2,66	142,98 ± 3,90
30	33,31 ± 0,47	76,14 ± 2,72	85,29 ± 2,17	124,95 ± 3,18
36	35,25 ± 0,43	67,92 ± 3,42	81,61 ± 2,40	119,56 ± 3,52
44	54,75 ± 0,30	82,28 ± 5,44	110,91 ± 3,41	162,48 ± 5,00
51	35,84 ± 0,92	78,45 ± 4,53	89,39 ± 1,85	130,96 ± 2,71
60	28,45 ± 1,01	73,06 ± 0,56	78,33 ± 1,23	114,75 ± 1,80
74	31,08 ± 0,33	82,11 ± 2,50	87,13 ± 2,00	127,65 ± 2,93
85	22,69 ± 0,64	78,34 ± 1,52	76,16 ± 1,01	111,57 ± 1,48
92	24,23 ± 1,08	88,18 ± 2,49	84,43 ± 2,41	123,69 ± 3,53
110	20,94 ± 0,11	85,41 ± 3,48	79,24 ± 2,48	116,09 ± 3,63
145	18,76 ± 0,15	82,59 ± 1,13	75,19 ± 0,95	110,15 ± 1,39

TABLA n°13.- NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LAS SALCHICHAS COMERCIALES: MARCA 3

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
5	44,64 ± 0,54	125,46 ± 9,66	130,28 ± 9,29	190,86 ± 13,61
8	45,43 ± 0,72	135,44 ± 0,74	137,88 ± 0,41	201,99 ± 0,60
12	47,34 ± 0,13	139,75 ± 4,13	142,59 ± 2,99	208,89 ± 4,38
16	41,23 ± 0,65	134,70 ± 2,25	133,18 ± 1,12	195,11 ± 1,64
22	36,98 ± 1,37	139,42 ± 1,91	132,15 ± 2,64	193,60 ± 3,87
29	37,11 ± 2,06	134,40 ± 0,35	128,85 ± 2,30	188,77 ± 3,37
36	34,30 ± 0,51	128,35 ± 4,29	121,91 ± 3,01	178,60 ± 4,41
43	33,35 ± 0,87	151,28 ± 4,43	136,61 ± 2,48	200,13 ± 3,63
54	32,41 ± 0,12	147,39 ± 3,72	133,02 ± 2,44	194,87 ± 3,57
68	31,62 ± 0,18	139,41 ± 5,40	126,78 ± 3,56	185,73 ± 5,22
79	22,14 ± 0,48	62,33 ± 4,44	64,69 ± 2,55	94,77 ± 3,74
86	25,91 ± 0,07	160,77 ± 0,97	135,65 ± 0,60	198,73 ± 0,88
91	24,18 ± 1,43	151,98 ± 7,12	127,65 ± 6,14	187,01 ± 9,00
125	25,76 ± 0,23	157,78 ± 5,93	133,47 ± 4,24	195,53 ± 6,21
145	21,11 ± 0,24	173,28 ± 5,78	139,39 ± 3,84	204,21 ± 5,63

TABLA nº14. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LAS SALCHICHAS COMERCIALES: MARCA 4

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
11	5,78 ± 0,25	110,24 ± 0,95	81,03 ± 0,40	118,71 ± 0,59
13	5,23 ± 0,06	129,62 ± 2,23	93,71 ± 1,59	137,29 ± 2,33
18	4,55 ± 0,14	118,39 ± 1,89	85,43 ± 1,37	125,15 ± 2,01
26	3,60 ± 0,07	17,52 ± 0,64	15,56 ± 0,40	22,80 ± 0,59
32	5,45 ± 0,32	98,43 ± 2,70	72,64 ± 2,16	106,42 ± 3,16
39	4,97 ± 0,10	16,02 ± 0,06	15,90 ± 0,06	23,29 ± 0,09
46	5,20 ± 0,26	55,34 ± 1,25	42,97 ± 1,08	62,95 ± 1,58
53	4,40 ± 0,07	12,43 ± 0,20	12,89 ± 0,06	18,88 ± 0,09
61	3,37 ± 0,11	8,19 ± 0,09	8,98 ± 0,21	13,16 ± 0,31
69	4,38 ± 0,14	10,46 ± 0,11	11,51 ± 0,21	16,86 ± 0,31
78	4,34 ± 0,21	6,36 ± 0,28	8,68 ± 0,36	12,72 ± 0,53
92	4,54 ± 0,06	7,17 ± 0,20	9,44 ± 0,20	13,83 ± 0,29
111	3,91 ± 0,21	6,65 ± 0,17	8,45 ± 0,27	12,38 ± 0,40
132	3,74 ± 0,10	8,16 ± 0,06	9,25 ± 0,01	13,55 ± 0,01
145	5,58 ± 0,08	8,18 ± 0,33	11,40 ± 0,37	16,70 ± 0,54

TABLA n°15. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 2 DEL LOTE 1 (12) *

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	71,33 ± 0,67	41,28 ± 0,67	99,50 ± 1,13	145,77 ± 1,66
PN	79,95 ± 3,55	52,46 ± 5,23	114,08 ± 6,46	167,13 ± 9,46
0	59,04 ± 0,28	27,66 ± 1,26	77,93 ± 1,10	114,17 ± 1,61
3	58,59 ± 1,06	32,22 ± 2,08	80,58 ± 1,11	118,05 ± 1,63
5	55,68 ± 0,02	34,38 ± 0,62	79,15 ± 0,42	115,95 ± 0,62
7	51,73 ± 0,33	33,74 ± 1,05	74,76 ± 0,76	109,52 ± 1,11
12	50,12 ± 1,39	31,85 ± 2,08	71,85 ± 2,81	105,26 ± 4,12
17	20,36 ± 0,45	30,56 ± 1,33	41,22 ± 0,87	60,39 ± 1,27
27	2,99 ± 0,00	4,56 ± 0,56	6,10 ± 0,38	8,94 ± 0,56
45	6,54 ± 0,14	31,22 ± 0,54	27,81 ± 0,54	40,74 ± 0,79
75	4,61 ± 0,14	10,65 ± 0,73	11,88 ± 0,51	17,40 ± 0,75
120	4,74 ± 0,06	24,49 ± 2,08	21,47 ± 1,51	31,45 ± 2,21

* 125 mg/kg de nitrito sódico adicionado

TABLA n°16. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 2 DEL LOTE 2 (22)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	193,32 ± 3,67	62,16 ± 4,04	238,42 ± 1,58	349,29 ± 2,31
PN	181,48 ± 0,91	62,98 ± 2,05	224,46 ± 1,67	328,83 ± 2,45
0	91,58 ± 0,57	22,49 ± 1,70	106,93 ± 0,83	156,65 ± 1,22
3	90,54 ± 0,77	27,89 ± 0,04	108,33 ± 0,83	158,70 ± 2,31
7	53,44 ± 0,04	3,62 ± 2,15	55,91 ± 1,43	81,91 ± 2,09
11	2,87 ± 0,13	3,49 ± 0,31	4,56 ± 0,26	6,68 ± 0,38
14	3,12 ± 0,08	0,69 ± 0,04	3,59 ± 0,27	5,26 ± 0,40
16	3,61 ± 0,11	3,50 ± 0,28	5,18 ± 1,05	7,59 ± 1,54
21	3,21 ± 0,06	5,51 ± 0,70	5,78 ± 0,30	8,47 ± 0,44
25	3,32 ± 0,02	2,96 ± 0,35	5,21 ± 0,28	7,63 ± 0,41
29	2,75 ± 0,21	1,04 ± 0,21	3,29 ± 0,45	4,82 ± 0,66
37	3,64 ± 0,21	5,29 ± 0,31	7,57 ± 0,39	11,09 ± 0,57
45	4,92 ± 0,83	3,53 ± 0,85	7,25 ± 0,22	10,62 ± 0,32
57	3,86 ± 0,23	4,26 ± 0,72	6,71 ± 0,78	9,83 ± 1,14
74	2,90 ± 0,28	5,48 ± 1,03	6,64 ± 0,54	9,73 ± 0,79
101	2,70 ± 0,06	4,42 ± 0,78	5,72 ± 0,52	8,38 ± 0,76
121	2,61 ± 0,05	9,23 ± 1,01	8,90 ± 0,66	13,04 ± 0,97

* 250 mg/kg de nitrito sódico adicionado

TABLA n°17. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 1 DEL LOTE 3 (31) *

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	47,54 ± 1,13	39,58 ± 0,99	74,56 ± 1,23	109,23 ± 1,80
PN	41,36 ± 0,55	43,75 ± 1,52	71,22 ± 1,54	104,39 ± 2,26
0	35,15 ± 0,63	29,59 ± 0,88	55,35 ± 0,91	81,09 ± 1,33
4	39,33 ± 0,23	38,48 ± 0,76	65,60 ± 0,74	96,10 ± 1,08
7	37,49 ± 0,18	22,33 ± 0,37	52,80 ± 0,07	77,35 ± 0,10
12	2,76 ± 0,05	8,50 ± 0,60	8,59 ± 0,59	12,58 ± 0,86
14	2,33 ± 0,11	9,66 ± 0,91	8,89 ± 0,49	13,02 ± 0,72
40	3,76 ± 0,12	10,27 ± 0,76	10,76 ± 0,85	15,76 ± 1,25
60	2,92 ± 0,11	8,81 ± 0,60	8,92 ± 0,56	13,07 ± 0,82

* 75 mg/kg de nitrito sódico adicibnado

TABLA n°18. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 2 DEL LOTE 3 (32)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	202,60 ± 2,76	47,34 ± 1,58	232,65 ± 2,00	340,83 ± 2,93
PN	185,10 ± 2,69	54,25 ± 1,35	219,98 ± 1,10	322,27 ± 1,61
0	128,69 ± 0,82	29,05 ± 0,06	147,88 ± 0,70	216,64 ± 1,03
4	127,93 ± 1,27	32,99 ± 6,43	150,45 ± 4,10	220,41 ± 6,01
7	24,13 ± 0,14	9,17 ± 1,72	30,39 ± 1,56	44,52 ± 2,29
12	4,08 ± 0,10	5,83 ± 2,01	8,07 ± 1,45	11,82 ± 2,12
14	3,66 ± 0,20	9,85 ± 0,78	10,38 ± 0,53	15,21 ± 0,78
20	3,07 ± 0,11	8,74 ± 2,06	9,72 ± 0,80	14,24 ± 1,17
25	4,38 ± 0,01	8,47 ± 0,97	10,15 ± 0,93	14,87 ± 1,36
40	4,44 ± 0,09	8,55 ± 0,32	10,26 ± 0,34	15,03 ± 0,50
60	3,77 ± 0,08	9,63 ± 0,65	10,38 ± 0,51	15,21 ± 0,75

* 250 mg/kg de nitrito sódico adicionado

TABLA n°19. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 1 DEL LOTE 4 (41) *

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	39,76 ± 1,01	44,87 ± 4,25	70,38 ± 1,99	103,11 ± 2,92
PN	35,38 ± 1,93	48,26 ± 3,03	68,63 ± 0,54	100,54 ± 0,79
0	38,81 ± 0,82	16,35 ± 0,45	48,94 ± 1,79	71,70 ± 2,62
3	40,09 ± 0,60	14,86 ± 0,42	48,74 ± 2,24	71,40 ± 3,28
7	34,19 ± 1,16	16,19 ± 1,18	45,24 ± 1,07	66,28 ± 1,57
10	5,25 ± 0,63	4,76 ± 0,59	8,50 ± 0,22	12,45 ± 0,32
12	40,15 ± 0,60	9,03 ± 0,66	45,90 ± 0,99	67,24 ± 1,45
14	28,74 ± 0,77	6,17 ± 0,12	32,71 ± 0,36	47,92 ± 0,53
18	6,14 ± 0,75	3,71 ± 0,26	7,07 ± 0,67	10,36 ± 0,98
21	6,43 ± 0,48	5,97 ± 0,33	10,24 ± 0,39	15,00 ± 0,57
27	5,64 ± 0,06	3,66 ± 0,02	8,45 ± 0,37	12,38 ± 0,54
34	7,75 ± 0,06	6,71 ± 0,43	12,33 ± 0,35	18,06 ± 0,51
42	3,15 ± 0,24	5,04 ± 0,17	6,59 ± 0,13	9,65 ± 0,19
59	4,64 ± 0,03	5,93 ± 0,01	9,01 ± 0,56	13,20 ± 0,82
75	3,96 ± 0,14	6,77 ± 0,12	8,46 ± 0,51	12,39 ± 0,75
101	4,74 ± 0,05	3,20 ± 0,58	6,92 ± 0,43	10,14 ± 0,63
124	4,18 ± 0,21	2,28 ± 0,18	5,64 ± 0,01	8,26 ± 0,01

* 75 mg/kg de nitrito sódico adicionado

TABLA n°20. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 2 DEL LOTE 41(42)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	198,47 ± 5,02	65,34 ± 3,30	243,07 ± 2,76	356,10 ± 4,04
PN	194,50 ± 0,64	61,30 ± 0,36	236,34 ± 0,40	346,24 ± 0,59
0	146,08 ± 0,59	33,87 ± 0,44	169,20 ± 0,75	247,88 ± 1,10
3	147,97 ± 1,06	27,61 ± 0,89	166,81 ± 0,61	244,38 ± 0,89
7	114,40 ± 1,80	20,21 ± 1,06	128,20 ± 1,09	187,81 ± 1,60
10	7,01 ± 0,22	2,22 ± 0,24	9,17 ± 0,49	13,43 ± 0,72
12	141,34 ± 1,29	22,89 ± 0,07	155,86 ± 0,62	228,33 ± 0,91
14	113,48 ± 1,25	11,24 ± 0,74	120,52 ± 1,34	176,56 ± 1,96
18	7,55 ± 0,23	–	7,55 ± 0,23	11,06 ± 0,34
21	15,33 ± 0,37	2,74 ± 0,31	17,68 ± 0,83	25,90 ± 1,22
27	7,03 ± 0,63	6,00 ± 0,06	10,10 ± 0,78	14,80 ± 1,14
34	9,17 ± 0,44	6,54 ± 0,49	13,63 ± 0,63	19,97 ± 0,92
42	3,83 ± 0,13	5,23 ± 0,09	7,40 ± 0,09	10,84 ± 0,13
59	6,59 ± 0,08	7,29 ± 0,50	11,18 ± 0,63	16,38 ± 0,92
75	5,34 ± 0,15	5,69 ± 0,25	9,01 ± 0,25	13,20 ± 0,37
101	6,43 ± 0,36	6,79 ± 0,37	11,39 ± 0,94	16,69 ± 1,38
124	4,74 ± 0,16	4,60 ± 0,56	7,97 ± 0,36	11,68 ± 0,53

* 250 mg/kg de nitrito sódico adicionado

TABLA n°21. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 3 DEL LOTE 1 (13)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	–	194,55 ± 3,32	132,80 ± 2,27	194,55 ± 3,32
PN	–	194,25 ± 1,09	132,59 ± 0,74	194,25 ± 1,09
0	–	86,33 ± 0,23	58,93 ± 0,16	86,33 ± 0,23
3	–	96,86 ± 0,33	66,12 ± 0,23	96,86 ± 0,33
5	–	100,45 ± 2,65	68,57 ± 1,81	100,45 ± 2,65
7	–	105,96 ± 1,14	72,33 ± 0,78	105,96 ± 1,14
12	–	103,89 ± 1,10	70,91 ± 0,75	103,89 ± 1,10
17	30,92 ± 1,12	47,43 ± 0,78	63,30 ± 1,17	92,73 ± 1,71
27	15,40 ± 0,01	1,48 ± 0,26	16,42 ± 0,19	24,05 ± 0,28
45	3,19 ± 0,13	8,08 ± 0,76	11,27 ± 0,81	16,51 ± 1,18
75	2,80 ± 0,05	4,74 ± 0,44	5,87 ± 0,82	8,60 ± 1,20
120	3,95 ± 0,20	7,88 ± 0,11	13,13 ± 1,67	13,12 ± 1,67

* 200 mg/kg de nitrato potásico adicionado

TABLA n°22. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 3 DEL LOTE 2 (23) *

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	–	218,94 ± 8,92	149,45 ± 6,09	218,94 ± 8,92
PN	–	219,93 ± 3,99	150,12 ± 2,72	219,93 ± 3,99
0	–	122,81 ± 2,49	83,83 ± 1,70	122,81 ± 2,49
3	–	126,05 ± 1,79	86,04 ± 1,22	126,05 ± 1,79
7	29,39 ± 0,52	72,12 ± 4,22	78,62 ± 3,39	115,18 ± 4,96
11	1,93 ± 0,05	–	1,93 ± 0,05	2,83 ± 0,07
14	1,49 ± 0,13	–	1,49 ± 0,13	2,19 ± 0,19
16	2,45 ± 0,09	–	2,45 ± 0,09	3,59 ± 0,13
21	1,27 ± 0,03	–	1,27 ± 0,03	1,86 ± 0,05
25	2,36 ± 0,18	–	2,36 ± 0,18	3,46 ± 0,27
29	1,12 ± 0,03	–	1,12 ± 0,03	1,64 ± 0,04
37	1,86 ± 0,19	2,84 ± 0,46	3,81 ± 0,50	5,58 ± 0,73
45	3,84 ± 0,17	–	3,84 ± 0,17	5,62 ± 0,25
57	1,97 ± 0,23	1,27 ± 0,17	2,64 ± 0,31	3,87 ± 0,45
74	1,74 ± 0,03	3,17 ± 0,36	3,91 ± 0,22	5,73 ± 0,32
101	1,85 ± 0,57	–	1,85 ± 0,57	2,71 ± 0,84
121	1,17 ± 0,18	7,46 ± 0,53	6,27 ± 0,46	9,18 ± 0,67

* 200 mg/kg de nitrato potásico adicionado

TABLA n°23. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 3 DEL LOTE 3 (33)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	–	190,67 ± 5,89	130,15 ± 4,02	190,67 ± 5,89
PN	2,40 ± 0,08	194,79 ± 3,58	134,48 ± 3,77	197,01 ± 5,52
0	1,21 ± 0,08	104,86 ± 0,20	72,82 ± 0,21	106,68 ± 0,31
4	3,60 ± 0,09	113,98 ± 2,96	81,67 ± 2,15	119,65 ± 3,15
7	10,21 ± 0,56	7,36 ± 0,91	15,23 ± 1,07	22,31 ± 1,57
12	1,11 ± 0,02	8,62 ± 0,09	6,98 ± 0,05	10,23 ± 0,07
14	0,54 ± 0,03	5,36 ± 0,30	4,20 ± 0,22	6,15 ± 0,32
40	1,44 ± 0,09	14,87 ± 5,07	11,59 ± 3,40	16,98 ± 4,98
60	1,01 ± 0,00	7,96 ± 0,84	6,45 ± 0,57	9,45 ± 0,84

* 200 mg/kg de nitrato potásico adicionado

TABLA n°24.- NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 3 DEL LOTE 4 (43) *

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	-	188,94 ± 11,16	128,97 ± 7,62	188,94 ± 11,16
PN	-	186,13 ± 13,05	127,05 ± 8,91	186,13 ± 13,05
0	2,94 ± 0,13	133,35 ± 5,20	93,95 ± 3,41	137,64 ± 5,00
3	4,02 ± 0,30	125,55 ± 7,31	89,62 ± 4,65	131,40 ± 6,81
7	16,21 ± 1,25	103,87 ± 1,32	87,12 ± 0,94	127,63 ± 1,38
10	7,25 ± 0,11	12,15 ± 0,88	14,79 ± 1,42	21,67 ± 2,08
12	27,37 ± 0,21	97,93 ± 1,55	92,41 ± 1,90	135,38 ± 2,78
14	21,40 ± 1,90	103,93 ± 2,54	92,34 ± 1,03	135,28 ± 1,51
18	42,93 ± 0,83	30,10 ± 0,76	63,48 ± 0,41	93,00 ± 0,60
21	34,77 ± 0,65	12,73 ± 1,19	42,88 ± 1,01	62,82 ± 1,48
27	8,91 ± 0,62	18,03 ± 0,08	20,29 ± 1,80	29,72 ± 2,64
34	9,99 ± 0,26	19,11 ± 1,00	23,04 ± 0,91	33,75 ± 1,33
42	7,86 ± 0,12	41,47 ± 0,04	36,23 ± 0,04	53,08 ± 0,06
59	5,23 ± 0,15	5,39 ± 0,49	8,99 ± 0,33	13,17 ± 0,48
75	4,51 ± 0,05	5,42 ± 0,14	8,22 ± 0,03	12,04 ± 0,04
101	5,04 ± 0,27	5,63 ± 0,31	8,61 ± 0,61	12,61 ± 0,89
124	4,33 ± 0,23	2,58 ± 0,53	6,12 ± 0,14	8,97 ± 0,21

* 200 mg/kg de nitrato potásico adicionado

TABLA n°25. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 4 DEL LOTE 1 (14)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	95,29 ± 3,78	212,85 ± 0,84	240,58 ± 3,21	352,45 ± 4,70
PN	88,89 ± 0,88	237,62 ± 6,62	251,10 ± 4,22	367,86 ± 6,18
0	51,99 ± 0,60	135,04 ± 2,30	144,17 ± 2,17	211,21 ± 3,18
3	51,50 ± 0,38	137,96 ± 0,67	145,67 ± 0,65	213,41 ± 0,95
5	48,06 ± 2,34	139,80 ± 2,07	143,49 ± 3,07	210,21 ± 4,50
7	48,69 ± 0,72	142,59 ± 2,80	146,02 ± 1,21	213,92 ± 1,77
12	45,70 ± 0,46	134,84 ± 1,67	137,74 ± 0,85	201,79 ± 1,25
17	23,27 ± 0,93	140,16 ± 2,75	118,94 ± 1,80	174,25 ± 2,64
27	38,23 ± 0,20	140,76 ± 2,71	134,31 ± 1,69	196,76 ± 2,48
45	4,46 ± 0,26	148,18 ± 7,53	105,61 ± 4,88	154,72 ± 7,15
75	4,64 ± 0,16	5,41 ± 0,56	8,33 ± 0,29	12,20 ± 0,42
120	4,26 ± 0,17	12,17 ± 1,92	12,55 ± 1,47	18,39 ± 2,15

* 125 mg/kg de nitrito sódico y 200 mg/kg de nitrato potásico adicionados

TABLA n°26. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 4 DEL LOTE 2 (24)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	201,22 ± 3,23	238,38 ± 11,02	363,94 ± 11,62	533,17 ± 17,02
PN	183,13 ± 2,55	245,39 ± 6,17	350,63 ± 6,40	513,67 ± 9,38
0	122,00 ± 0,76	152,81 ± 1,16	226,32 ± 0,32	331,56 ± 0,47
3	119,42 ± 0,53	162,37 ± 9,05	230,25 ± 6,11	337,32 ± 8,95
7	114,83 ± 0,43	154,67 ± 7,25	220,40 ± 4,51	322,89 ± 6,61
11	109,76 ± 0,71	152,46 ± 1,68	213,83 ± 1,71	313,26 ± 2,51
14	109,19 ± 0,56	143,99 ± 8,56	207,48 ± 6,07	303,96 ± 8,89
16	77,24 ± 0,27	134,41 ± 3,55	168,99 ± 2,16	247,57 ± 3,16
21	106,36 ± 0,52	149,87 ± 3,03	208,66 ± 1,93	305,69 ± 2,83
25	63,06 ± 0,53	154,15 ± 18,50	168,28 ± 12,28	246,53 ± 17,99
29	14,32 ± 0,31	117,11 ± 1,92	94,26 ± 1,01	138,09 ± 1,48
37	21,00 ± 0,40	153,30 ± 5,54	125,63 ± 4,09	184,05 ± 5,99
45	9,27 ± 0,58	132,47 ± 1,23	99,69 ± 0,60	146,05 ± 0,88
57	6,81 ± 0,59	139,06 ± 3,38	101,72 ± 2,10	149,02 ± 3,08
74	16,44 ± 0,39	52,42 ± 0,23	53,59 ± 2,42	78,51 ± 3,55
101	5,37 ± 0,43	12,72 ± 1,48	14,05 ± 0,81	20,58 ± 1,19
121	4,40 ± 0,19	11,56 ± 0,34	12,29 ± 0,42	18,00 ± 0,62

* 250 mg/kg de nitrito sódico y 200 mg/kg de nitrato potásico adicionados

TABLA n°27. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 4 DEL LOTE 3 (34)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	43,88 ± 0,99	221,43 ± 6,75	195,03 ± 3,65	285,72 ± 5,35
PN	37,10 ± 2,15	232,67 ± 8,91	195,92 ± 4,28	287,02 ± 6,27
0	31,43 ± 0,77	139,53 ± 2,82	126,68 ± 2,04	185,59 ± 2,99
4	36,32 ± 1,63	132,48 ± 4,69	126,75 ± 2,49	185,69 ± 3,65
7	57,41 ± 2,15	52,62 ± 1,36	89,05 ± 2,97	130,46 ± 4,35
12	7,51 ± 0,10	38,65 ± 1,27	34,34 ± 1,54	50,31 ± 2,26
14	3,41 ± 0,03	7,52 ± 0,39	8,89 ± 0,66	13,02 ± 0,97
20	4,72 ± 0,10	10,00 ± 0,65	11,54 ± 0,35	16,91 ± 0,51
25	4,46 ± 0,18	8,76 ± 0,67	10,44 ± 0,64	15,29 ± 0,94
40	4,28 ± 0,05	9,61 ± 0,23	10,87 ± 0,17	15,92 ± 0,25
60	4,41 ± 0,17	8,80 ± 0,40	10,33 ± 0,38	15,13 ± 0,56

* 75 mg/kg de nitrito sódico y 200 mg/kg de nitrato potásico adicionados

TABLA n°28. – NIVELES RESIDUALES DE NITRITO Y NITRATO EN LA FORMULACION 4 DEL LOTE 4 (44)*

TIEMPO Días	NITRITO mg NaNO ₂ /kg	NITRATO mg KNO ₃ /kg	TOTAL mg NaNO ₂ /kg	TOTAL mg KNO ₃ /kg
P	46,20 ± 0,60	226,60 ± 4,06	200,87 ± 3,34	294,27 ± 4,89
PN	55,19 ± 1,88	202,37 ± 3,90	193,33 ± 3,35	283,23 ± 4,91
0	49,64 ± 1,19	141,88 ± 2,56	146,49 ± 2,19	214,61 ± 3,21
3	50,90 ± 0,61	133,29 ± 5,69	141,88 ± 3,55	207,85 ± 5,20
7	59,64 ± 1,07	113,63 ± 5,16	137,21 ± 4,08	201,01 ± 5,98
10	50,12 ± 0,44	5,58 ± 0,36	53,93 ± 0,66	79,01 ± 0,97
12	61,89 ± 1,29	112,09 ± 4,00	138,40 ± 2,07	202,76 ± 3,03
14	67,23 ± 0,86	112,15 ± 3,35	143,79 ± 2,90	210,65 ± 4,25
18	79,14 ± 1,33	33,25 ± 2,60	101,83 ± 3,04	149,18 ± 4,45
21	60,13 ± 0,67	104,54 ± 0,23	129,58 ± 3,16	189,83 ± 4,63
27	11,75 ± 0,31	6,71 ± 0,30	16,87 ± 0,62	24,71 ± 0,91
34	7,98 ± 0,13	13,61 ± 0,82	18,11 ± 0,90	26,53 ± 1,32
42	6,32 ± 0,02	12,20 ± 0,23	14,65 ± 0,15	21,46 ± 0,22
59	5,57 ± 0,06	4,75 ± 0,16	9,05 ± 0,39	13,26 ± 0,57
75	4,66 ± 0,10	3,43 ± 0,35	7,76 ± 0,46	11,37 ± 0,67
101	5,21 ± 0,10	6,90 ± 0,72	9,57 ± 0,88	14,02 ± 1,29
124	5,04 ± 0,33	3,37 ± 0,45	7,53 ± 0,35	11,03 ± 0,51

* 75 mg/kg de nitrito sódico y 200 mg/kg de nitrato potásico adicionados

TABLA n° 29. – RECUPERACION DE NITRITO Y NITRATO EN PRESENCIA DE AROMA DE HUMO (2g/L)

SOLUCION PATRON	TIEMPO	RECUPERACION				
	(Días)	%				
		1a	2a	3a	4a	5a
NITRITO (mg NaNO ₂ /kg)	0	97,91	98,95	–	96,69	99,08
	2	97,00	98,54	–	98,23	99,47
	6	96,84	97,24	–	98,20	99,07
	9	97,17	98,01	–	96,06	98,97
	14	96,04	97,81	–	95,88	98,21
	16	95,74	96,80	–	95,10	98,06
	65	64,65	93,52	–	90,60	93,17
	NITRATO (mg KNO ₃ /kg)	0	–	–	86,49	101,41
2		–	–	74,68	98,68	99,20
6		–	–	55,37	98,04	99,64
9		–	–	20,14	97,36	98,52
14		–	–	0,00	98,02	101,29
16		–	–	0,00	98,17	99,29
65		–	–	0,00	102,16	100,12

TABLA nº 30. – ESTADÍSTICOS DE COMPARACION DE LA EVOLUCION CONJUNTA E INDIVIDUAL DE LAS SALES

LOTE		R (2+3, 4)	R(2+3)+R(4)	PROB.
1	NITRITO	4,8973	4,3037	0,3556
	NITRATO	12,7746	11,3235	0,3811
	NITRITO+NITRATO	5,8886	5,2678	0,4147
2	NITRITO	33,9403	19,7915	0,0009
	NITRATO	94,4673	40,5859	0,0000
	NITRITO+NITRATO	52,2586	21,8324	0,0000
		R(1+3, 4)	R(1+3)+R(4)	PROB.
3	NITRITO	11,9056	11,8560	0,9753
	NITRATO	10,5873	9,4378	0,5018
	NITRITO+NITRATO	9,9614	8,3166	0,6693
4	NITRITO	10,6873	9,6722	0,2733
	NITRATO	20,4777	19,4262	0,5040
	NITRITO+NITRATO	11,1535	10,2215	0,3216

TABLA nº 31. – PROBABILIDAD OBTENIDA EN LA COMPARACION DE LAS MUESTRAS CURADAS CON NITRITO

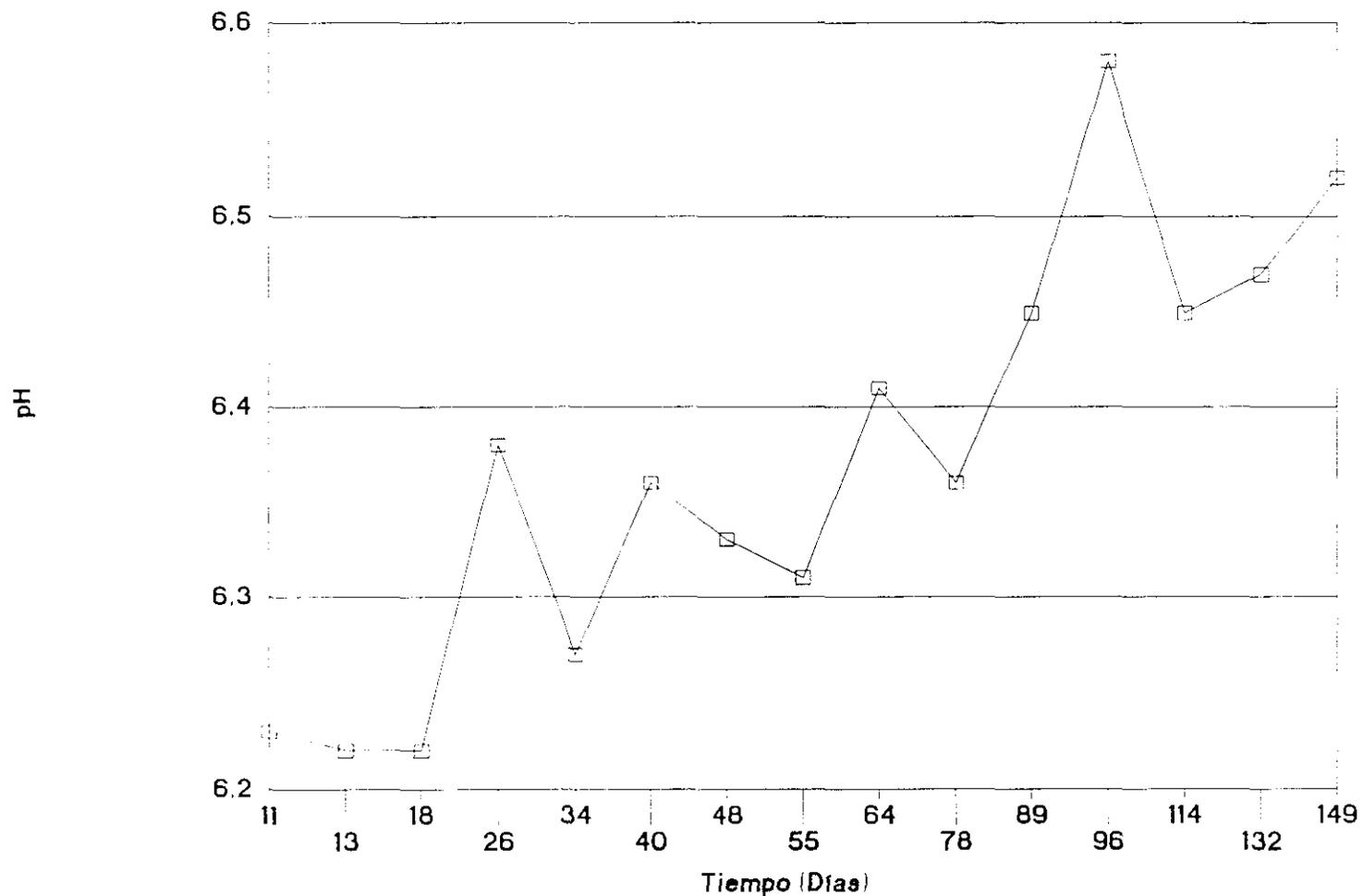
		MARCA 1			MARCA 2		
LOTE	FORM.	NITRITO	NITRATO	TOTAL	NITRITO	NITRATO	TOTAL
1	2	0,08677	0,04264	0,11264	0,00261	0,00006	0,00128
2	2	0,02360	0,00000	0,00008	0,00000	0,00000	0,00000
3	1	0,04317	0,00000	0,00217	0,00033	0,00000	0,00000
3	2	0,03954	0,00000	0,00556	0,00097	0,00000	0,00011
4	1	0,46225	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
4	2	0,19933	0,00000	0,01298	0,01505	0,00000	0,00018

TABLA nº 32. – PROBABILIDAD OBTENIDA EN LA COMPARACION DE LAS MUESTRAS CURADAS CON NITRITO Y NITRATO

LOTE	FORM.	MARCA 3			MARCA 4		
		NITRITO	NITRATO	TOTAL	NITRITO	NITRATO	TOTAL
1	4	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,06564	0,00516
2	4	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00197	0,00000
3	4	0,00000	0,00000	0,00000	0,00087	0,12594	0,14886
4	4	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,40959	0,13729

SALCHICHAS COMERCIALES

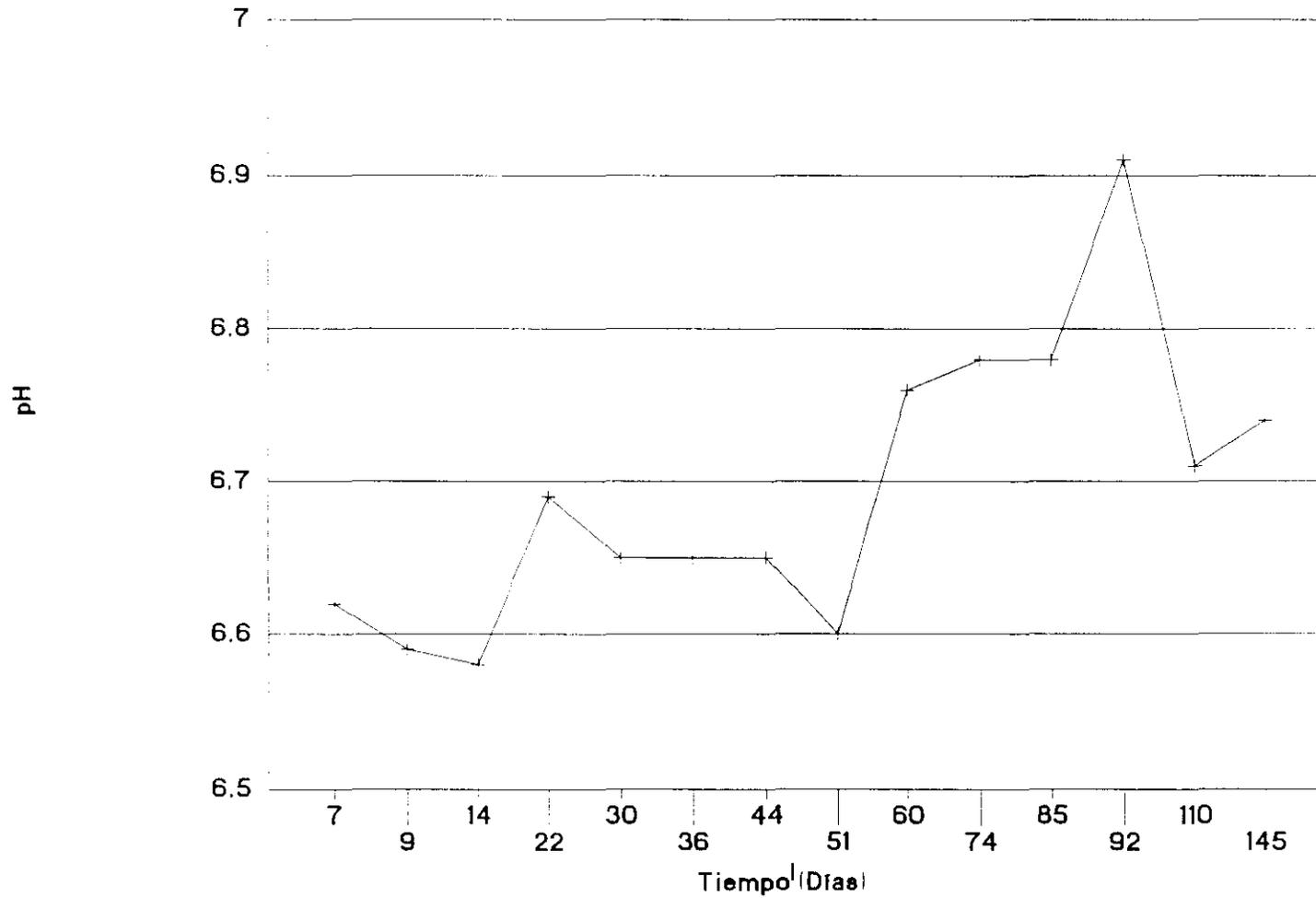
MARCA 1



GRÁFICA nº 3.- Evolución del pH de las salchichas comerciales durante el periodo de conservación:
Marca 1.

SALCHICHAS COMERCIALES

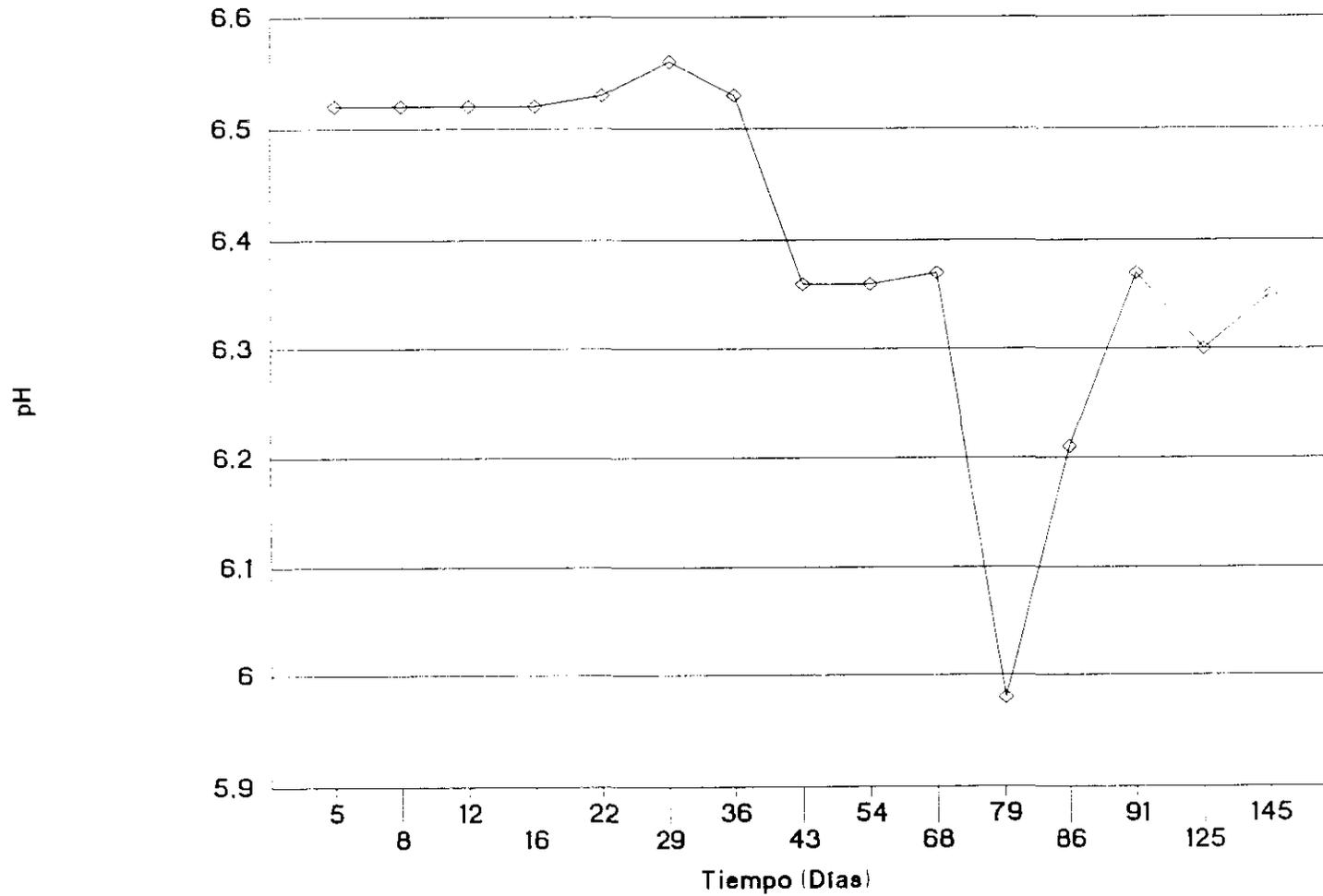
MARCA 2



GRÁFICA nº 4.- Evolución del pH de las salchichas comerciales durante el periodo de conservación:
Marca 2.

SALCHICHAS COMERCIALES

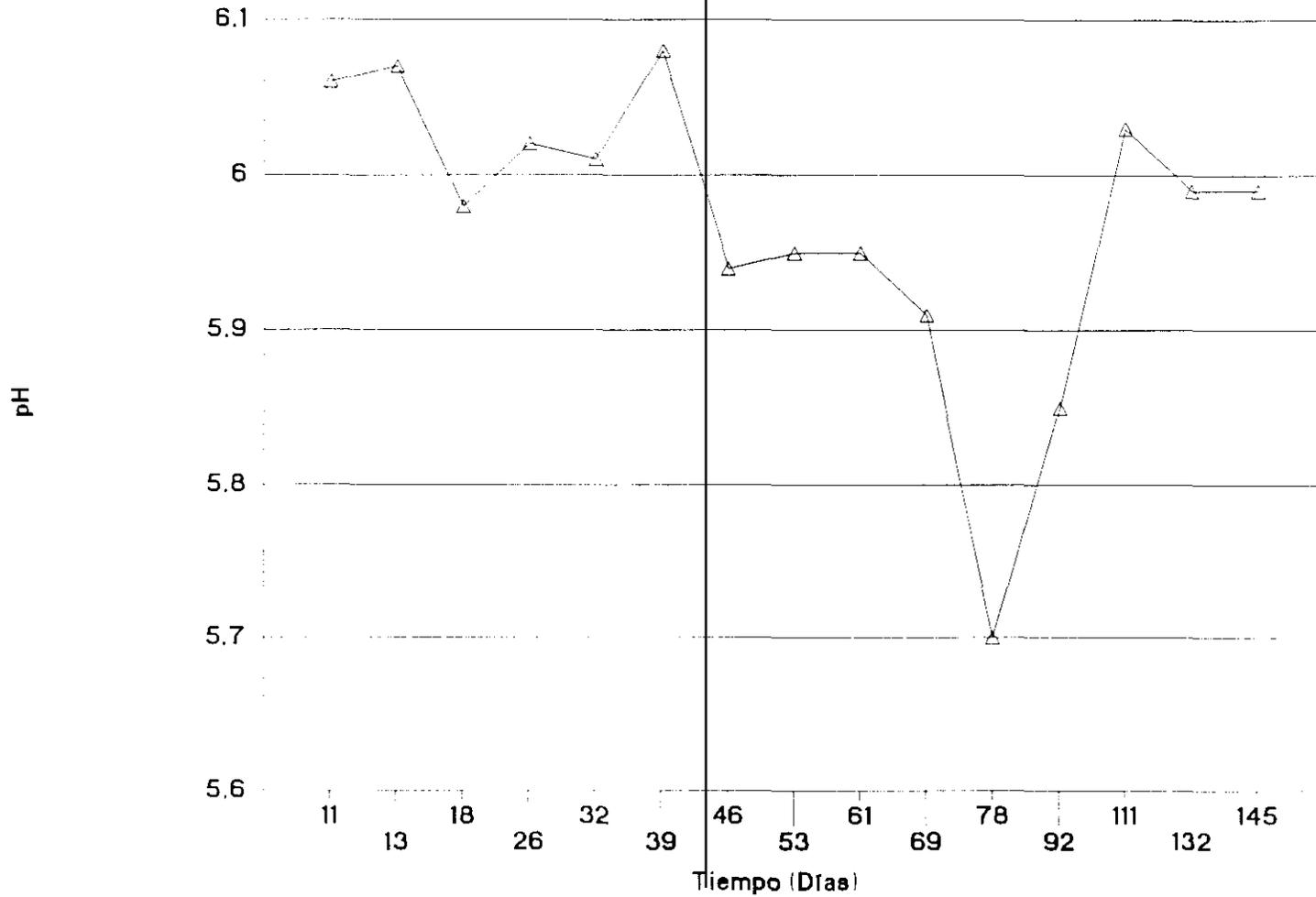
MARCA 3



GRÁFICA nº 5.- Evolución del pH de las salchichas comerciales durante el periodo de conservación:
Marca 3.

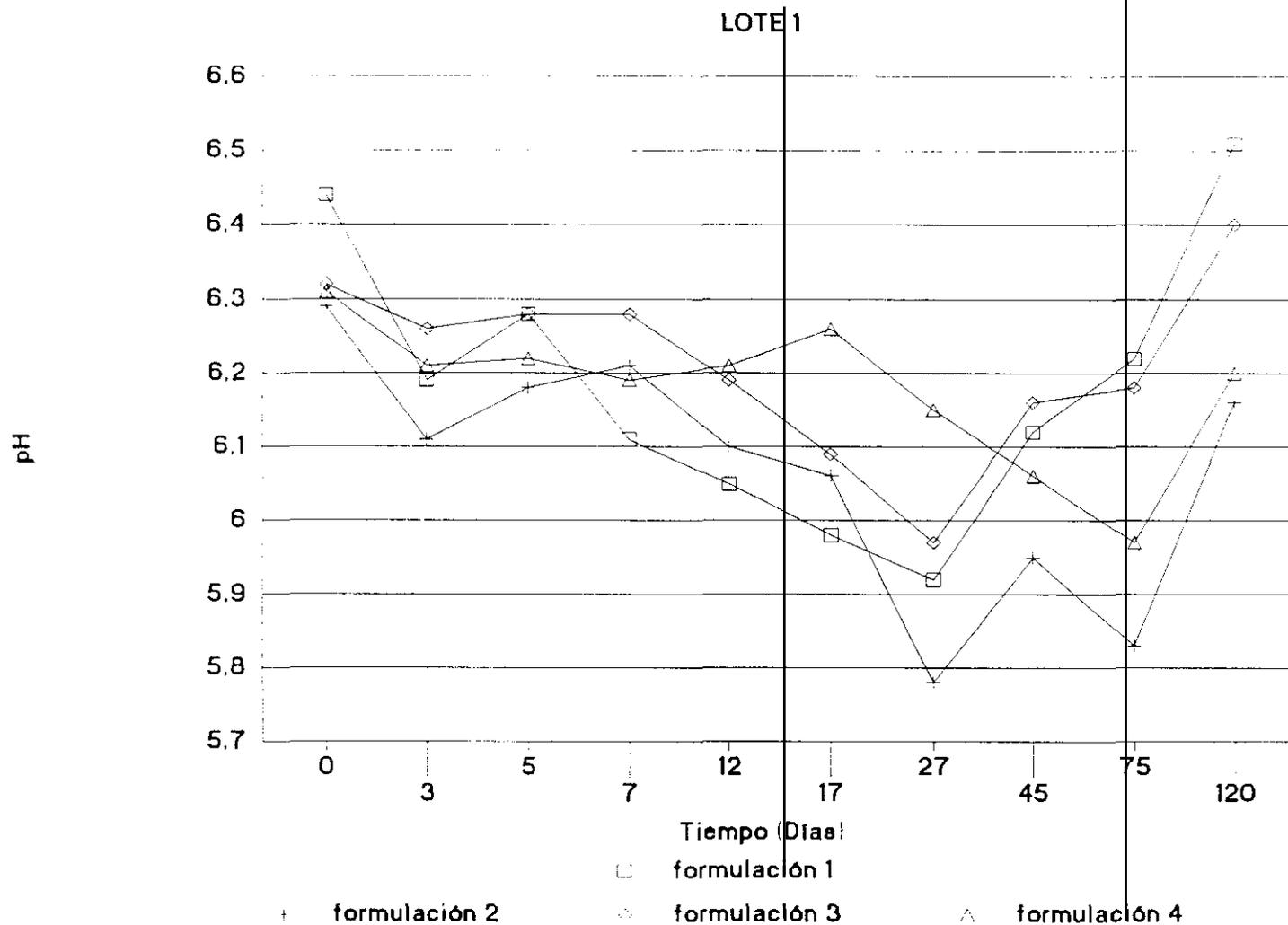
SALCHICHAS COMERCIALES

MARCA 4



GRÁFICA nº 6.- Evolución del pH de las salchichas comerciales durante el periodo de conservación: Marca 4.

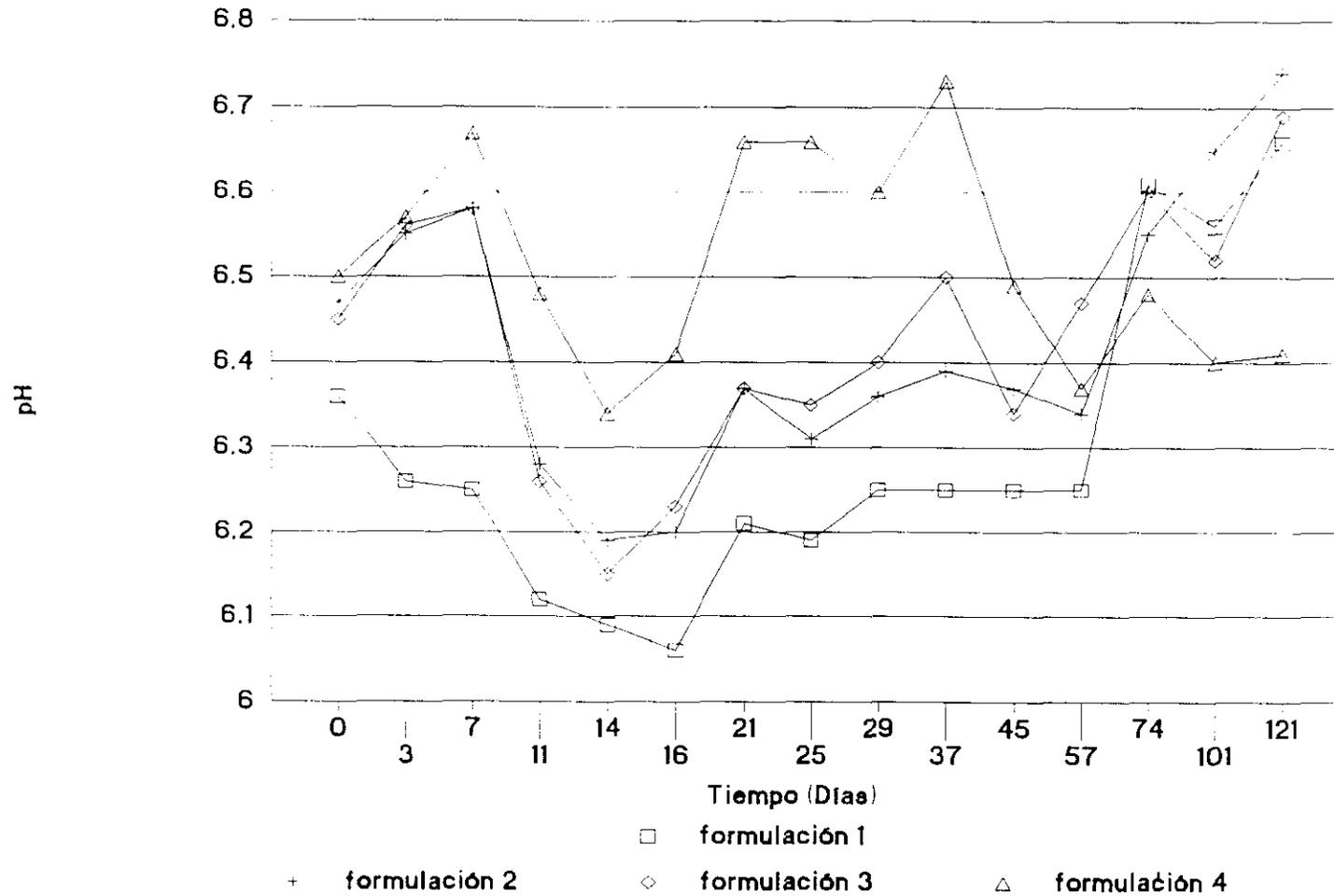
SALCHICHAS EXPERIMENTALES



GRÁFICA nº 7.- Evolución del pH de las salchichas experimentales durante el periodo de conservación: Lote 1.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

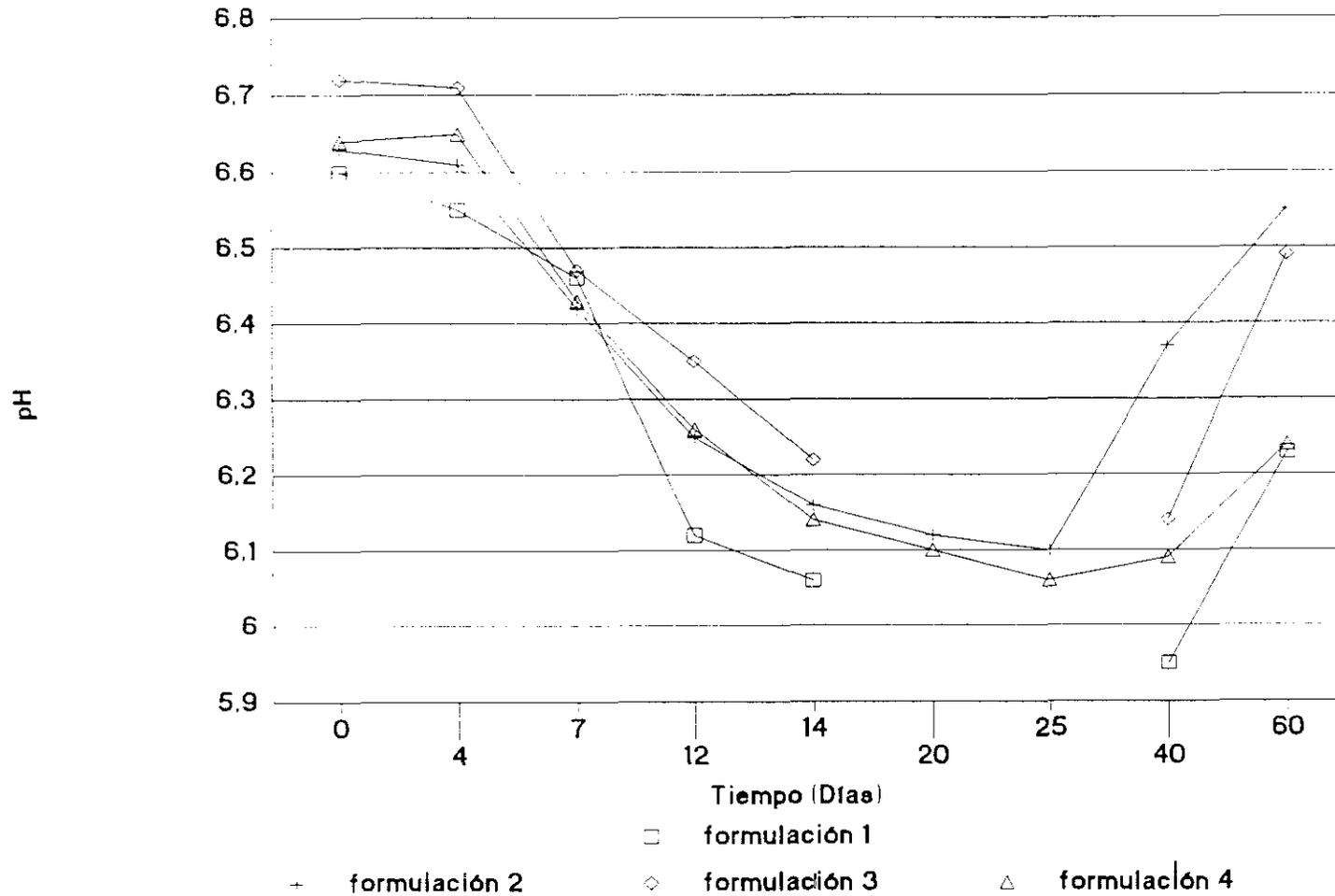
LOTE 2



GRÁFICA nº 8.- Evolución del pH de las salchichas experimentales durante el periodo de conservación: Lote 2.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

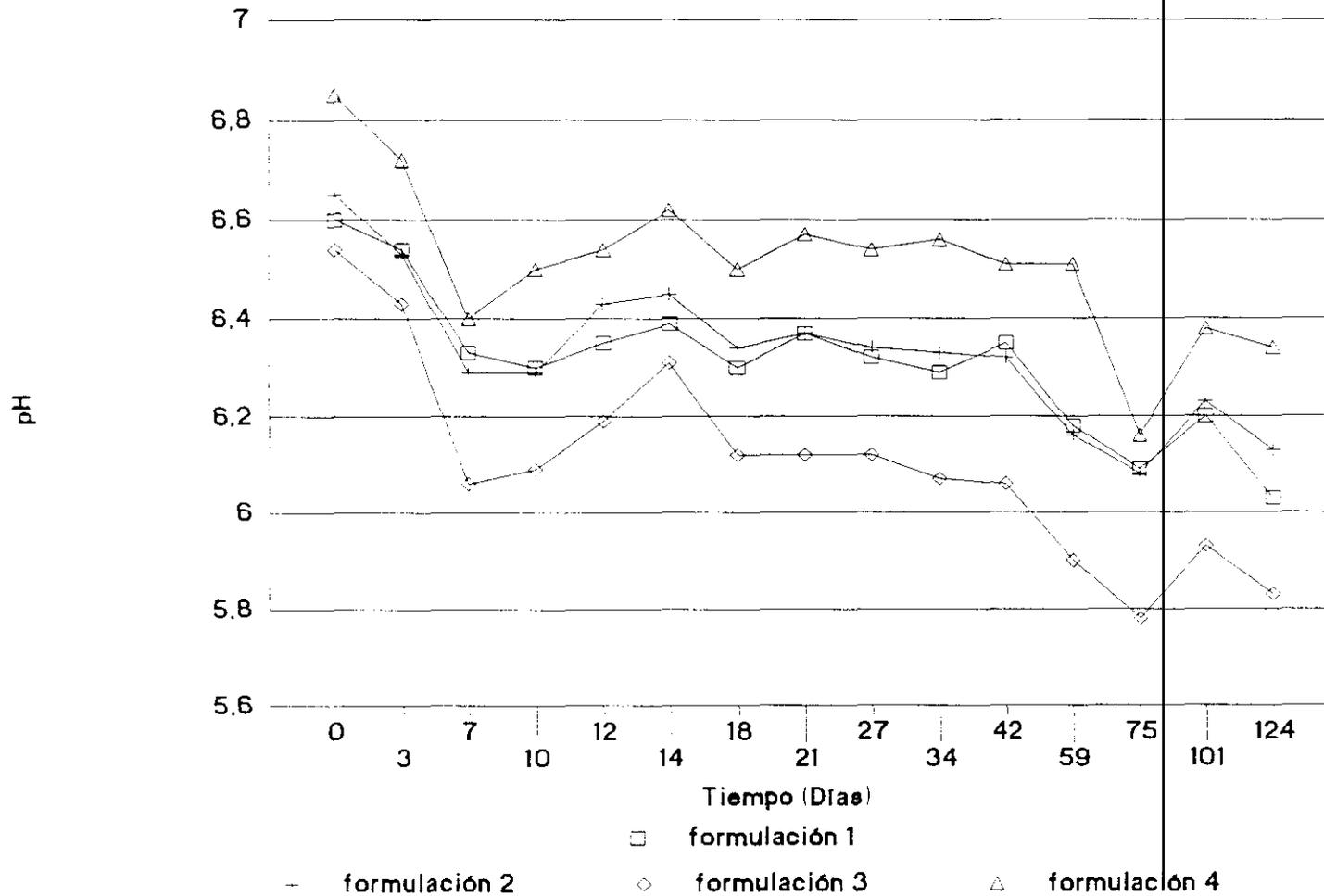
LOTE 3



GRÁFICA nº 9.- Evolución del pH de las salchichas experimentales durante el periodo de conservación: Lote 3.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

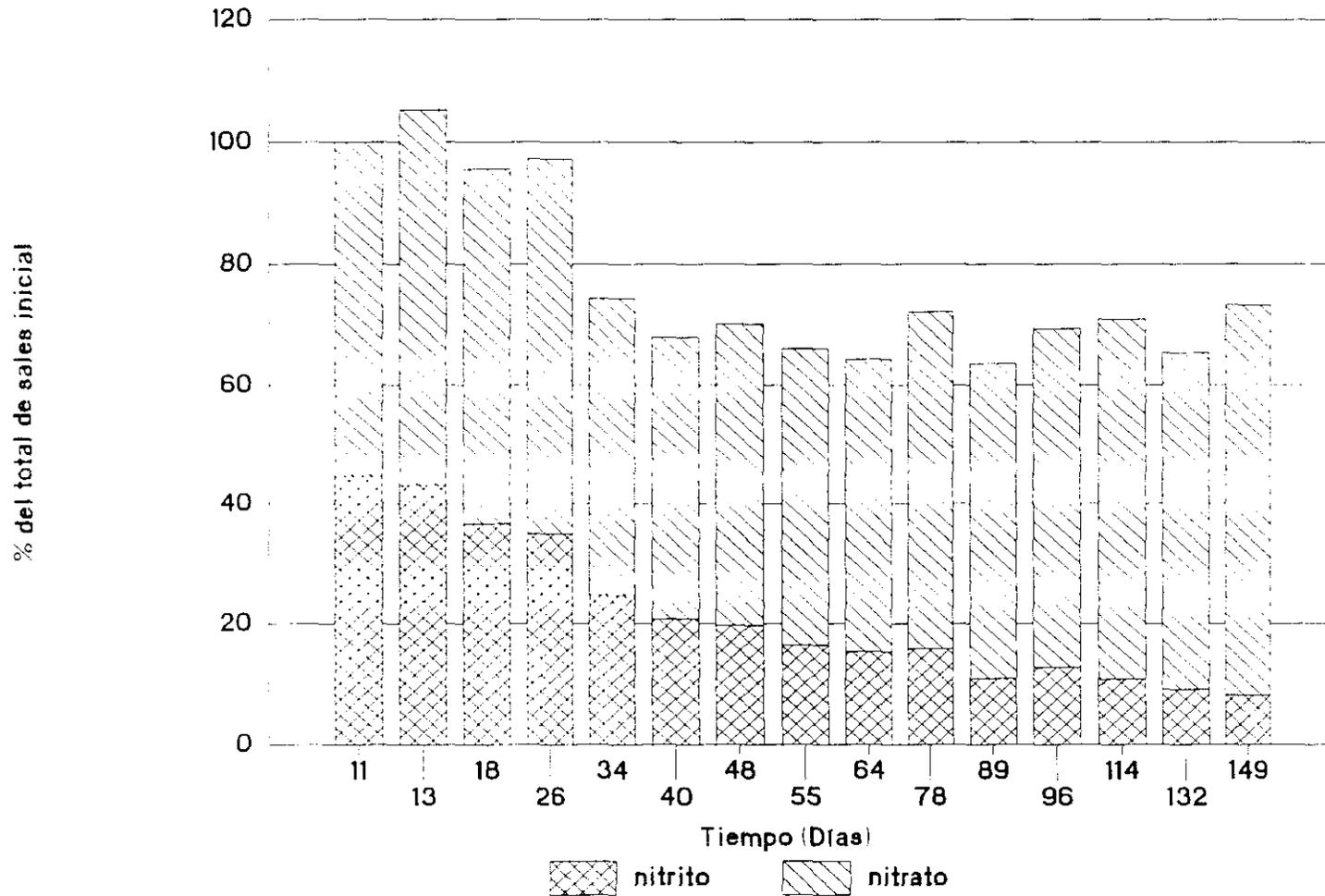
LOTE 4



GRÁFICA nº10.- Evolución del pH de las salchichas experimentales durante el periodo de conservación: Lote 4.

SALCHICHAS COMERCIALES

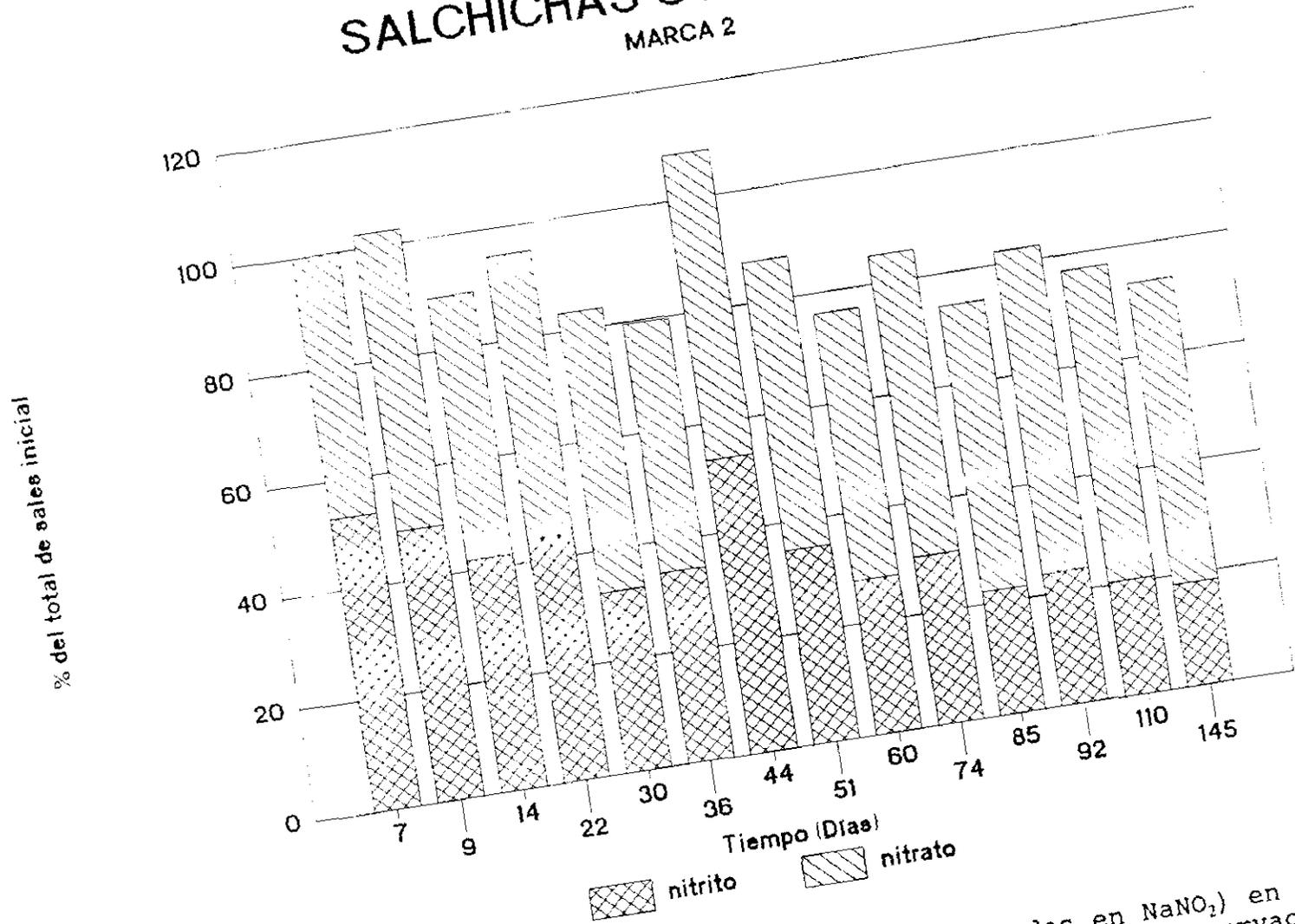
MARCA 1



GRÁFICA nº11.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del contenido inicial de sales nitrificantes durante la conservación: Marca 1.

SALCHICHAS COMERCIALES

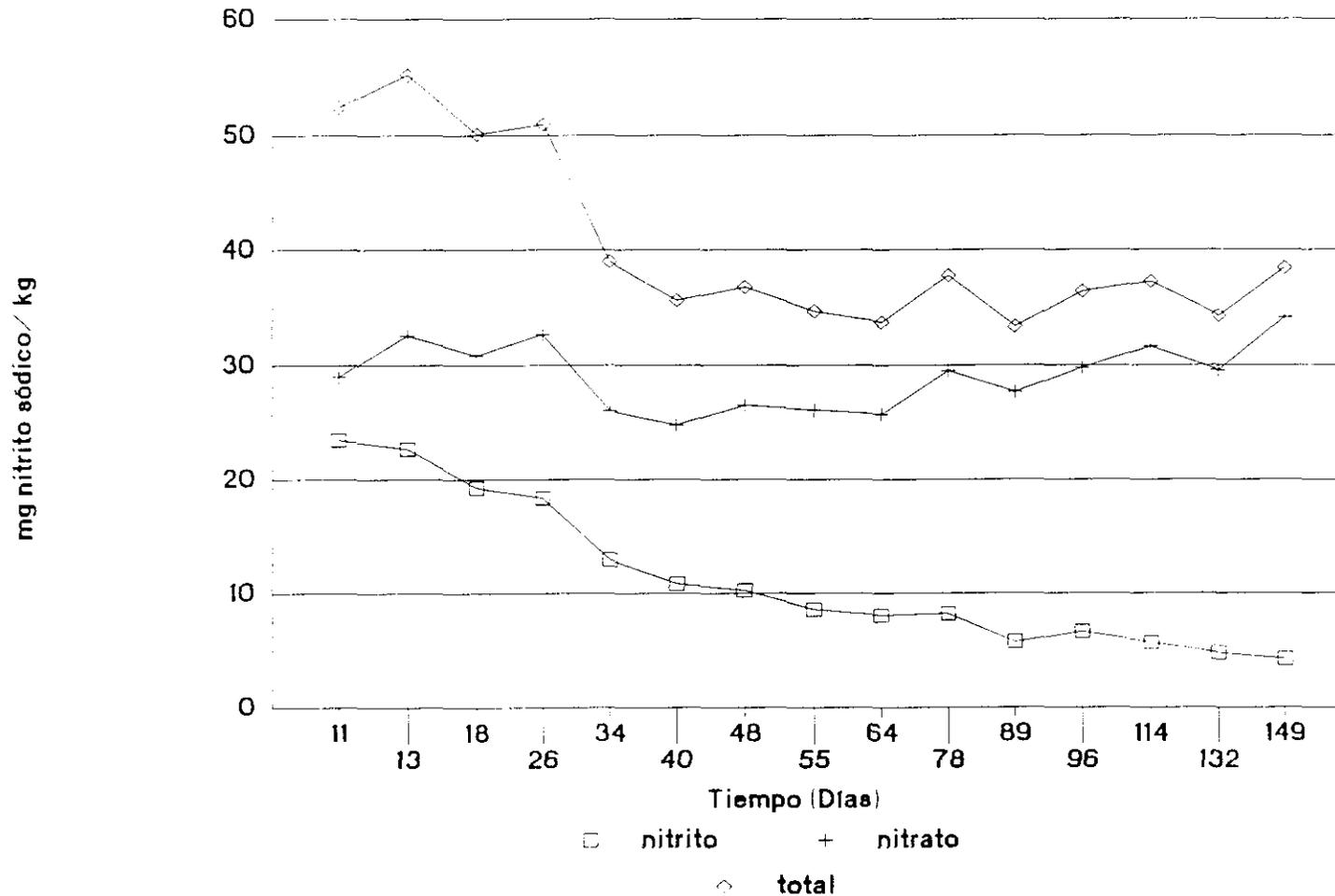
MARCA 2



GRÁFICA nº12.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del contenido inicial de sales nitrificantes durante la conservación: Marca 2.

SALCHICHAS COMERCIALES

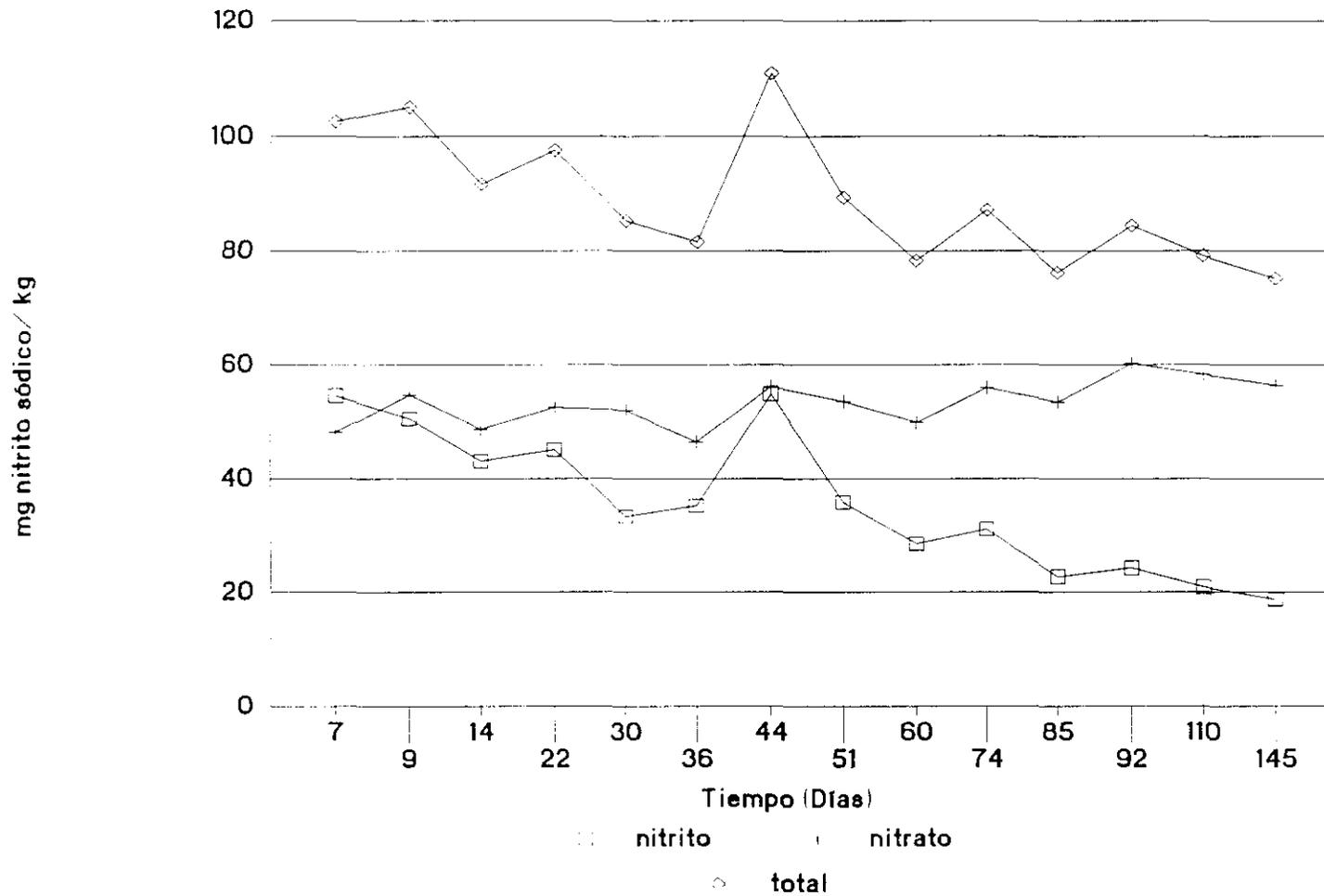
MARCA 1



GRÁFICA nº13.- Evolución de los niveles residuales de nitrito y nitrato (expresados en mg NaNO₂/kg) en el tiempo de conservación: Marca 1.

SALCHICHAS COMERCIALES

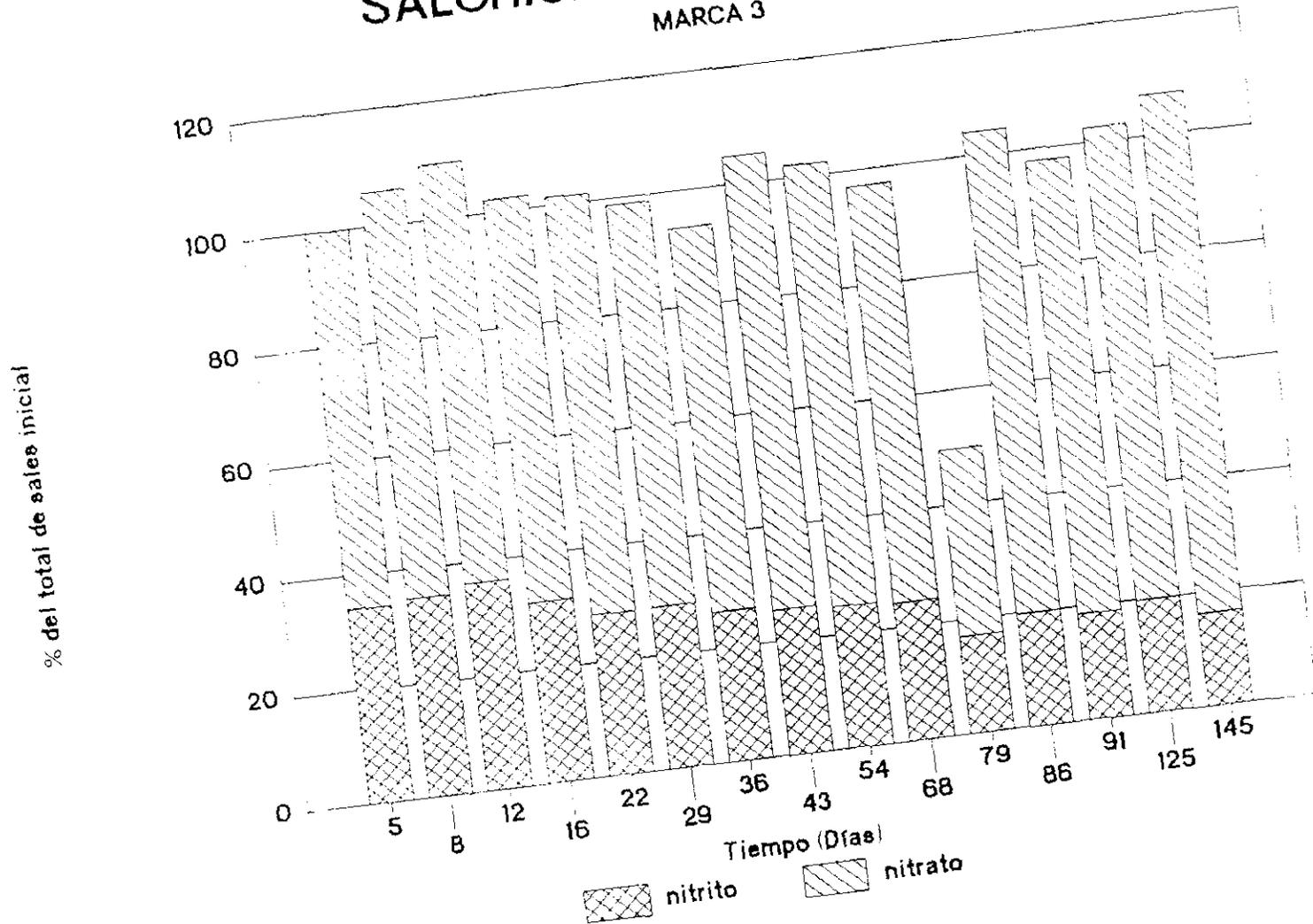
MARCA 2



GRÁFICA nº14.- Evolución de los niveles residuales de nitrito y nitrate (expresados en mg NaNO₂/kg) en el tiempo de conservación: Marca 2.

SALCHICHAS COMERCIALES

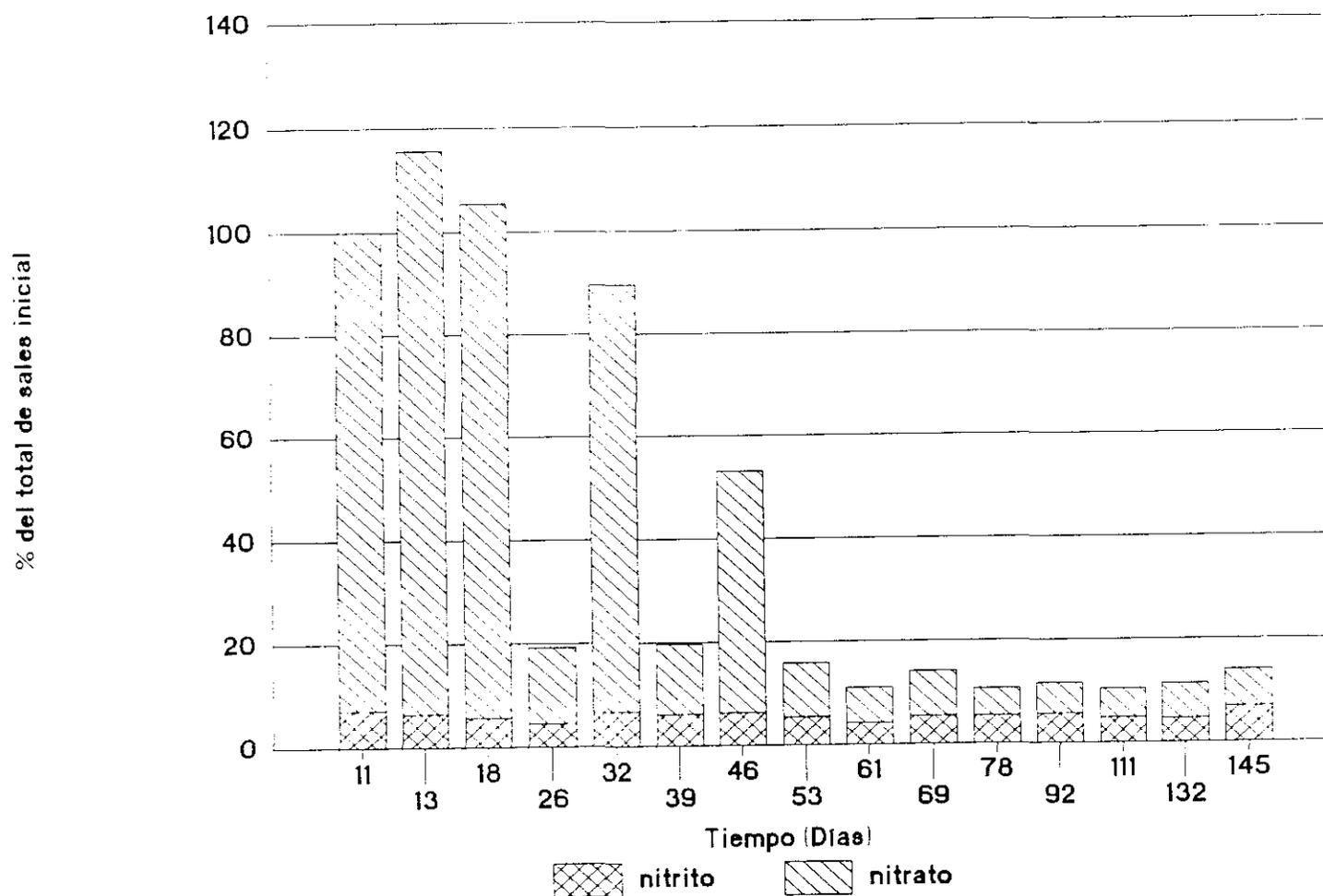
MARCA 3



GRÁFICA nº15.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del contenido inicial de sales nitrificantes durante la conservación: Marca 3.

SALCHICHAS COMERCIALES

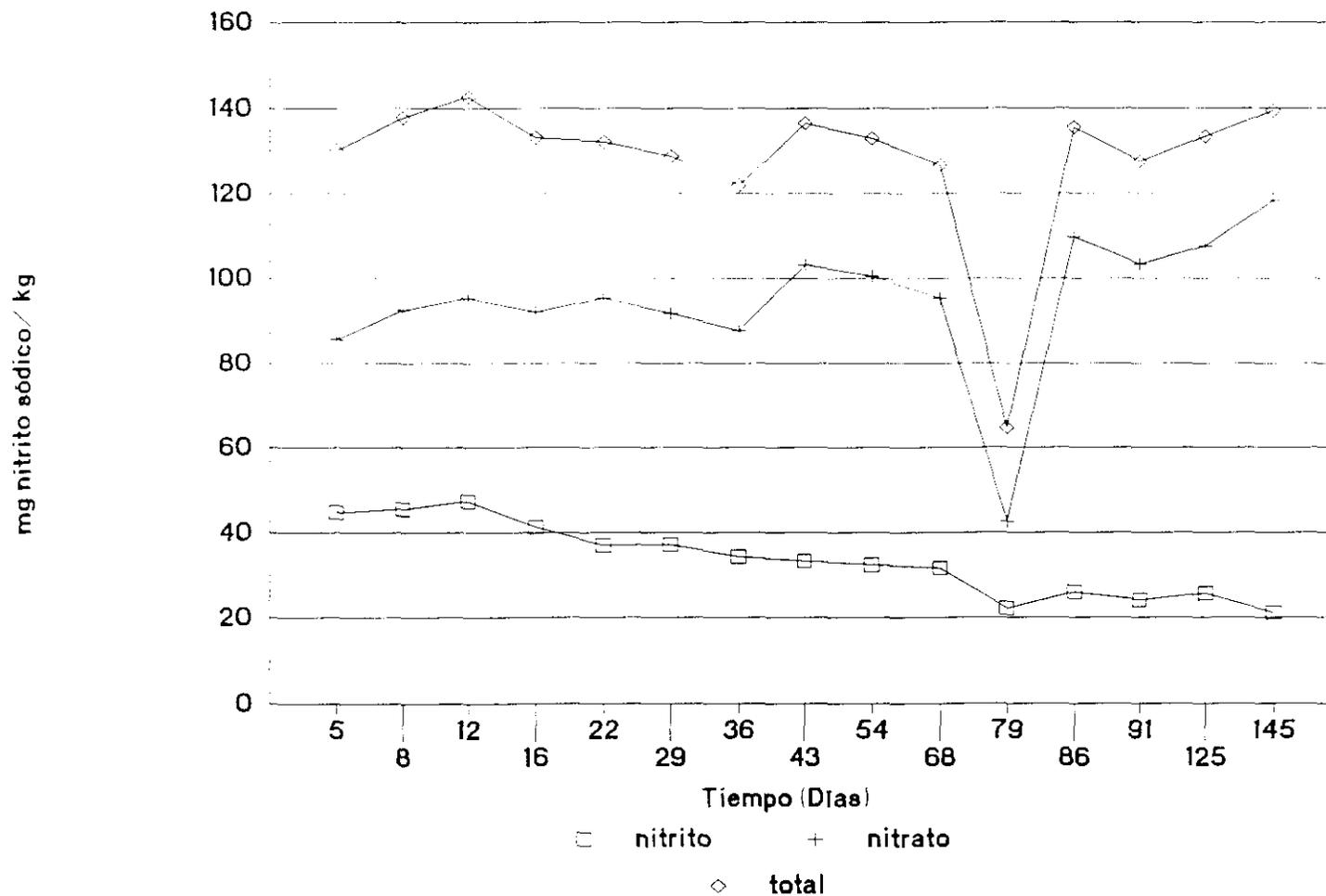
MARCA 4



GRÁFICA n°16.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del contenido inicial de sales nitrificantes durante la conservación: Marca 4.

SALCHICHAS COMERCIALES

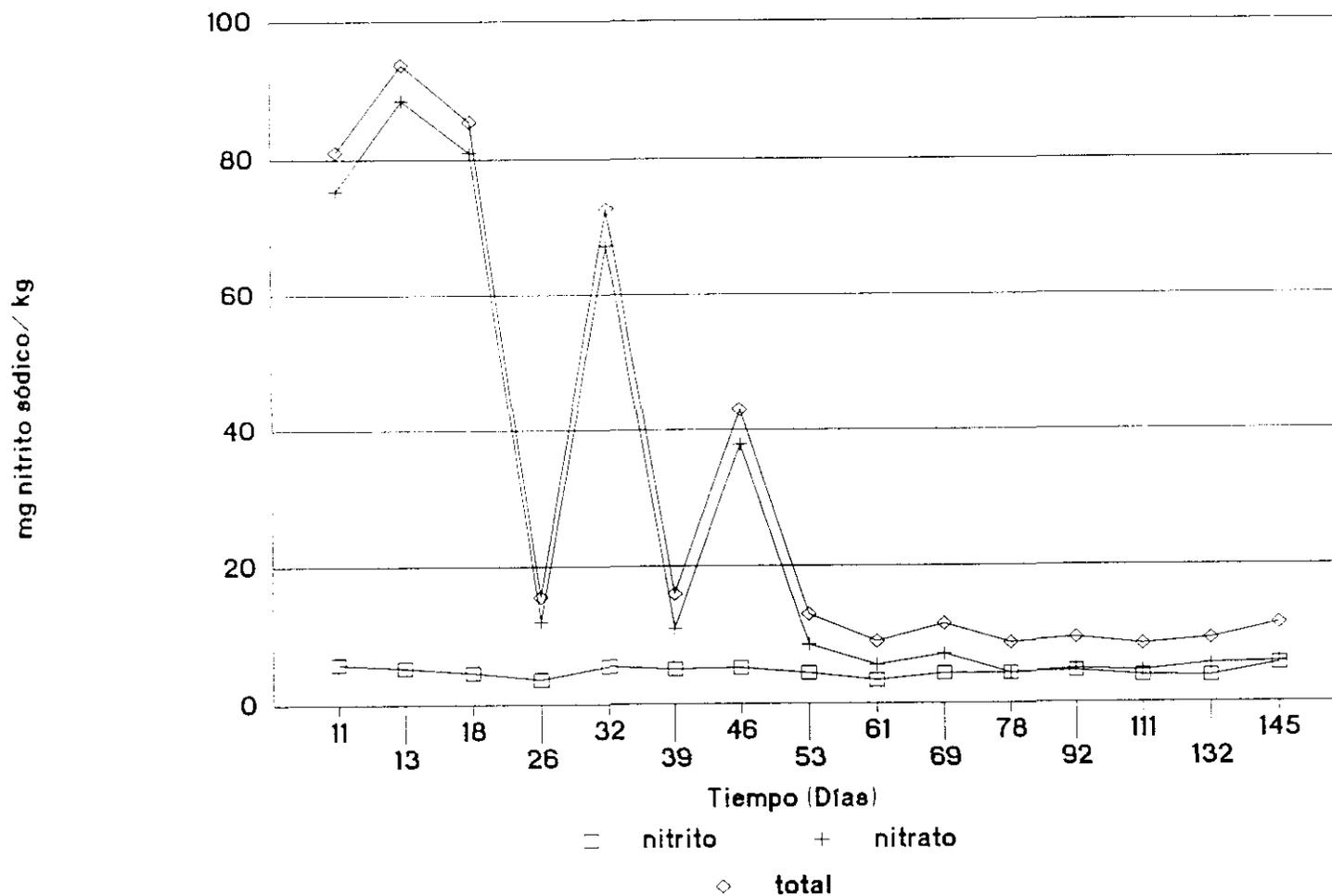
MARCA 3



GRÁFICA nº17.- Evolución de los niveles residuales de nitrito y nitrato (expresados en mg NaNO₂/kg) en el tiempo de conservación: Marca 3.

SALCHICHAS COMERCIALES

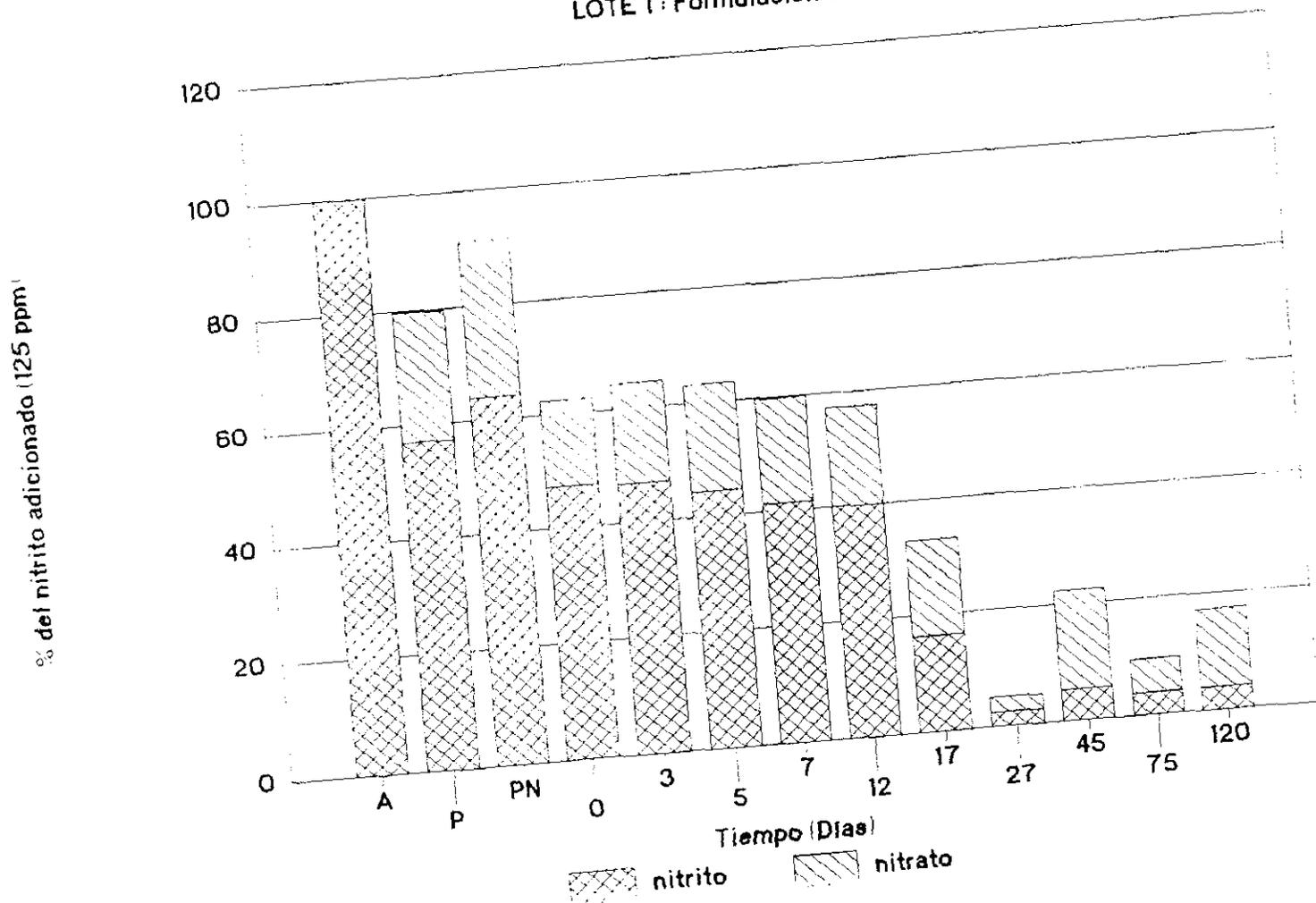
MARCA 4



GRÁFICA nº18.- Evolución de los niveles residuales de nitrito y nitrato (expresados en mg NaNO_2/kg) en el tiempo de conservación: Marca 4.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

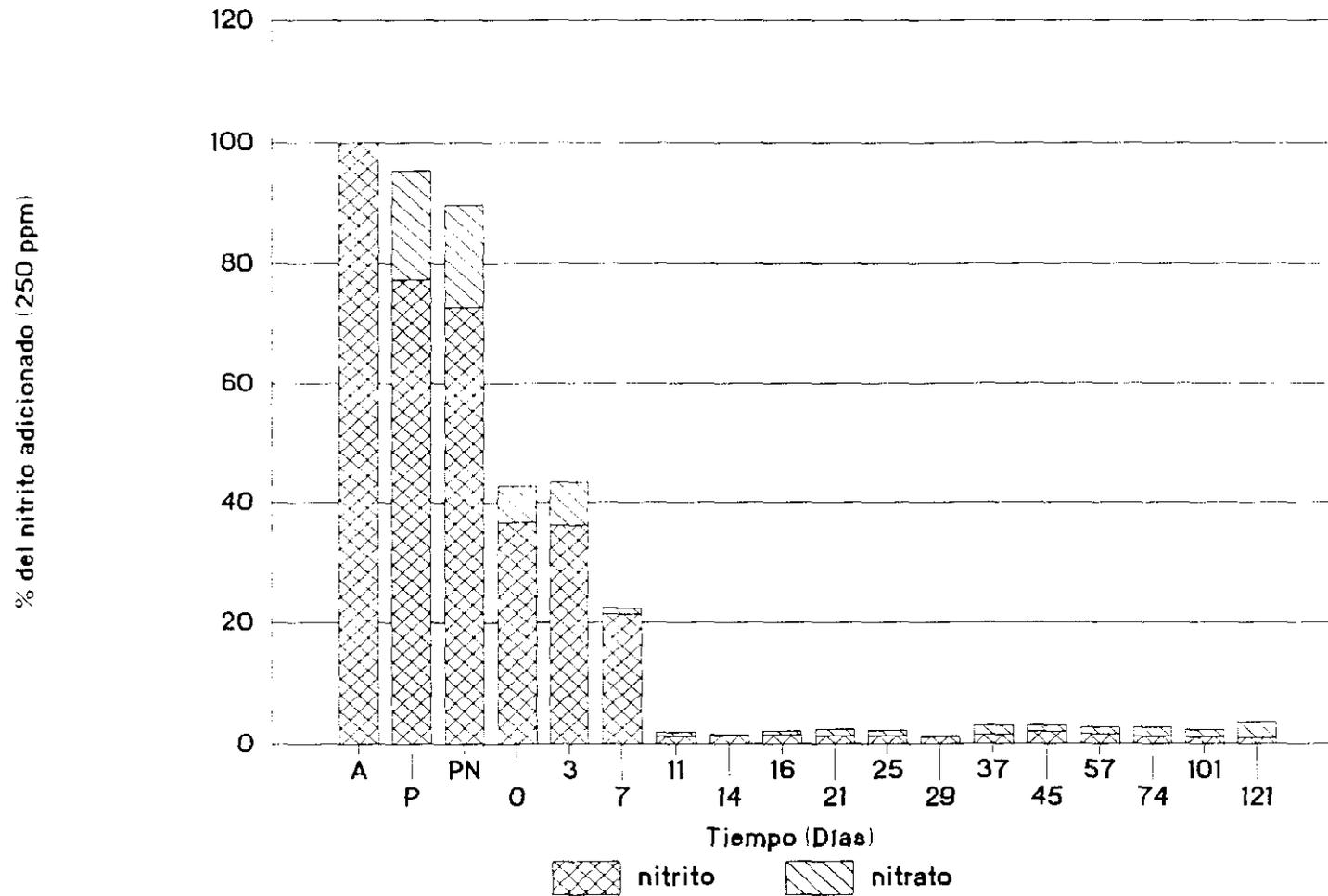
LOTE 1: Formulación 2 (12)



GRÁFICA n°19.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 adicionado (125 mg/kg), durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

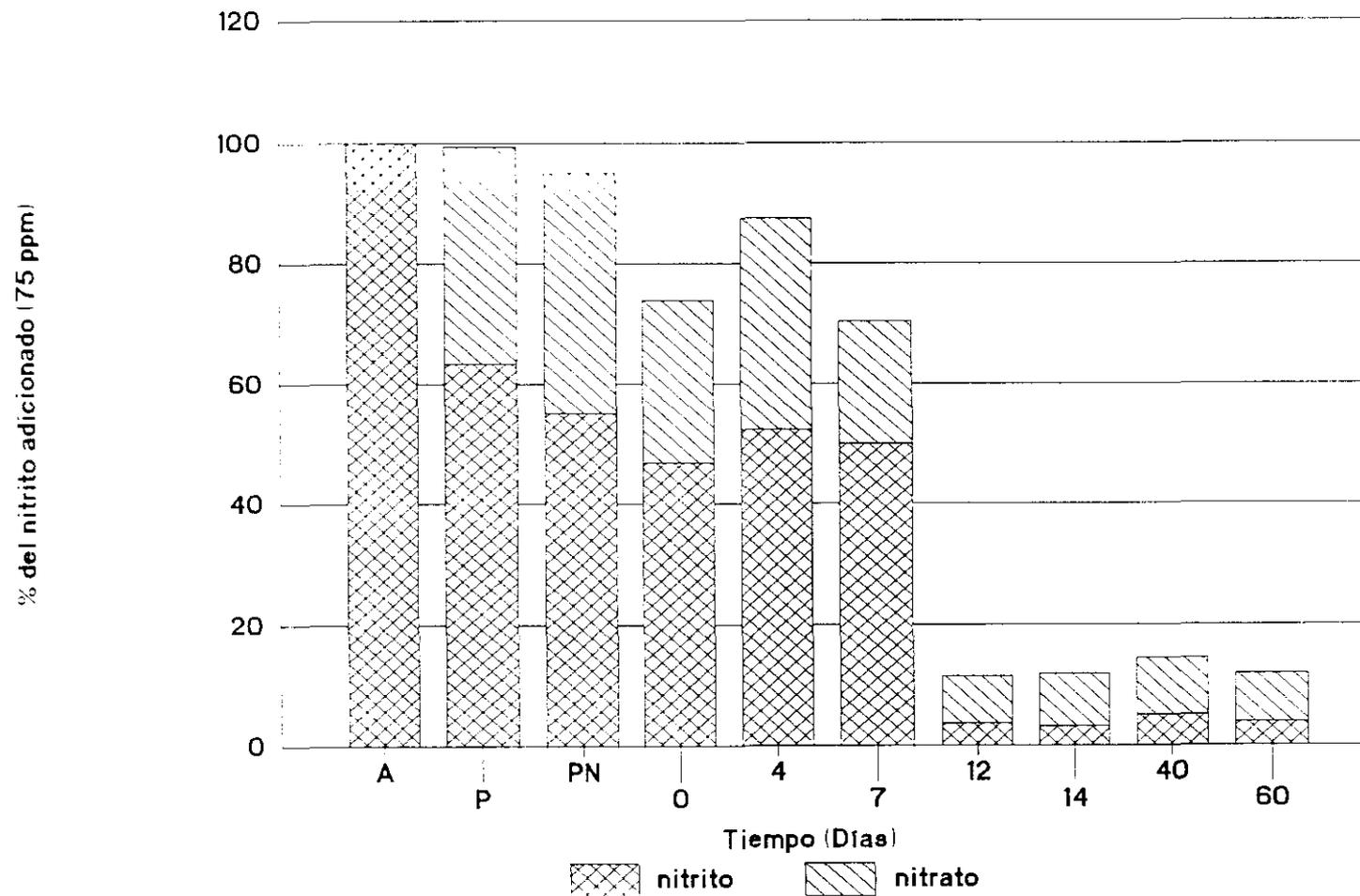
LOTE 2: Formulación 2 (22)



GRÁFICA n°20.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO₂) en la recuperación del NaNO₂ adicionado (250 mg/kg), durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

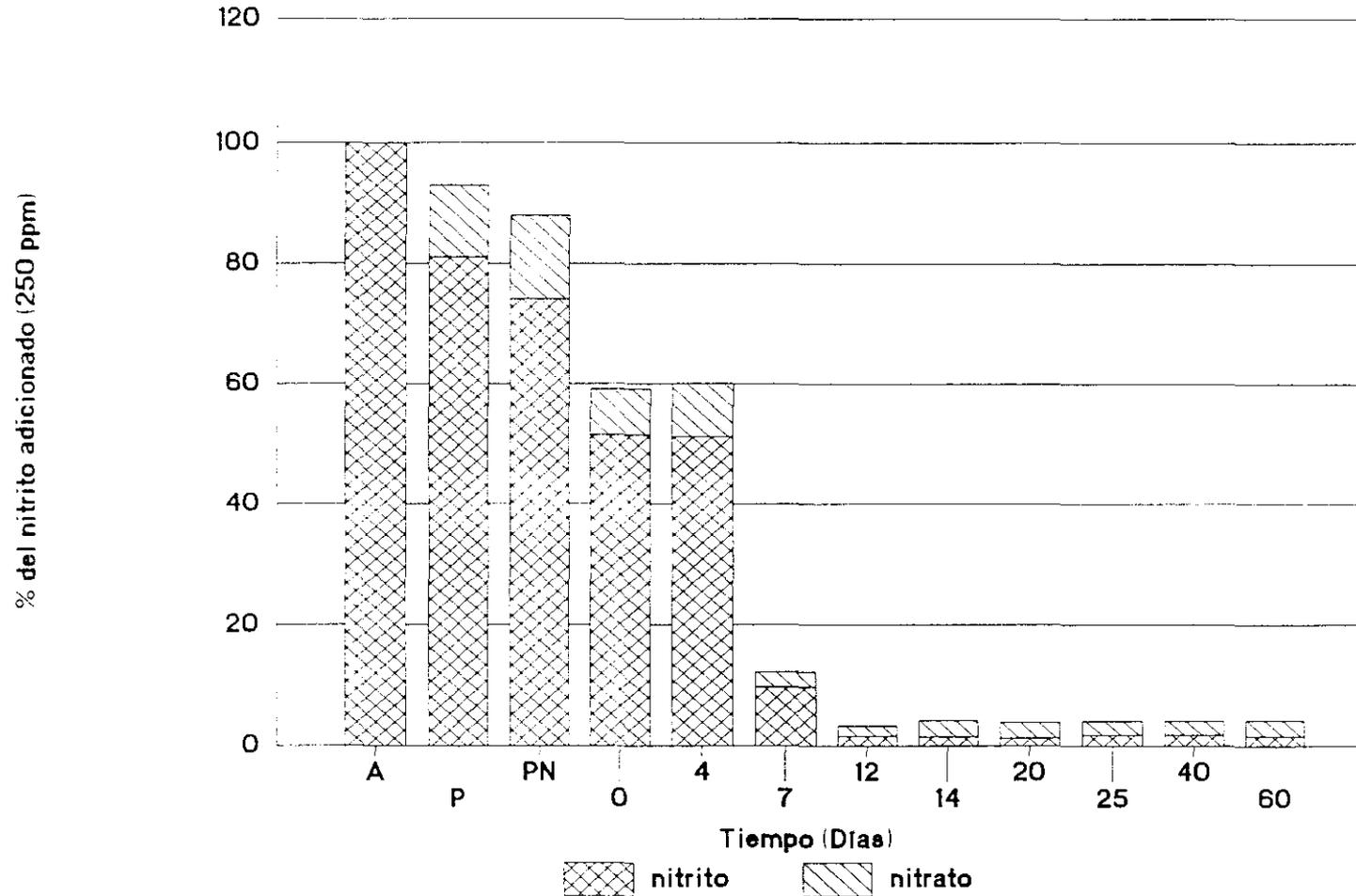
LOTE 3: Formulación 1 (31)



GRÁFICA nº21.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 adicionado (75 mg/kg), durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

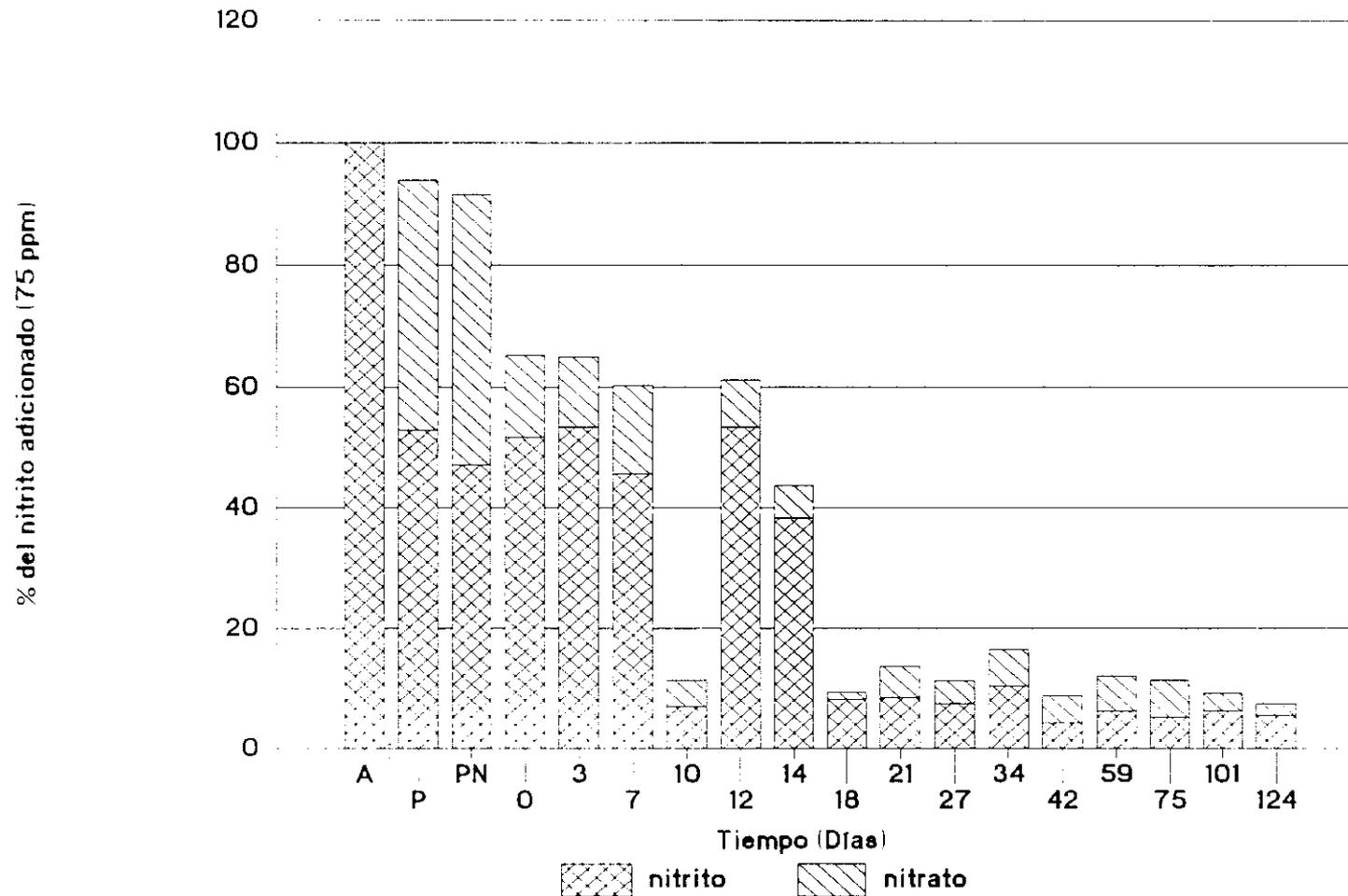
LOTE 3 : Formulación 2 (32)



GRÁFICA nº22.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 adicionado (250 mg/kg), durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

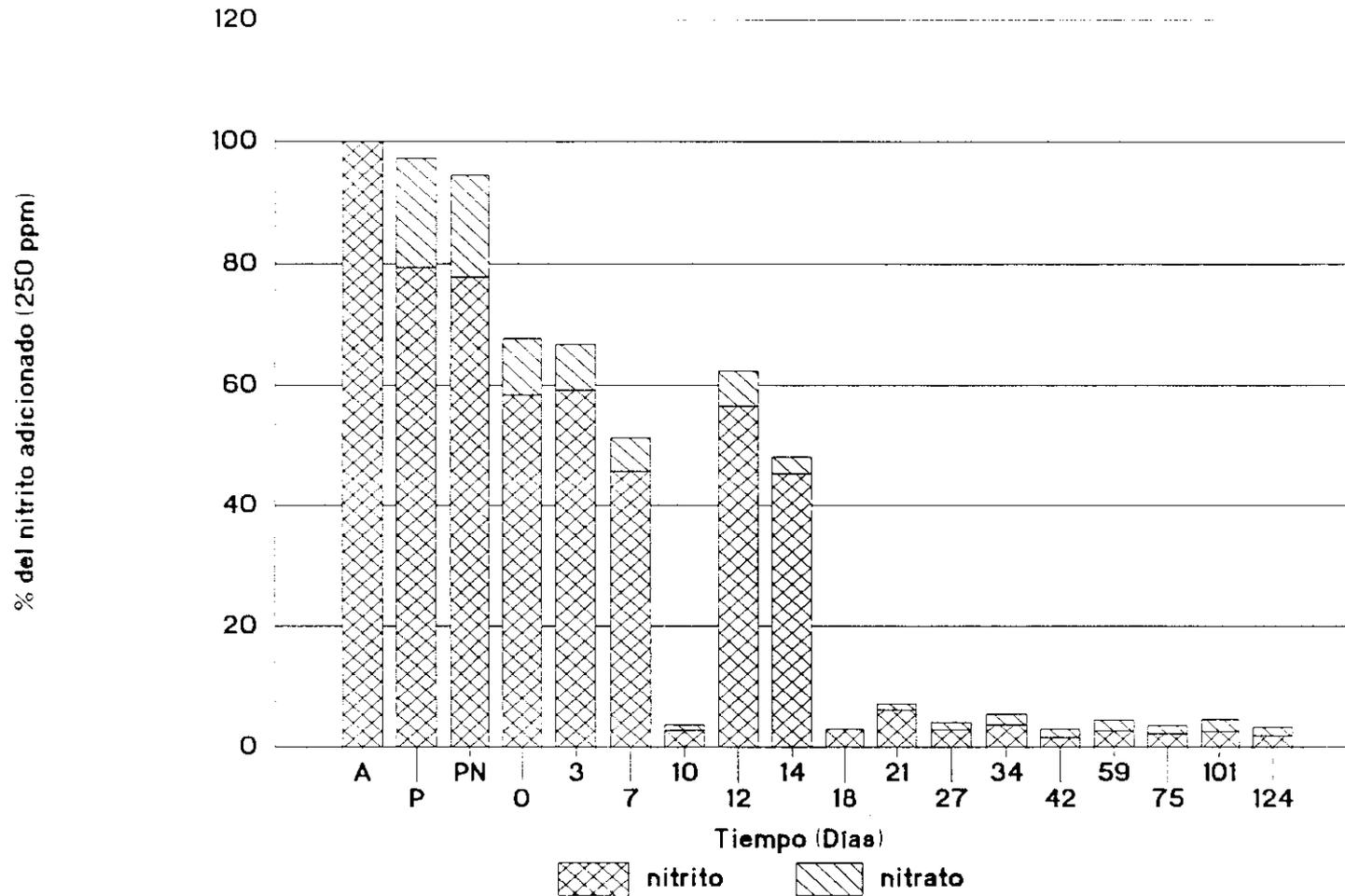
LOTE 4 : Formulación 1 (41)



GRÁFICA nº23.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 adicionado (75 mg/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

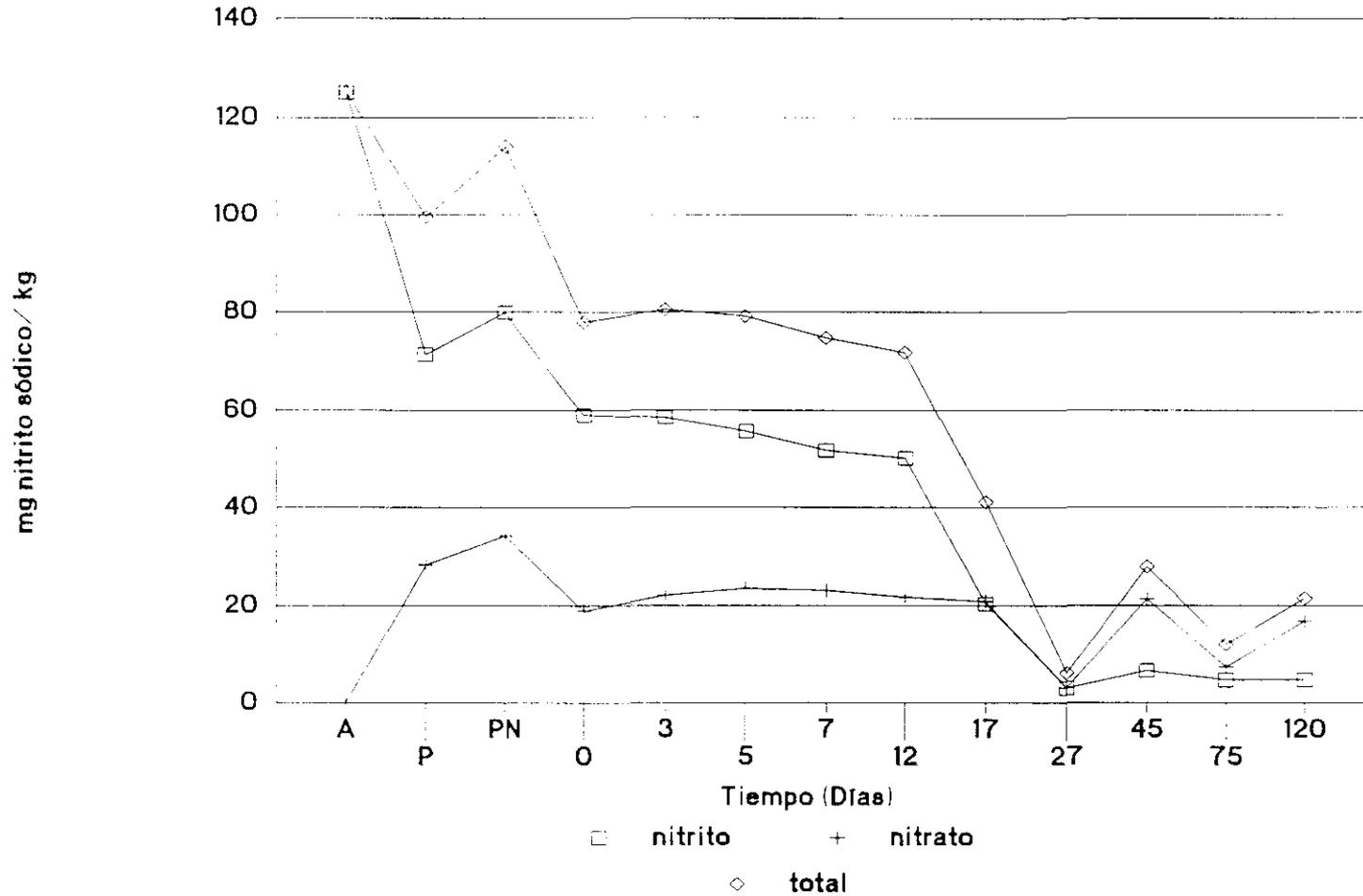
LOTE 4 : Formulación 2 (42)



GRÁFICA nº24.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 adicionado (250 mg/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

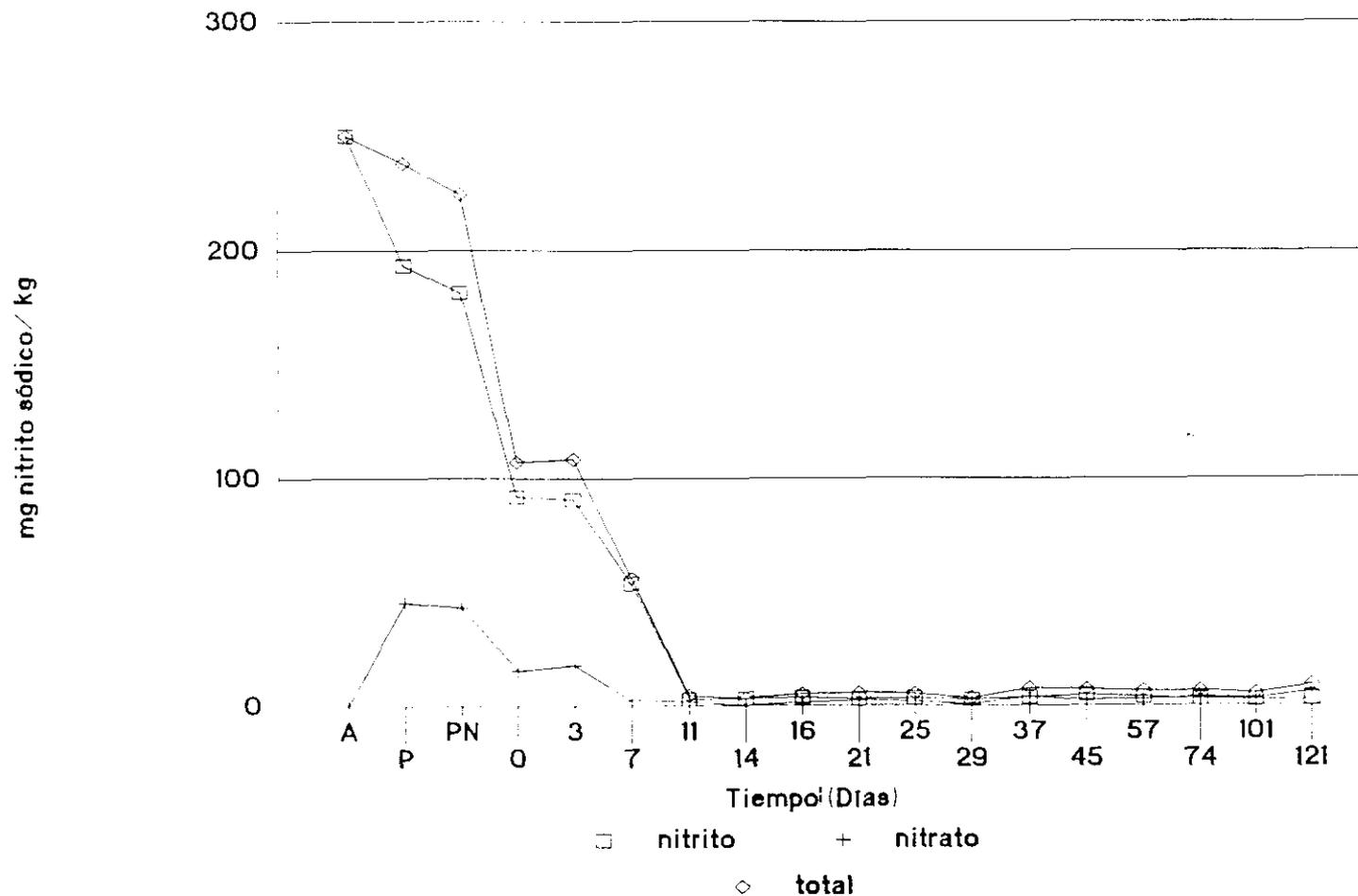
LOTE 1 : Formulación 2 (12)



GRÁFICA nº25.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO₂/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

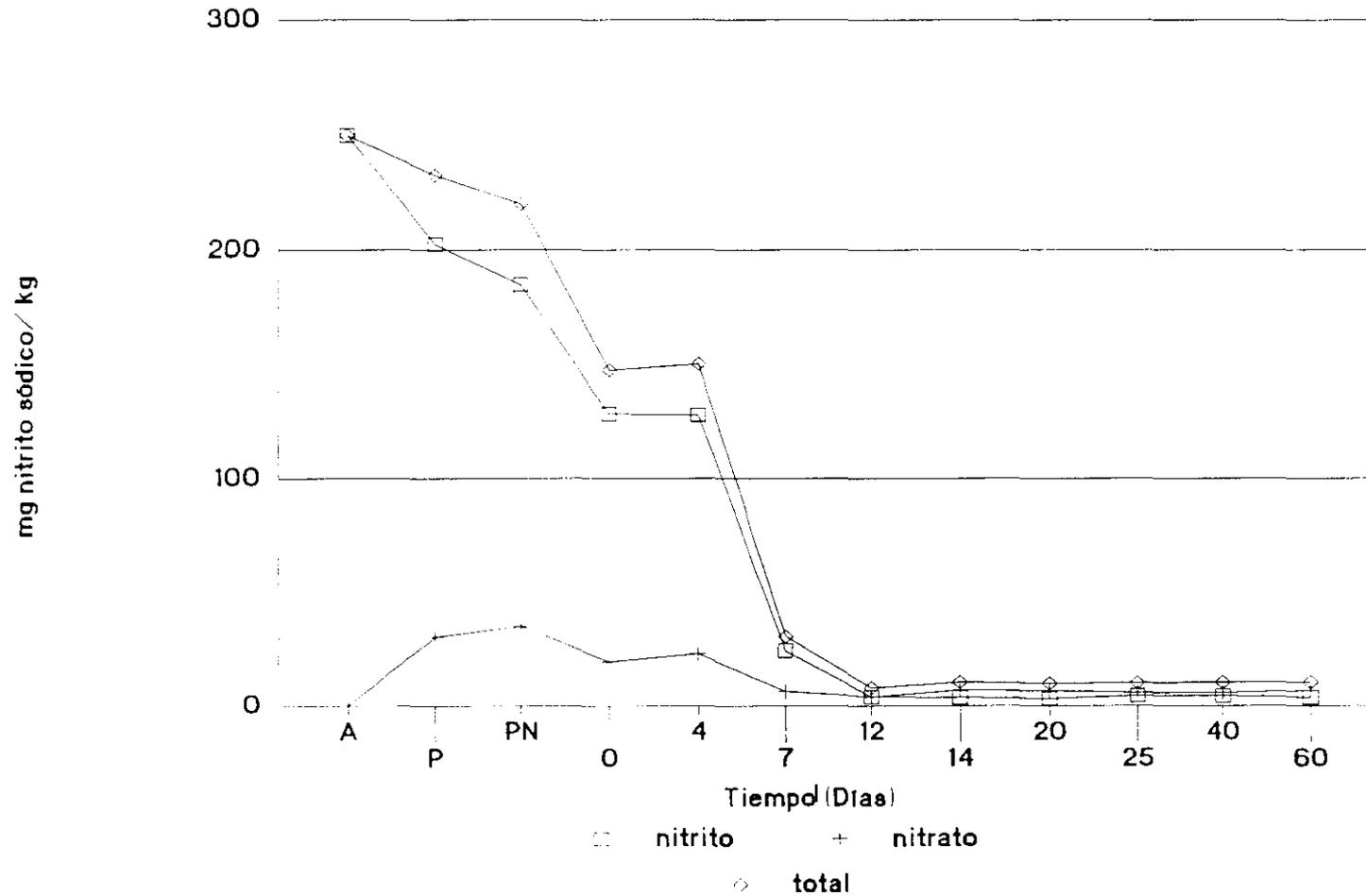
LOTE 2 : Formulación 2 (22)



GRÁFICA nº26.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO₂/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

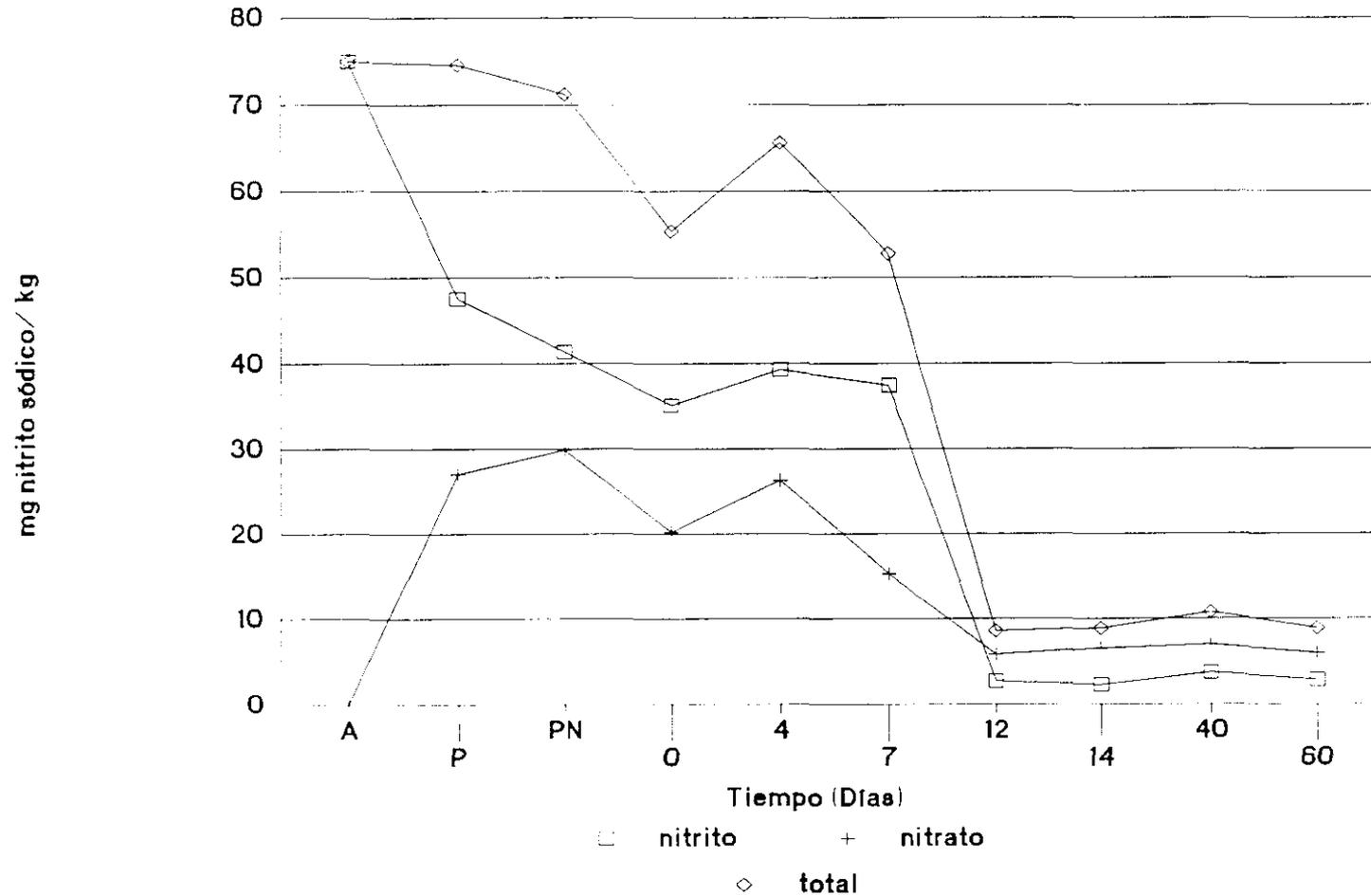
LOTE 3 : Formulación 2 (32)



GRÁFICA n°27.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

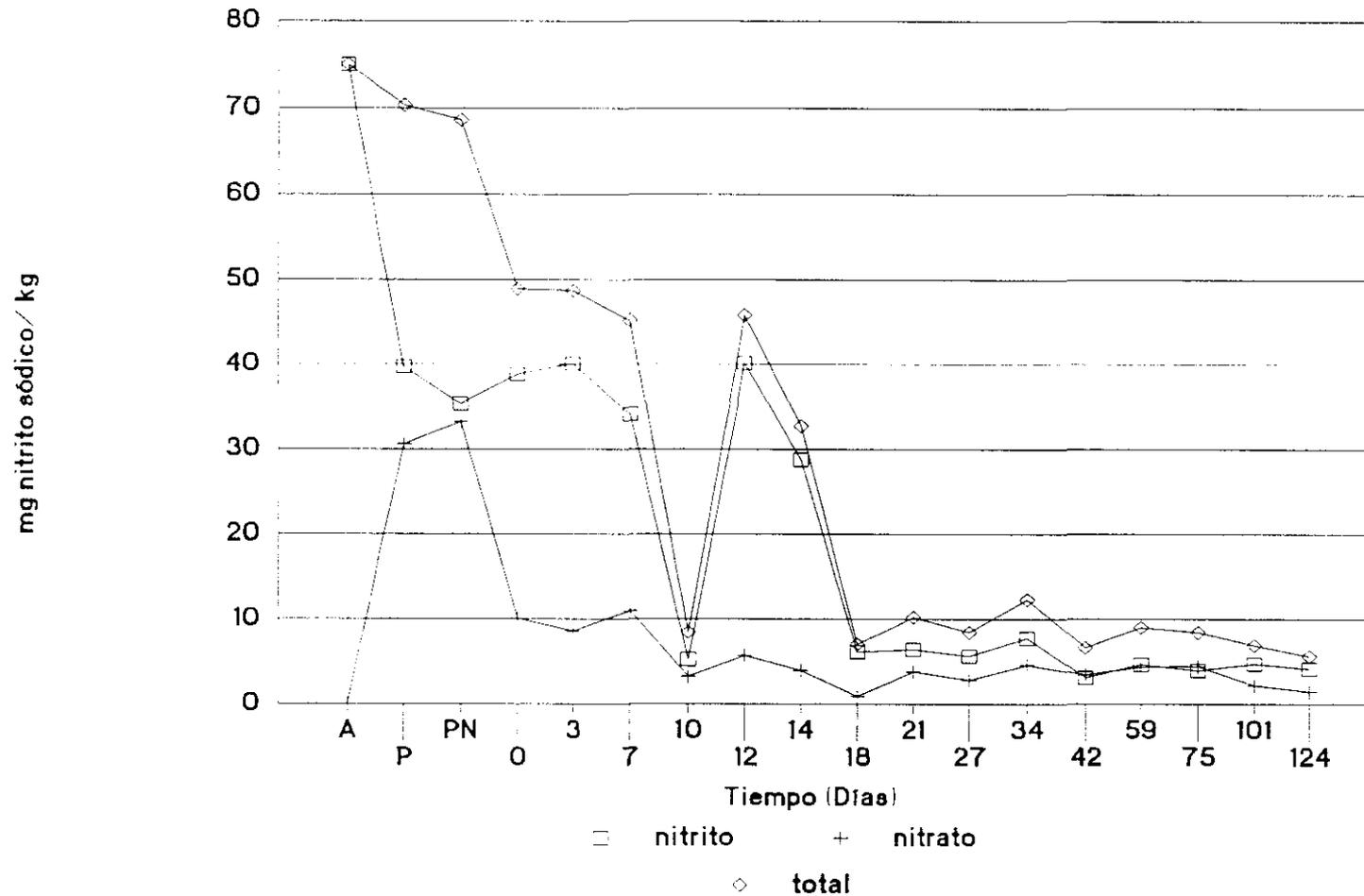
LOTE 3 : Formulación 1 (31)



GRÁFICA nº28.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO₂/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

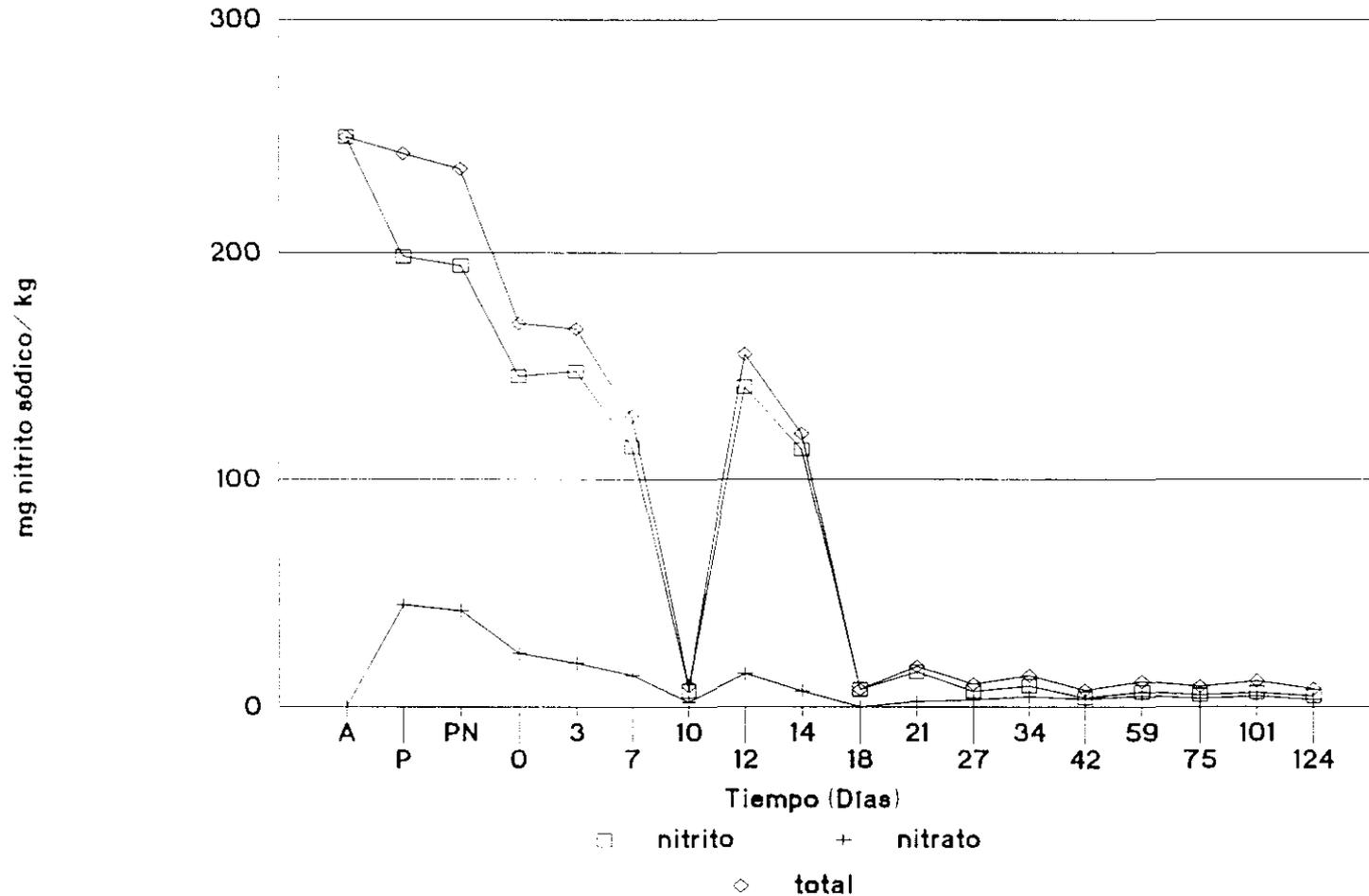
LOTE 4 : Formulación 1 (41)



GRÁFICA nº29.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO₂/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

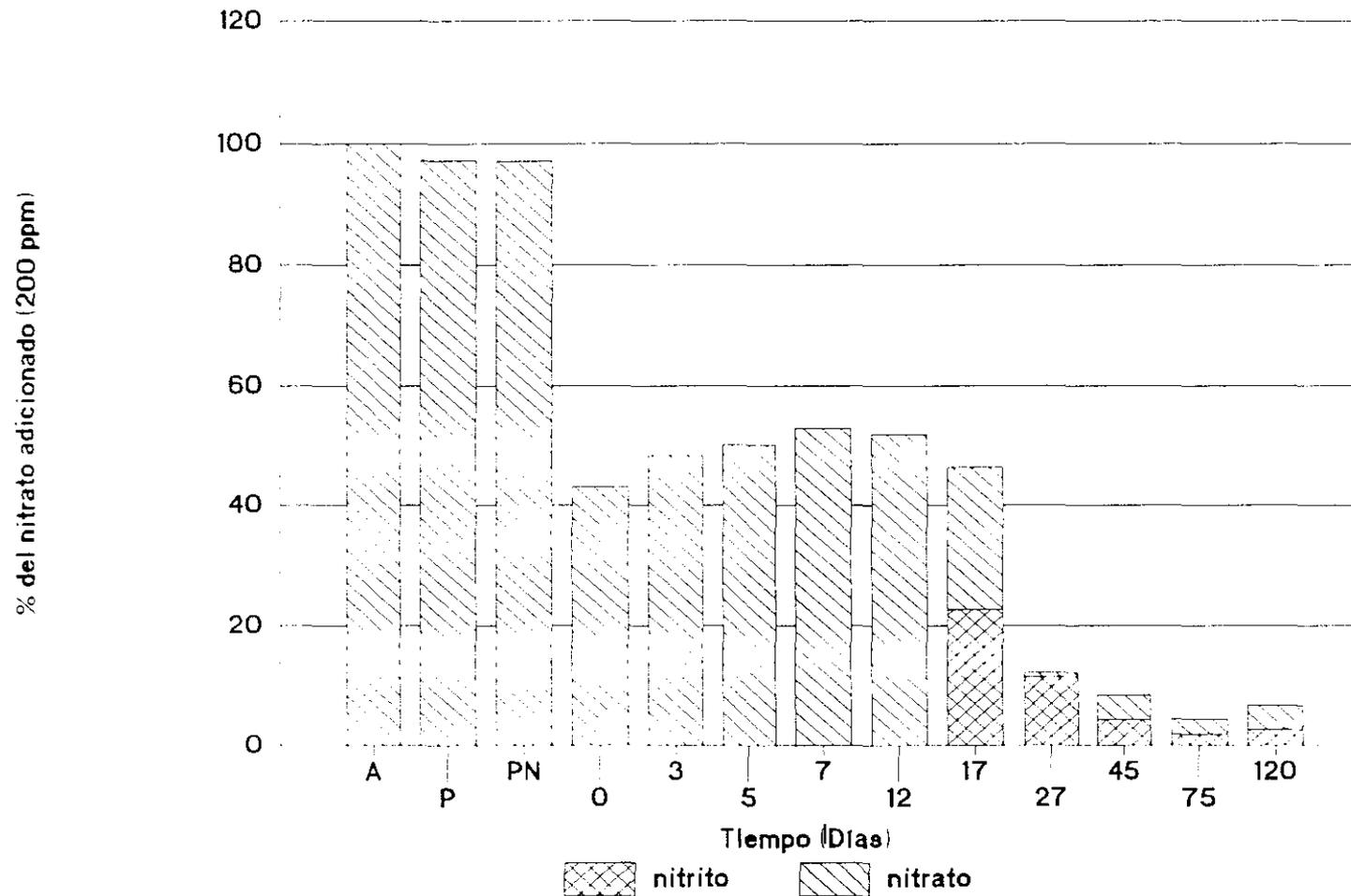
LOTE 4 : Formulación 2 (42)



GRÁFICA nº30.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO₂/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

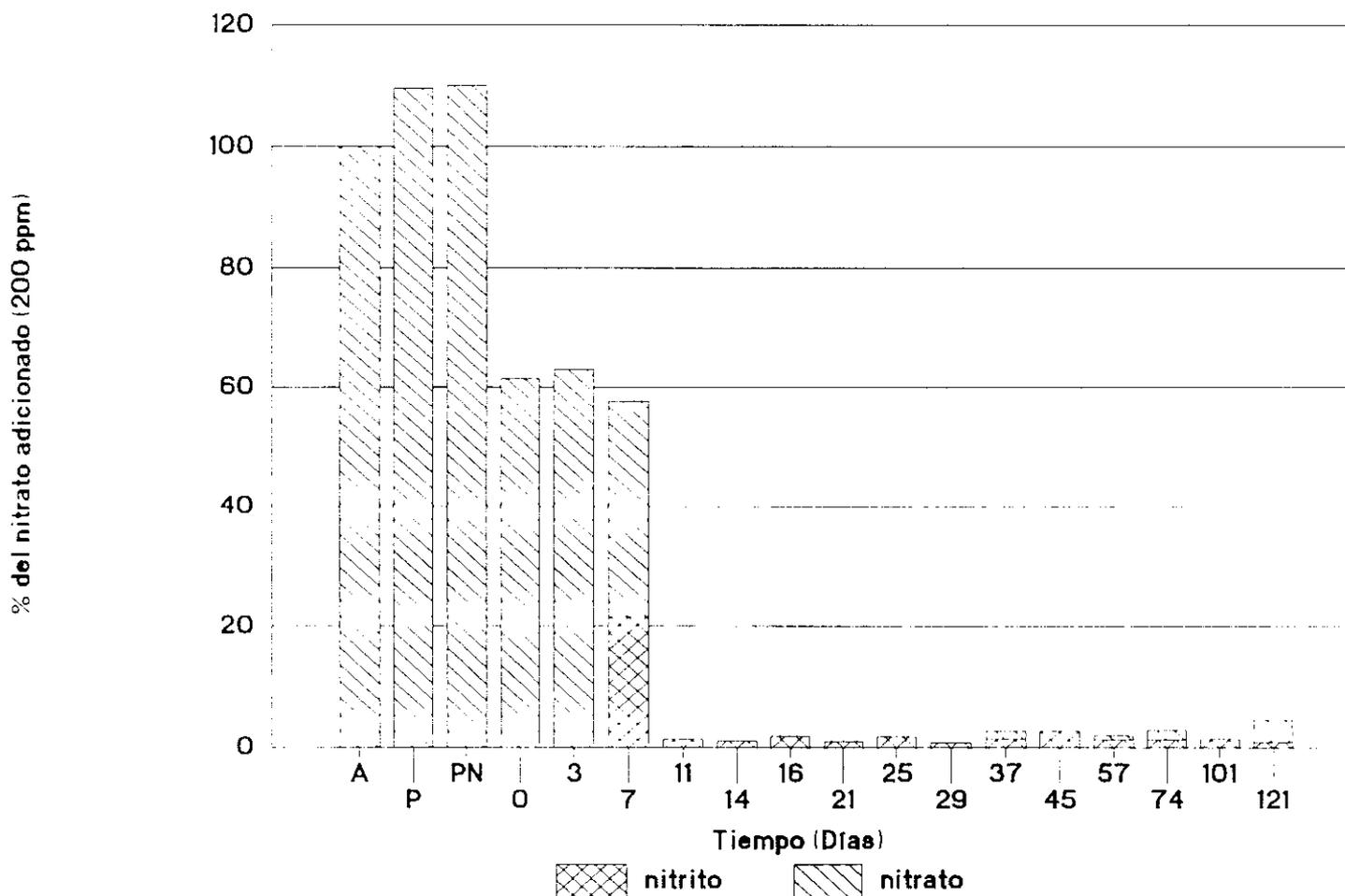
LOTE 1: Formulación 3 (13)



GRÁFICA nº31.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del KNO_3 adicionado (200 mg/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

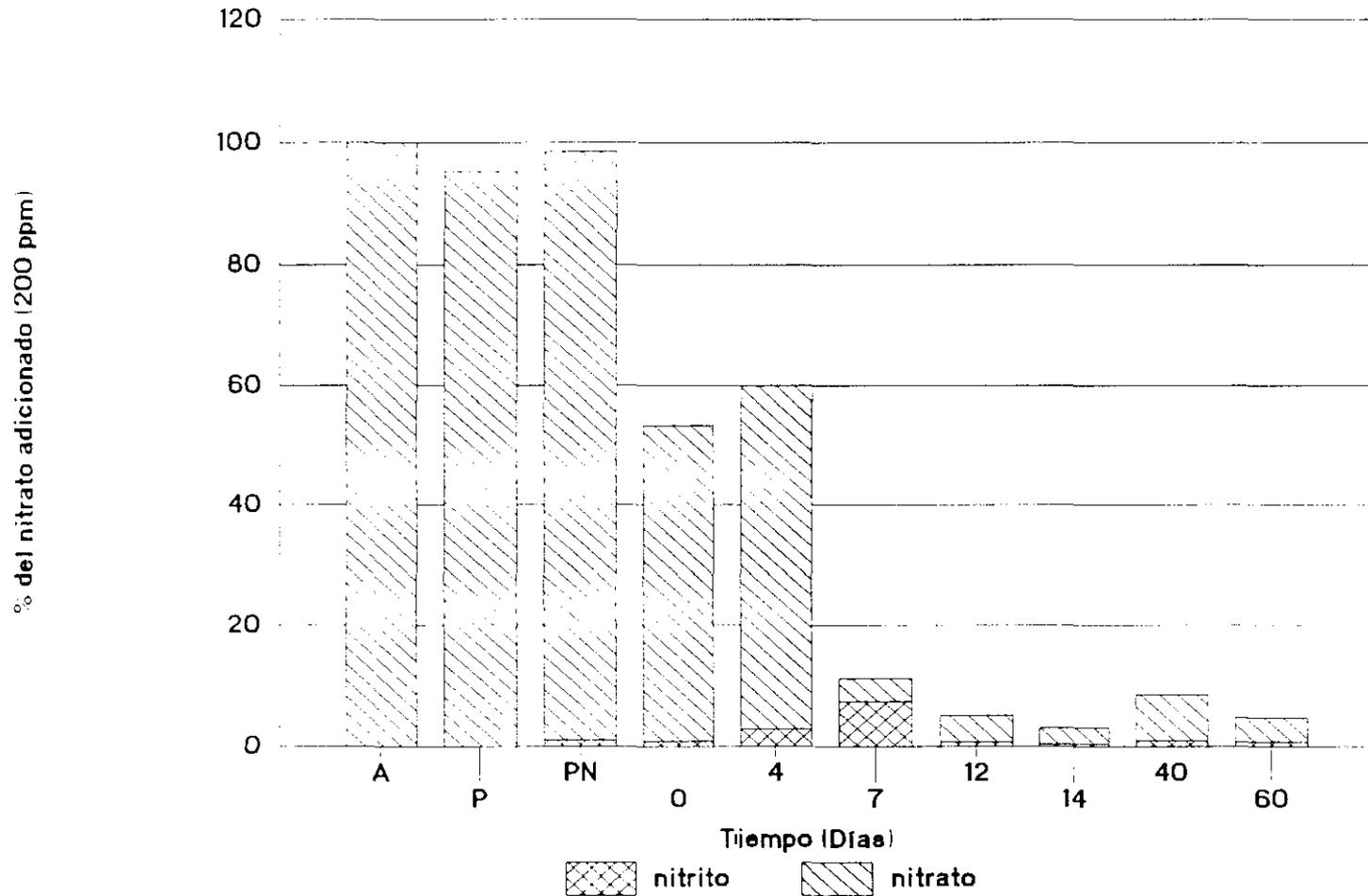
LOTE 2: Formulación 3 (23)



GRÁFICA n°32.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del KNO_3 adicionado (200 mg/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

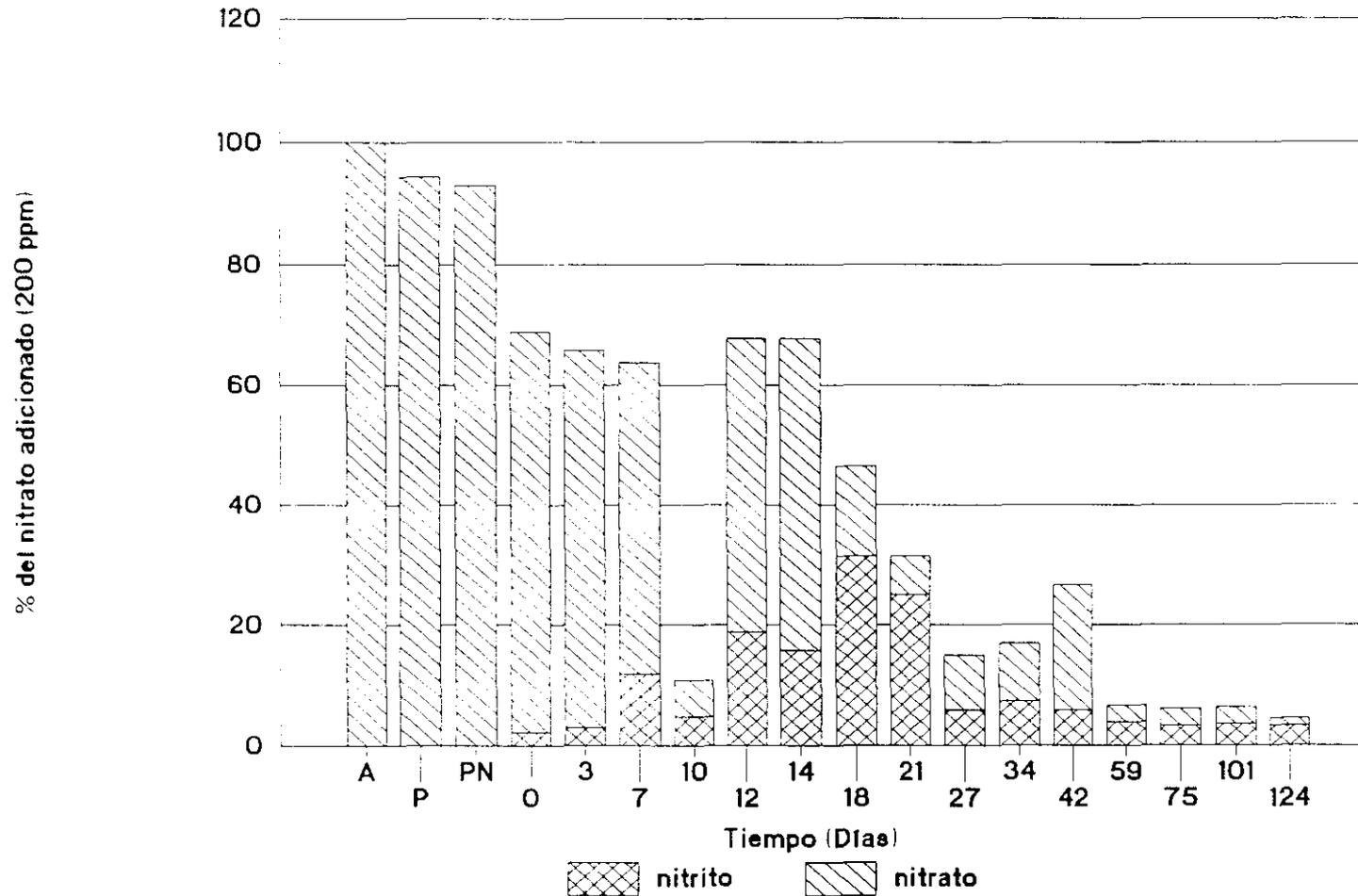
LOTE 3 : Formulación 3 (B3)



GRÁFICA nº33.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del KNO_3 adicionado (200 mg/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

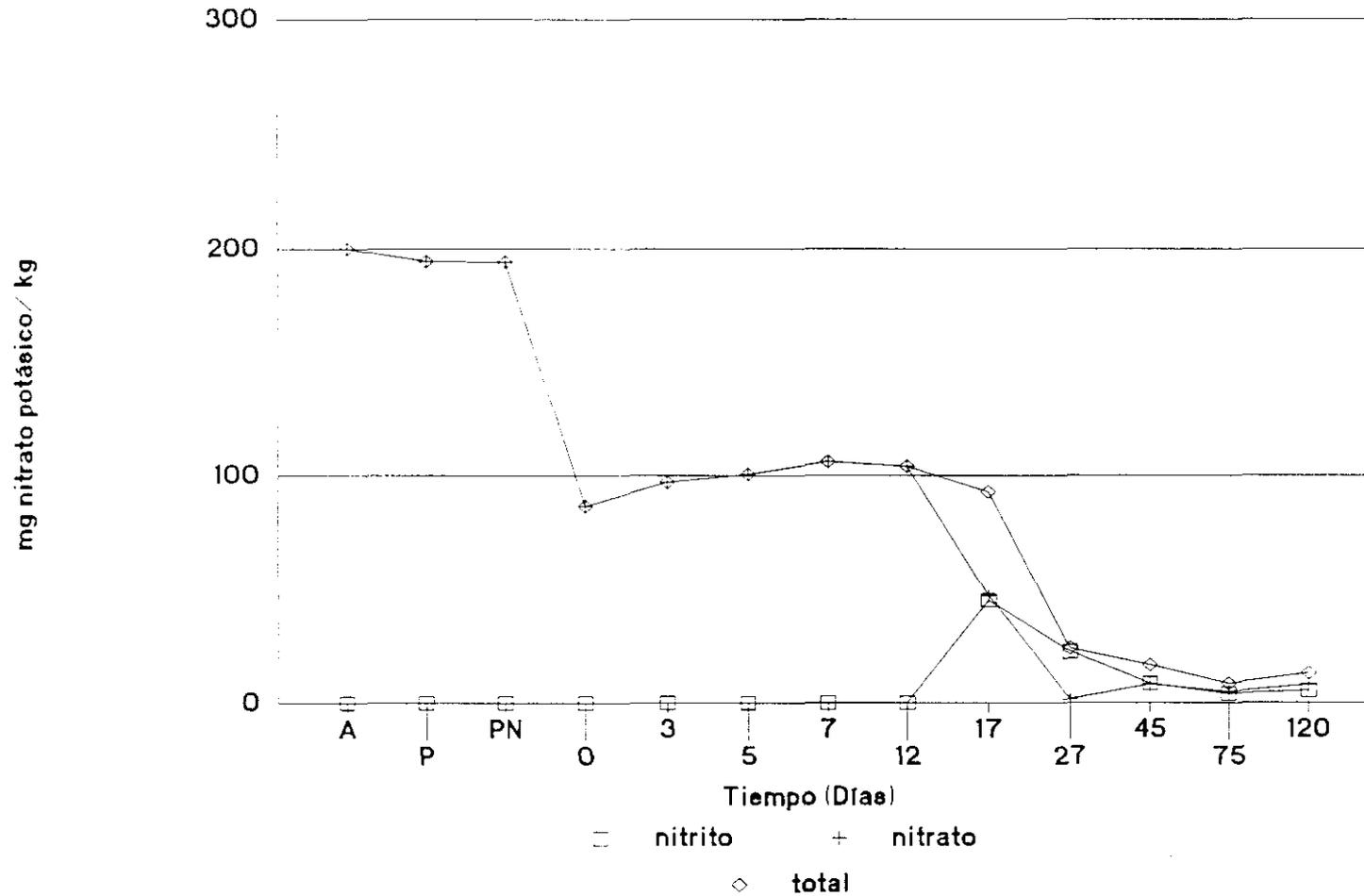
LOTE 4 : Formulación 3 (43)



GRÁFICA nº34.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del KNO_3 adicionado (200 mg/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

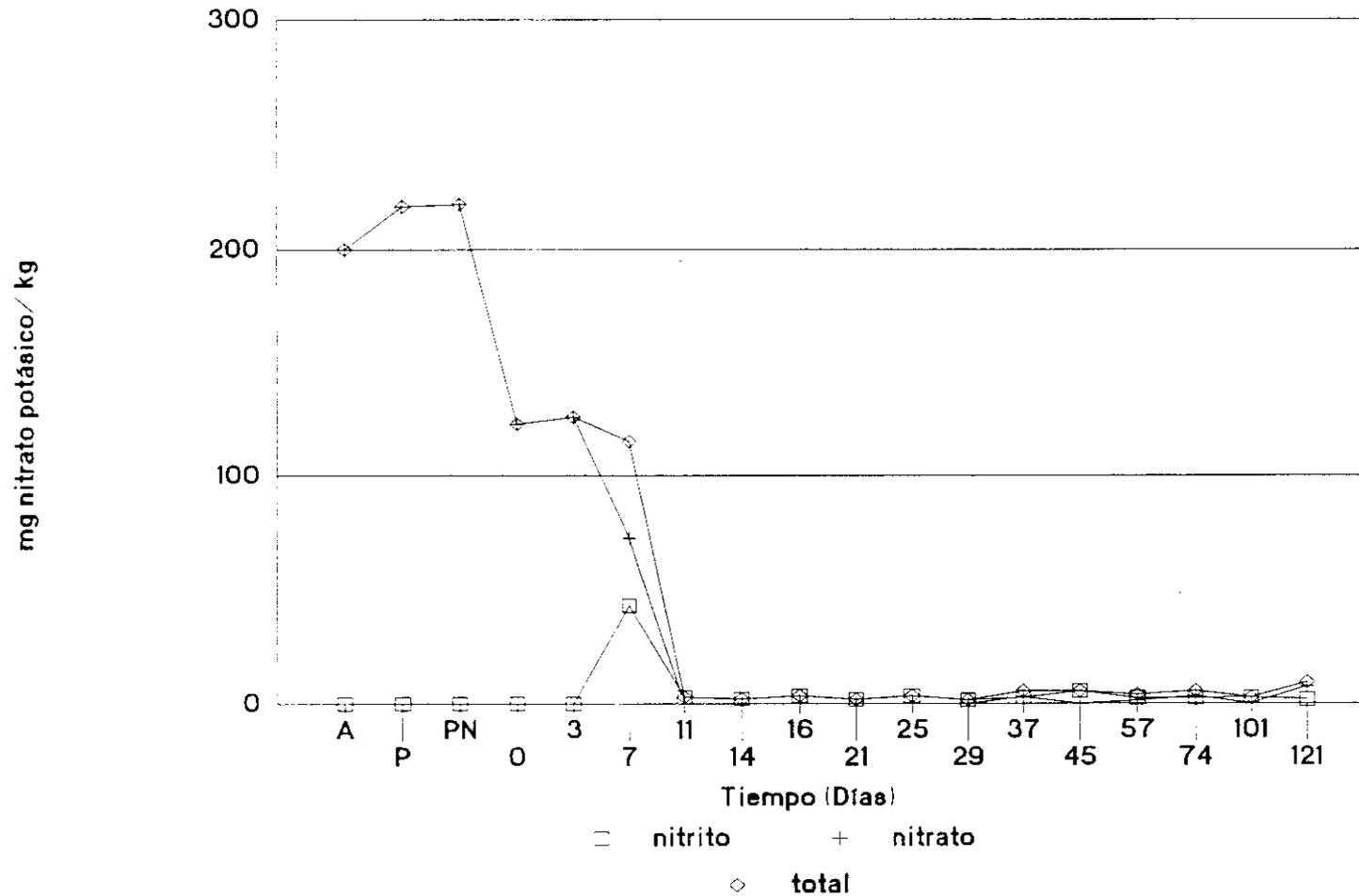
LOTE 1 : Formulación 3 (13)



GRÁFICA nº35.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

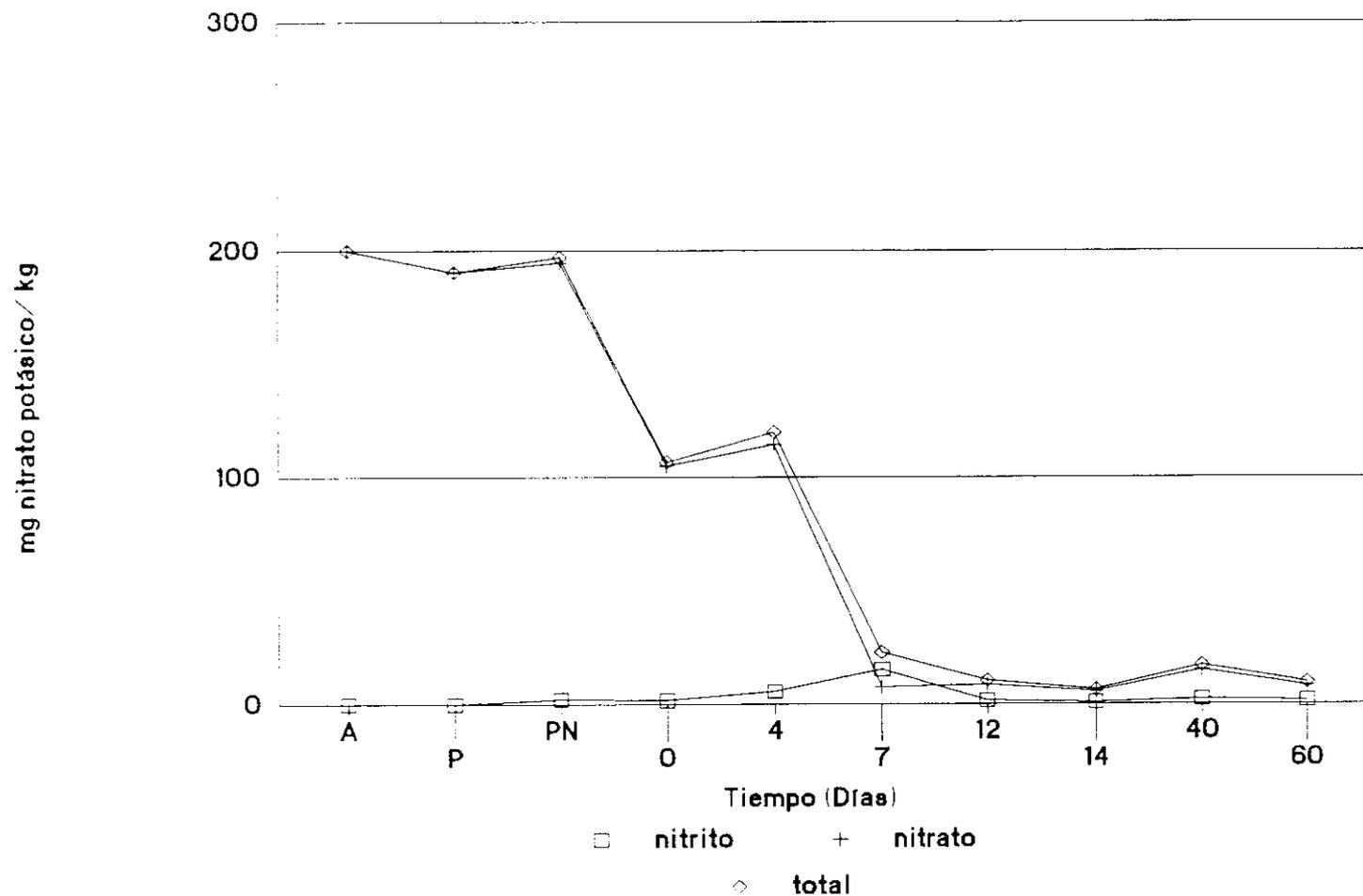
LOTE 2 : Formulación 3 (23)



GRÁFICA nº36.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

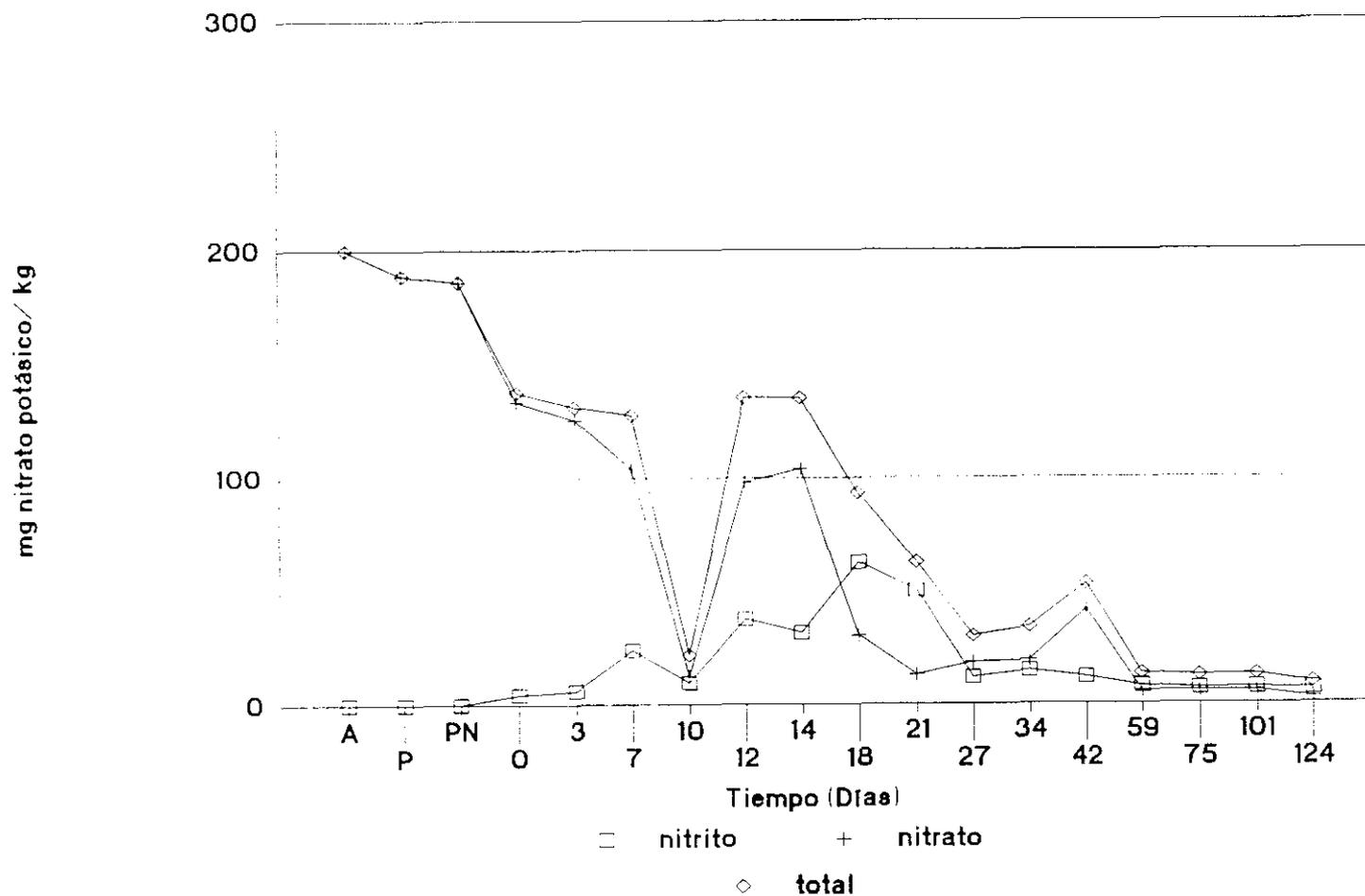
LOTE 3 : Formulación 3 (33)



GRÁFICA nº37.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

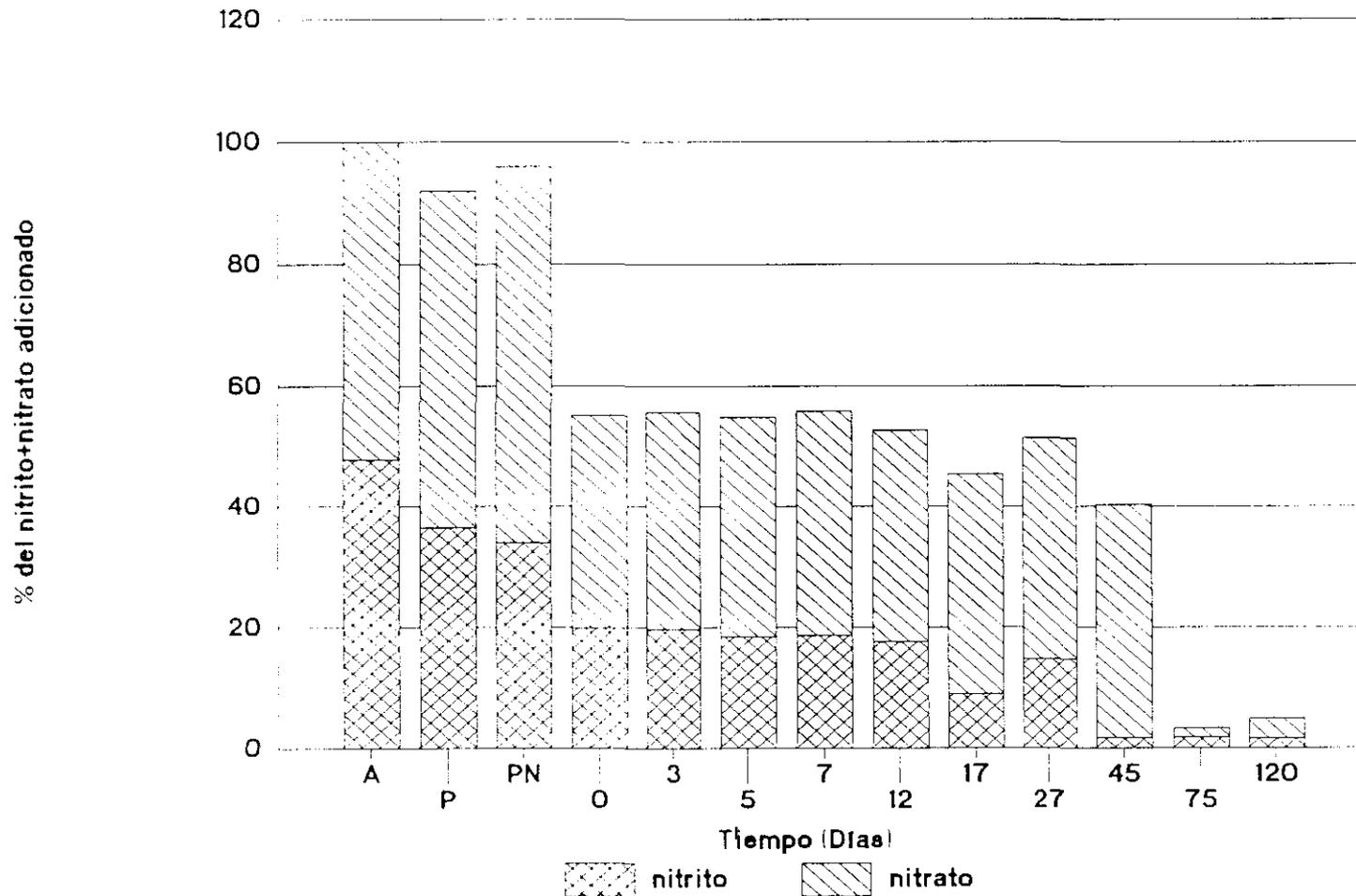
LOTE 4 : Formulación 3 (43)



GRÁFICA nº38.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO₂/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

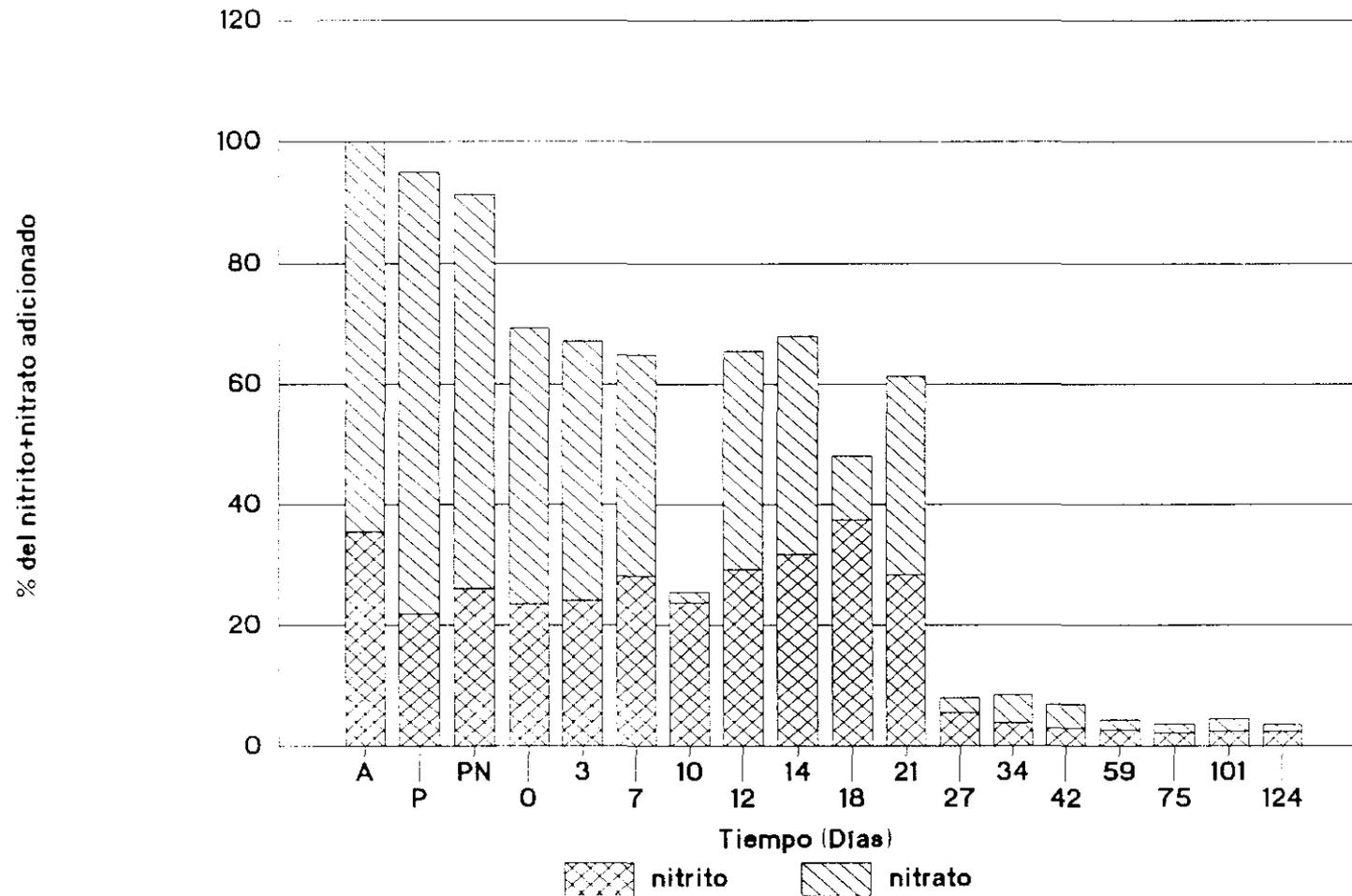
LOTE 1: Formulación 4 (14)



GRÁFICA nº39.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 (125 mg/kg) y KNO_3 (200 mg/kg) adicionados durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

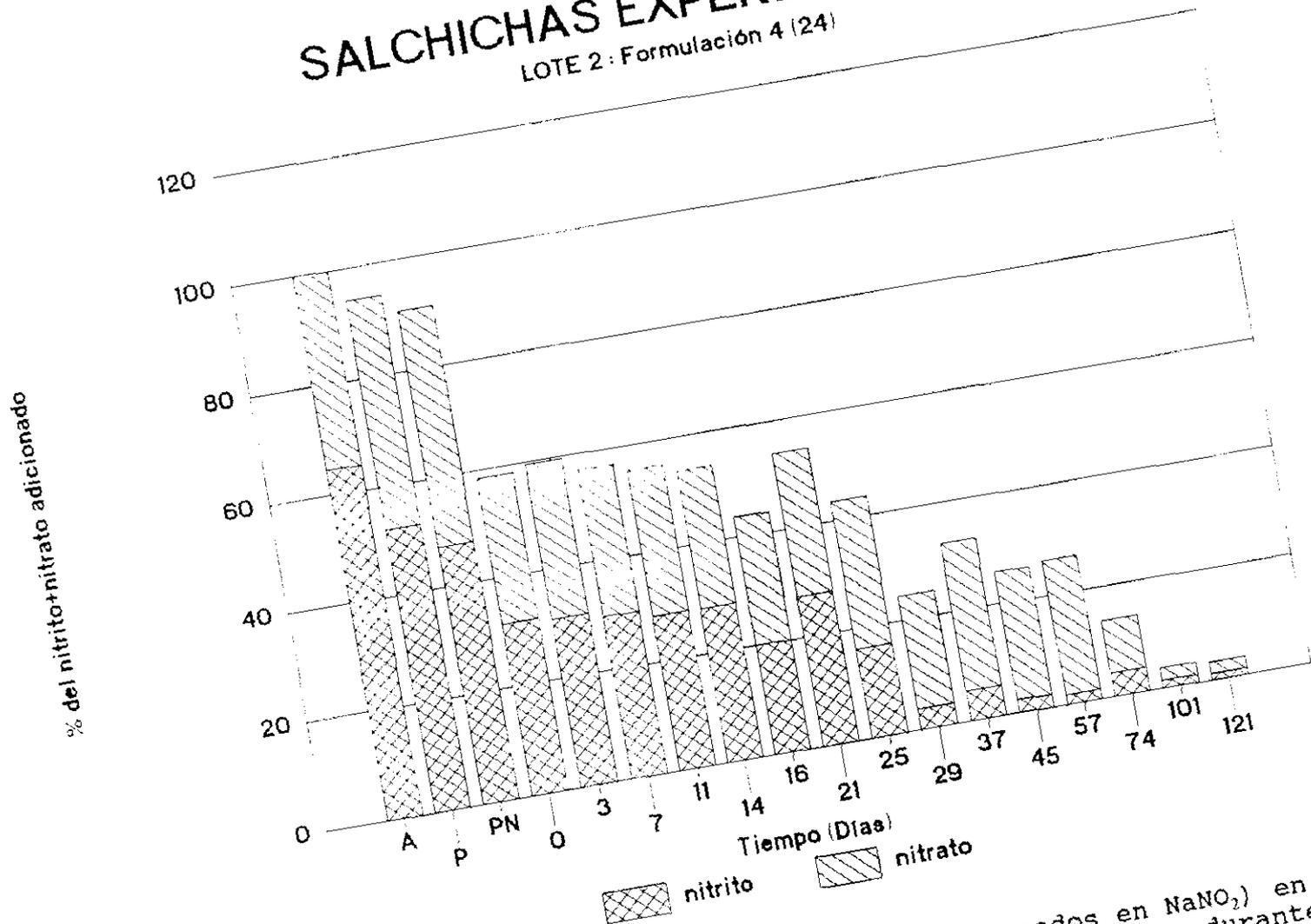
LOTE 4 : Formulación 4 (44)



GRÁFICA nº40.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 (250 mg/kg) y KNO_3 (200 mg/kg) adicionados durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

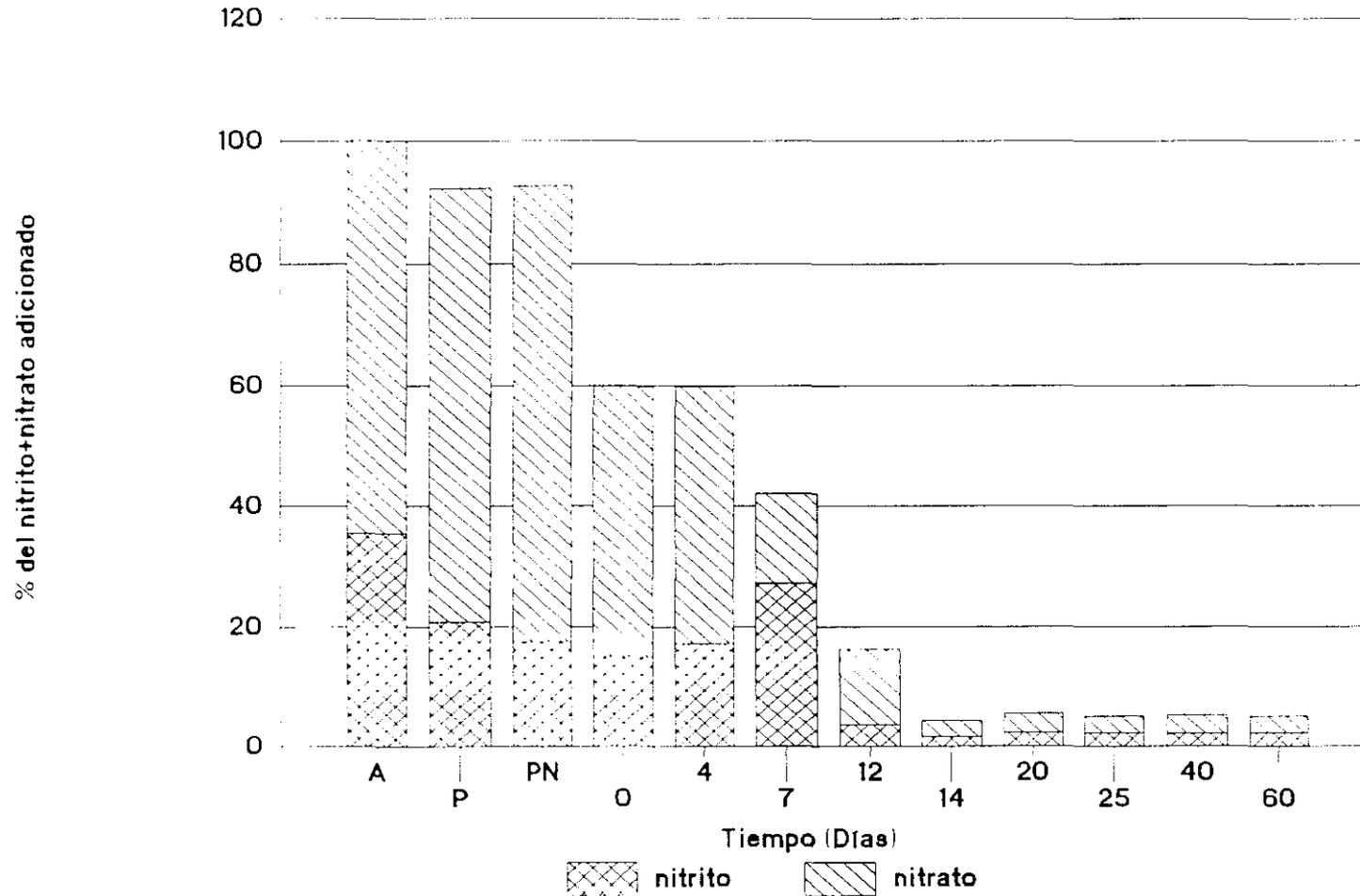
LOTE 2: Formulación 4 (24)



GRÁFICA nº41.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 (75 mg/kg) y KNO_3 (200 mg/kg) adicionados durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

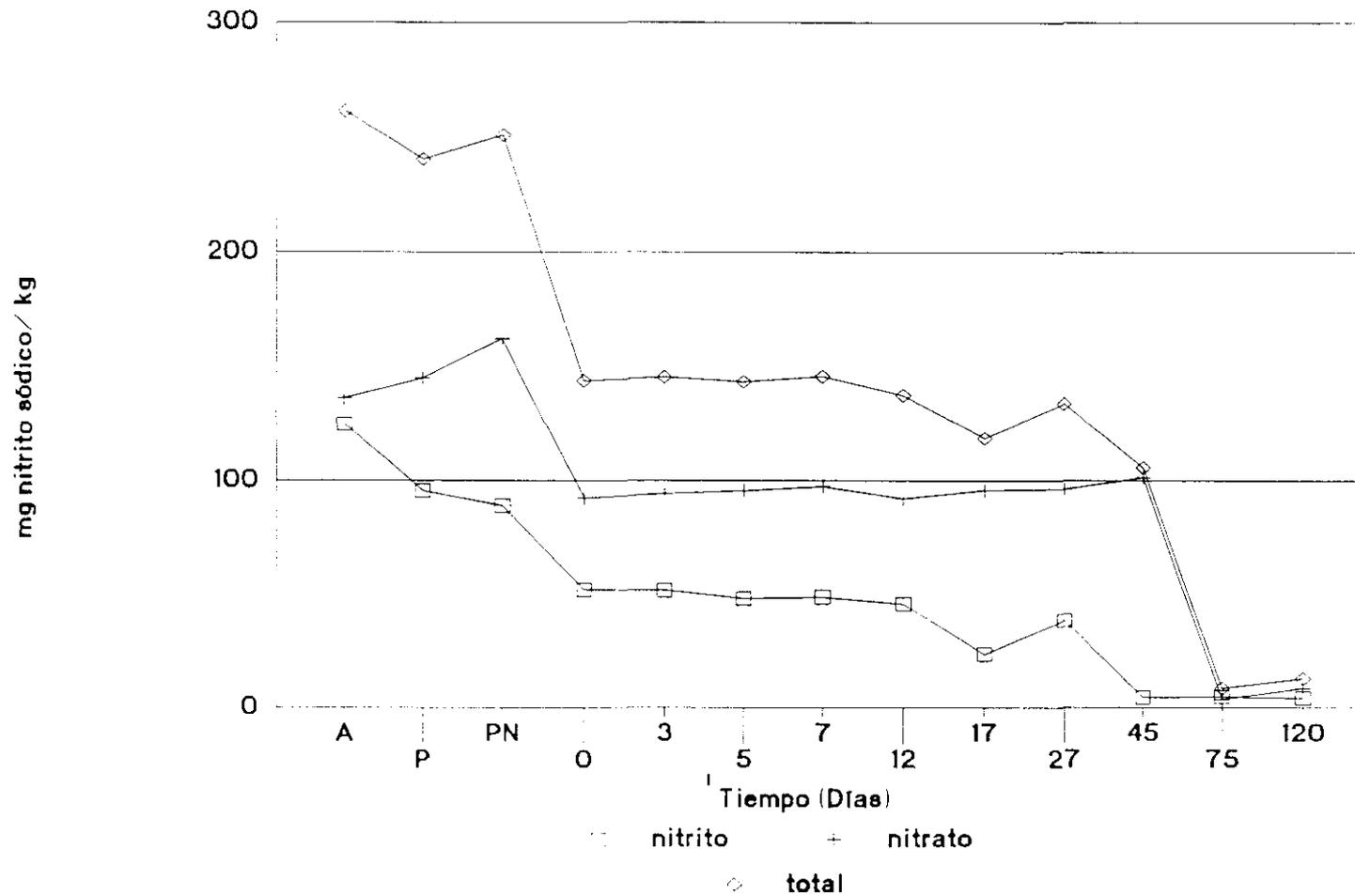
LOTE 3 : Formulación 4 (34)



GRÁFICA nº42.- Participación del nitrito y nitrato (expresados en NaNO_2) en la recuperación del NaNO_2 (75 mg/kg) y KNO_3 (200 mg/kg) adicionados durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

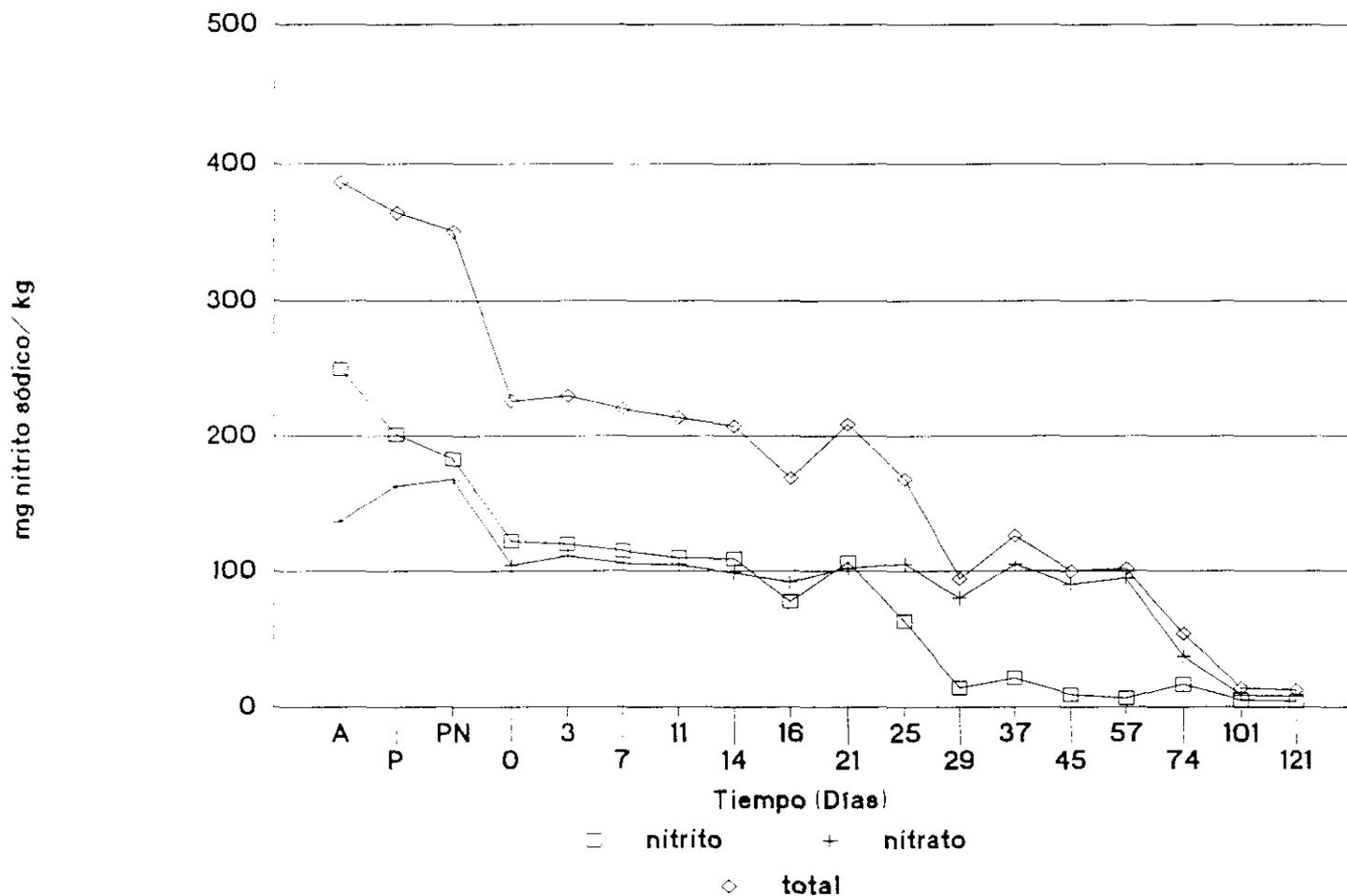
LOTE 1: Formulación 4 (14)



GRÁFICA nº43.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

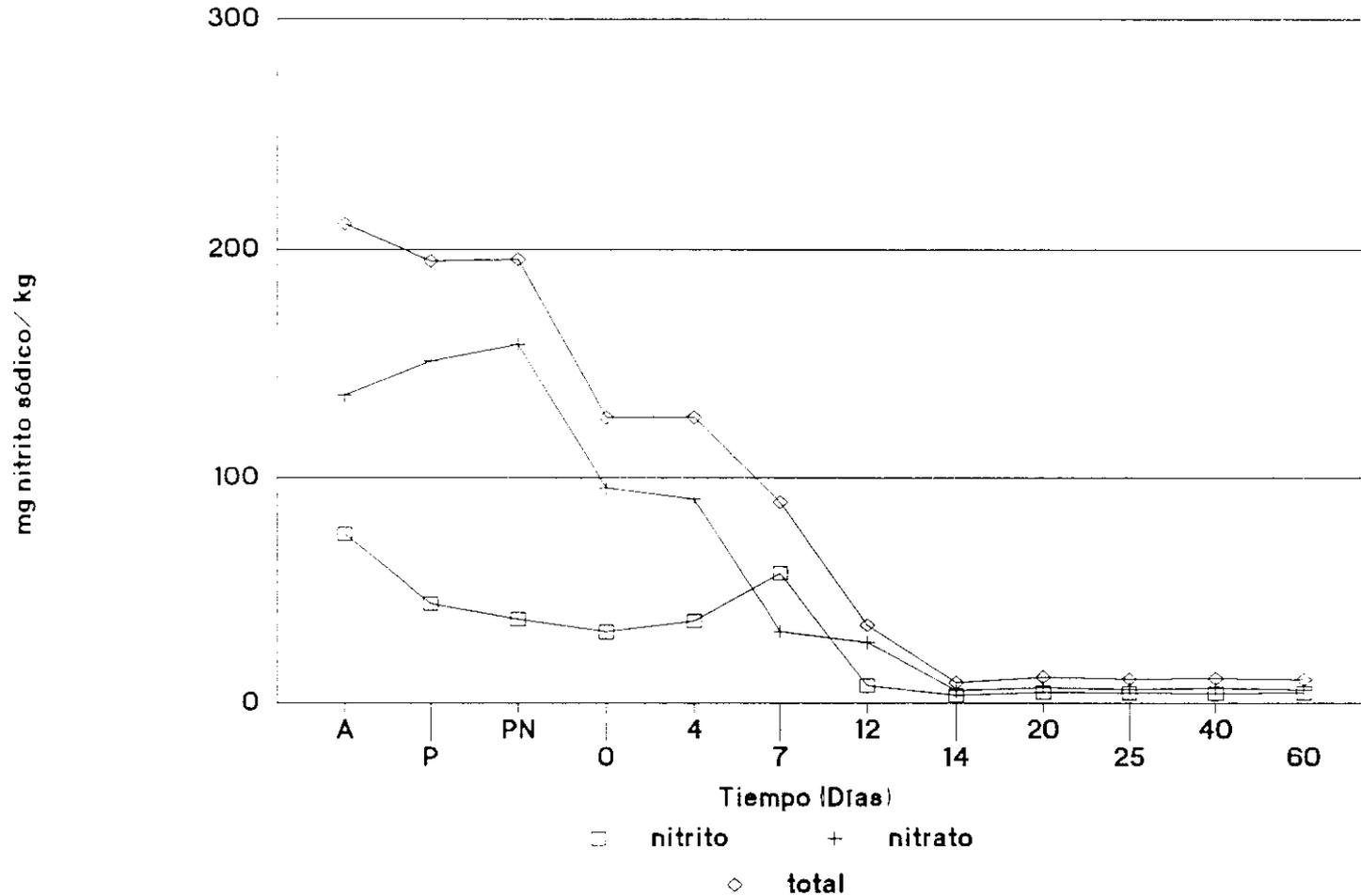
LOTE 2 : Formulación 4 (24)



GRÁFICA nº44.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

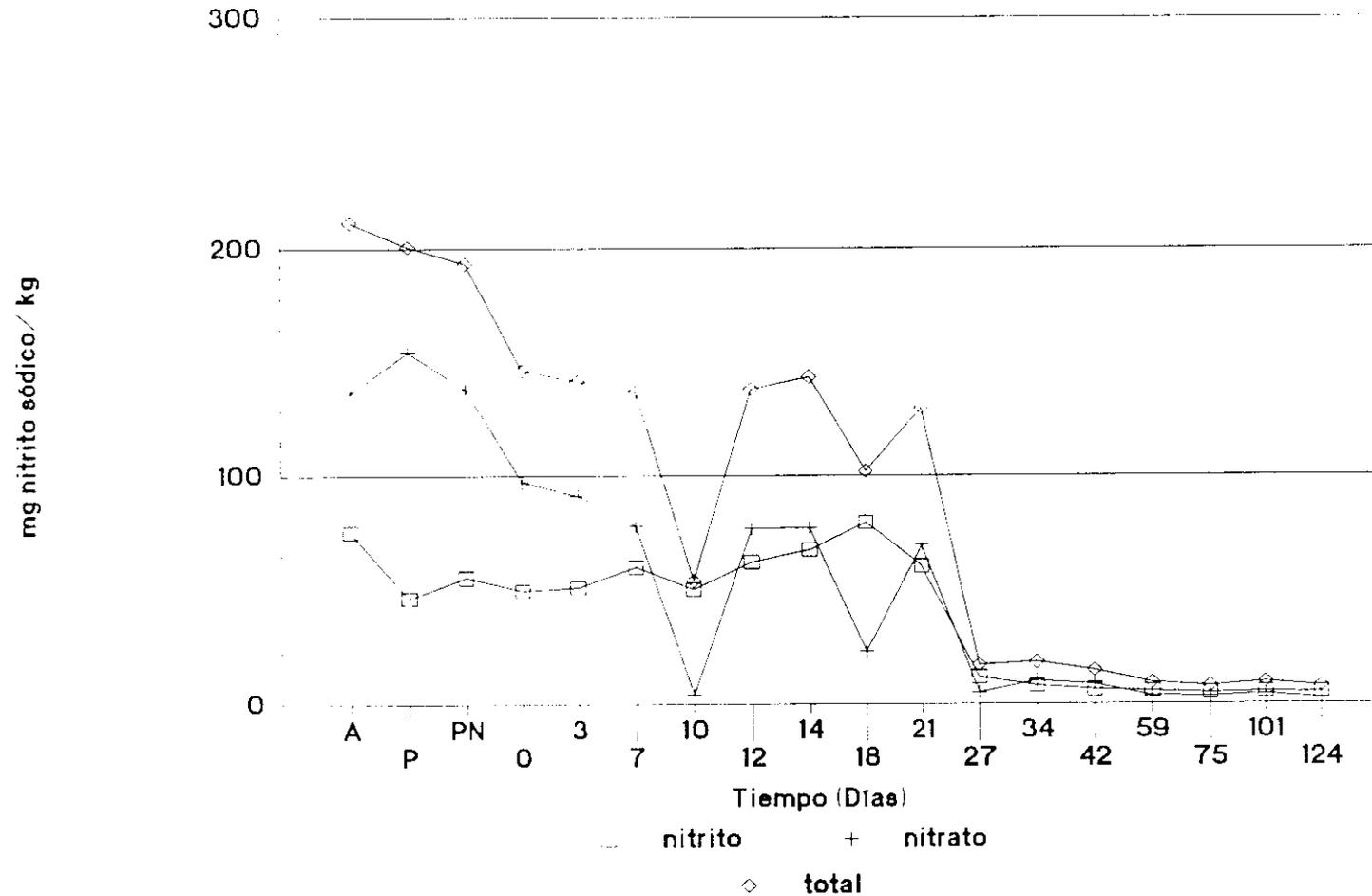
LOTE 3 : Formulación 4 (34)



GRÁFICA nº45.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO_2/kg) durante la elaboración y conservación.

SALCHICHAS EXPERIMENTALES

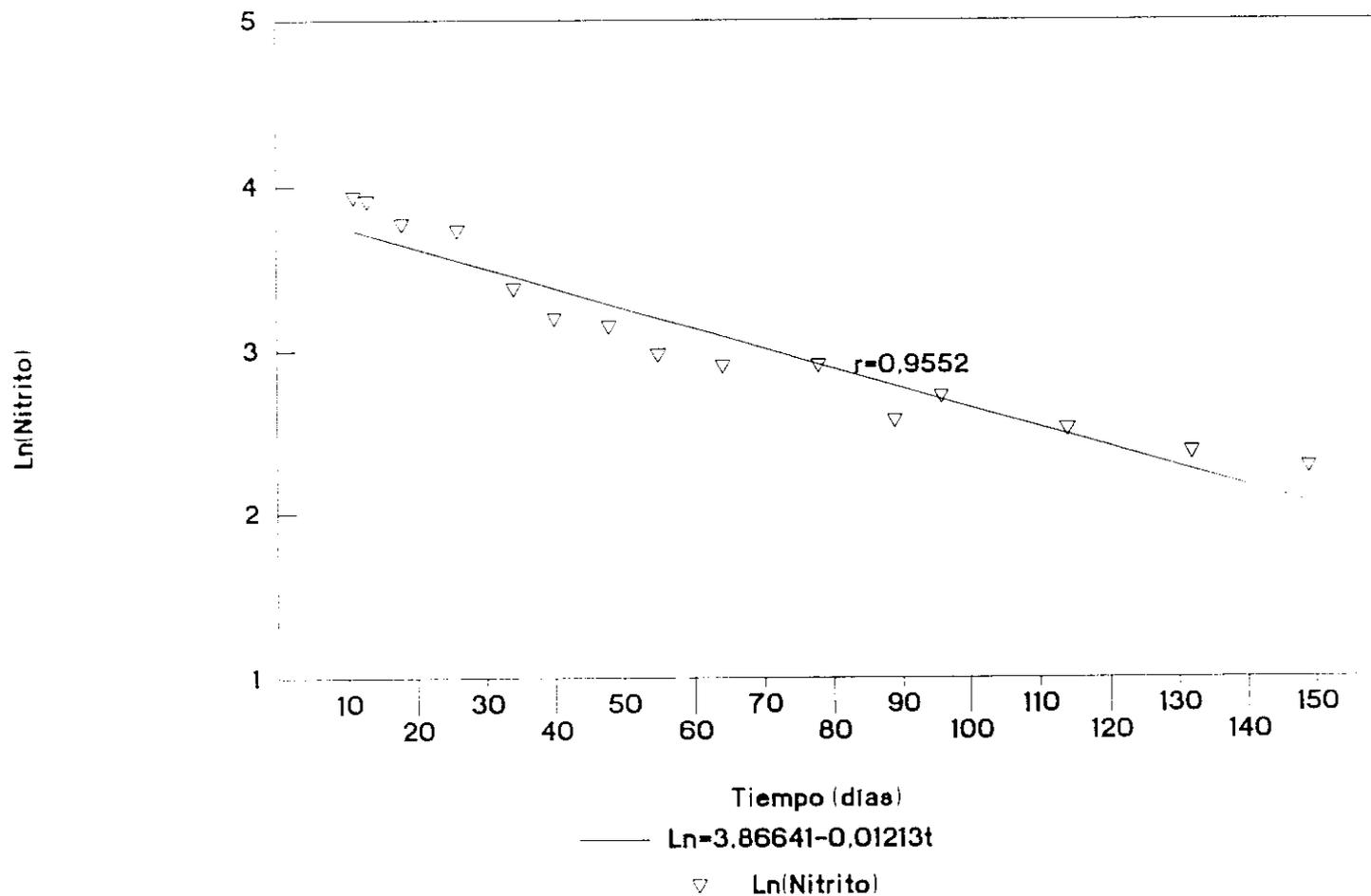
LOTE 4 : Formulación 4 (44)



GRÁFICA n°46.- Evolución de los niveles residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos (expresados en mg NaNO₂/kg) durante la elaboración y conservación.

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

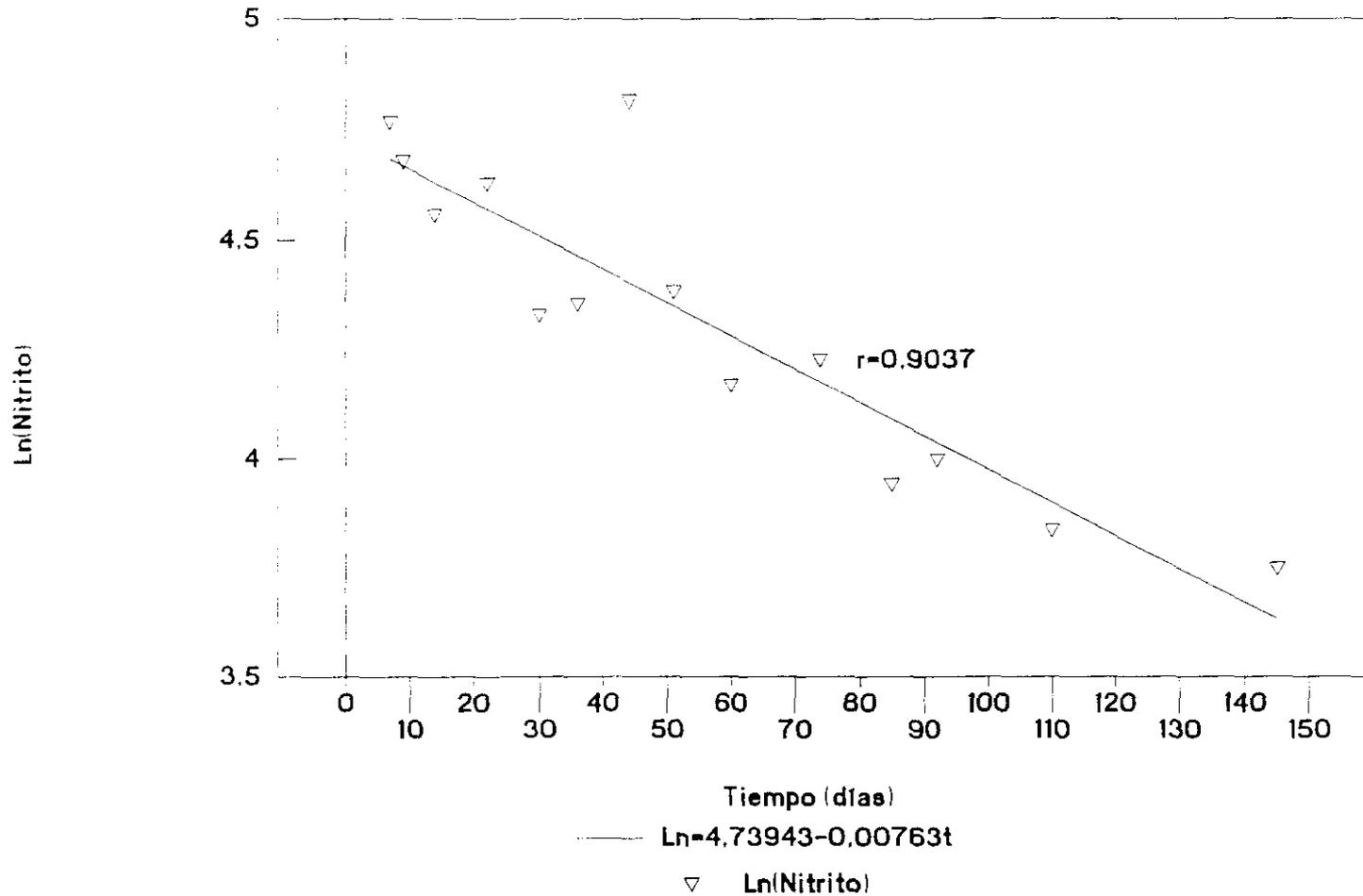
MARCA 1



GRÁFICA nº47.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: Marca 1

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

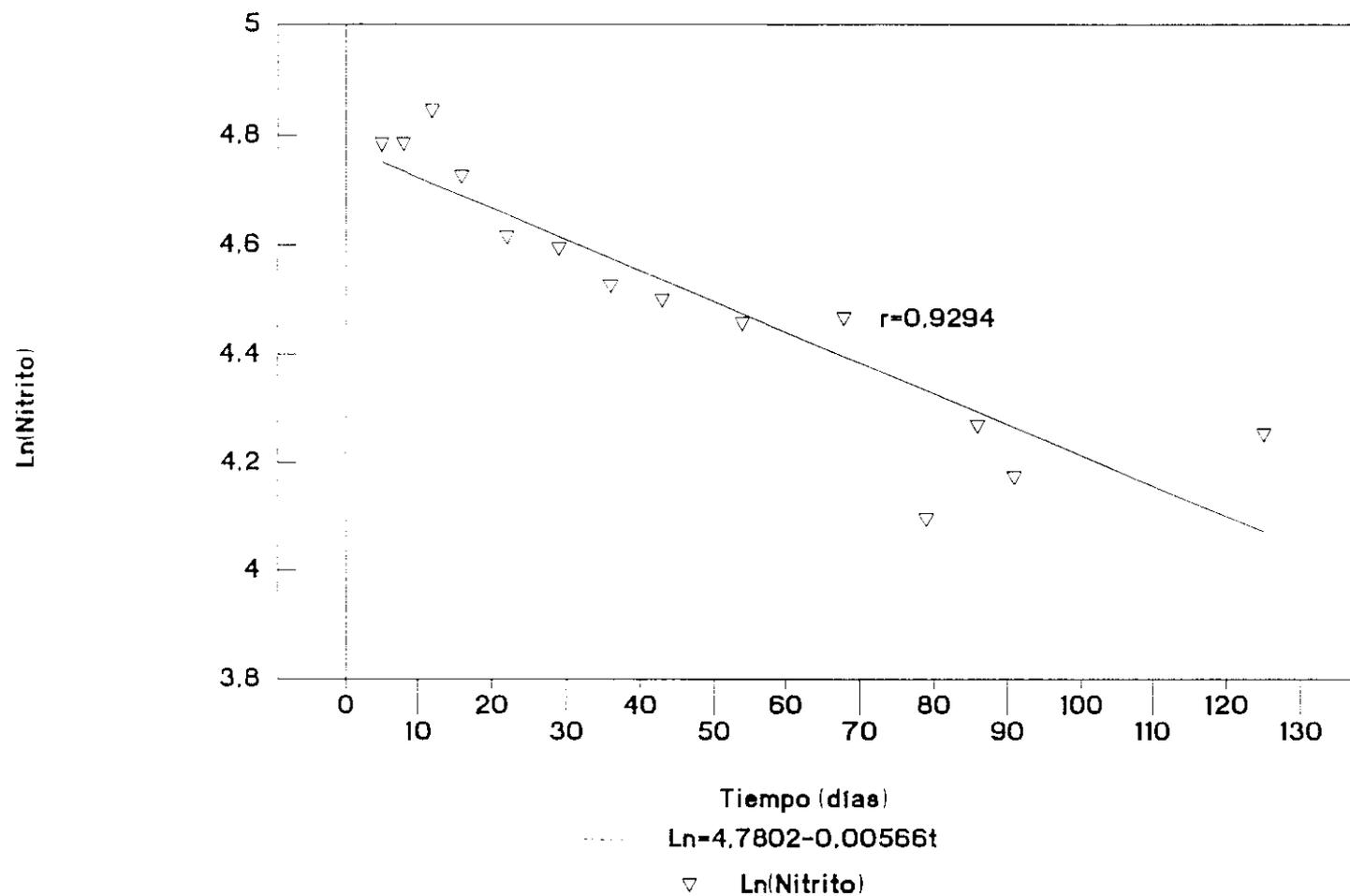
MARCA 2



GRÁFICA nº48.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: Marca 2

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

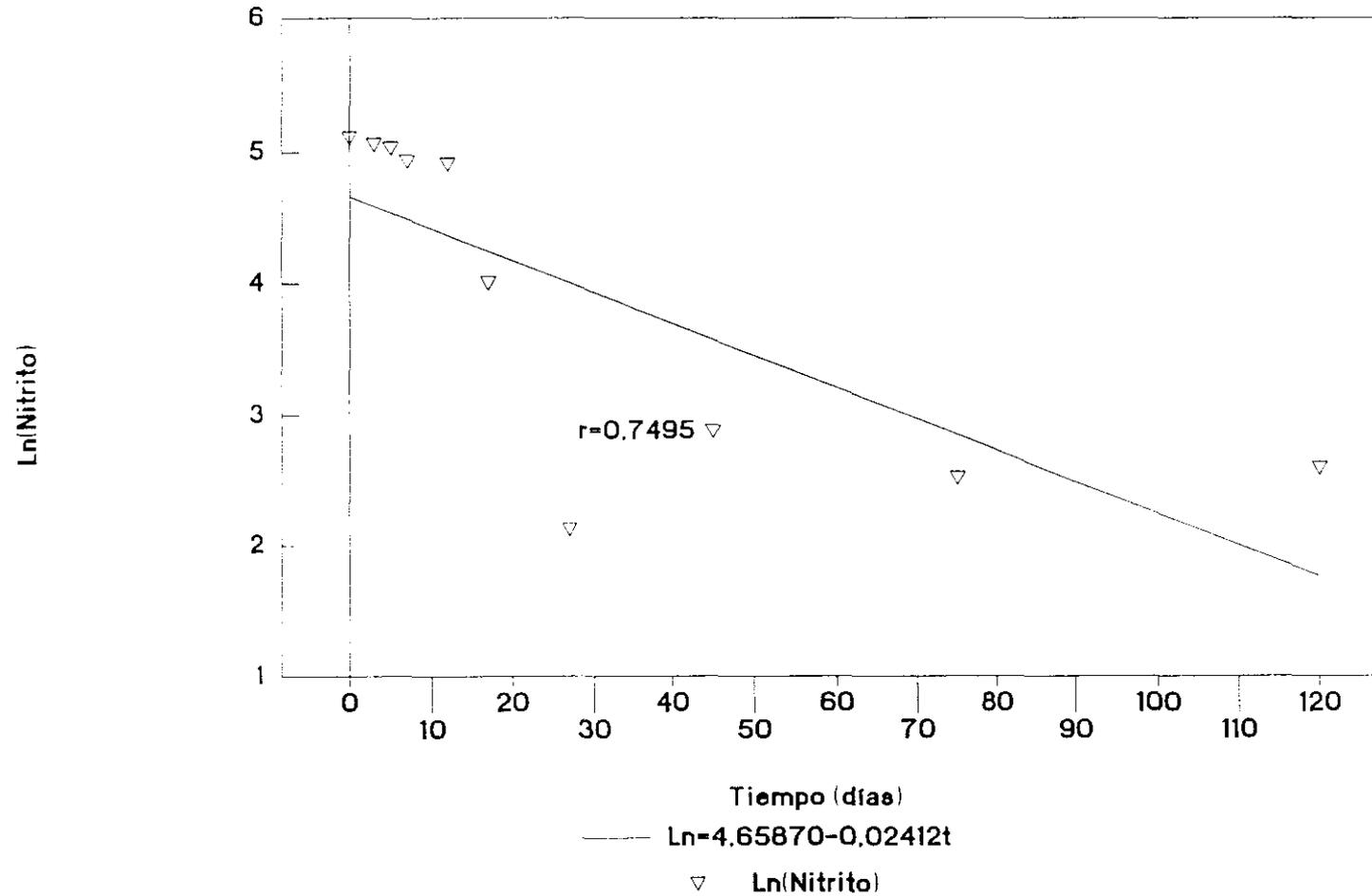
MARCA 3



GRÁFICA nº49.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: Marca 3

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

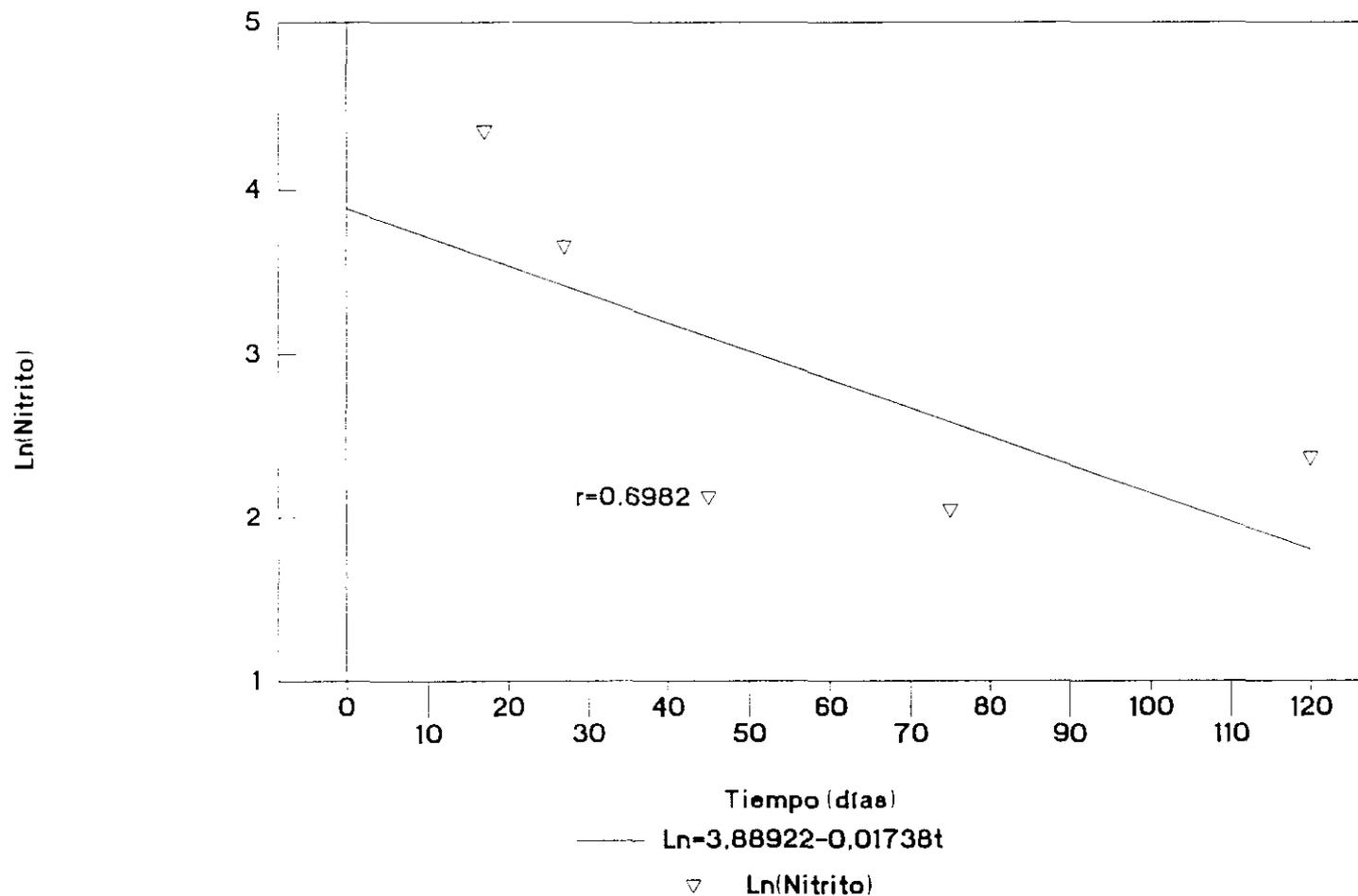
LOTE 1 : Formulación 2 (12)



GRÁFICA nº50.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: salchichas curadas con 125 mg NaNO₂/kg.

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

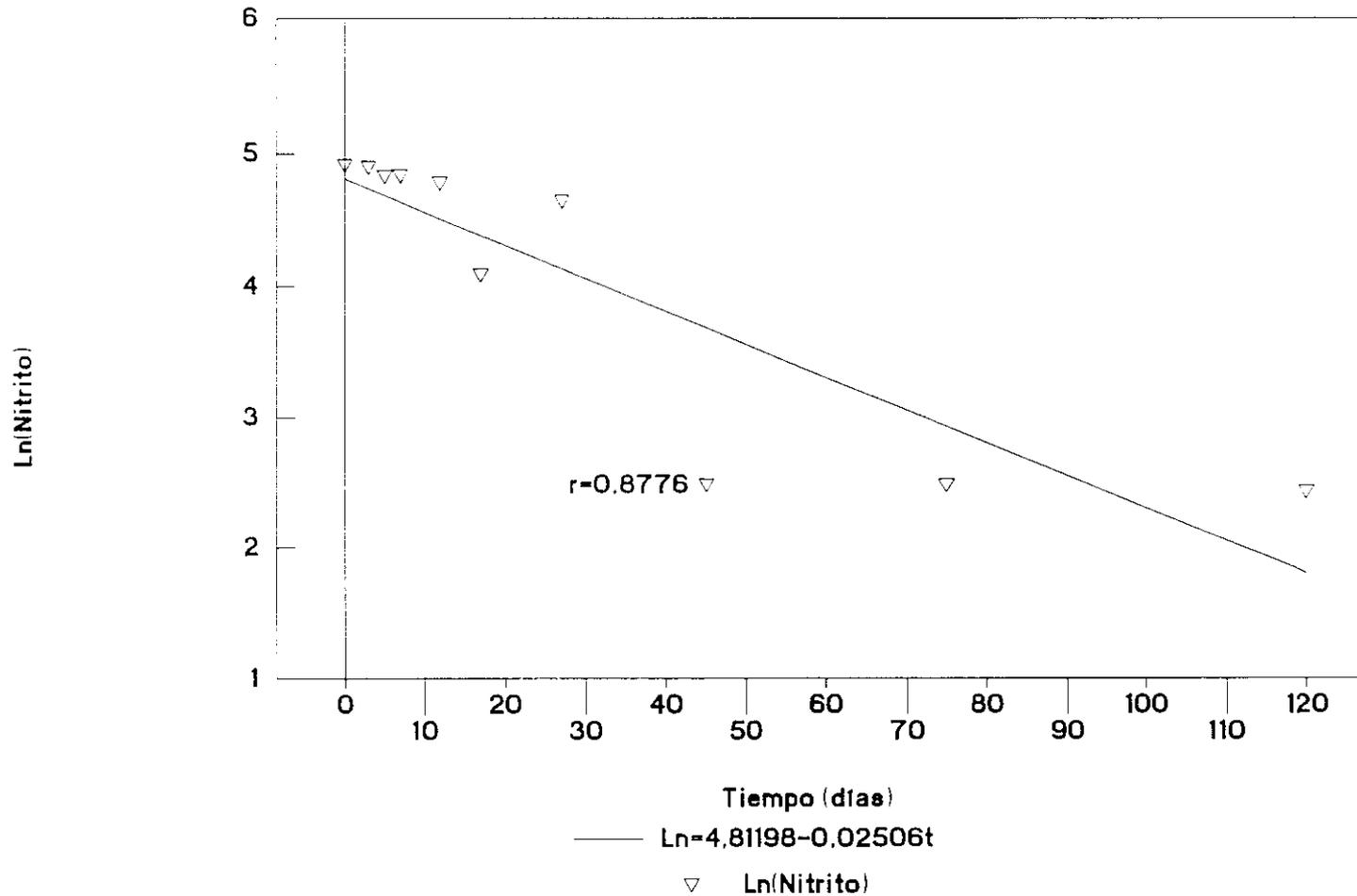
LOTE 1 : Formulación 3 (13)



GRÁFICA nº51.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: salchichas curadas con 200 mg KNO_3 /kg.

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

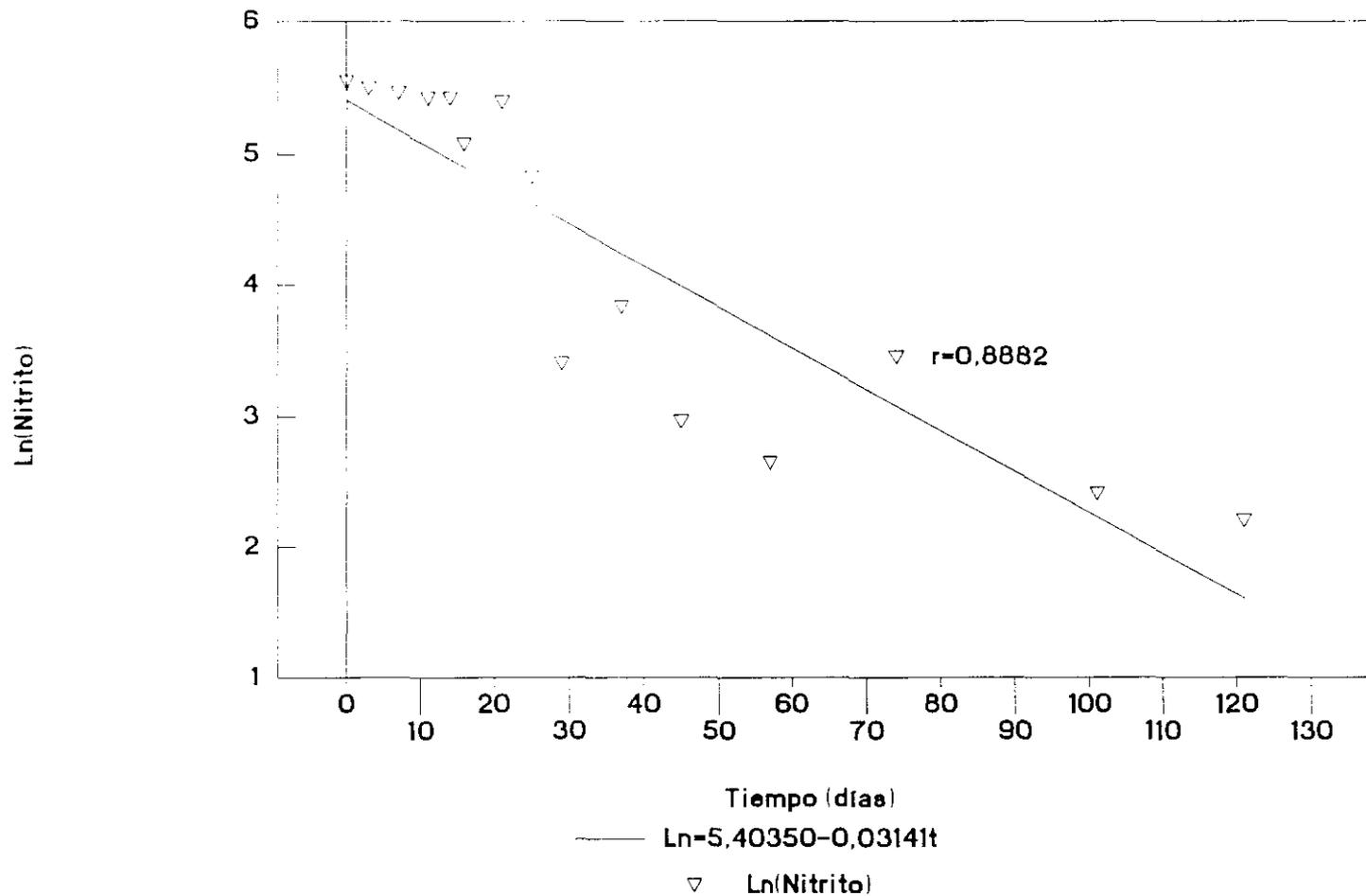
LOTE 1 : Formulación 4 (14)



GRÁFICA nº52.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: salchichas curadas con 125 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

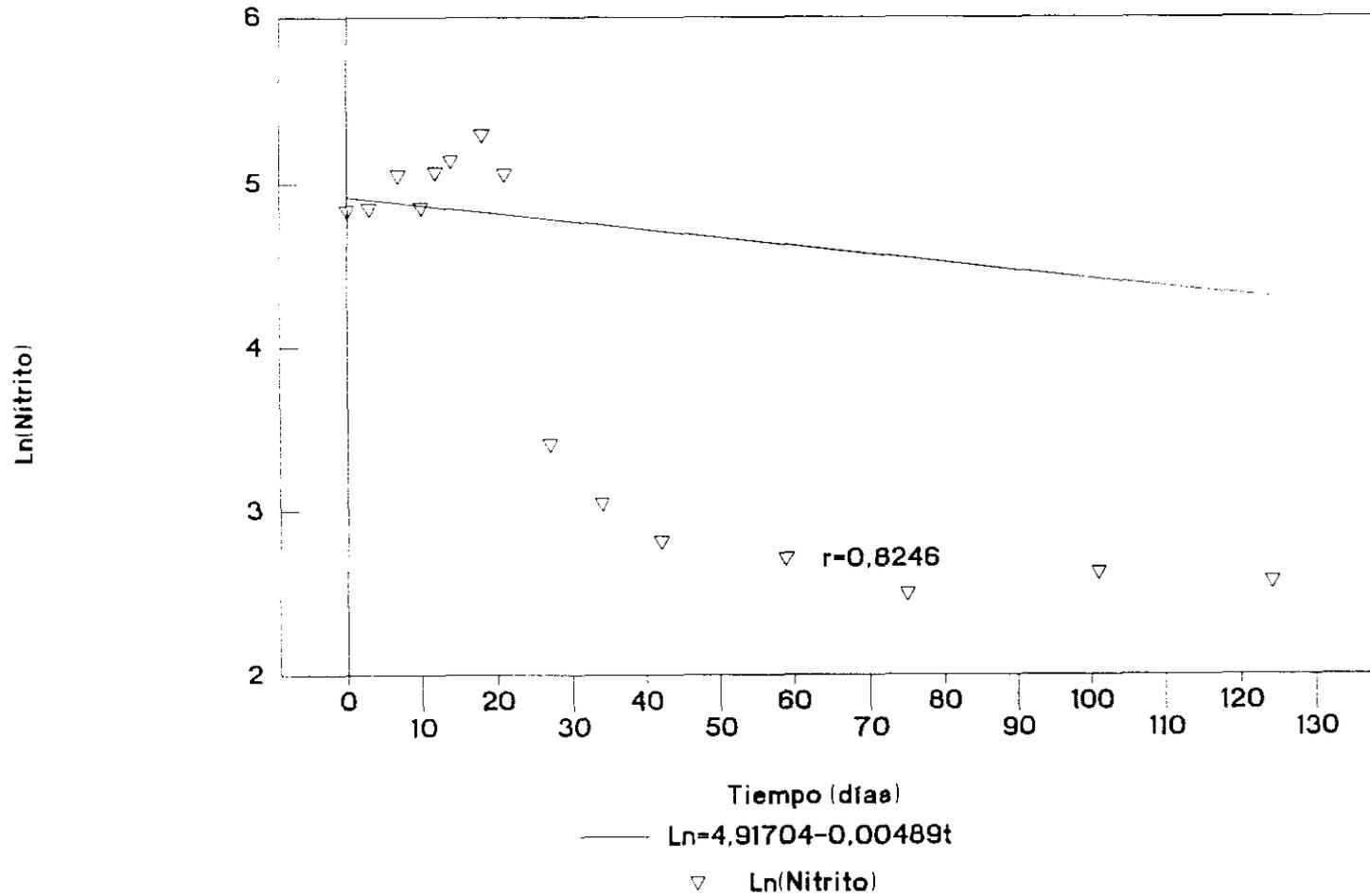
LOTE 2 : Formulación 4 (24)



GRÁFICA nº53.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: salchichas curadas con 250 mg $NaNO_2/kg$ y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO SODICO)

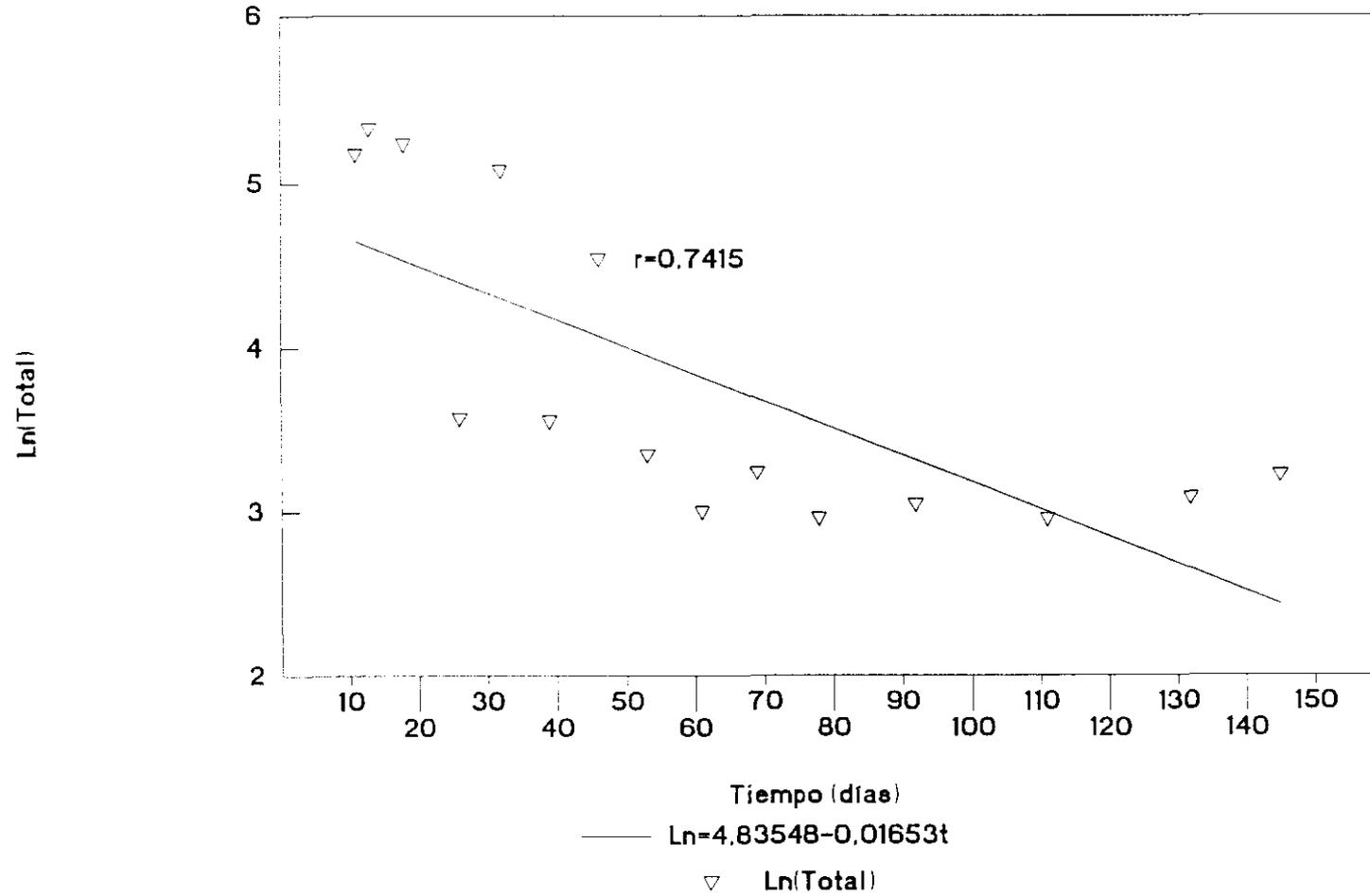
LOTE 4 : Formulación 4 (44)



GRÁFICA nº54.- Análisis de regresión lineal. Nitrito sódico en función del tiempo: salchichas curadas con 75 mg $NaNO_2/kg$ y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO + NITRATO)

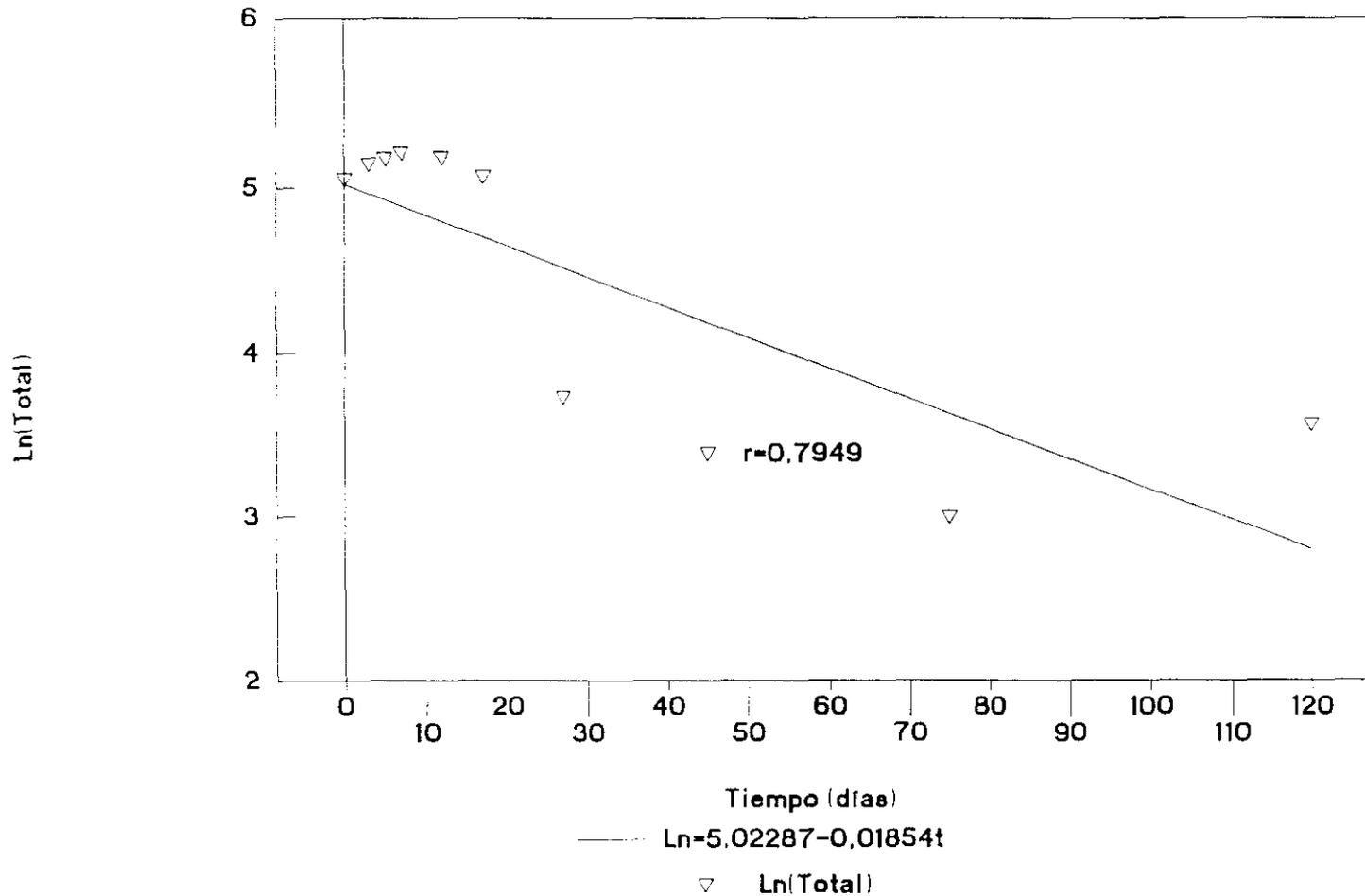
MARCA 4



GRÁFICA nº55.- Análisis de regresión lineal. Nitrito + nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo : Marca 4.

RECTA DE REGRESION (NITRITO + NITRATO)

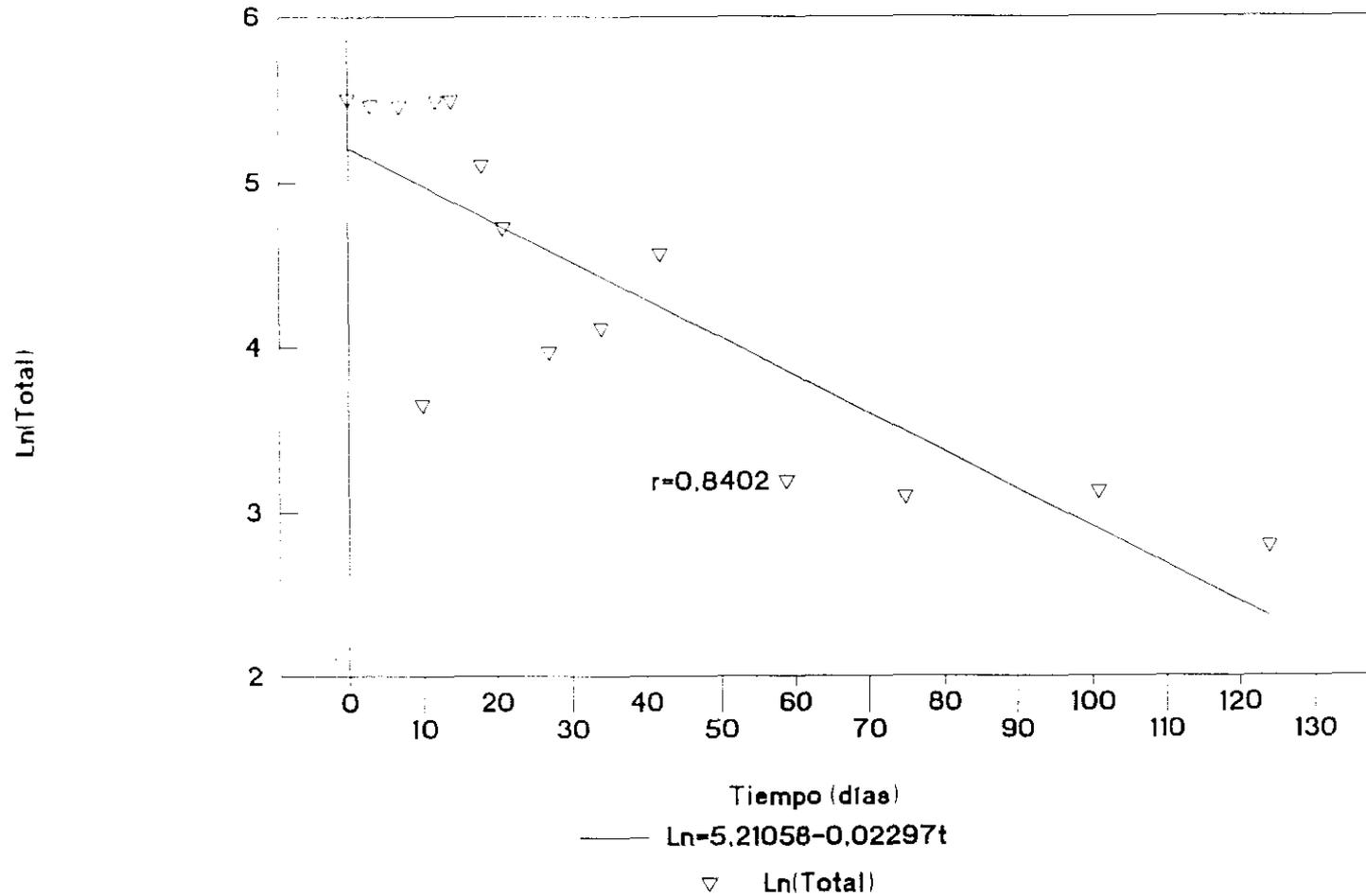
LOTE 1 : Formulación 3 (13)



GRÁFICA nº56.- Análisis de regresión lineal. Nitrito + nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo : salchichas curadas con 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO + NITRATO)

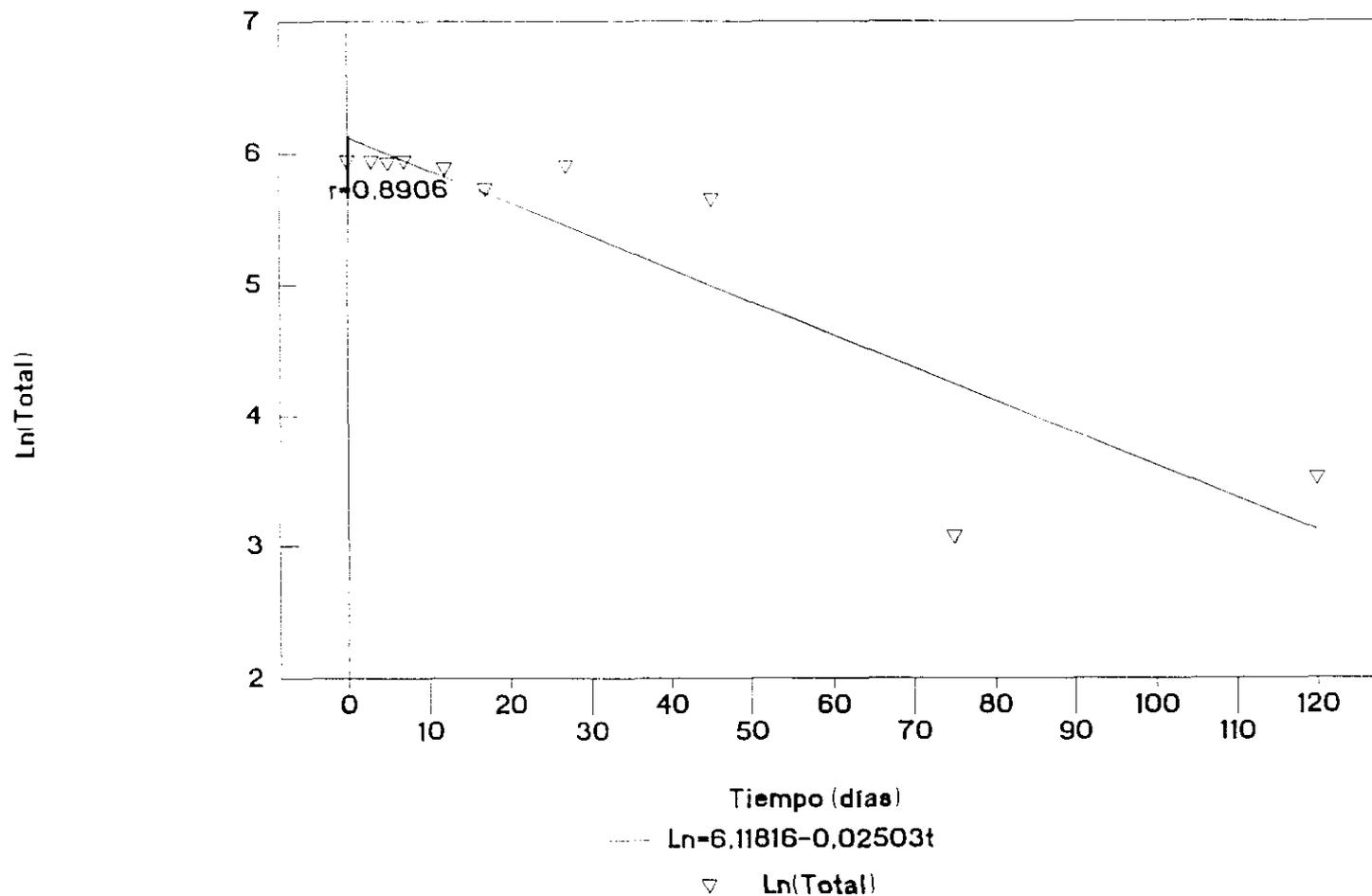
LOTE 4 : Formulación 3 (43)



GRÁFICA nº57.- Análisis de regresión lineal. Nitrito + nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo : salchichas curadas con 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO + NITRATO)

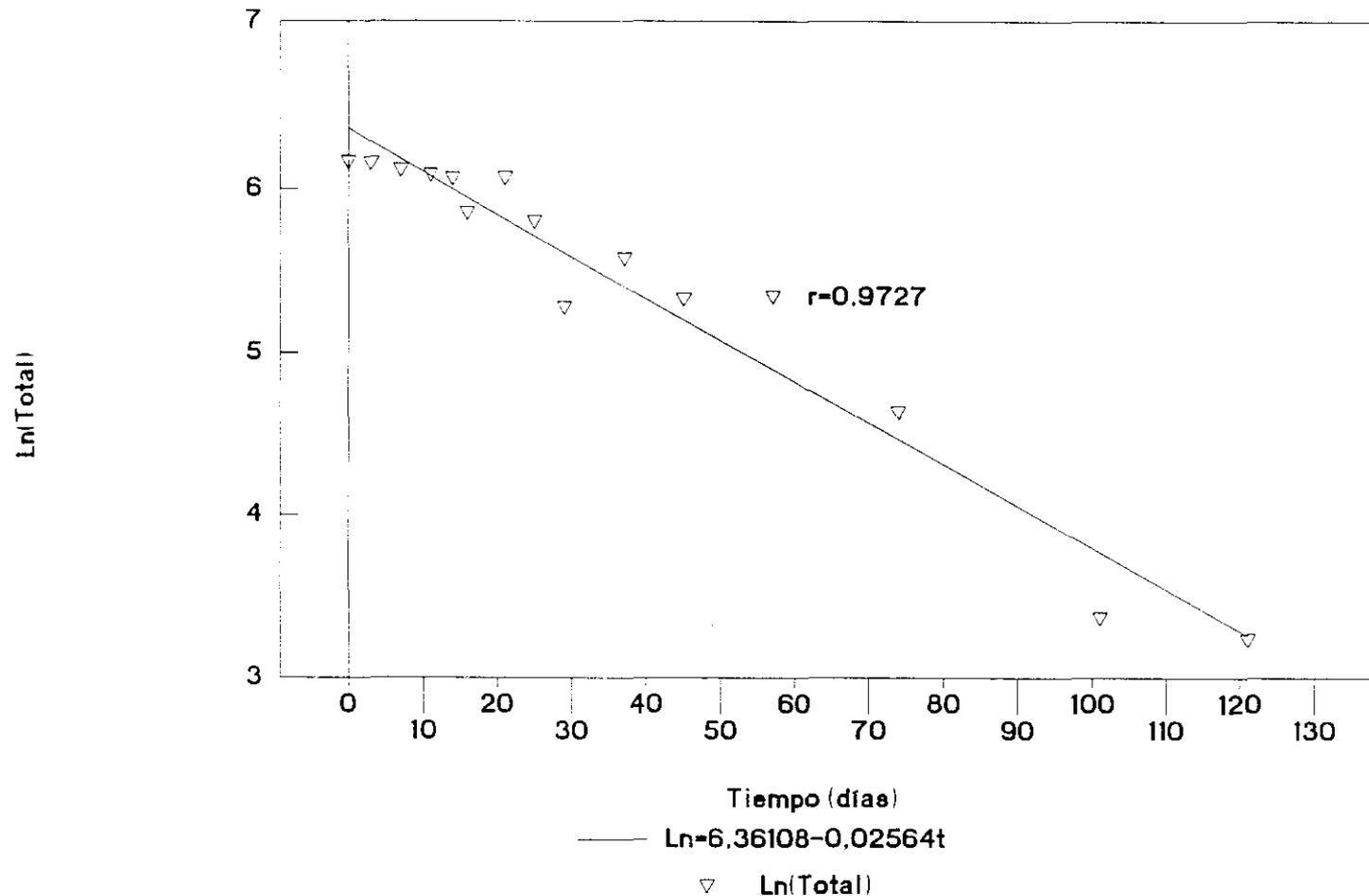
LOTE 1: Formulación 4 (14)



GRÁFICA nº58.- Análisis de regresión lineal. Nitrito + nitrato (expresado en $NaNO_2$) en función del tiempo : salchichas curadas con 125 mg $NaNO_2/kg$ y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO + NITRATO)

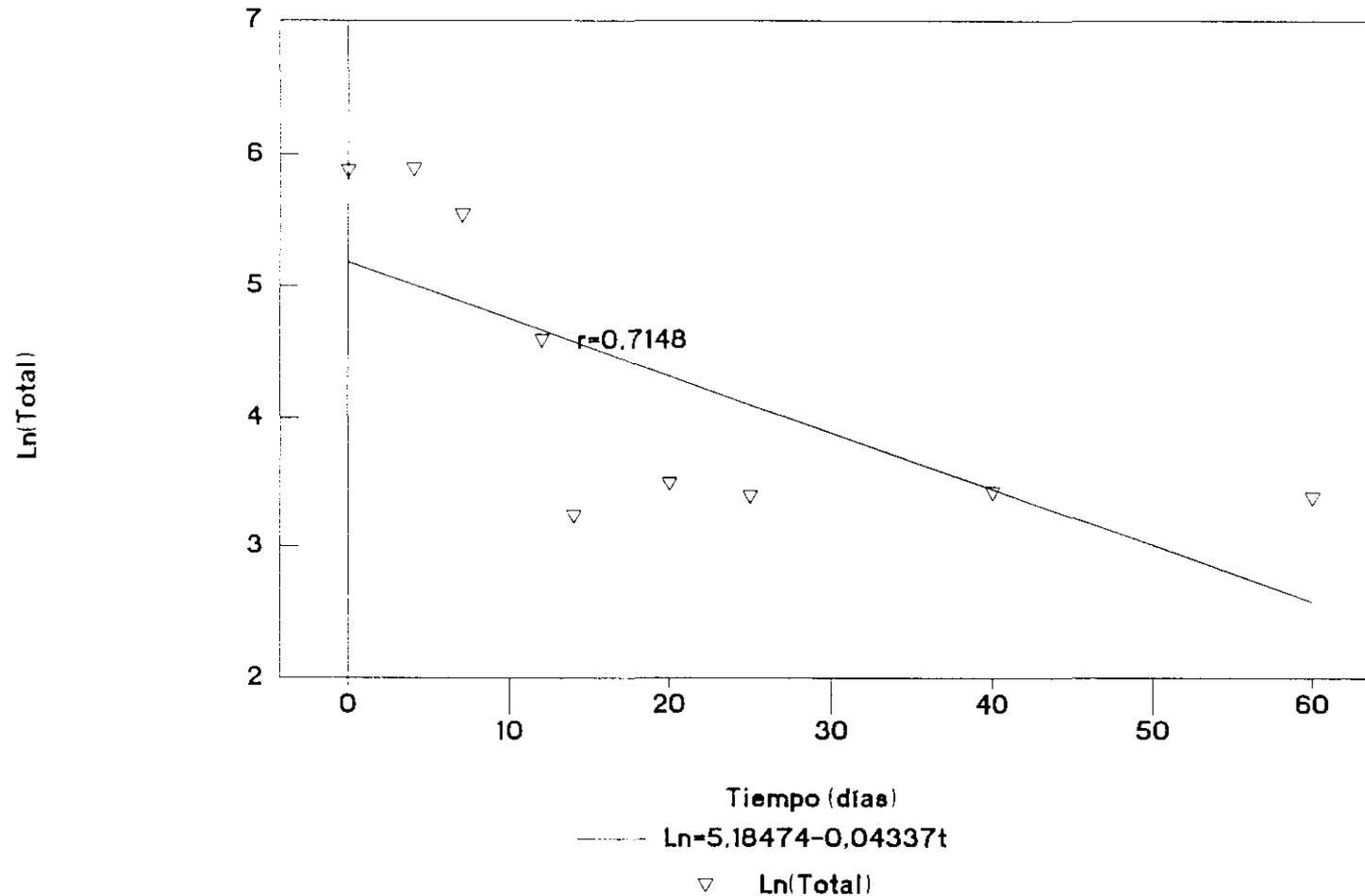
LOTE 2 : Formulación 4 (24)



GRÁFICA nº59.- Análisis de regresión lineal. Nitrito + nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo : salchichas curadas con 250 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO + NITRATO)

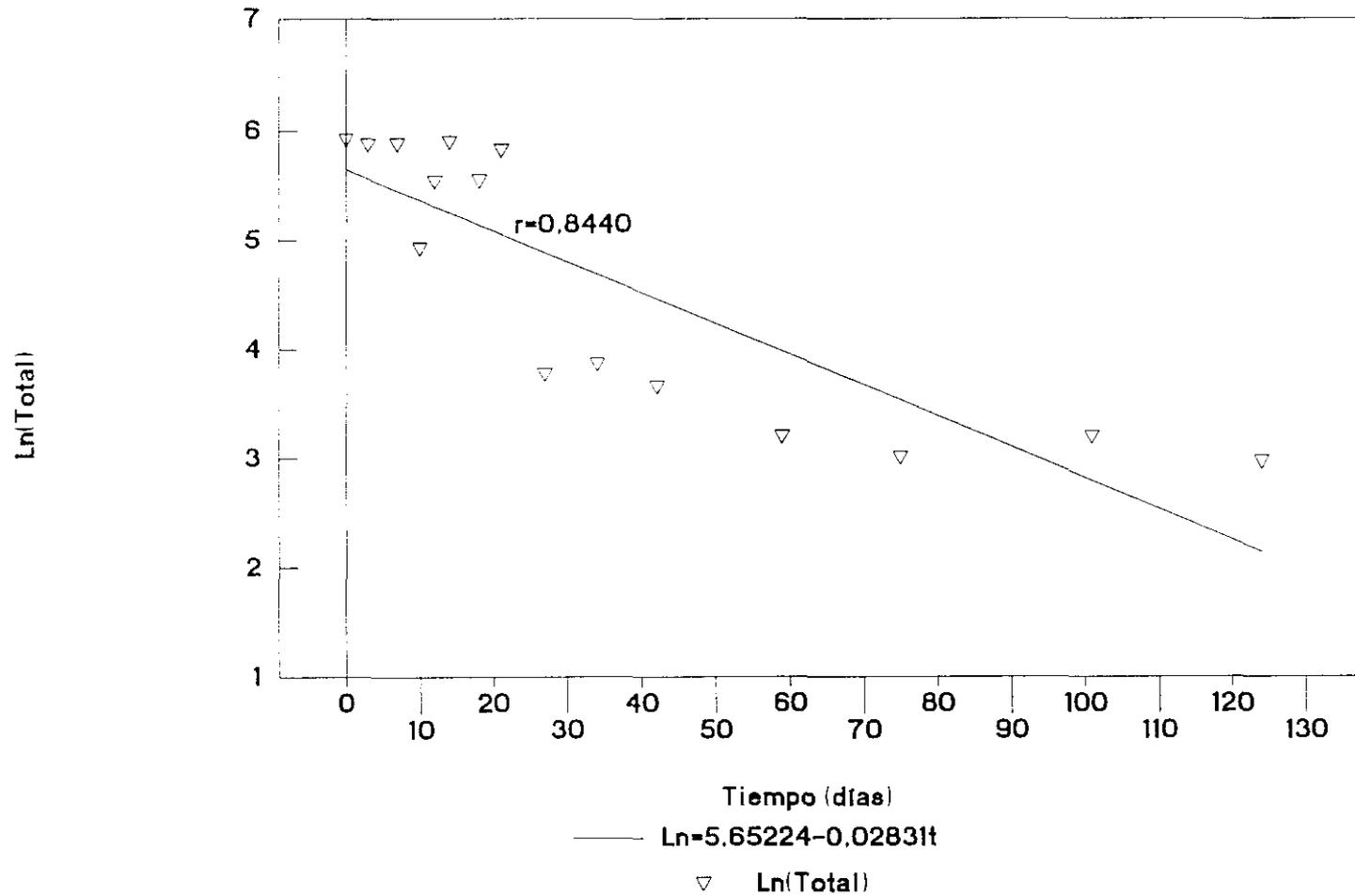
LOTE 3 : Formulación 4 (34)



GRÁFICA nº60.- Análisis de regresión lineal. Nitrito + nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo : salchichas curadas con 75 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRITO + NITRATO)

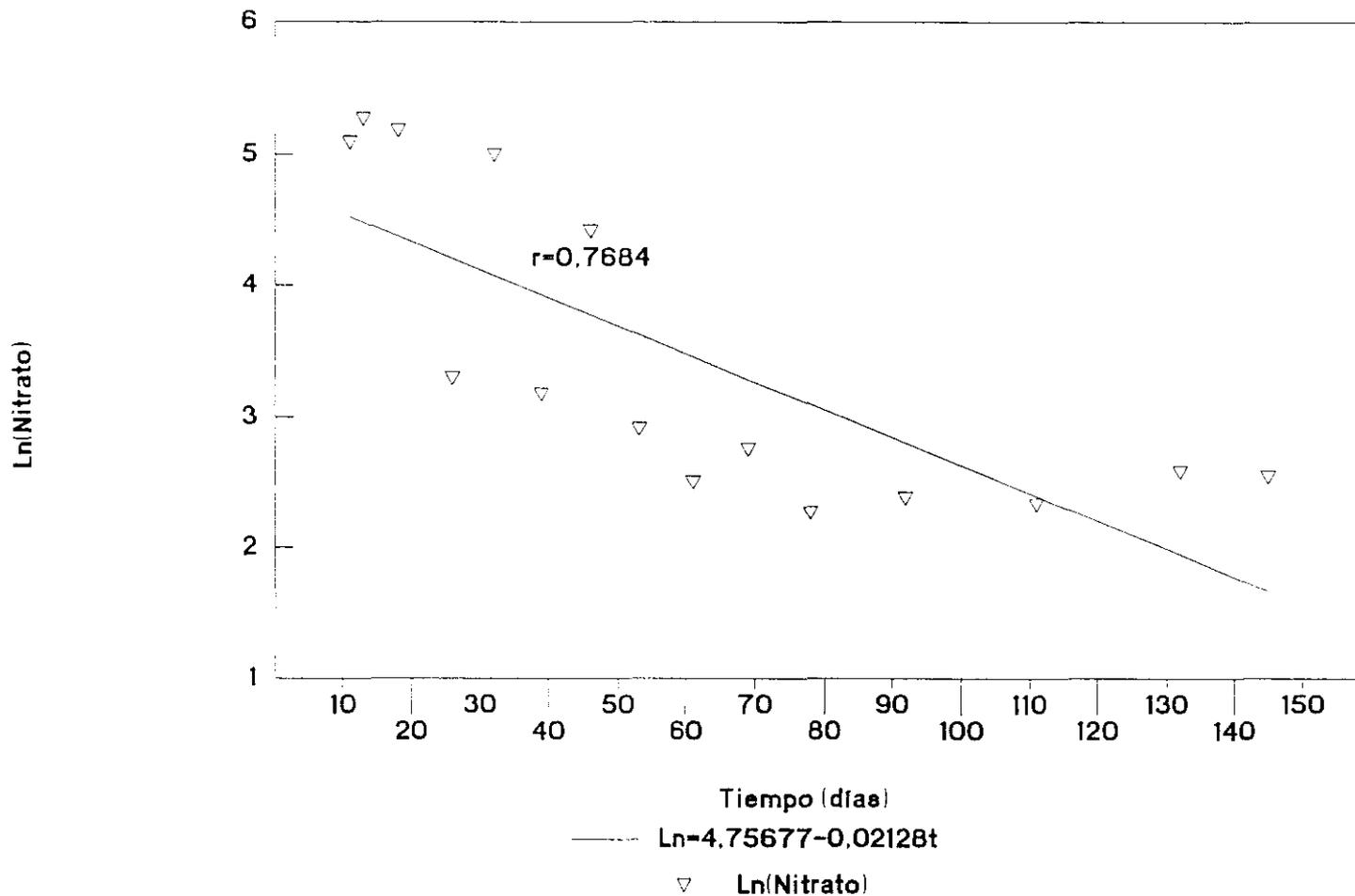
LOTE 4 : Formulación 4 (44)



GRÁFICA nº61.- Análisis de regresión lineal. Nitrito + nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo : salchichas curadas con 75 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

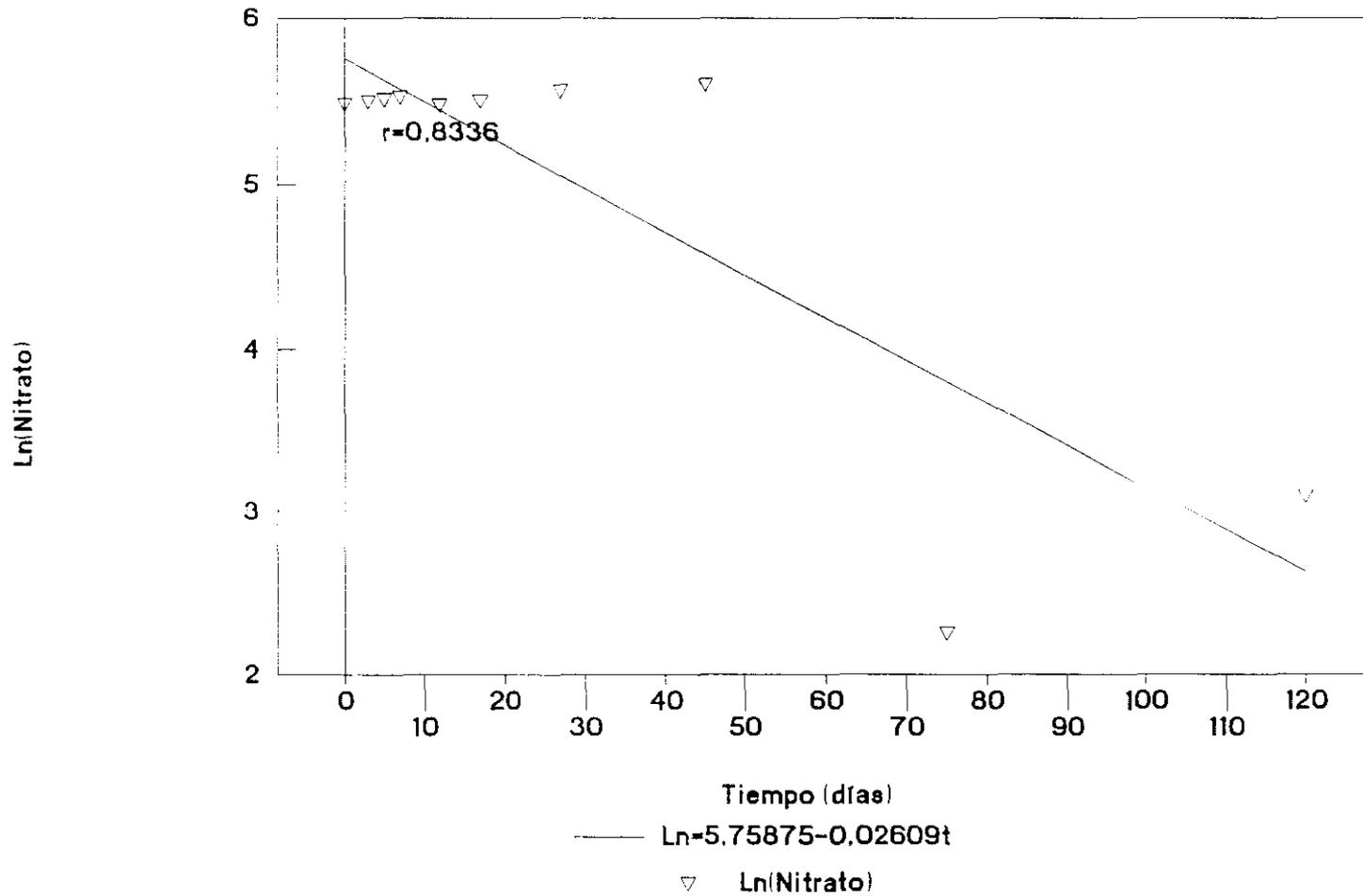
MARCA 4



GRÁFICA nº62.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en $NaNO_2$) en función del tiempo: Marca 4.

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

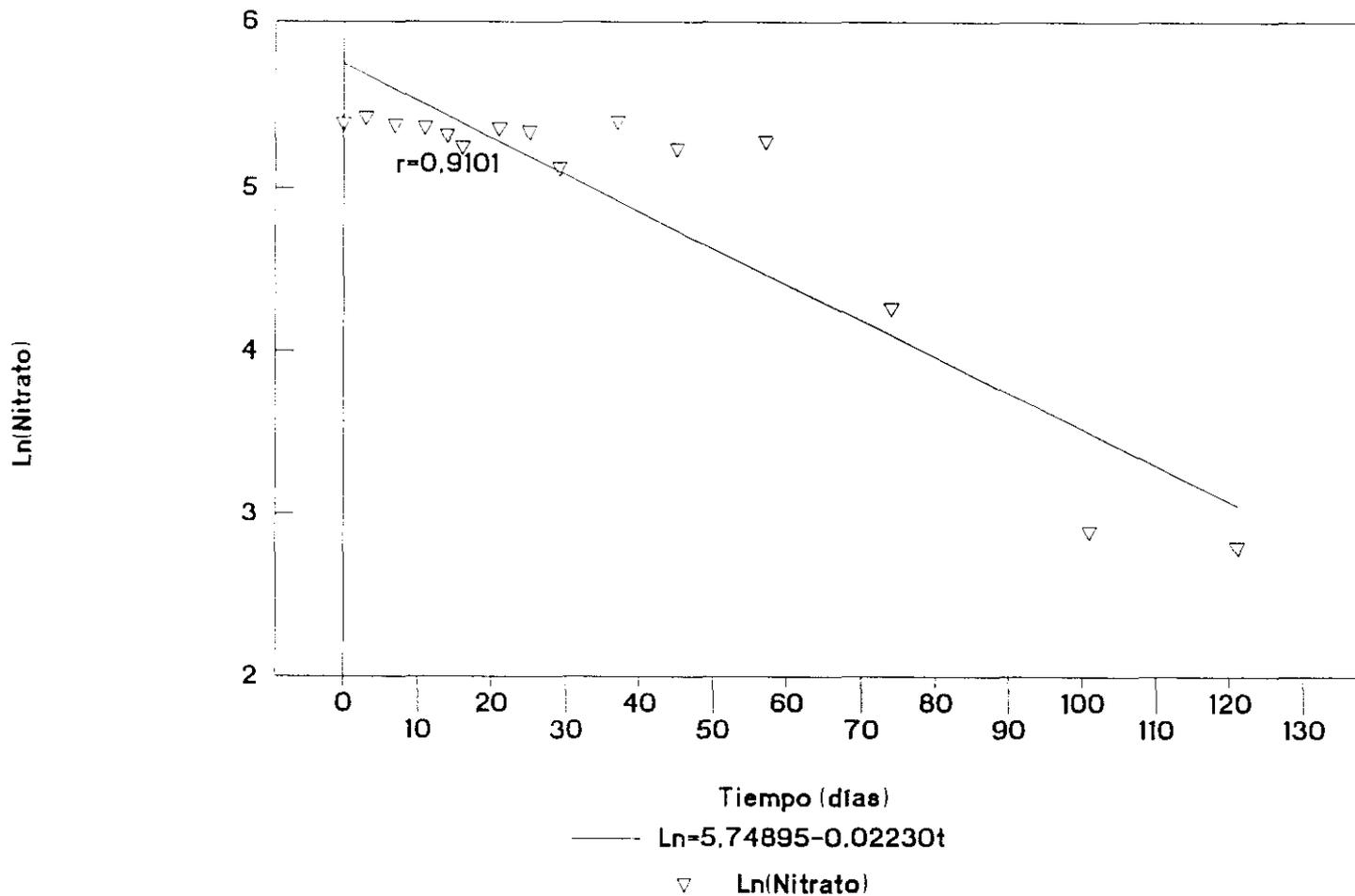
LOTE 1 : Formulación 4 (14)



GRÁFICA nº63.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en $NaNO_2$) en función del tiempo: salchichas curadas con 125 mg $NaNO_2$ /kg y 200 mg KNO_3 /kg.

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

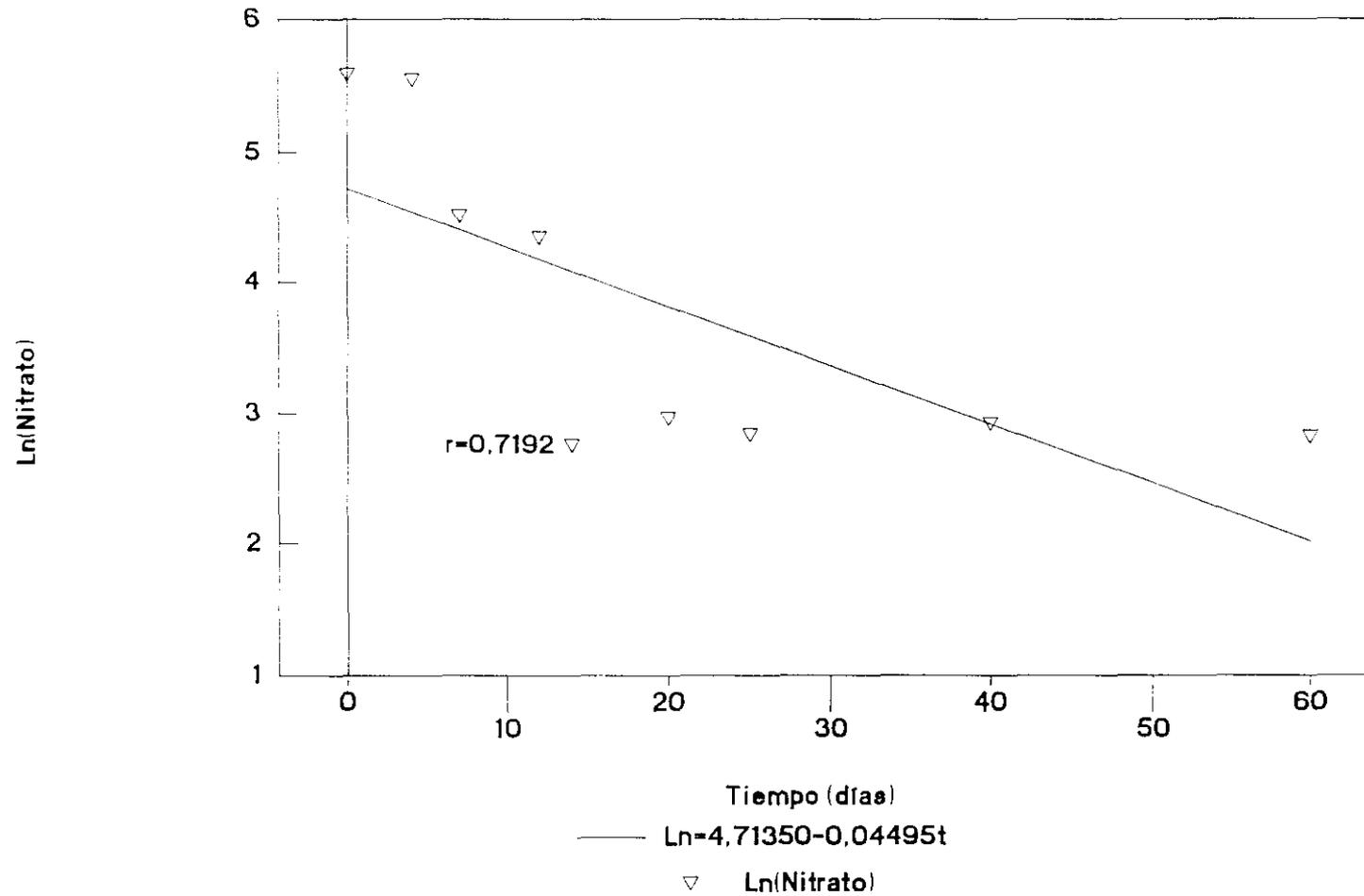
LOTE 2 : Formulación 4 (24)



GRÁFICA nº64.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo: salchichas curadas con 250 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

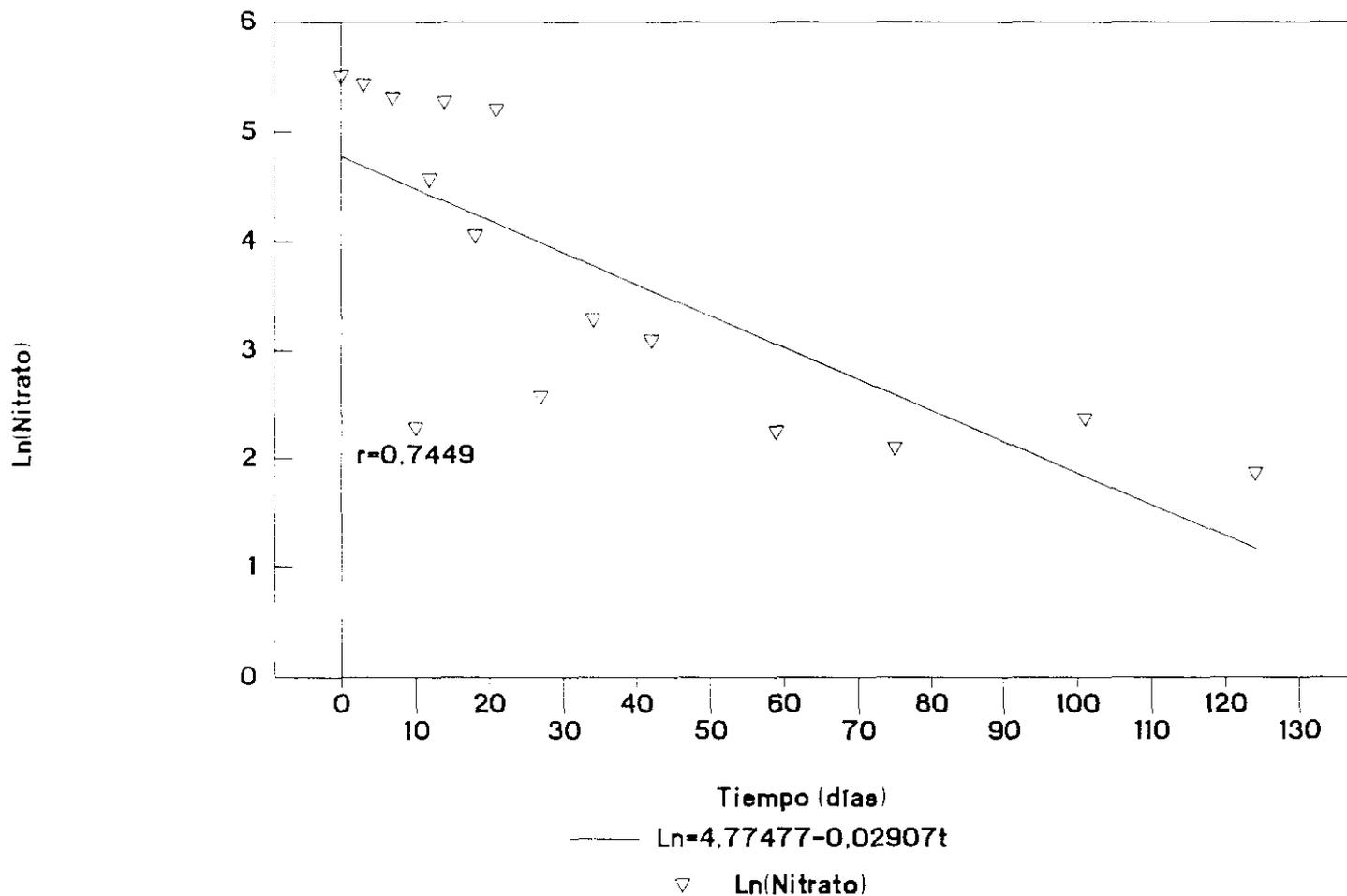
LOTE 3 : Formulación 4 (34)



GRÁFICA nº65.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo: salchichas curadas con 75 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

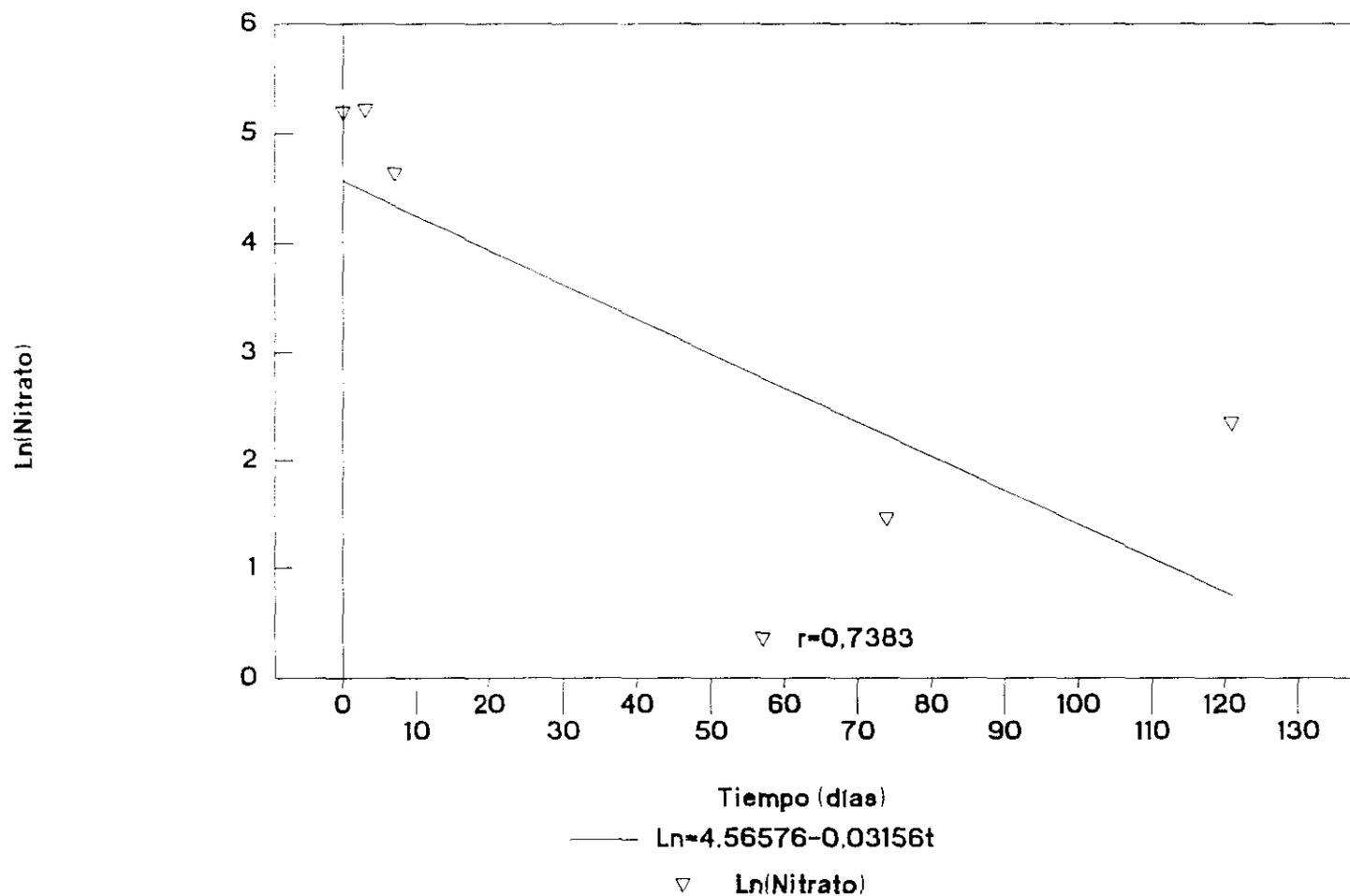
LOTE 4 : Formulación 4 (44)



GRÁFICA nº66.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en $NaNO_2$) en función del tiempo: salchichas curadas con 75 mg $NaNO_2/kg$ y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

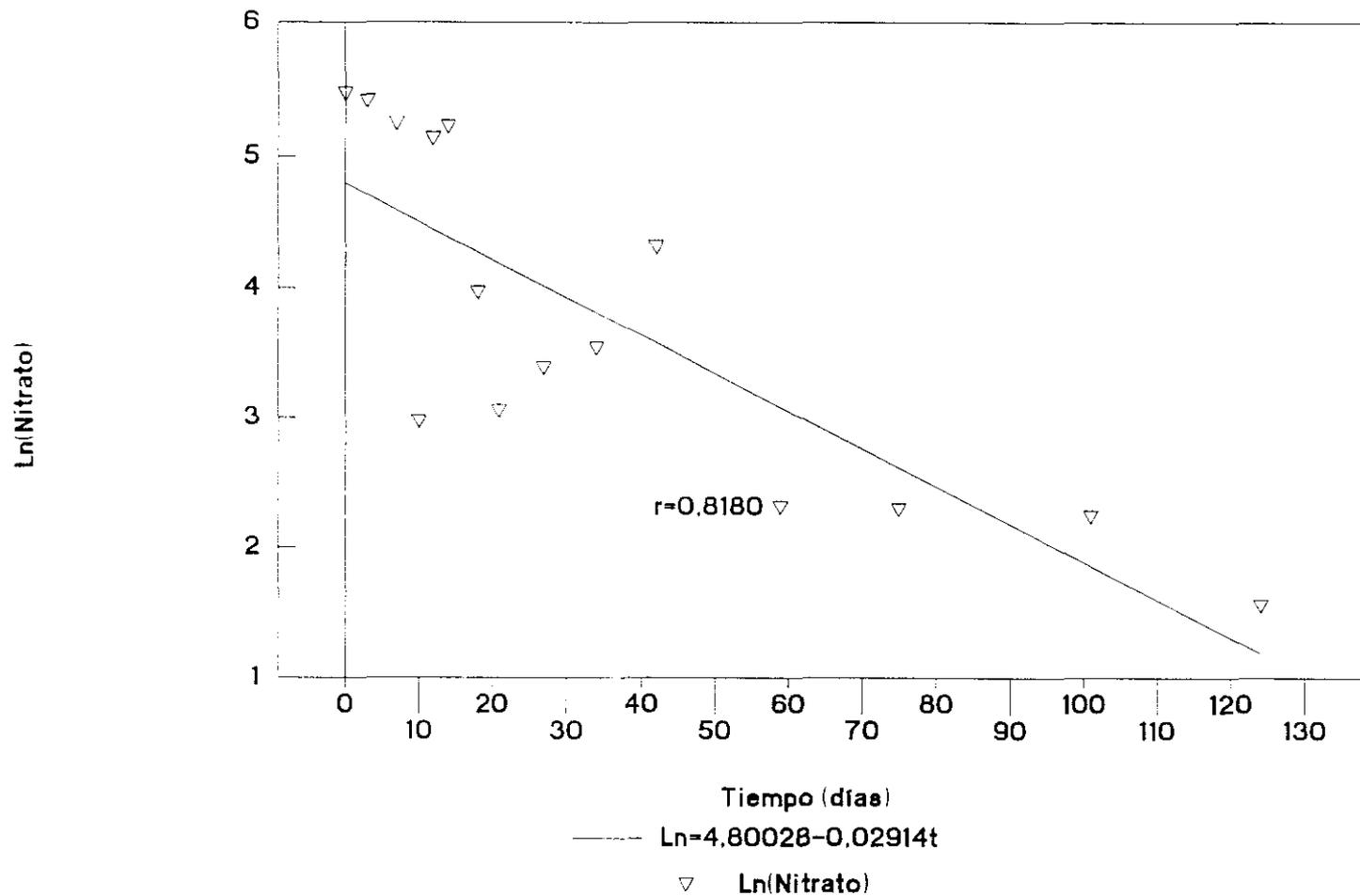
LOTE 2 : Formulación 3 (23)



GRÁFICA nº67.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en NaNO_2) en función del tiempo: salchichas curadas con 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

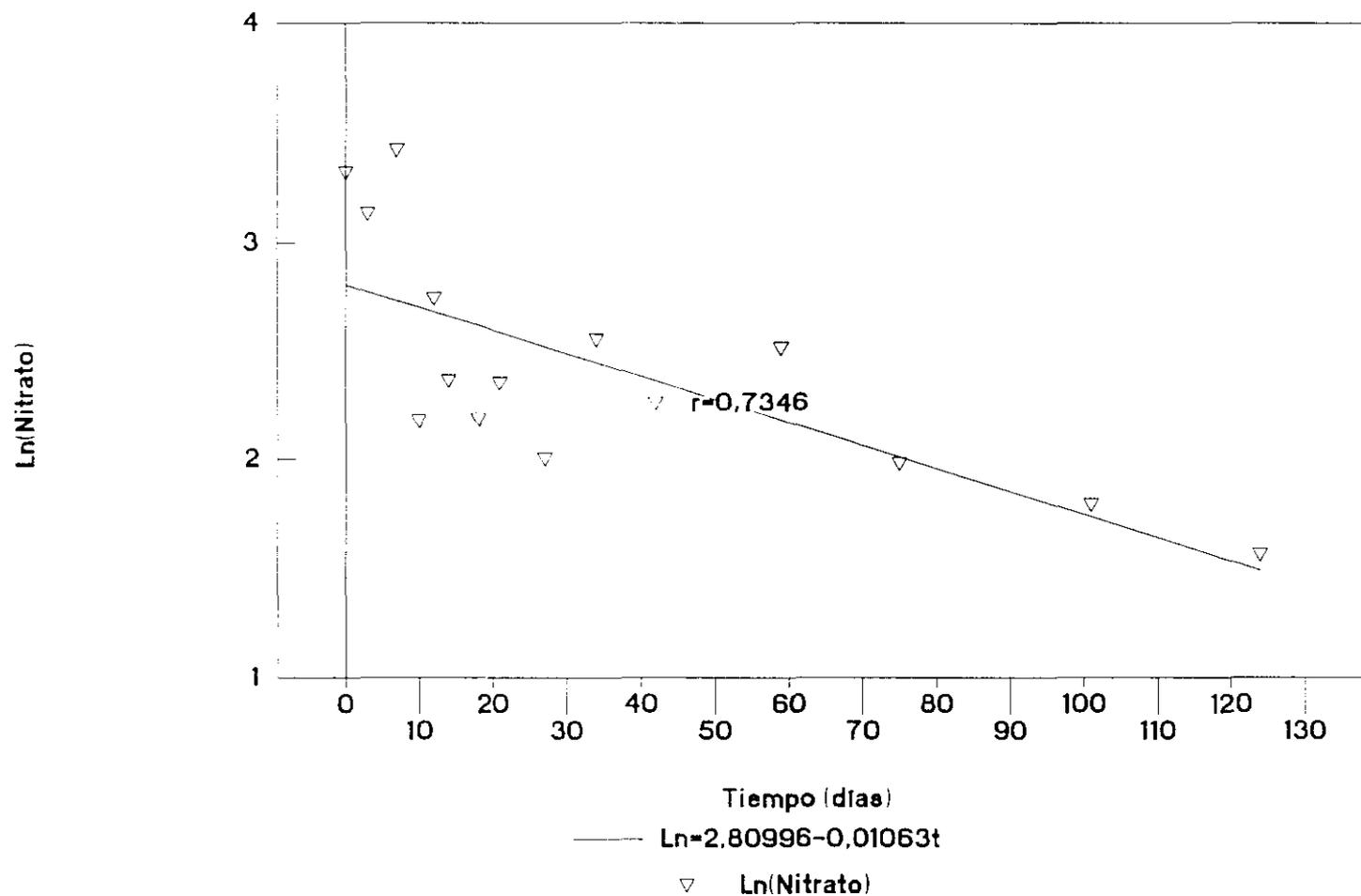
LOTE 4 : Formulación 3 (43)



GRÁFICA nº68.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en $NaNO_2$) en función del tiempo: salchichas curadas con 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION (NITRATO POTASICO)

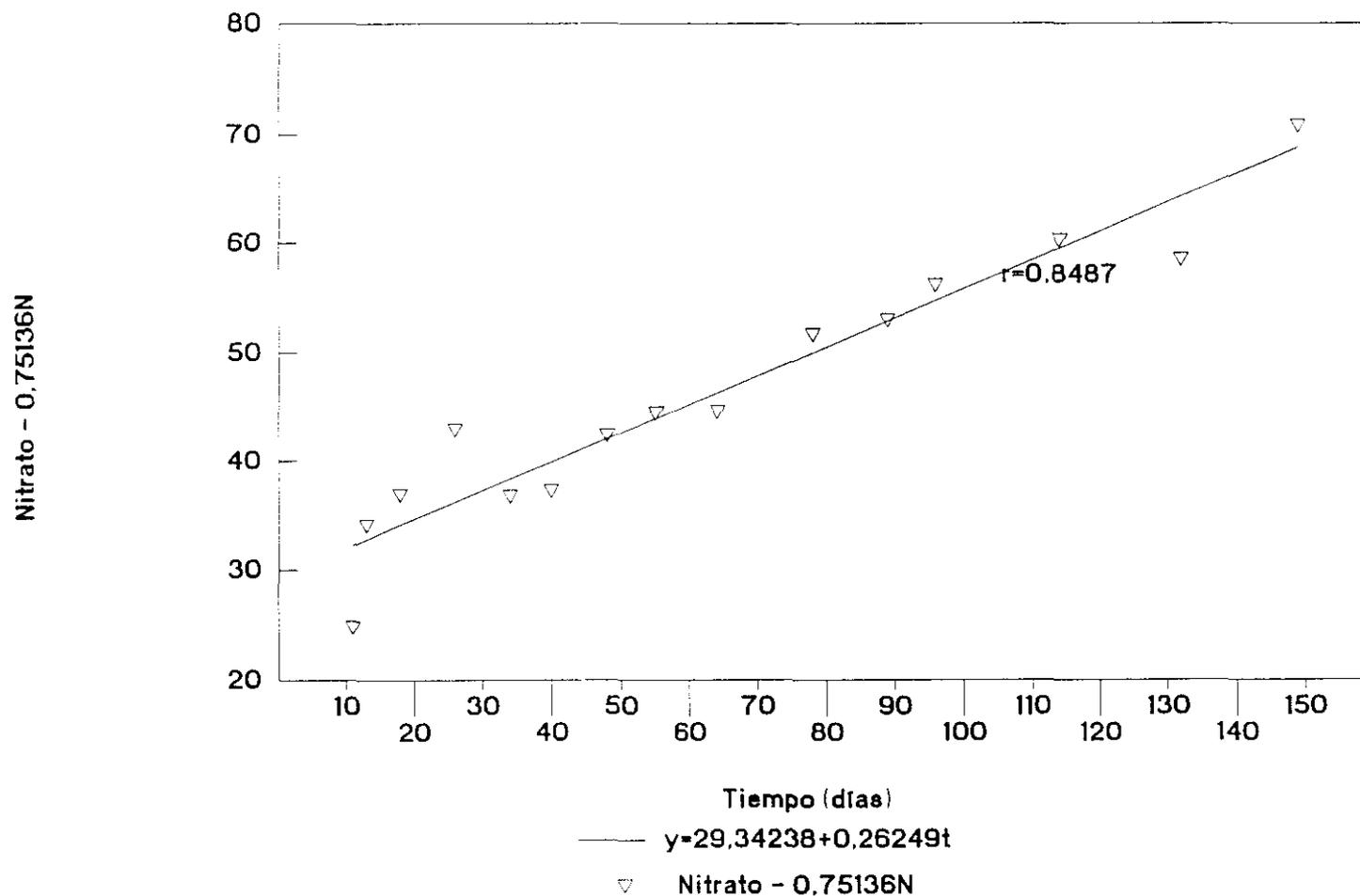
LOTE 4 : Formulación 1 (41)



GRÁFICA nº69.- Análisis de regresión lineal. Nitrato (expresado en $NaNO_2$) en función del tiempo: salchichas curadas con 75 mg $NaNO_2$ /kg.

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

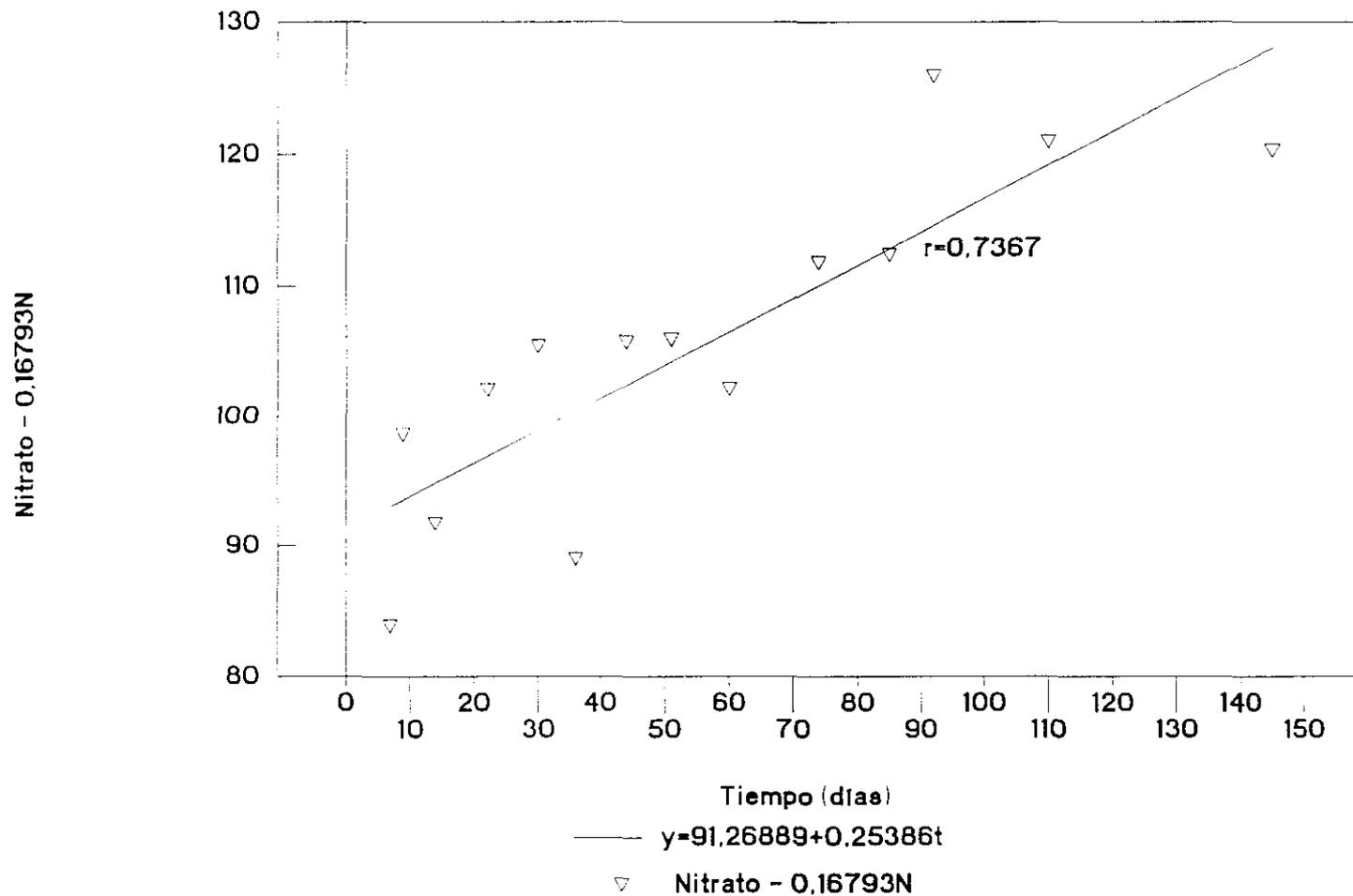
MARCA 1



GRÁFICA nº70.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: Marca 1.

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

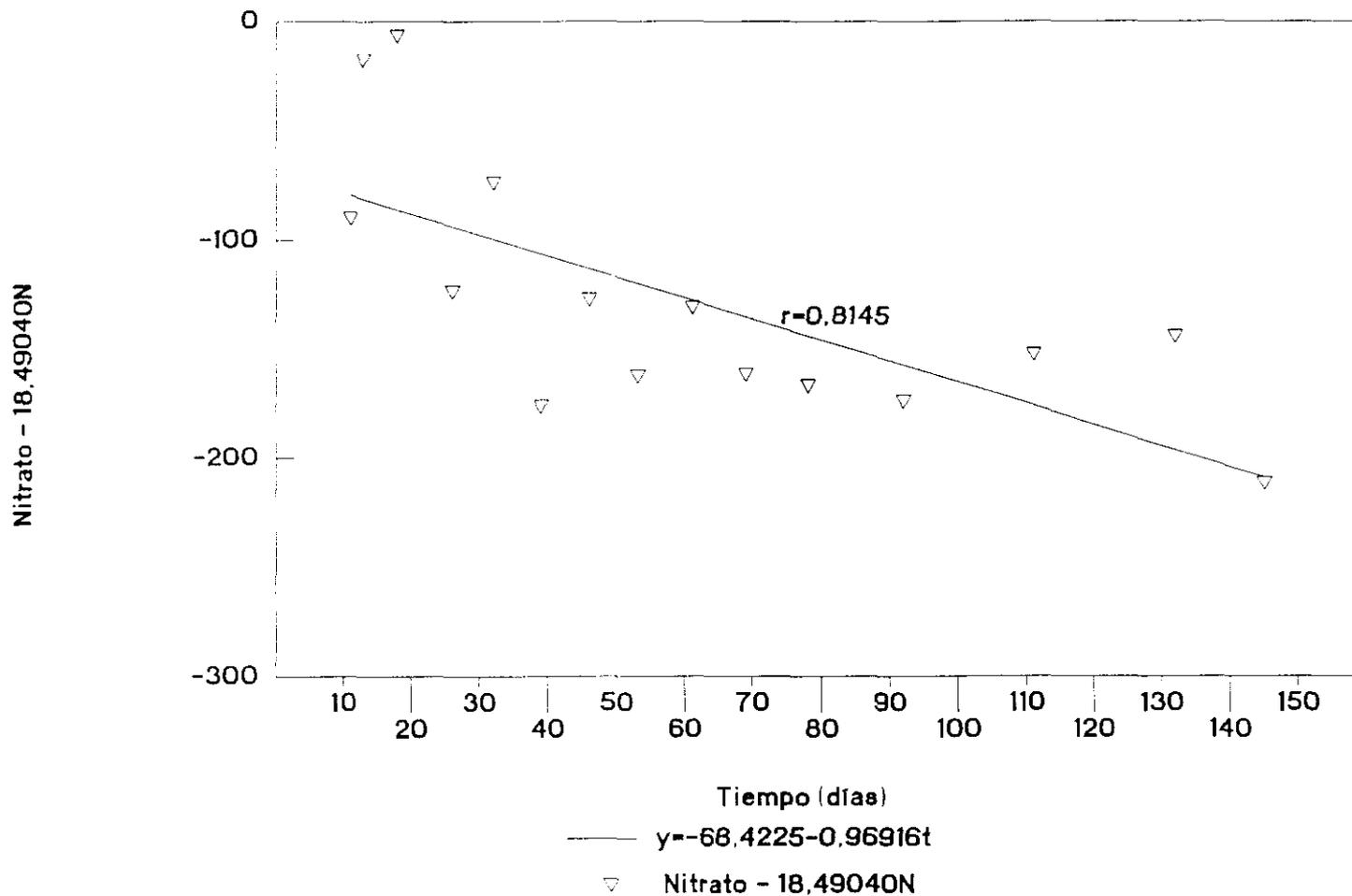
MARCA 2



GRÁFICA nº71.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: Marca 2.

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

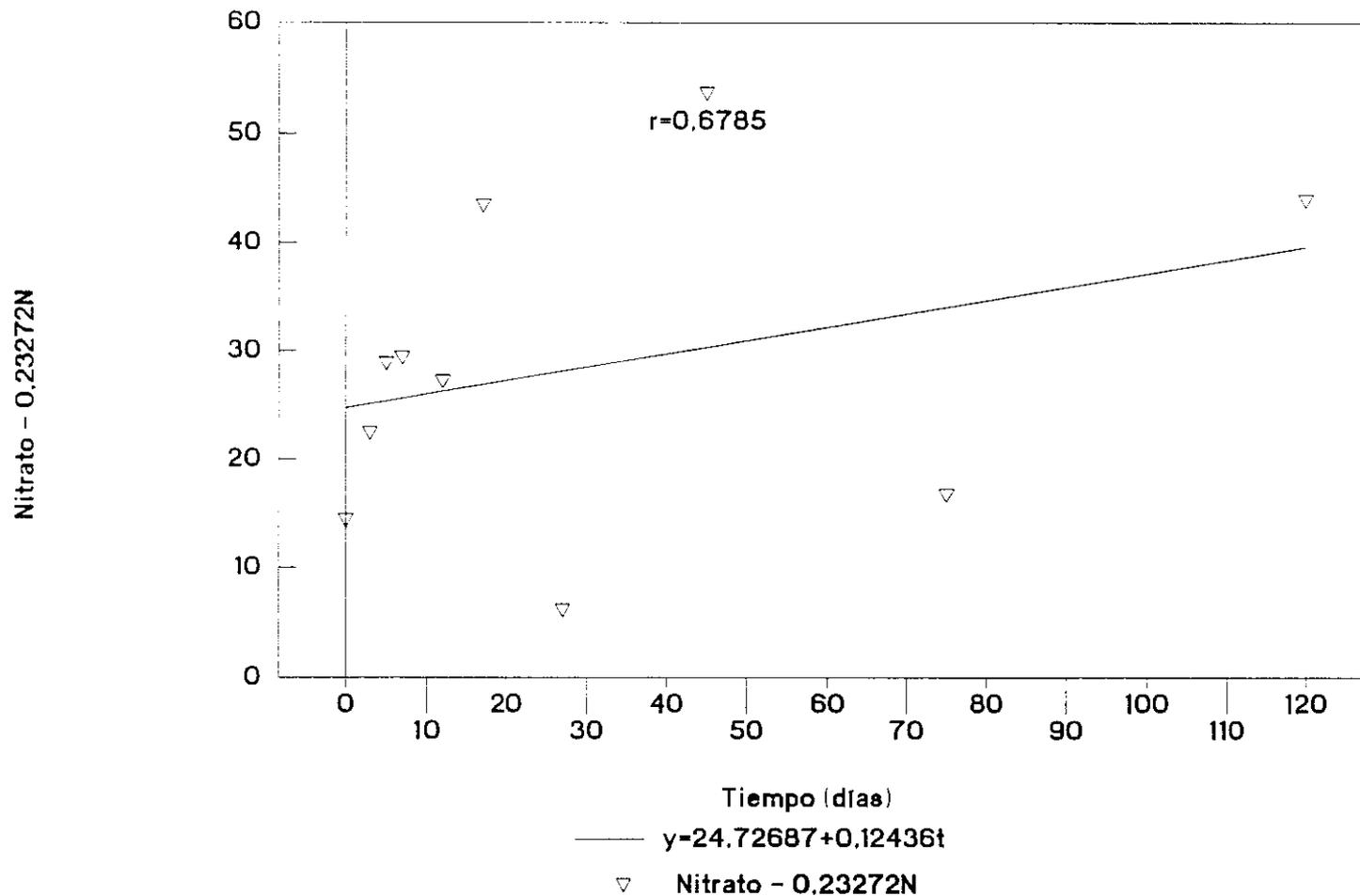
MARCA 4



GRÁFICA nº72.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: Marca 4.

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

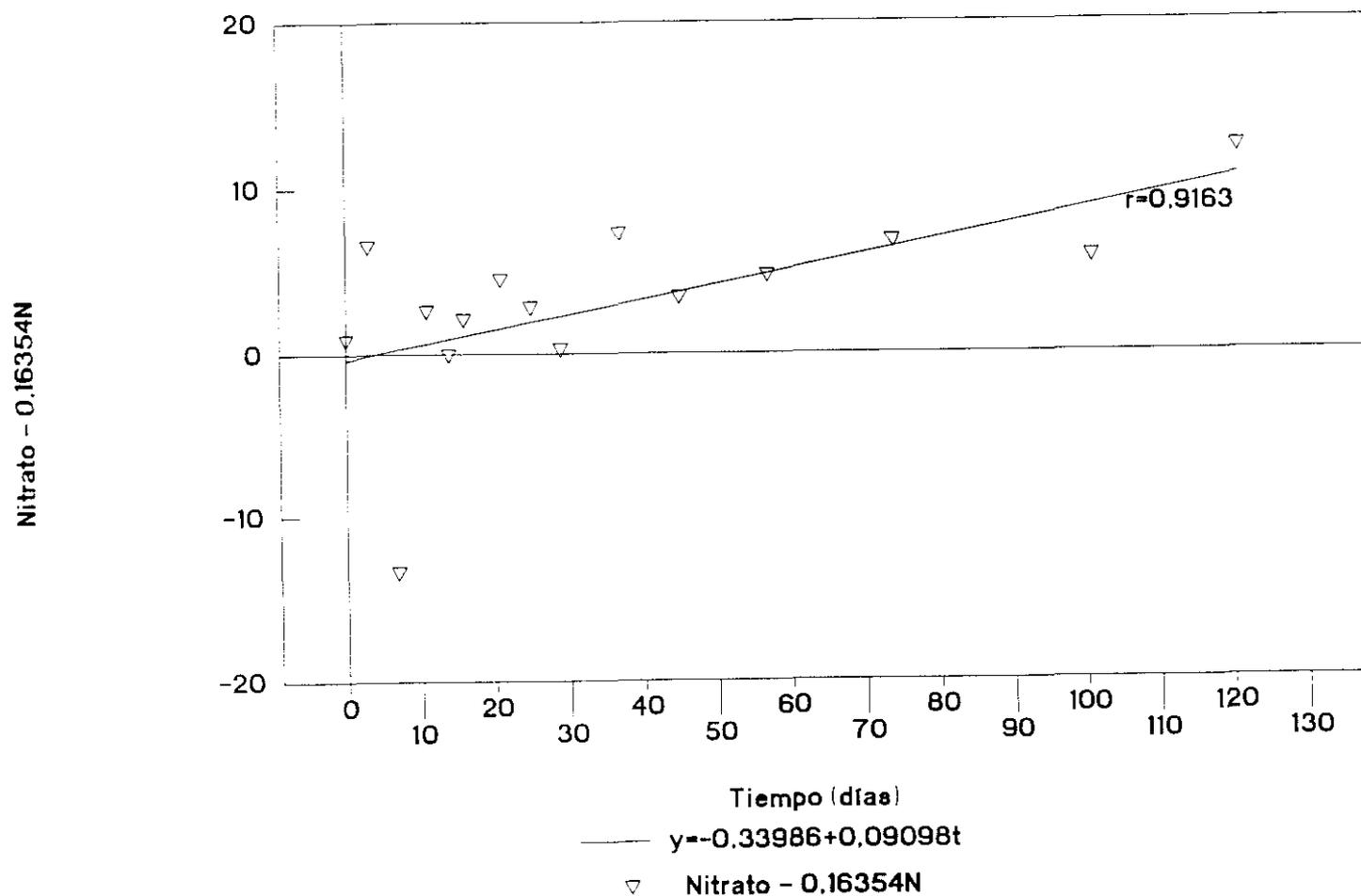
LOTE 1 : Formulación 2 (12)



GRÁFICA nº73.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 125 mg NaNO₂/kg.

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

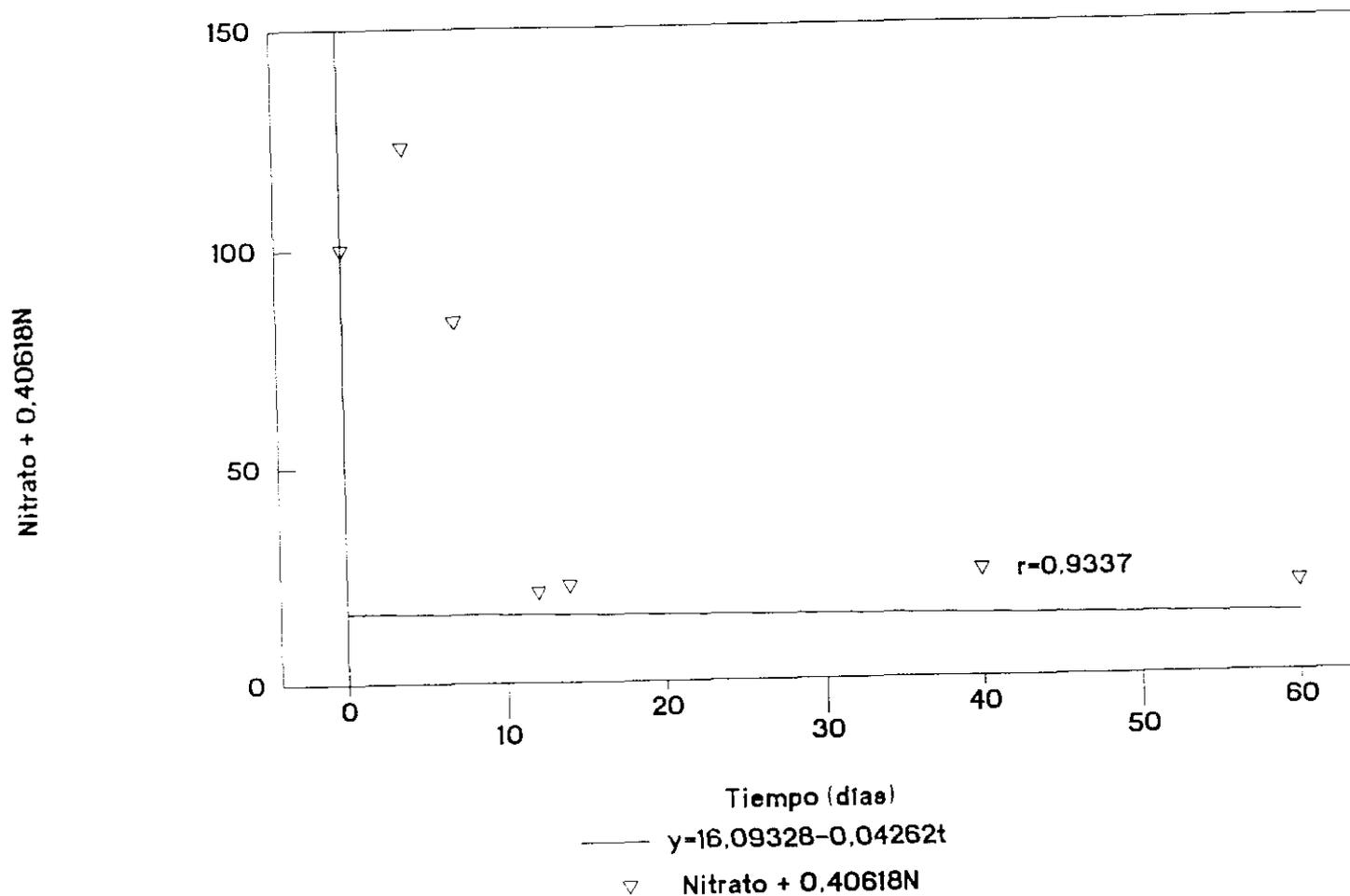
LOTE 2 : Formulación 2 (22)



GRÁFICA nº74.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 250 mg NaNO₂/kg.

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

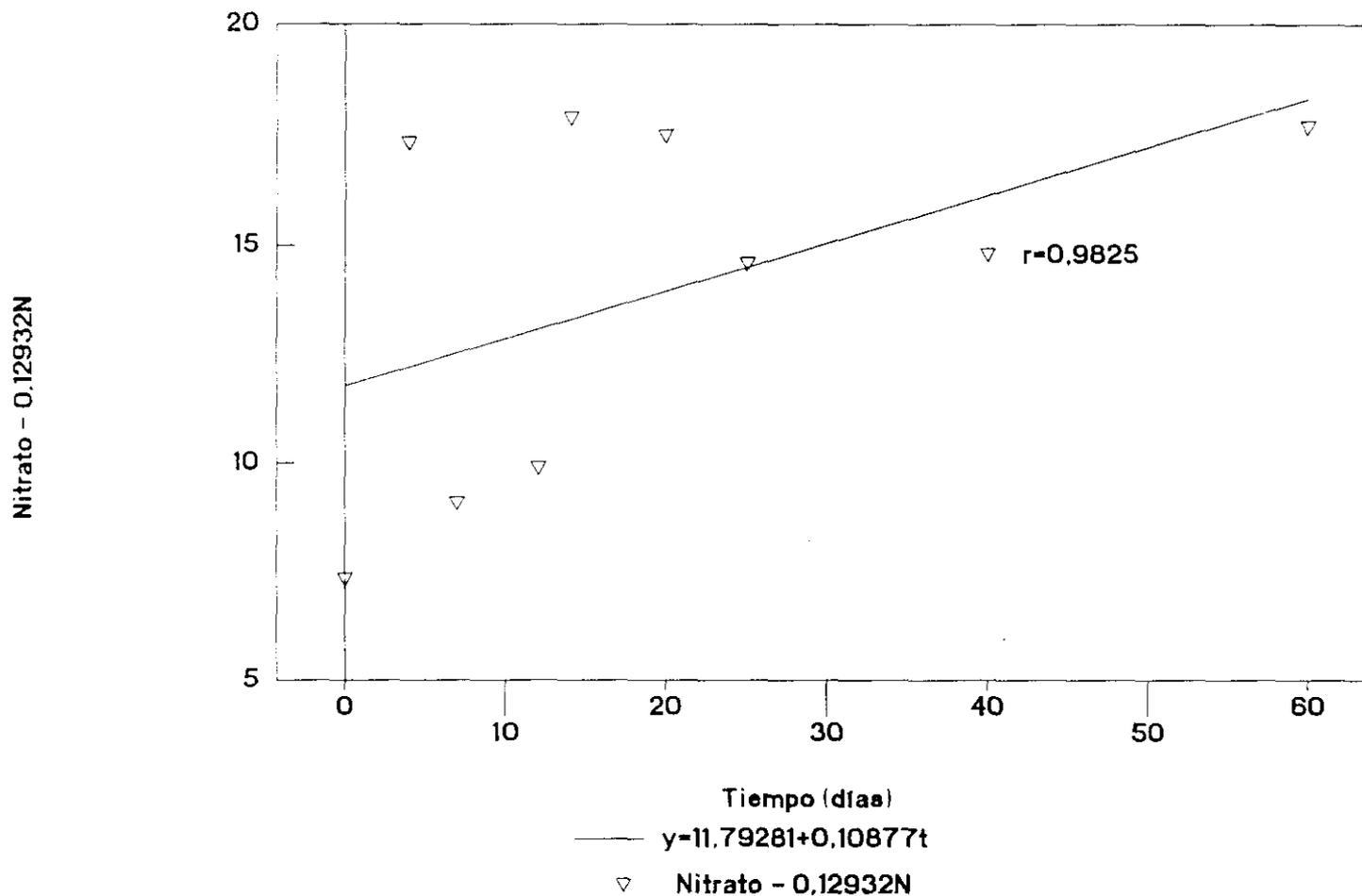
LOTE 3 : Formulación 1 (31)



GRÁFICA nº75.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 75 mg NaNO_2/kg .

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

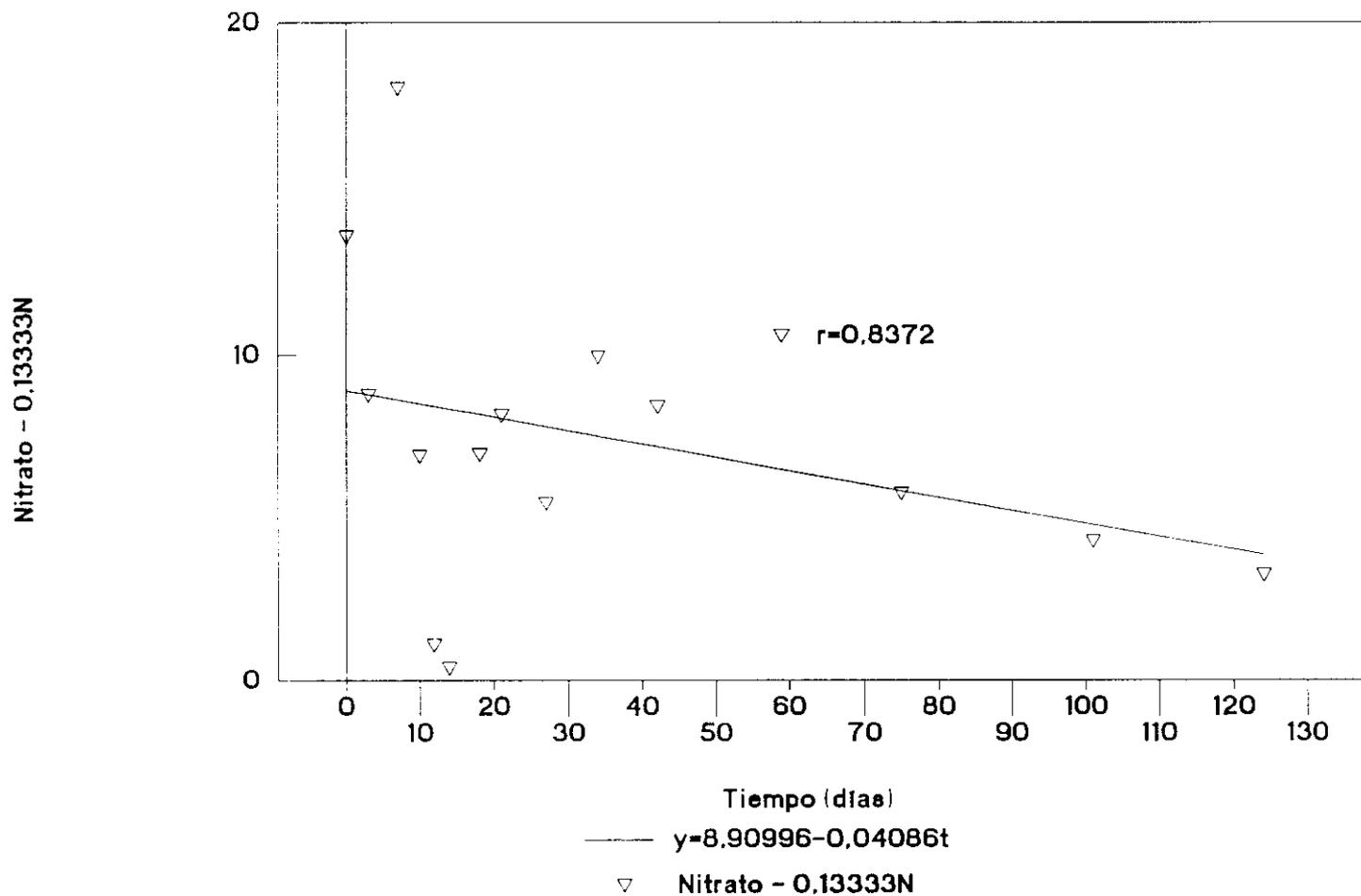
LOTE 3 : Formulación 2 (32)



GRÁFICA nº76.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 250 mg NaNO_2/kg .

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

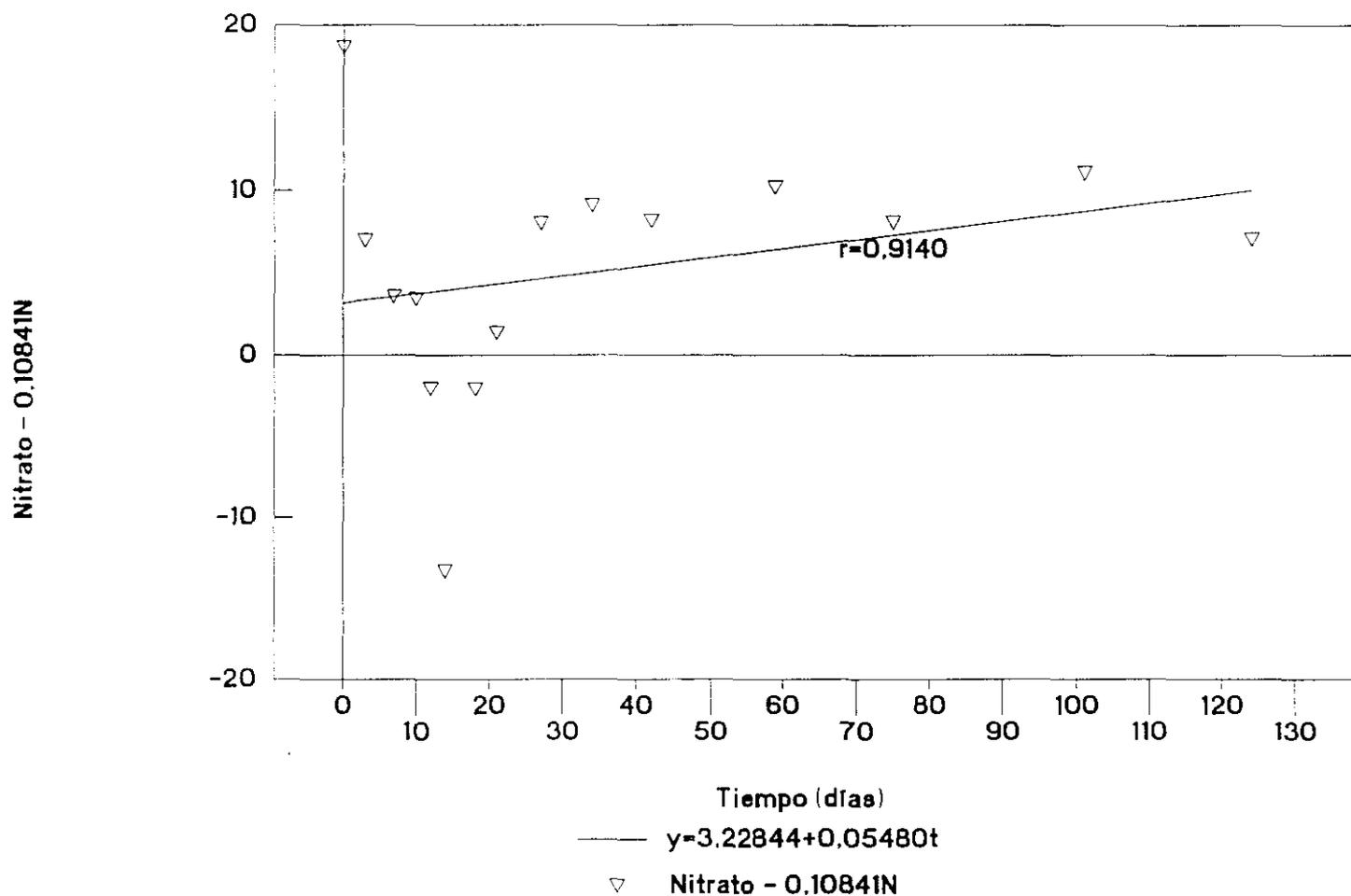
LOTE 4 : Formulación 1 (41)



GRÁFICA nº77.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 75 mg NaNO₂/kg.

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

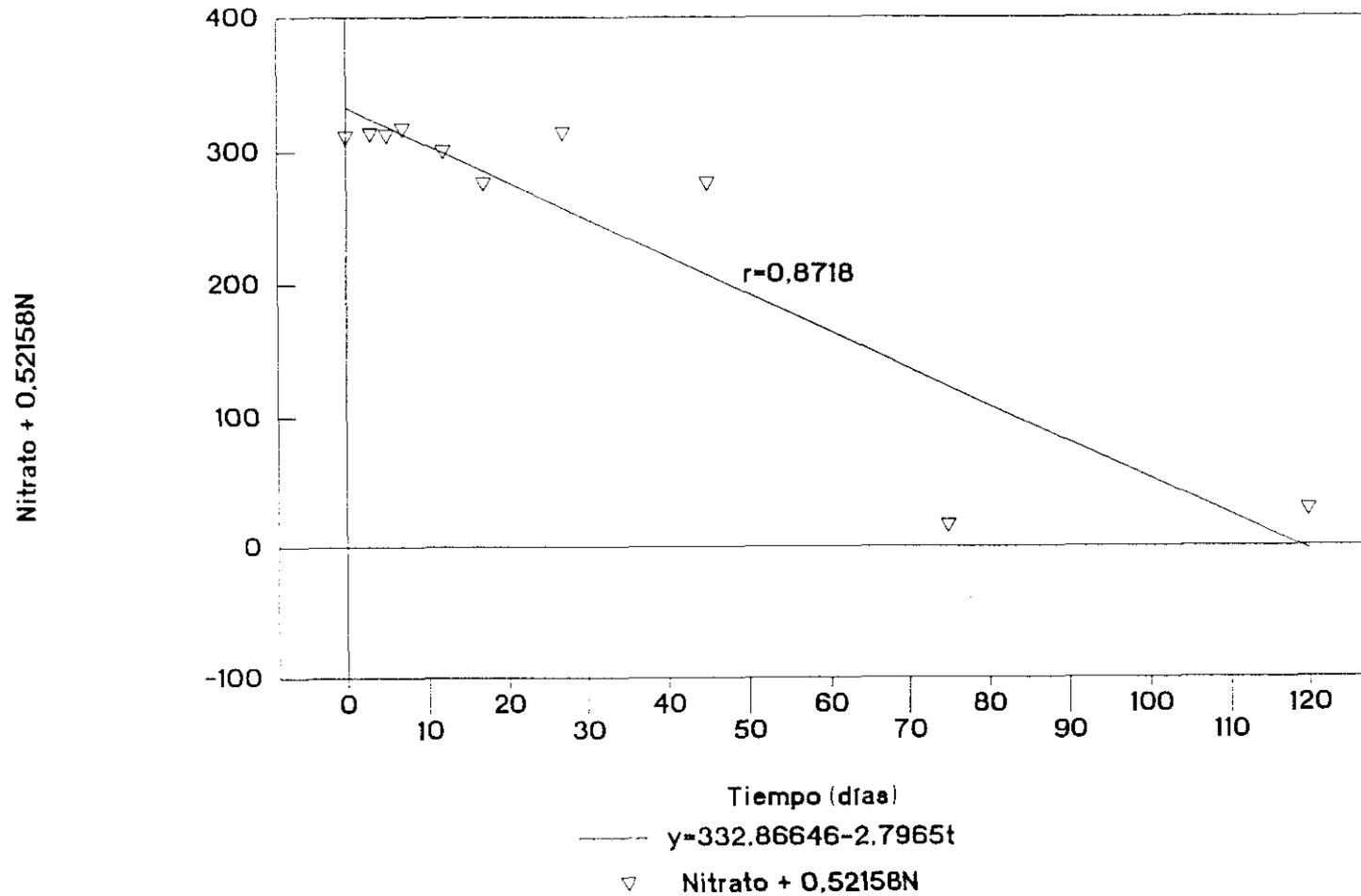
LOTE 4 : Formulación 2 (42)



GRÁFICA nº78.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 250 mg NaNO₂/kg.

RECTA DE REGRESIÓN : NITRATO(nitrito,t)

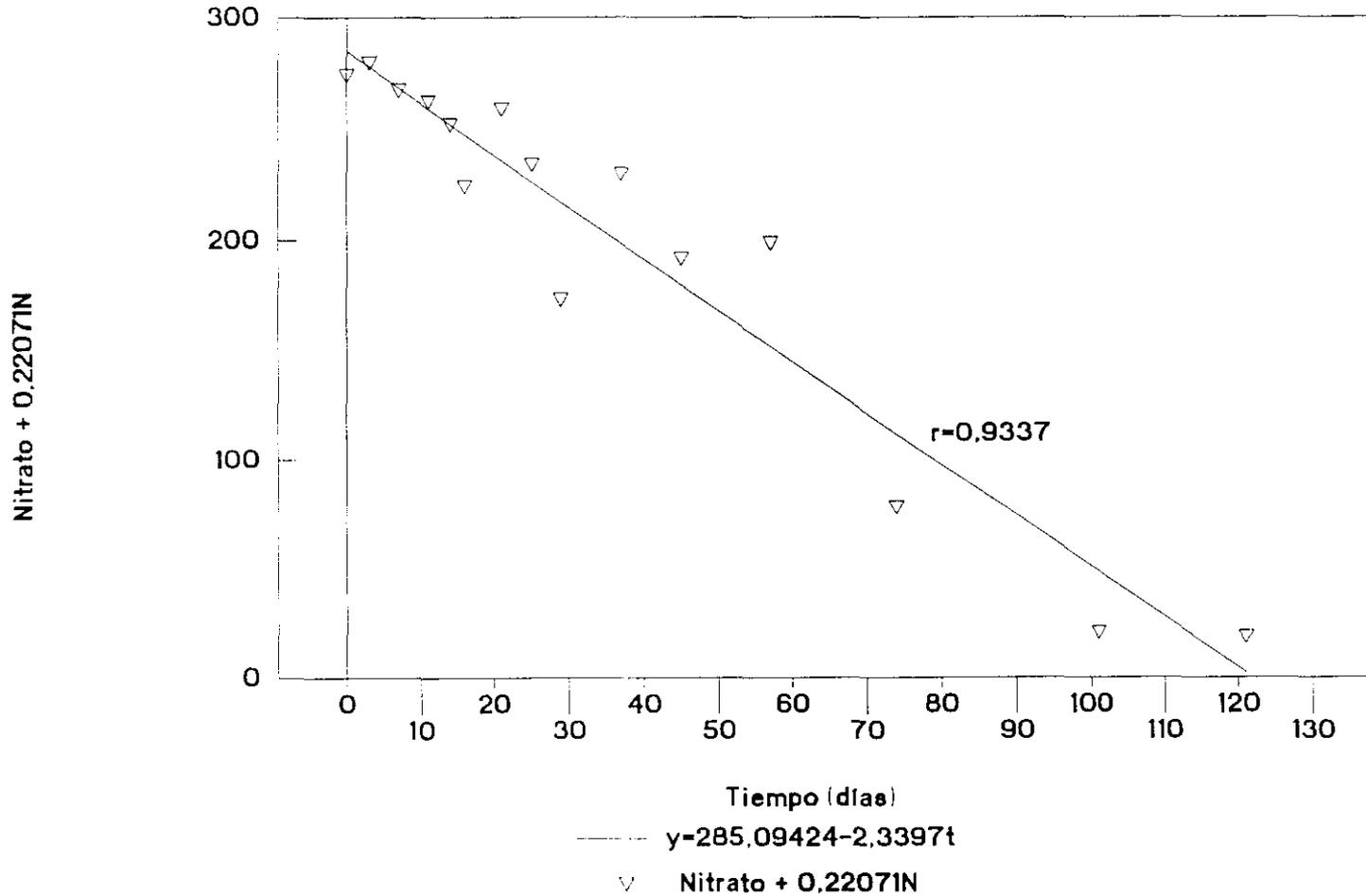
LOTE 1 : Formulación 4 (14)



GRÁFICA nº79.- Análisis de regresión lineal. Nitrato en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 125 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

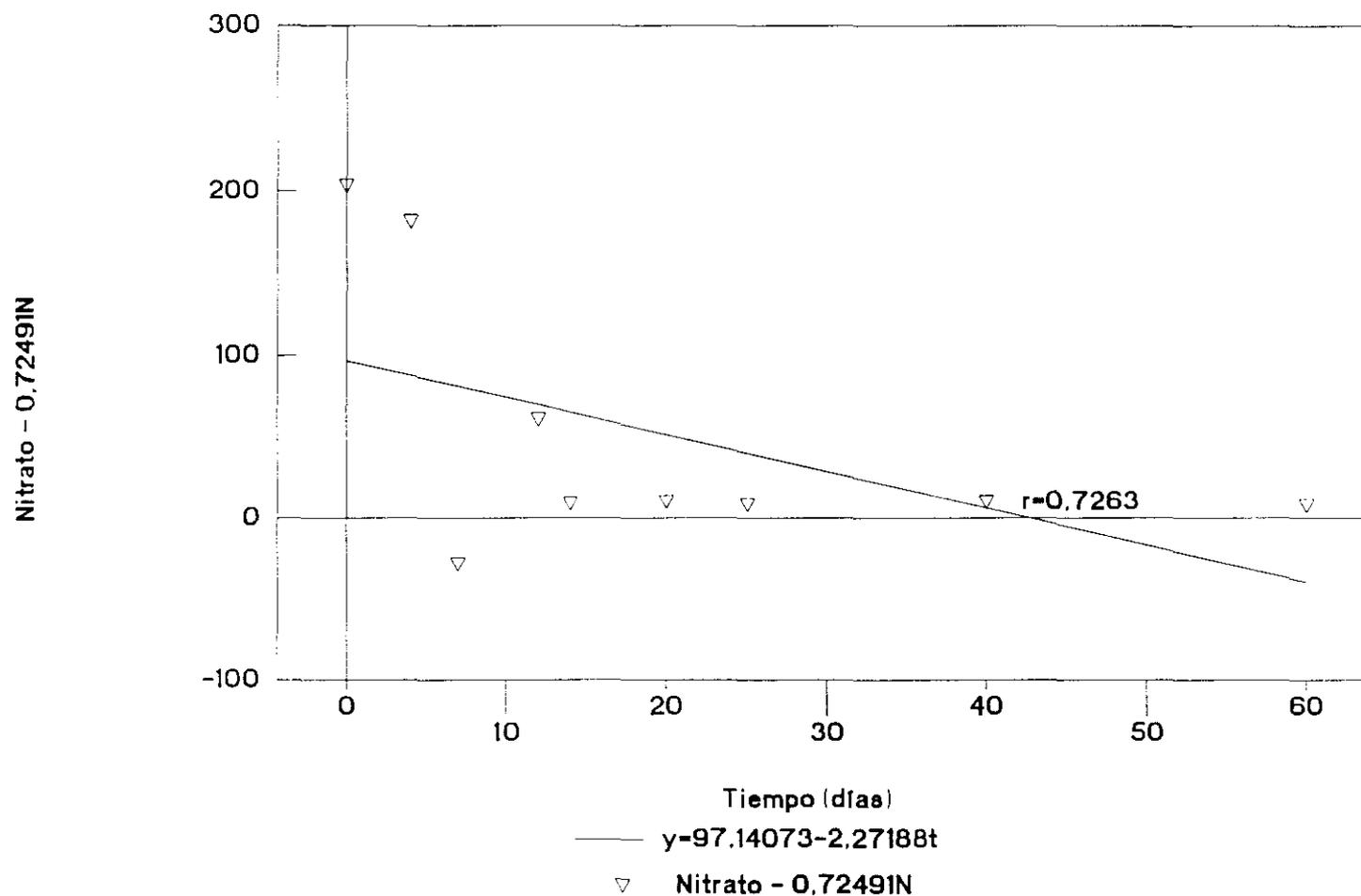
LOTE 2 : Formulación 4 (24)



GRÁFICA nº80.- Análisis de regresión lineal. Nitrato en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 250 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

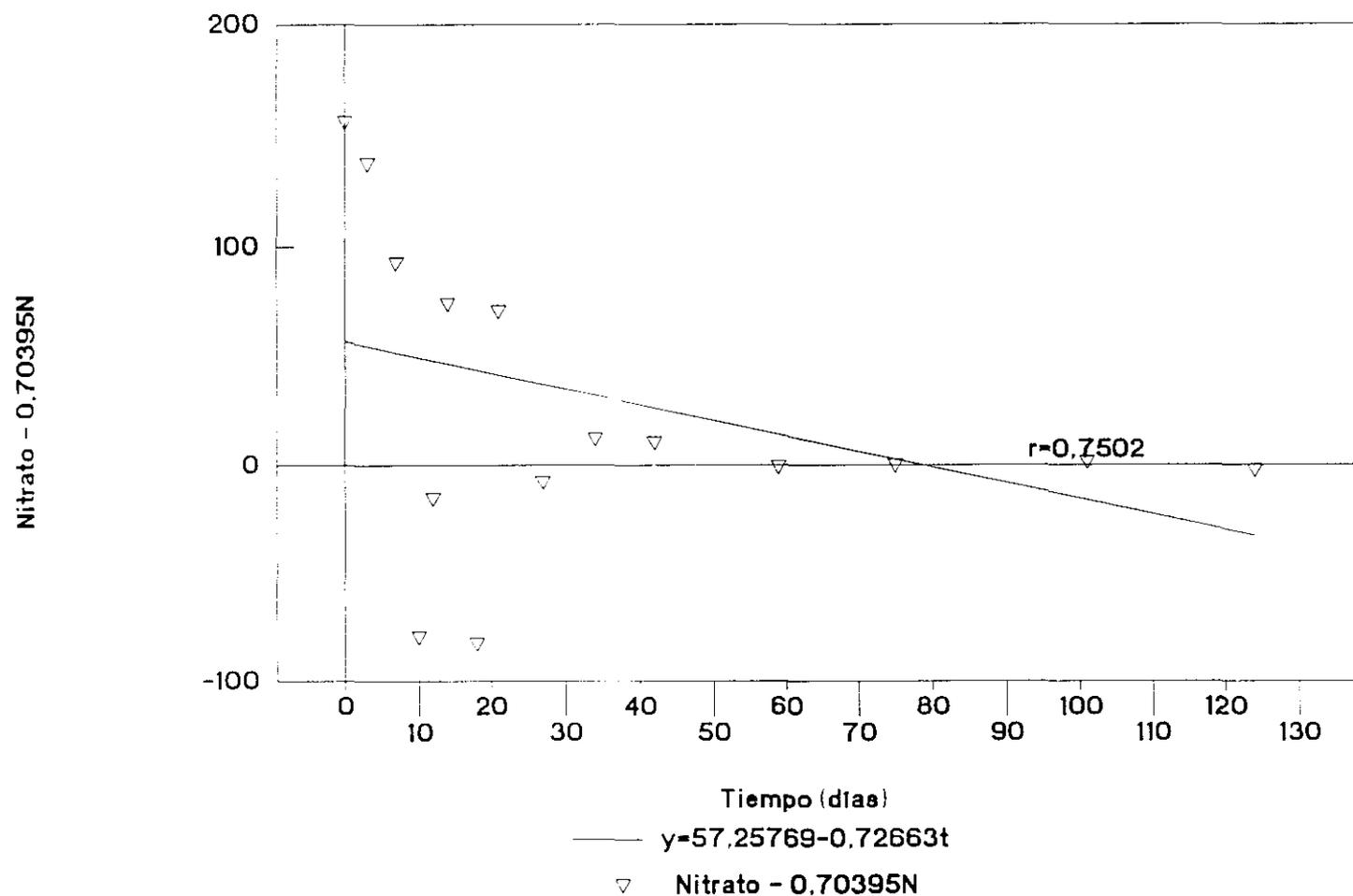
LOTE 3 : Formulación 4 (34)



GRÁFICA nº81.- Análisis de regresión lineal. Nitrato en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 75 mg NaNO_2/kg y 200 mg KNO_3/kg .

RECTA DE REGRESION : NITRATO(nitrito,t)

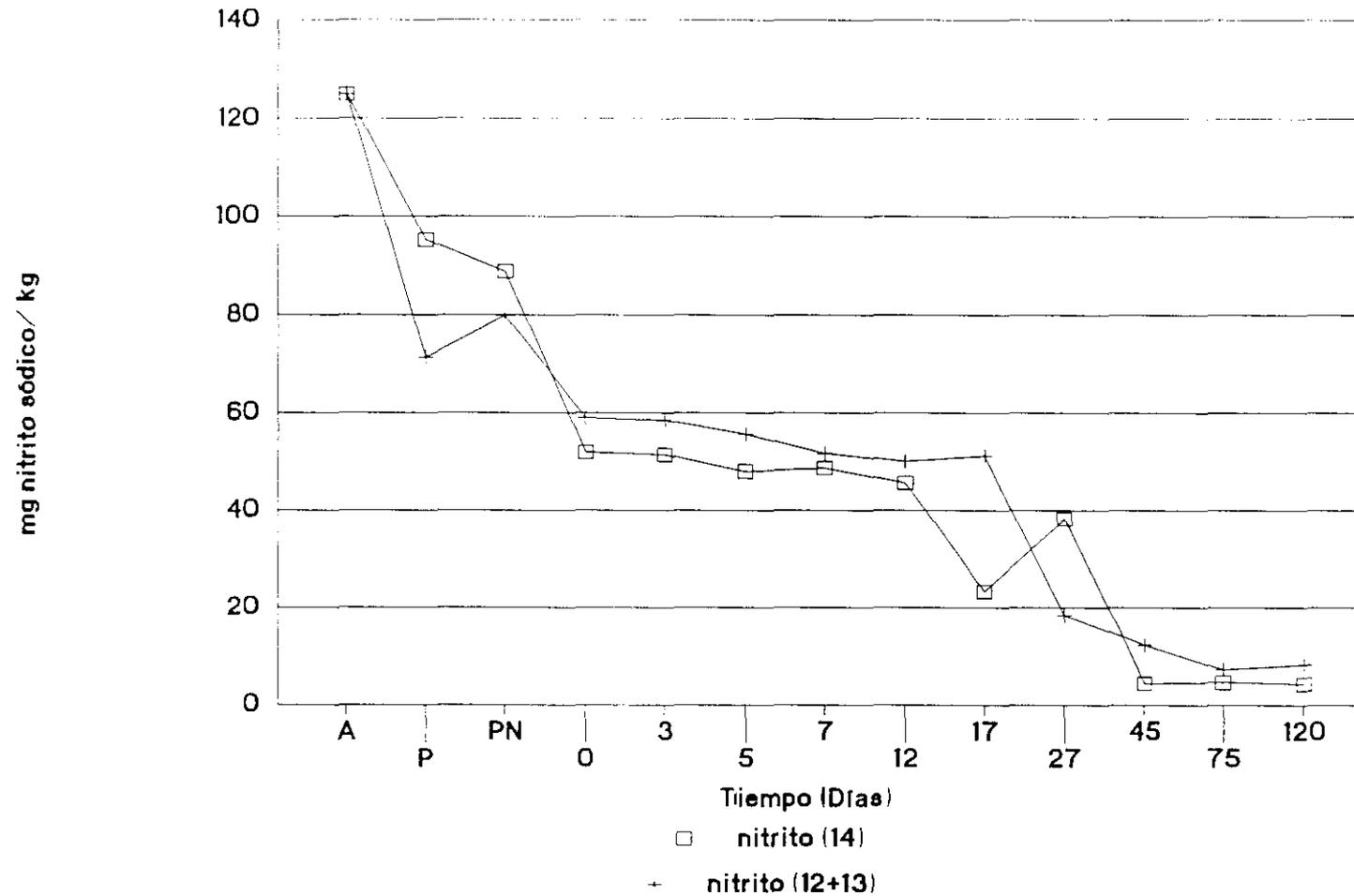
LOTE 4 : Formulación 4 (44)



GRÁFICA nº82.- Análisis de regresión lineal. Nitrito en función del nitrito y del tiempo: salchichas curadas con 75 mg NaNO₂/kg y 200 mg KNO₃/kg.

NITRITO

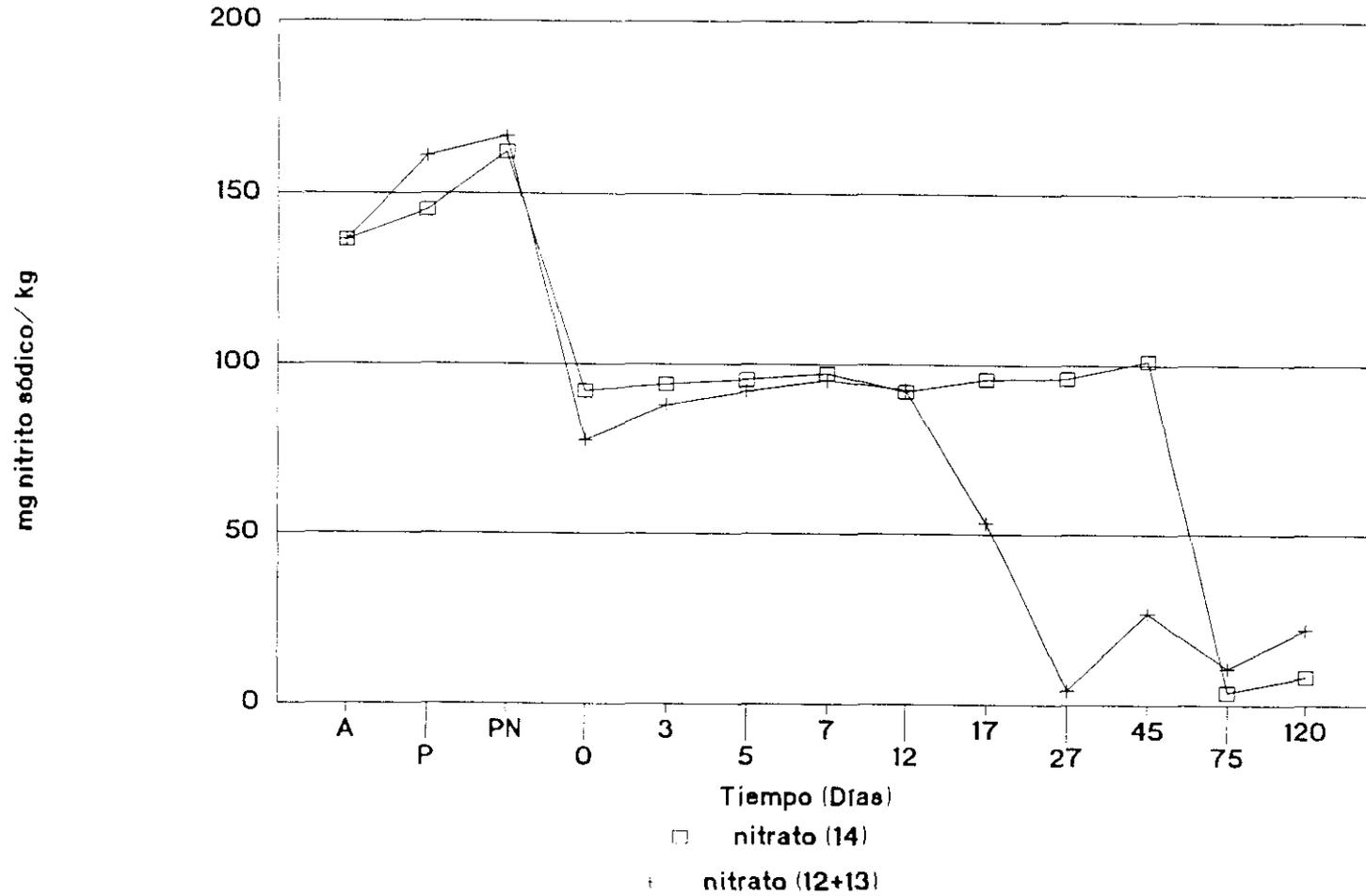
LOTE 1



GRÁFICA n°83.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (125mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al NaNO_2 residual.

NITRATO

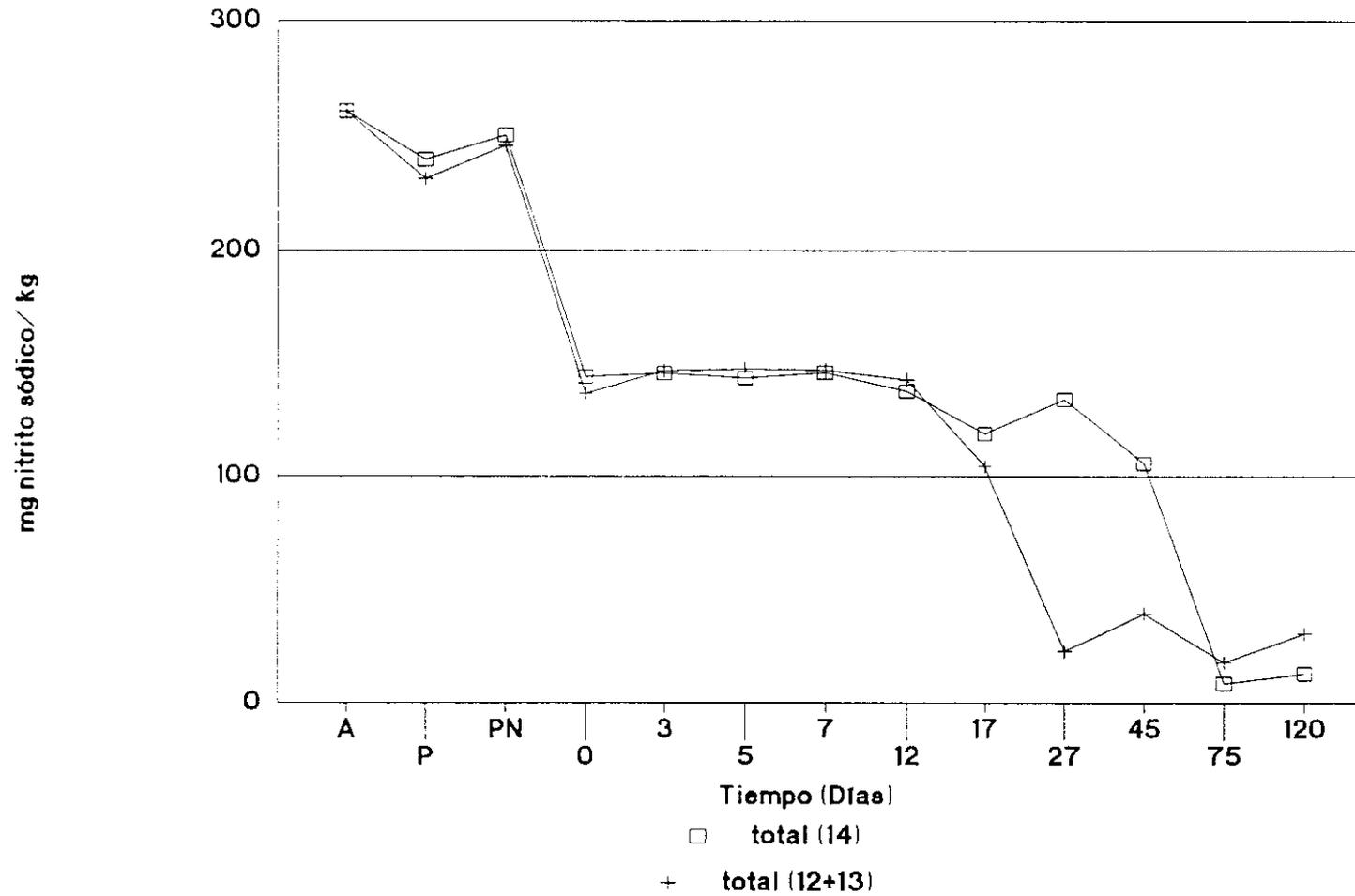
LOTE 1



GRÁFICA n°84.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (125mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al nitrato residual (en NaNO_2).

TOTAL (NITRITO + NITRATO)

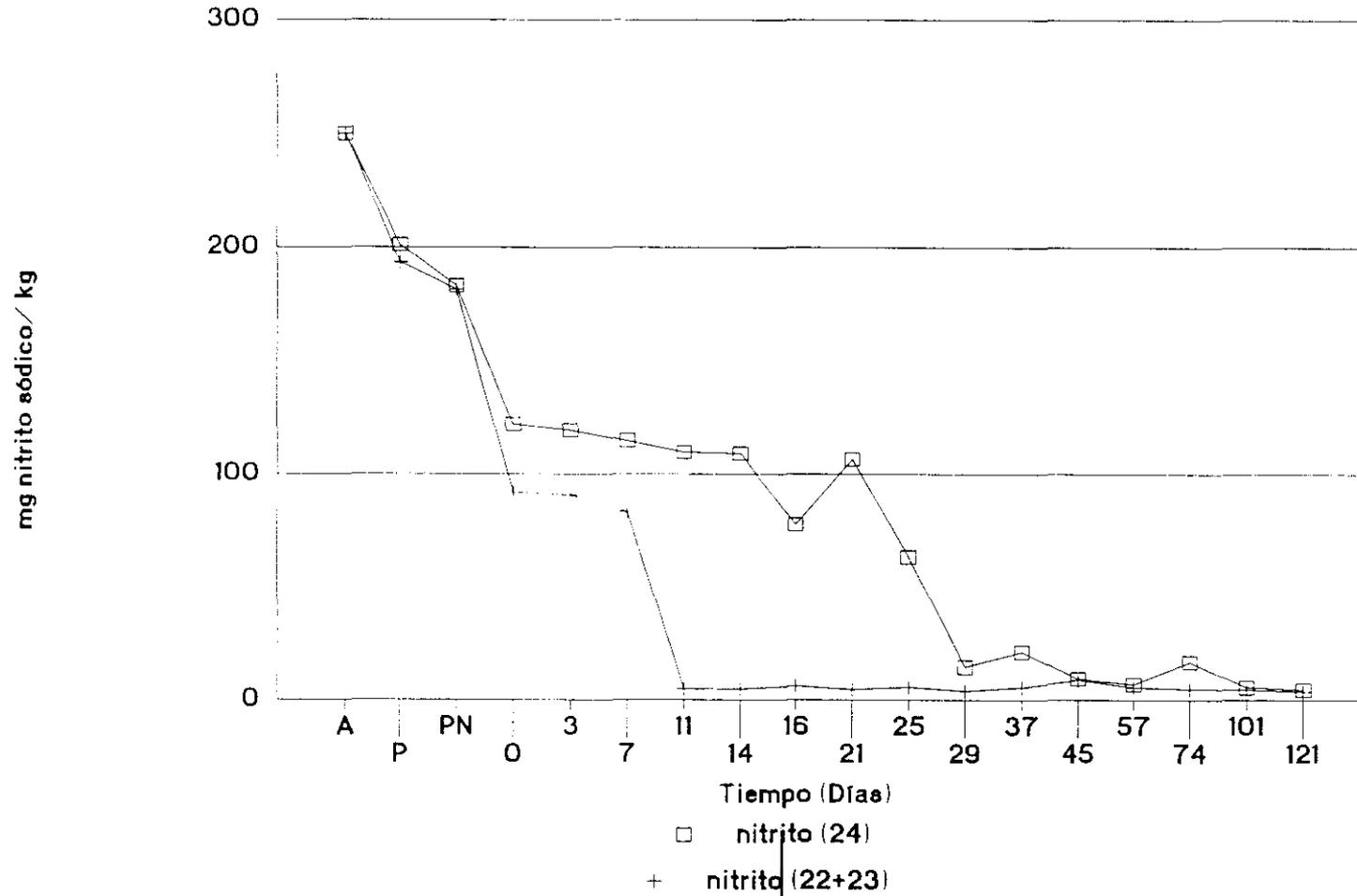
LOTE 1



GRÁFICA n°85.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (125mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al total residual (en NaNO_2).

NITRITO

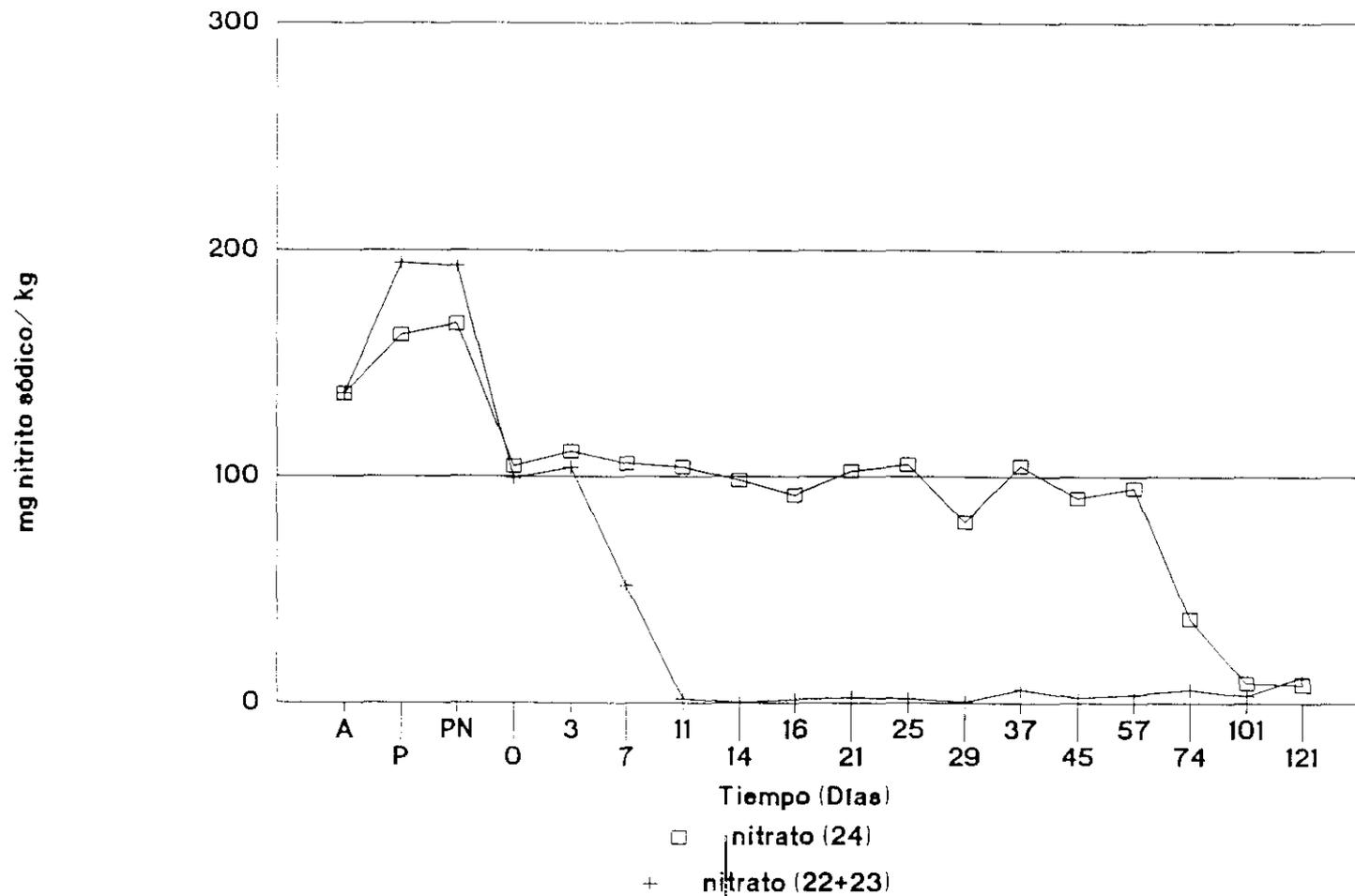
LOTE 2



GRÁFICA n°86.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (250mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al NaNO_2 residual.

NITRATO

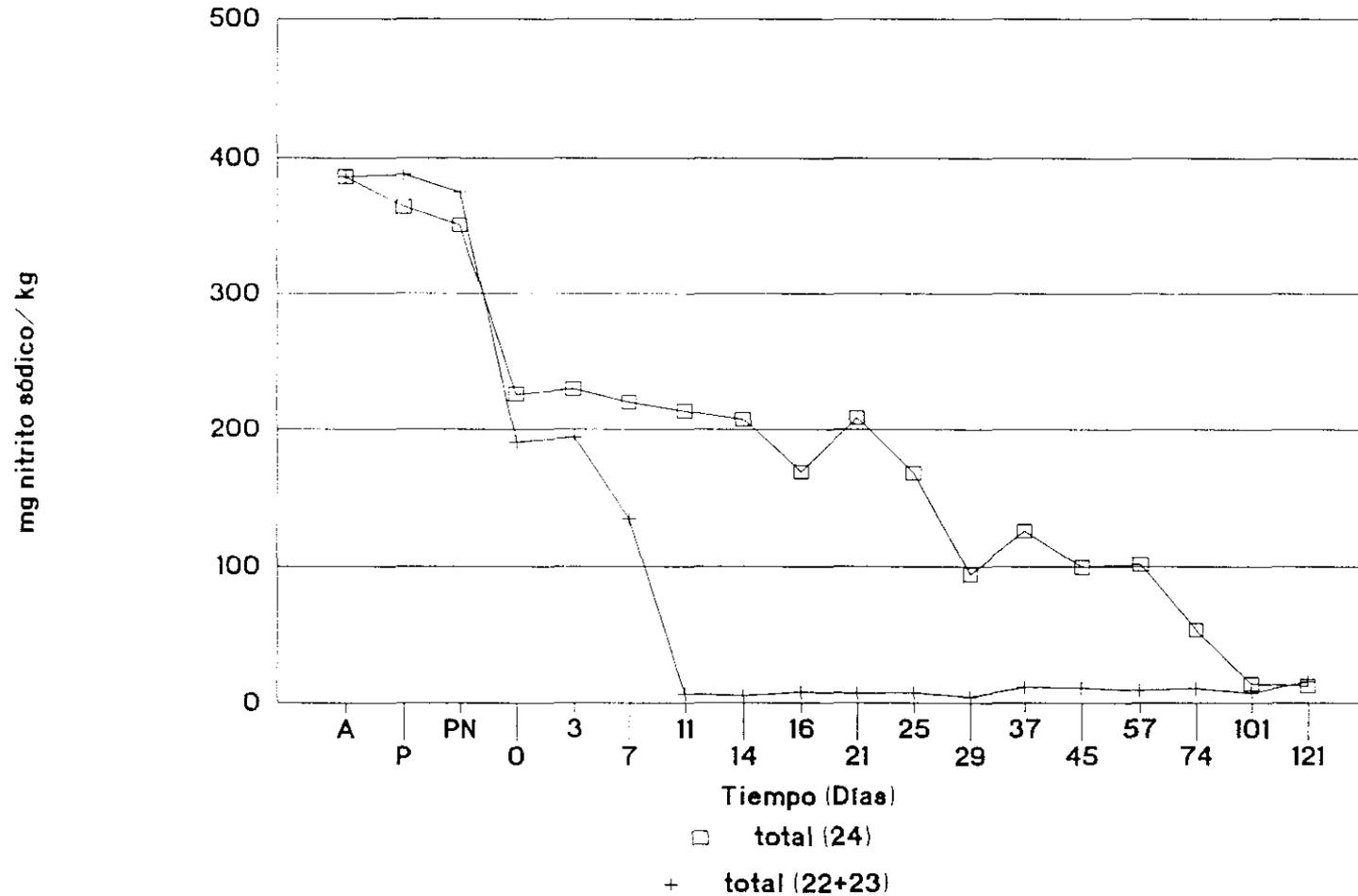
LOTE 2



GRÁFICA nº87.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (250mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al nitrato residual (en NaNO_2).

TOTAL (NITRITO + NITRATO)

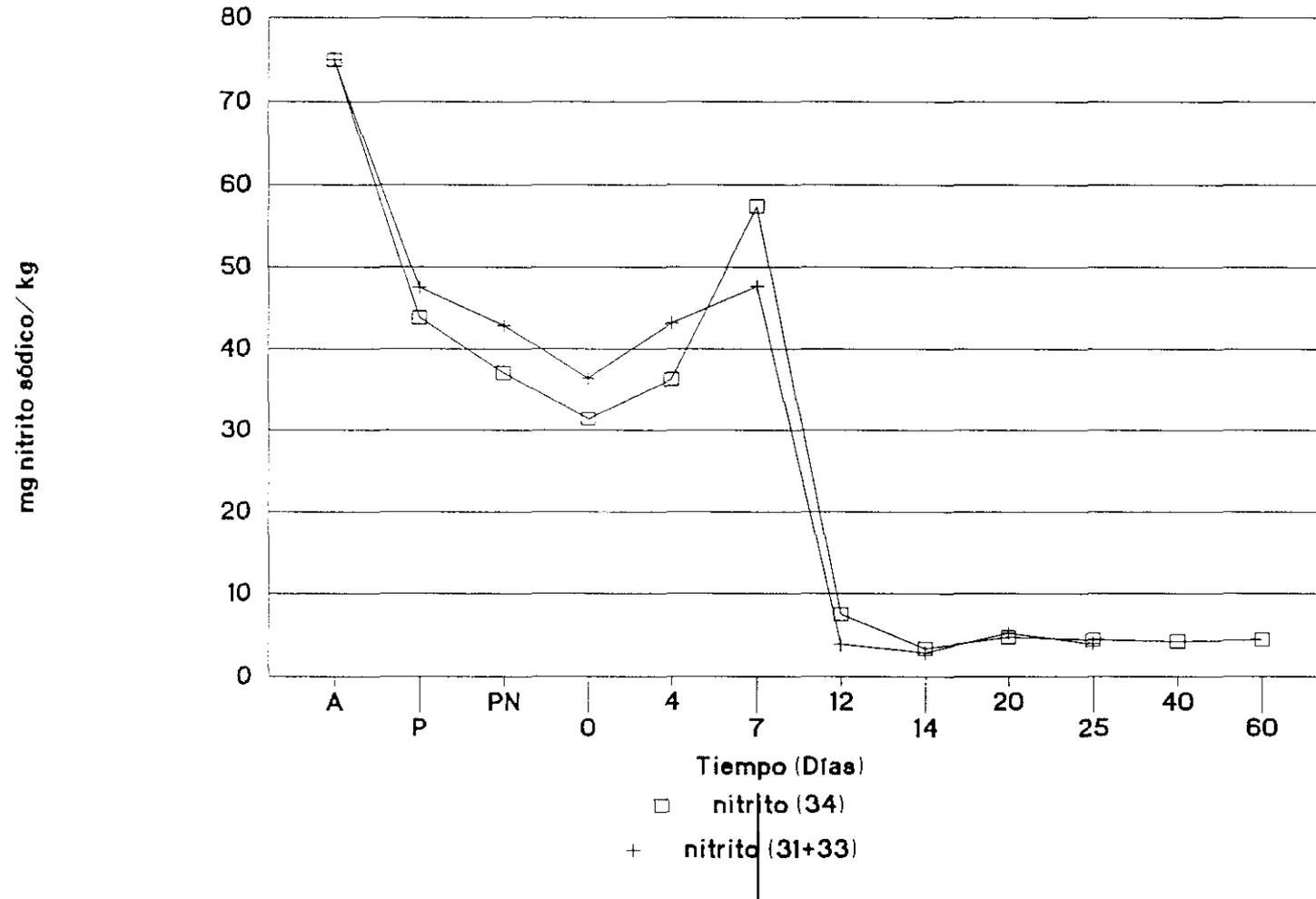
LOTE 2



GRÁFICA nº88.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (250mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al total residual (en NaNO_2).

NITRITO

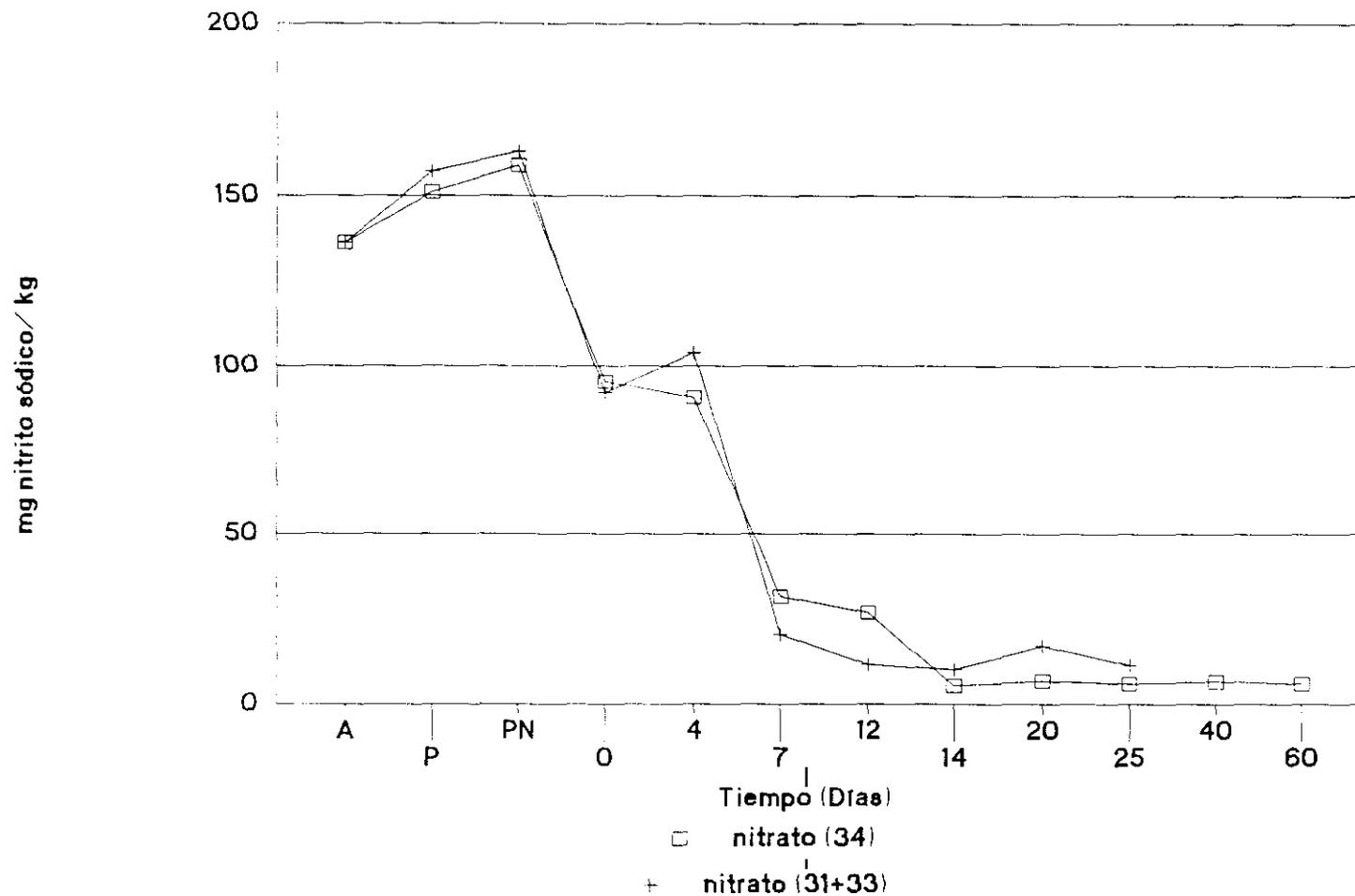
LOTE 3



GRÁFICA nº89.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (75mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al NaNO_2 residual.

NITRATO

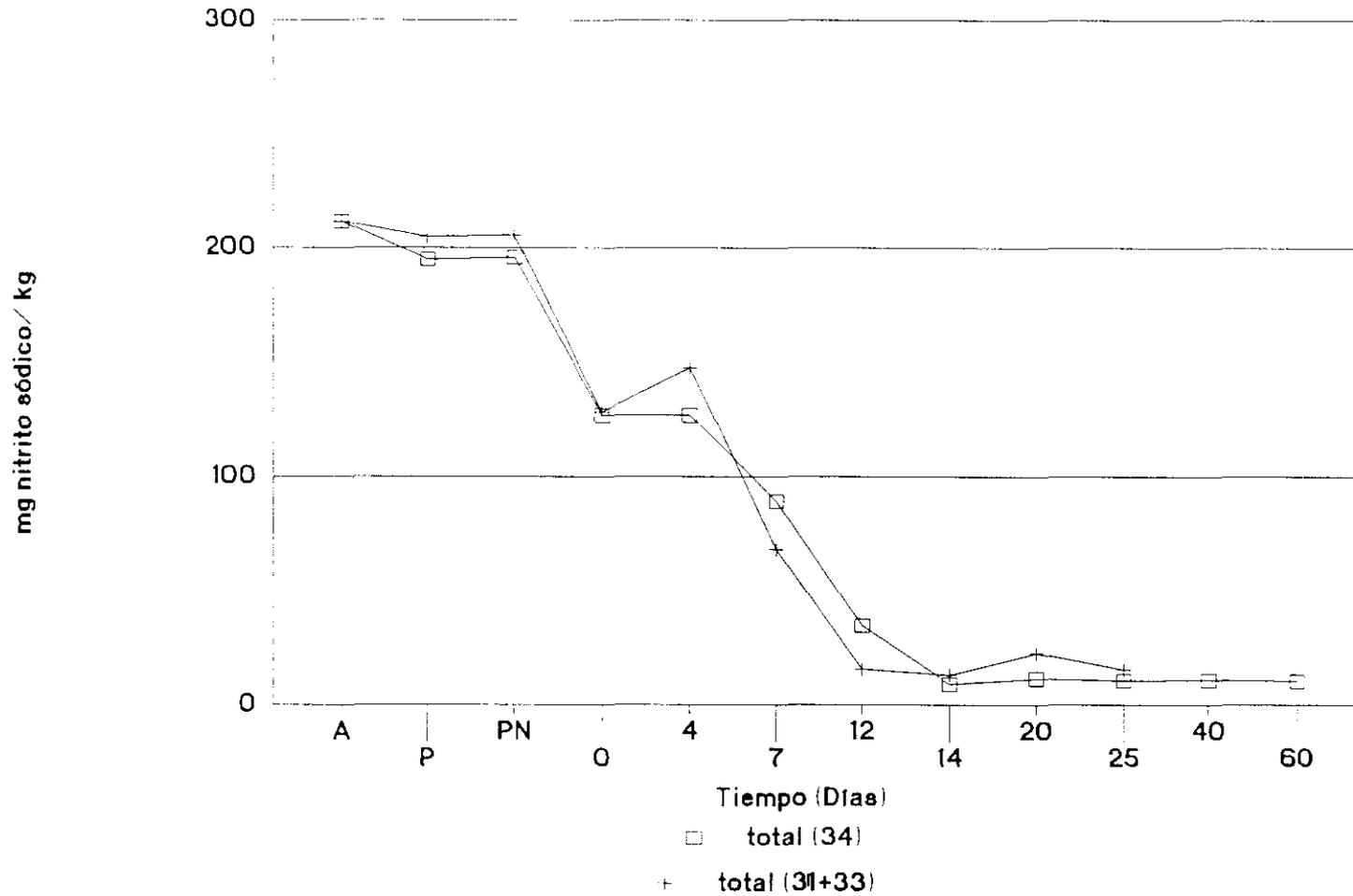
LOTE 3



GRÁFICA nº90.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (75mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al nitrato residual (en NaNO_2).

TOTAL (NITRITO + NITRATO)

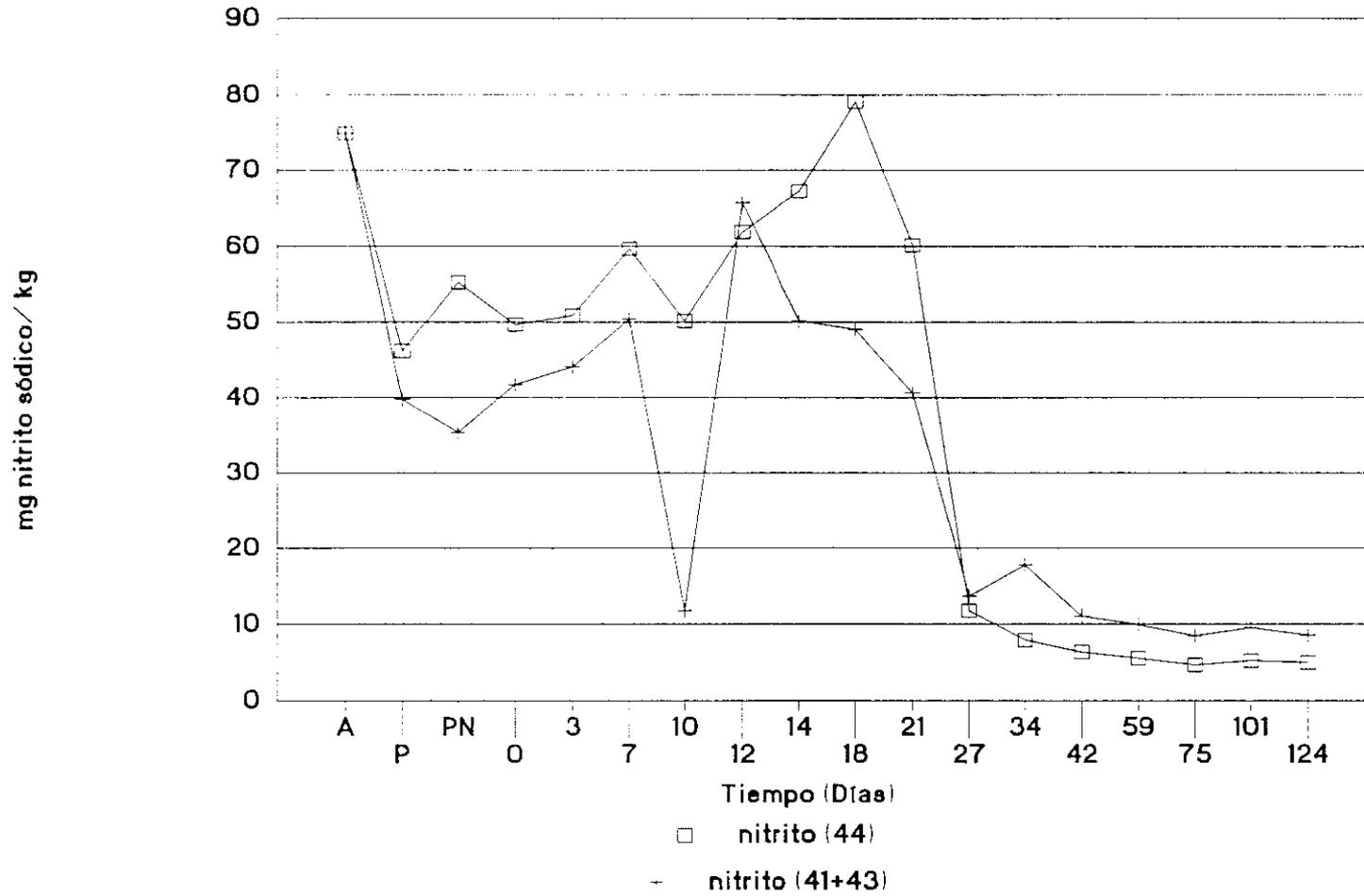
LOTE 3



GRÁFICA nº91.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (75mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al total residual (en NaNO_2).

NITRITO

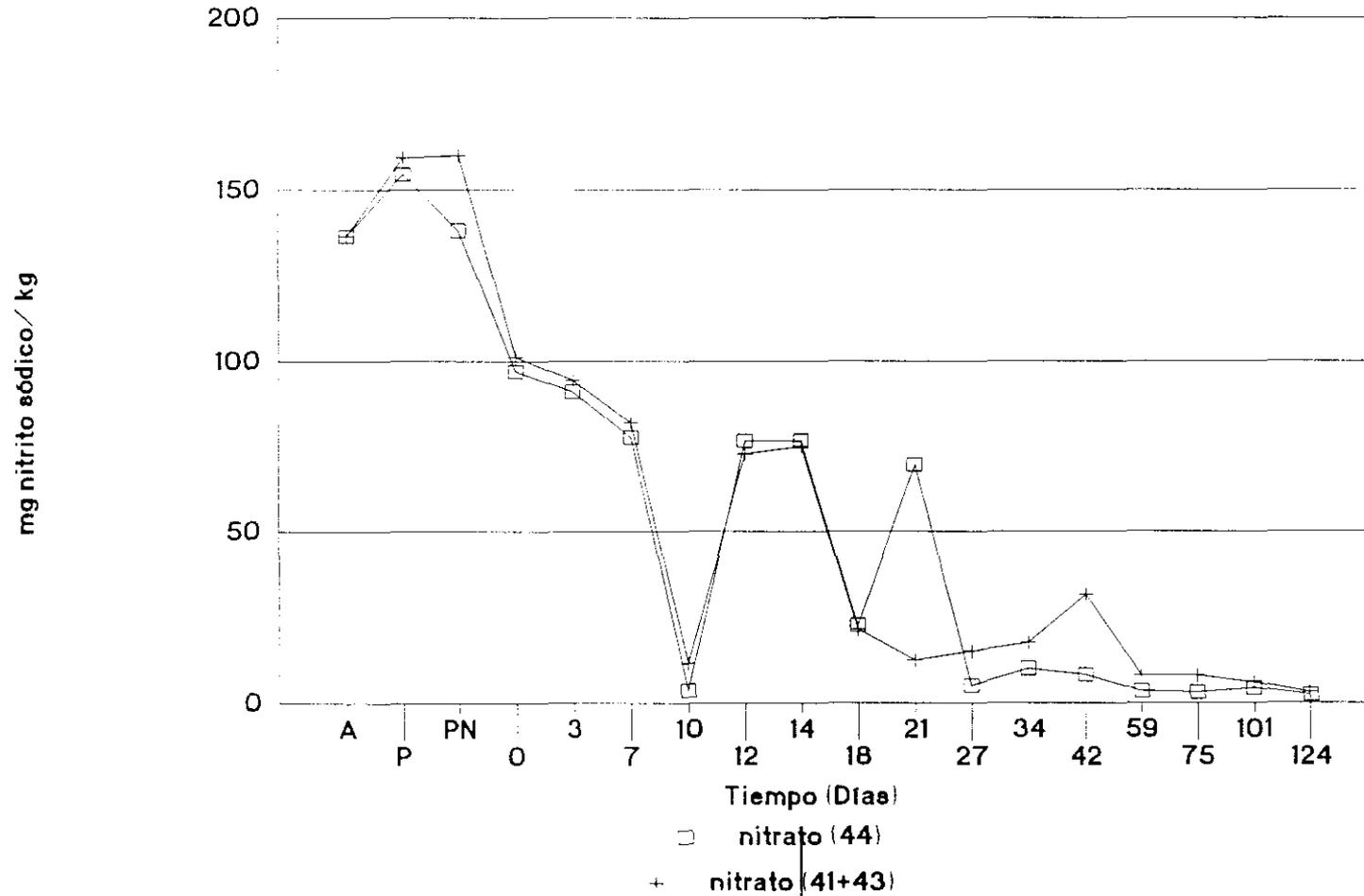
LOTE 4



GRÁFICA n°92.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (75mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al NaNO_2 residual.

NITRATO

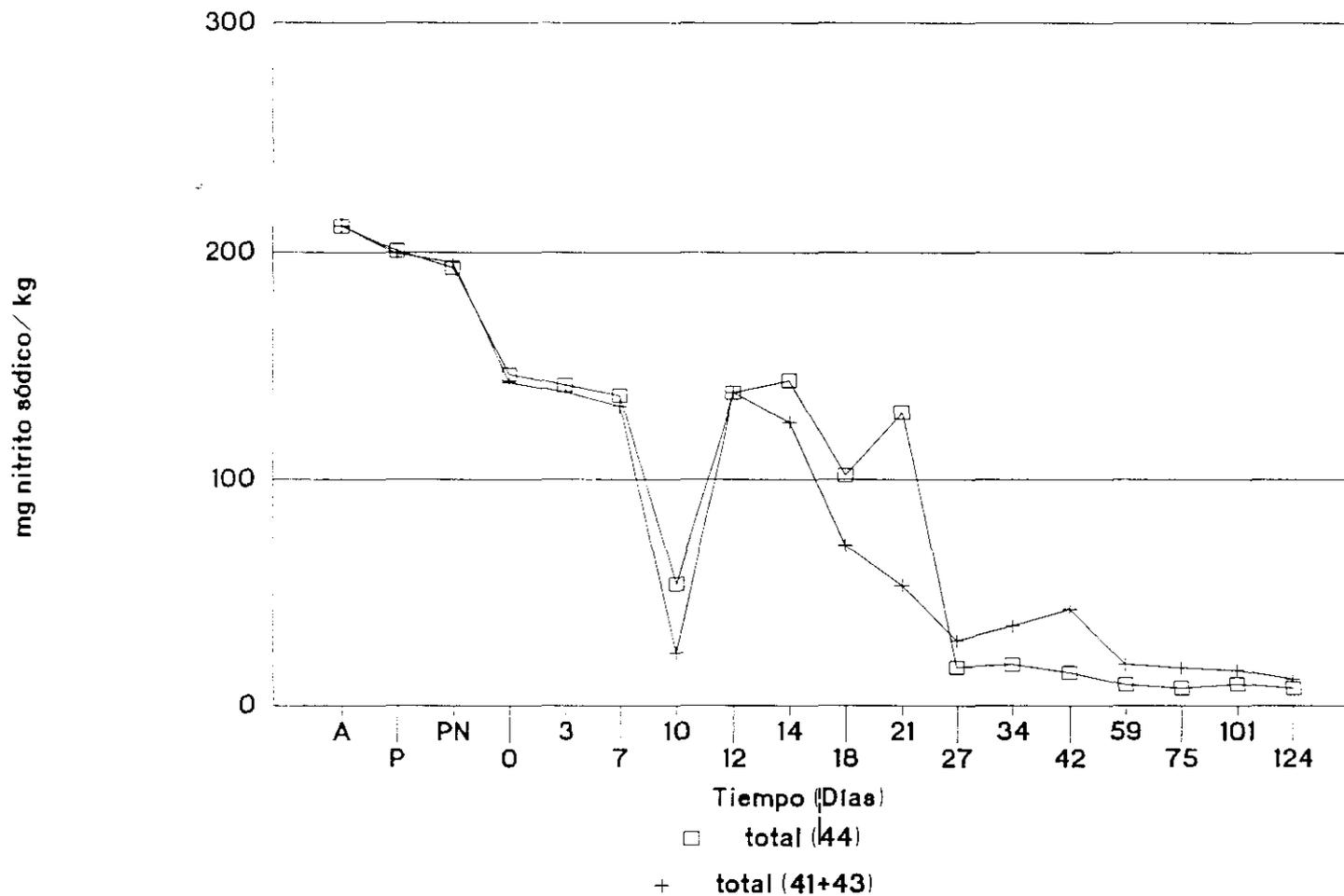
LOTE 4



GRÁFICA n°93.- Comparación del comportamiento individual del NaNO₂ (75mg/kg) y del KNO₃ (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al nitrato residual (en NaNO₂).

TOTAL (NITRITO + NITRATO)

LOTE 4



GRÁFICA nº94.- Comparación del comportamiento individual del NaNO_2 (75mg/kg) y del KNO_3 (200mg/kg) con su evolución conjunta, respecto al total residual (en NaNO_2).

5.-DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1.- COMPOSICIÓN DE LAS SALCHICHAS

5.1.1.- Salchichas comerciales

La composición aproximada de las salchichas adquiridas en establecimientos comerciales se recoge en la Tabla nº1.

Se encuentra una gran uniformidad en los resultados obtenidos para las marcas 1, 2 y 4 . En todas ellas, el porcentaje medio de humedad es de un 55%, frente al 62,88% encontrado en las salchichas de la marca 3. Estas últimas destacan también del resto de las muestras analizadas por su bajo contenido en grasa ($13,32 \pm 0,59\%$), lo que da lugar a una relación humedad/grasa próxima a 5. Dicha relación toma valores comprendidos entre 2 y 2,5 para las marcas comerciales 1, 2 y 4.

El máximo contenido proteico corresponde a las

salchichas de la marca 2 ($15,38 \pm 0,25\%$). Las muestras pertenecientes a las marcas 1 y 4 presentan aproximadamente un 14% de proteína, mientras en la marca 3 este componente se presenta en una proporción algo inferior ($12,71 \pm 0,27\%$).

En el Cuadro I se puede observar que una de las características diferenciales de la marca 3, respecto al resto de las marcas comerciales estudiadas, es la presencia de carne de ave entre sus ingredientes. Según Amo Visier (1980) la utilización de este tipo de carne en la formulación de las salchichas es indicativo de una calidad inferior a la que presentan aquellas otras elaboradas con carnes de cerdo y/o vacuno.

La utilización de carne de vacuno es hoy una práctica habitual en la elaboración de salchichas, como se puede comprobar al observar la lista de ingredientes que figura en los envases de las mismas. Esta tendencia está justificada porque, como señalan López y Carballo (1991), este tipo de carne posee mayor capacidad de retención de agua que la carne de cerdo, tradicionalmente utilizada en la fabricación de embutidos escaldados, y además comunica al producto mejor color.

El contenido mineral encontrado en las muestras

comerciales oscila entre un mínimo de 2,69% para la marca 4 y un máximo 3,56 % en la marca 2. Como veremos más adelante estos valores son siempre superiores a los obtenidos en el análisis de las salchichas elaboradas en planta piloto. La utilización de un mayor número de aditivos, generalmente sales, en la producción industrial puede ser la explicación para estas diferencias.

El porcentaje aproximado de hidratos de carbono, calculado por diferencia, es máximo en la marca 3 , alrededor de un 8% , seguido por el de la marca 1, próximo al 5% . En los envases correspondientes a estos productos, se señala la utilización de almidón. También se indica la presencia de azúcar en las marcas 1 y 2, cuya nitrificación se realiza únicamente con nitrito sódico (E-250). Sin embargo, el empleo de azúcares para reforzar el poder reductor del medio se justifica sólo, en opinión de Goutefongea (1991), en los casos en que se utiliza nitrato o la mezcla de sal nitrito - nitrato, ya que necesitan el desarrollo de la flora reductora. Para este autor, la adición de azúcares puede tener como finalidad aumentar la materia seca para protegerse contra un exceso de contenido en agua del producto.

La información nutricional proporcionada por el Centro del Consumidor de una firma comercial que no se encuentra entre las estudiadas en este trabajo (Oscar

Mayer Consumer Center, 1988), indica la siguiente composición aproximada de salchichas tipo Frankfurt: Humedad 55,7%, proteína 12,2%, grasa 27,2%, hidratos de carbono 2,0% y cenizas 2,8%. Los resultados obtenidos por nosotros son similares, especialmente en las marcas 1, 2 y 4.

5.1.2.- Salchichas experimentales

La composición aproximada de las salchichas elaboradas en planta piloto se recoge en las Tablas nº 2 a nº 5, correspondientes a cada uno de los lotes estudiados.

Los ingredientes de la pasta fina que ha servido como base para la fabricación de las salchichas experimentales se recogen en el apartado 3.1.2.1. Los porcentajes de magro, papada y hielo , así como las cantidades de cada uno de los restantes componentes han sido siempre idénticos en todos los lotes de salchichas elaborados, a excepción de las cantidades de sales nitrificantes y del extracto de humo.

Por ello, las pequeñas diferencias de composición encontradas en el análisis de las cuatro formulaciones de un mismo lote son atribuibles , con gran probabilidad, al

error cometido en la pesada de las distintas fracciones tanto de magro ,como de grasa y agua, destinadas a la elaboración de cada formulación.

Sin embargo, si se comparan los cuatro lotes entre sí, considerados globalmente, se aprecian variaciones más acusadas, especialmente en el lote 2, debidas a la diferente procedencia de las materias primas.

No obstante, los lotes 1, 3 y 4 resultan bastante homogéneos. Su humedad oscila entre un 61 y un 64%, aproximadamente, por lo que resulta comparable a la encontrada en las salchichas comerciales de la marca 3. El porcentaje de grasa se ha situado entre un 15,68% (lote 3) y un 21,69 % (lote 4), mientras que en las muestras comerciales los valores obtenidos se encontraban fuera de este intervalo , bien por debajo (marca 3), o por encima del mismo (marcas 1, 2 y 4).La relación humedad/grasa , comprendida entre 3 y 4 en los tres lotes citados, resulta, por tanto, intermedia entre ambos grupos de salchichas industriales. Respecto a su contenido proteico, se han encontrado un porcentaje mínimo del 12,54 (lote 4) y un máximo del 15,57 (lote 3), comparable, por tanto, con el de las cuatro marcas comerciales analizadas . Como señalábamos al referirnos a la composición de éstas, su contenido de cenizas es superior al de cualquiera de los lotes de salchichas experimentales, que han presentado

valores comprendidos entre un 1% y un 2%.

Las muestras obtenidas en el segundo lote de elaboración en planta piloto , se caracterizan por un menor contenido de agua y de proteína, así como por un elevado porcentaje de grasa, superior al 30%. Existen varios estudios que relacionan el contenido de grasa en salchichas tanto con su calidad microbiológica como con la formación de nitrosaminas. Kuo y col. (1986) indican que el recuento total de aerobios, anaerobios y bacterias lácticas en salchichas chinas se ve afectado significativamente ($p < 0,05$) por el contenido en grasa de las mismas, pero no por la concentración de nitrito. Durante seis semanas de almacenamiento, el recuento total fue mayor para salchichas elaboradas con un 22% de grasa que para aquellas otras con un 28% de grasa. Por otra parte, la presencia de una mayor cantidad de grasa parece favorecer la acción inhibidora del ácido ascórbico sobre la formación de nitrosaminas . Dordevic y col. (1980) encontraron que la adición de este antioxidante reducía, en alrededor del 50%, el contenido de nitrosaminas en salchichas que contenían entre un 10 y un 30% de grasa, y en un factor mayor que 4, en muestras con un 40% de dicho componente.

Según Tändler (1992), actualmente, las normas rectoras sobre evaluación de la composición de los

productos cárnicos en Alemania basan el criterio de calidad en el contenido de proteína y existe un margen de tolerancia para los contenidos de agua y grasa. En nuestras muestras la relación proteína/agua presenta el siguiente orden creciente: Lote 4 < lote 3 < lote 2 < lote 1, si bien se sitúa entre márgenes muy estrechos: 1/4,6 y 1/4,2.

La composición de las salchichas pertenecientes al lote 2 resulta similar a la encontrada por Simon y col. (1965) en el análisis de tres tipos de formulaciones de salchichas Frankfurt, elaboradas con diferentes porcentajes de cerdo y vacuno, con un 22,5% de hielo y un 2,5% de sal, entre otros ingredientes. La formulación preparada con un 45% de vacuno y un 30% de cerdo, presentaba el mayor porcentaje de agua (57%) y de proteína (13%). A medida que disminuía la proporción de carne de vacuno, lo hacía también el porcentaje de estos dos componentes. La formulación elaborada con mayor proporción de carne de cerdo (45%), presentó el máximo contenido graso (32%) y el mínimo de agua (53%) y de proteína (11%).

En base a lo indicado por este autor, se ha comprobado que en nuestras muestras, elaboradas con carne de cerdo, se verifica la existencia de una relación directa entre el contenido de agua y de proteína, e inversa entre ambos componentes y el porcentaje de grasa.

Puesto que, como se indicaba anteriormente, el porcentaje de magro y papada, así como el de agua añadida ha sido siempre constante (39%, 38% y 23%, respectivamente), la disminución en la cantidad de agua observada en el lote 2, puede ser debida a que la carne de cerdo empleada en su elaboración presentara un mayor contenido en grasa, lo que incrementa el porcentaje de ésta en la composición centesimal del citado lote. Sin embargo, la relación proteína/agua de estas muestras se mantiene dentro de los márgenes obtenidos para los restantes lotes (1/4,2).

5.2.- VALORES DE pH

5.2.1.- Salchichas comerciales

Los valores de pH de las salchichas comerciales analizadas se recogen en la Tabla nº 6.

El pH medio más elevado ($6,69 \pm 0,09$) corresponde a las salchichas pertenecientes a la marca 2. Las restantes muestras comerciales, ordenadas de mayor a menor pH dan lugar a la siguiente secuencia: Marca 3 > marca 1 > marca 4. En esta última el valor de pH medio es el más ácido ($5,97 \pm 0,1$).

A pesar de las pequeñas fluctuaciones de pH que se han producido durante el periodo de almacenamiento estudiado, reflejadas en los coeficientes de variación obtenidos, la representación gráfica de su evolución en el tiempo permite diferenciar dos tipos de comportamiento.

Así, las salchichas nitrificadas sólomente con nitrito sódico (marcas 1 y 2) experimentan una elevación del pH comprendida entre 0,2 y 0,3 unidades a lo largo del periodo de conservación y , en ambos casos, se alcanza un valor máximo al cabo de aproximadamente tres meses desde la fecha de su elaboración (Gráficas nº3 y nº4).

Sin embargo, las salchichas curadas con mezcla de nitrito y de nitrato se caracterizan por una disminución escalonada del pH en dos etapas: La primera supone un descenso de 0,1 unidad y se produce al cabo de un mes de su elaboración ; la segunda se detecta después de aproximadamente dos meses y medio desde la fecha de fabricación y representa un descenso del pH más acusado. Posteriormente, éste asciende de nuevo hasta el final del periodo estudiado (Gráficas nº5 y nº6).

5.2.2.- Salchichas experimentales

Los valores de pH tanto de las pastas finas como de las correspondientes salchichas elaboradas en planta piloto se recogen en las Tablas nº7 a nº10.

Stiebing (1992) señala que la masa del embutido, en la fase previa al escaldado, posee un pH comprendido entre 5,8 y 6,2. Según la intensidad del tratamiento calorífico, el pH se eleva entre 0,2 y 0,5 unidades.

Las **pastas** elaboradas por nosotros han presentado valores de pH comprendidos entre 5,7 y 6,5. Las cifras más elevadas corresponden a las cuatro formulaciones del lote 3. A excepción de las formulaciones 1, 2 y 4 de este lote, se observa en las nueve formulaciones restantes un pequeño descenso del pH durante la **nitrificación** de las pastas finas (aproximadamente 0,1 unidades).

Después del **tratamiento calorífico** se produce la esperada elevación del pH, en aproximadamente 0,2 unidades en todos los lotes, salvo en el número 4 que experimenta una subida algo mayor (0,4-0,6 unidades de pH).

El valor medio del pH medido en los diferentes puntos de muestreo, durante el tiempo de **conservación** de los cuatro lotes de salchichas oscila entre 6,07 y 6,52.

La **evolución del pH** frente al tiempo se puede observar en las Gráficas nº7 a nº10. Las cuatro formulaciones elaboradas en cada lote presentan perfiles bastante paralelos. En general, el pH es más elevado en el caso de la nitrificación mixta frente a la utilización de nitrito como único agente de curado. Por otra parte, la adición de nitrato supone una elevación del pH respecto del encontrado en las formulaciones control, carentes de sales nitrificantes (formulación 1 de los lotes 1 y 2).

Terrel y col.(1982) señalan un aumento significativo del pH en salchichas formuladas con carne de cerdo y de vacuno, cuando se adicionaban 50 ppm de nitrito sódico, comparadas con aquellas otras sin nitrito.

Destaca el marcado descenso de pH que se produce a los 75 días de la elaboración tanto del lote 1, como del lote 4, tal como ocurría en las salchichas comerciales con nitrificación mixta (marcas 3 y 4).

Tändler (1992) indica que los embutidos escaldados presentan el pH más elevado dentro de los productos cárnicos. Además, estos productos sufren un aumento de la actividad de agua a través del hielo agregado; la adición de sal del 2,0% se encuentra en el nivel más bajo para productos cárnicos, disminuyendo muy levemente dicha a_w y con escasa acción sobre la inhibición de microorganismos.

Por ello se conservan sólomente de forma limitada , ya que ofrecen condiciones más favorables para el desarrollo de la mayoría de las especies microbianas.

Mientras que en las salchichas comerciales no se detectaron signos de alteración durante el periodo de conservación estudiado, las muestras experimentales, carentes de otros agentes conservadores distintos del nitrito y/o nitrato, presentaron síntomas de alteración (olor desagradable) a los aproximadamente dos meses y medio desde la fecha de su elaboración.

5.3.- NIVELES RESIDUALES DE SALES DE CURADO

Los resultados obtenidos en la determinación de los niveles residuales de nitrito y de nitrato en las salchichas analizadas se expresan en mg/kg de NaNO_2 y de KNO_3 , respectivamente. El contenido total de sales nitrogenadas se expresa en ambas unidades, ya que la Lista Positiva de aditivos para productos cárnicos tratados por el calor (Ministerio de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, 1982) no especifica si la dosis total a la que hace referencia (250 ppm), en caso de utilización conjunta de ambos aditivos, se expresa en nitrito sódico o en nitrato potásico.

Las muestras comerciales se han clasificado en dos grupos, atendiendo a la utilización de nitrito o de la mezcla nitrito-nitrato en su elaboración.

Las salchichas elaboradas en planta piloto se clasifican en cuatro grupos, en función del tipo de agente nitrificante incorporado a cada formulación.

Después de discutir los resultados obtenidos en cada grupo descrito, nos centraremos en el tratamiento estadístico de los mismos para obtener la mayor información posible sobre el comportamiento de los aditivos estudiados.

5.3.1.- Salchichas comerciales

Tal como se indica en sus respectivos envases, las marcas comerciales 1 y 2 han sido curadas sólo con nitrito, mientras las firmas comerciales 3 y 4 han utilizado la nitrificación mixta en la elaboración de las salchichas correspondientes. Por esta razón, discutiremos, por separado, los resultados obtenidos en el análisis de ambos grupos de muestras.

5.3.1.1.- Con nitrito sódico (E-250)

Los niveles residuales de sales nitrificantes de las salchichas pertenecientes a las marcas comerciales 1 y 2 se recogen en las Tablas nº11 y nº12, respectivamente.

Se puede observar que las concentraciones de nitrito iniciales, es decir, transcurridos 11 y 7 días desde la fecha de elaboración de las marcas 1 y 2, respectivamente, son prácticamente dobles en la marca 2 que en la marca 1 ($54,54 \pm 0,53$ y $23,45 \pm 0,02$ mg NaNO_2/kg , respectivamente).

Rincón y col. (1983) analizan los niveles residuales en salchichas procedentes de establecimientos de venta al público de Sevilla, Málaga y Córdoba, obteniendo una media de 22,48 ppm en las 54 muestras analizadas que presentaron una gran variabilidad, con valores comprendidos entre 1,53 y 103,06 ppm. Sin embargo, estos autores no especifican el tiempo transcurrido desde la fecha de fabricación de las muestras hasta el momento de análisis.

Como se puede observar en nuestros resultados, el nivel de nitrito residual disminuye progresivamente a medida que el producto envejece (Gráficas nº13 y nº 14).

Por tanto, para poder comparar los niveles de nitrito

de diferentes salchichas comerciales sería conveniente indicar el momento en el que se ha realizado el análisis, con relación a la fecha de fabricación del producto.

Como se observa en el Cuadro I, las salchichas pertenecientes a las marcas comerciales 1 y 2 han sido curadas sólo con nitrito, según se indica en sus envases. Sin embargo, se encuentran niveles importantes de nitrato, desde el primer día de análisis, en ambas muestras. Concretamente, el contenido de nitrato en la marca 1 es también inferior al de la marca 2 ($42,16 \pm 1,45$ y $70,41 \pm 1,02$ mg/kg de KNO_3 , respectivamente).

La formación de nitrato, por oxidación del nitrito adicionado a un producto cárnico, ha sido objeto de revisión en el apartado 2.3.6.5. de la parte general de este trabajo . Wirth (1992) indica que esta transformación del nitrito a nitrato ocurre antes y durante el calentamiento, debido al potencial redox del medio cárnico en estas etapas. Después del tratamiento térmico, la formación de nitrato es escasa.

En nuestras muestras se comprueba que, en efecto, los niveles de nitrato iniciales permanecen prácticamente constantes a lo largo del periodo estudiado, si bien experimentan en ambos casos un pequeño incremento (18 %) en los últimos días de conservación (Gráficas nº11 y nº

12).

Se sabe que la adición de ascorbato sódico favorece la transformación del nitrito a nitrosomioglobina, pero que una parte del NO formado es transformado inmediatamente en nitrato por el oxígeno y , por tanto, se presenta una mayor proporción de nitrato en el contenido residual de nitrato más nitrito en el producto (Wirth, 1992).

No obstante, dicha proporción de nitrato es muy próxima en las dos marcas: 55 % en la marca 1 (Gráfica nº 11) y 47 % en la marca 2 (Gráfica nº 12). Ante un nivel residual de nitrito tan diferente, no se puede pensar, por tanto, en la utilización de una mayor cantidad de ascorbato en la marca 1, sino más bien en una menor adición inicial de nitrito.

Esta hipótesis se ve respaldada por la similitud existente tanto en la composición aproximada de estas salchichas (Tabla nº 1) como en la evolución del pH en las mismas (Gráficas nº 3 y nº 4) y, por tanto, en el medio de reacción del nitrito.

La concentración total de sales nitrogenadas en el periodo de conservación experimenta una disminución del 26,7% en las dos marcas analizadas. Por tanto, después de

cinco meses de conservación, se recupera aproximadamente el 70 % del total de nitrito más nitrato que se había detectado inicialmente. El 8 % de dicho total está constituido por nitrito en la marca 1, mientras que en la marca 2 este aditivo representa un 18 %.

A pesar de la gran diferencia de concentración de sales nitrogenadas encontradas en ambas marcas el comportamiento de las mismas a lo largo del tiempo es similar. Este aparece representado en las Gráficas nº 13 y nº 14. Después de cinco meses de conservación sólo quedan $4,26 \pm 0,06$ y $18,76 \pm 0,15$ mg/kg de nitrito sódico residual, respectivamente.

El contenido de nitrato potásico, al final del periodo estudiado es de $50,05 \pm 2,29$ y $82,59 \pm 1,13$ mg/kg en las marcas 1 y 2, respectivamente. Por tanto, los niveles residuales de nitrito más nitrato obtenidos en ambos casos se deben mayoritariamente al nitrato.

Según Custot y col. (1976), las salchichas francesas presentan unos niveles de nitrito preocupantes; de 58 muestras, dos contenían de 150 a 160 ppm.; una, 230 ppm., y otra, 445 ppm.

Ninguna de las dos marcas elaboradas sólo con nitrito ha presentado niveles residuales superiores a los marcados

por la legislación vigente, que para el curado con nitrito sódico es de 125 ppm (Ministerio de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, 1982).

5.3.1.2.- Con nitrito sódico (E-250) y nitrato potásico (E-252).

Los niveles residuales de sales nitrificantes de las salchichas pertenecientes a las marcas comerciales 3 y 4 se recogen en las Tablas nº 13 y nº 14, respectivamente.

El contenido de nitrito más nitrato en las salchichas de la marca 3 es el más elevado de todas las muestras comerciales analizadas ($190,86 \pm 13,61$ mg KNO_3 / kg). El principal aporte a esta cifra procede del nitrato residual, que como se observa en la Gráfica nº 15, representa aproximadamente un 65% del total de sales nitrogenadas.

Los niveles residuales de nitrito sódico en esta firma comercial son comparables a los obtenidos para la marca 2. Después de cinco días de vida presenta $44,64 \pm 0,54$ mg/kg de NaNO_2 y aproximadamente la mitad ($21,11 \pm 0,24$ mg/kg) al final del periodo de estudio.

En la Gráfica nº 17 se puede observar que la evolución del nitrito durante el periodo de conservación es también similar en ambas muestras. Sin embargo, en la marca 3 la concentración de nitrato aumenta a medida que los niveles de nitrito disminuyen, de tal forma que la suma de ambos permanece prácticamente constante en todo momento, a excepción del día 79, en el que se produce una pérdida del 50% de las sales. Este punto del muestreo se caracteriza también por un marcado descenso del pH , desde 6,37 hasta 5,98.

Las salchichas pertenecientes a la marca 4, han presentado los niveles más bajos de nitrito residual de las cuatro firmas comerciales analizadas (Tabla nº 14). Desde el primer día de análisis y hasta los 145 días de conservación el contenido de nitrito sódico permanece por debajo de 6 mg/kg.

También los valores de pH obtenidos para estas muestras fueron inferiores a los de las restantes (apartado 5.2.2.). Se sabe que el nitrito es más inestable a pH más bajo, debido a la influencia de este factor bien sobre la reacción del óxido nítrico con algún componente de la carne, o bien porque favorezca la disponibilidad de dichos componentes para la reacción (Lee y col., 1976).

Durante las primeras semanas de conservación, el

nitrato es el principal componente de la concentración total de sales residuales de curado en esta marca (Gráfica nº 16), constituyéndose en el responsable de más del 90% de la misma.

Posteriormente, se observa una gran inestabilidad en la evolución de los contenidos de nitrato (Gráfica nº 18), produciéndose una pérdida global del 90%, a los dos meses de su elaboración, momento en el que sólo se detectan $8,18 \pm 0,33$ mg/kg de KNO_3 . Debemos tener en cuenta que el periodo de vida útil señalado por los fabricantes de estas salchichas es tan sólo de tres meses.

Existe controversia sobre la utilidad de la nitrificación mixta en los embutidos escaldados. En la tecnología de este tipo de productos cárnicos, la utilización de nitrato requiere la presencia de bacterias reductoras, capaces de producir nitrito para obtener el efecto del curado (Ver apartado 2.3.1.). Mientras para algunos autores (Amo Visier, 1980; Durand y col., 1988), la nitrato-reductasa de origen bacteriano no es totalmente destruída por la cocción y, por lo tanto, continúa actuando sobre los restos de nitrato y colaborando así a la estabilización del color, para otros (Wirth, 1992), el nitrato no es utilizado después del tratamiento térmico y su presencia supone una elevación del contenido de nitrito más nitrato en el producto final.

Las salchichas seleccionadas en este caso podrían considerarse como ejemplo para ilustrar cada una de las posturas expuestas. En la marca 3, la presencia de nitrato parece innecesaria, ya que su concentración no disminuye en el tiempo, es decir, no es utilizado por el medio cárnico. En todo momento, incluso en la fecha de caducidad de este producto, existe un nivel considerable de nitrito residual, y el contenido de nitrito más nitrato resulta innecesariamente elevado. Por el contrario, la concentración de nitrato presente en la marca 4 es progresivamente menor durante su almacenamiento, y podría pensarse en el papel estabilizador del color señalado por los autores citados anteriormente, ya que , a pesar del bajo contenido residual de nitrito existente desde los primeros días de su comercialización, el color de las salchichas se mantuvo estable hasta el momento de su caducidad.

5.3.2.- Salchichas experimentales

Con el fin de facilitar la interpretación de los resultados obtenidos en el análisis de los niveles residuales de sales de curado de las salchichas elaboradas en planta piloto, estas muestras se han clasificado en cuatro grupos. El criterio de clasificación ha sido el tipo de agente nitrificante incorporado a cada formulación

(Cuadro II). Así, el primer grupo está constituido por las muestras control, es decir, carentes de aditivos nitrificantes, y lo integran las formulaciones 1 de los lotes 1 y 2. El segundo grupo engloba a todas aquellas formulaciones elaboradas con nitrito sódico, como único agente de curado; lo constituyen las formulaciones 2 de los cuatro lotes de salchichas estudiados, y la formulación 1 de los lotes 3 y 4. En todos los lotes de salchichas se preparó una formulación 3, sin nitrito, pero con 200 mg /kg de nitrato potásico; estas cuatro formulaciones integran el tercer grupo estudiado. Finalmente, el cuarto grupo de muestras experimentales agrupa a las formulaciones de cada lote en las que se realizó una nitrificación mixta.

En lo sucesivo, nos referiremos a estas muestras numerándolas con dos dígitos, del 1 al 4, el primero correspondiente al lote de fabricación y el segundo a la formulación.

5.3.2.1.- Formulaciones control

Las salchichas elaboradas según la formulación 1 descrita en el Cuadro II, para los lotes 1 (11) y 2 (21), no contienen sales de curado.

El objeto de su análisis ha sido obtener información sobre el aporte de nitrito y de nitrato de todos los ingredientes que han formado parte de la composición de las salchichas experimentales, al contenido total de sales de curado.

Hammer (1992) indica que aproximadamente entre 10 y 30 ppm de nitrato llegan al producto cárnico a partir de la carne, agua y especias. La carne de vacuno y de porcino contiene, por lo general, vestigios de nitrito (1 a 2 ppm). El contenido de nitrato se encuentra también muy bajo, siendo el promedio de 5 ppm. Según el mismo autor, las especias de hoja (perejil, tomillo, y otros) pueden presentar hasta 20 ppm de nitrato. Sin embargo, en las especias de fruto , semilla o raíz (pimienta, cardamomo, jengibre, etc) el contenido de nitrato es menor. Si además se considera que la adición de especias al producto cárnico es de aproximadamente un 0,3 a un 0,6%, la posible influencia de éstas sobre la balanza nitrato/nitrito en embutidos escaldados es escasa. En cambio, el agua potable posee una importancia mucho mayor, ya que presenta niveles entre 5 y 20 ppm , aunque existen zonas de aprovechamiento de agua donde se alcanzan hasta 200 ppm.

En las muestras control del lote 1 (11) no se han encontrado niveles cuantificables de nitrito ni de nitrato en ningún punto del muestreo, realizado en las mismas

etapas que se detallarán para las restantes formulaciones de este lote.

Sin embargo, en el lote 2, la formulación control (21) ha presentado valores de $14,21 \pm 0,94$ y de $18,11 \pm 1,18$ mg KNO_3 / kg en la pasta fina recién elaborada y después de nitrificar, respectivamente. No obstante, después del tratamiento térmico sólo han quedado trazas de este compuesto. El análisis de nitrito ha sido negativo en todo momento.

Puesto que el origen más probable del nitrato cuantificado en el lote 2 podía ser el agua empleada en la elaboración de la pasta, o bien el extracto de humo, cuya incorporación a esta formulación control la diferencia de la anterior, se han analizado los contenidos de nitrito y de nitrato en ambos ingredientes. Para ello, se ha preparado una solución de extracto de humo, cuya concentración final es la misma que la utilizada en la elaboración de la pasta fina (2 g/kg). No se han encontrado niveles cuantificables de nitrito ni de nitrato en las soluciones finales coloreadas.

El resultado obtenido en el análisis de nitrato del agua ha sido de $15,15 \pm 0,23$ mg KNO_3 / L. Teniendo en cuenta que el agua representa el 23% del peso inicial de la pasta, el aporte de nitrato a la misma sería de

aproximadamente 3,5 mg/kg. El resto del nitrato cuantificado podría tener su origen en la carne o en las especias. Sarasíbar y col. (1989) indican que el pimentón siempre aporta cierta cantidad de nitratos.

Posteriormente, se ha realizado el análisis del agua empleada en la elaboración de los lotes 3 y 4 de salchichas experimentales y el contenido de nitrato obtenido ha sido siempre menor, con un valor medio de 2,17 \pm 0,03 mg KNO₃/ L.

5.3.2.2.- **Formulaciones con nitrito sódico**

Las salchichas experimentales curadas sólo con nitrito sódico corresponden a los siguientes números de muestra (lote-formulación) y cantidades de aditivo:

Muestra nº	NaNO ₂ (mg/kg)	Extracto de humo (g/kg)
12	125	-
22	250	2
31	75	2
32	250	2
41	75	-
42	250	-

Los niveles residuales de sales nitrogenadas encontrados en estas muestras se recogen en las Tablas nº 15 a nº 20.

En la pasta recién elaborada se recuperan entre un 93% (muestra 32) y un 99,4% (muestra 31) del nitrito adicionado. En las muestras elaboradas con 125 mg NaNO_2/kg el porcentaje de recuperación es inferior (79,6%).

Como se indica en el apartado 3.2.1.1., referente a la preparación de las muestras, la extracción en caliente de las sales nitrogenadas ha requerido, en las pastas finas, un tratamiento previo de disgregación con sulfato sódico anhidro para facilitar el paso de los nitratos y nitritos contenidos en la pasta al medio acuoso.

Las pastas recién elaboradas de las formulaciones del lote 1, han sido las únicas que no se han sometido a dicho tratamiento. Por ello, se obtienen mayores recuperaciones en las correspondientes pastas nitrificadas, en las que se realizó el tratamiento anteriormente citado.

La experiencia realizada por Sebranek y col. (1973) podría explicar la pequeña pérdida de nitrito que se ha producido durante la elaboración de las pastas analizadas en este trabajo. En el apartado 2.3.6.6. de la parte

general se indica cómo estos autores encontraron que alrededor del 5% del nitrógeno de nitrito inicialmente adicionado a la carne, se recogía, durante la etapa de picado en cutter, en forma de gases de NO y N₂, siendo el primero el que se presentaba en mayor concentración.

En todas las muestras se observa la formación de nitrato, por oxidación del nitrito adicionado, durante la preparación de la pasta fina (Gráficas nº 19 a nº 24).

La concentración de nitrito analíticamente detectable disminuye en la fase de nitrificación de la pasta en un pequeño porcentaje que oscila entre un 1,5 para la muestra 42 y un 8% para la muestra 31. Aproximadamente el 3% de esta pérdida supone oxidación a nitrato en las muestras adicionadas de 75 mg NaNO₂/kg (31 y 41). La pérdida total de sales durante la nitrificación es ligeramente superior en las muestras elaboradas con extracto de humo, entre un 5 y 6%, que en las que no contienen esta sustancia, entre un 2 y un 2,5%. El carácter reductor del fenol y de otros componentes de los extractos de humo podría ser el responsable de esta diferencia.

En estas etapas, previas al tratamiento térmico, se encuentra una relación inversamente proporcional entre la formación total de nitrato y la adición inicial de nitrito. Así, en las muestras 31 y 41, adicionadas con 75

mg NaNO_2/kg , el nitrato representa entre un 40 y un 44% del contenido de nitrito más nitrato, después de la nitrificación. Cuando se adiciona una cantidad de nitrito 1,66 veces mayor (muestra 12), el porcentaje de nitrato encontrado es del 27%, es decir, 1,6 veces inferior. Finalmente, en las muestras elaboradas con 250 mg NaNO_2/kg , la oxidación a nitrato supone entre un 14% (muestra 32) y un 17% (muestras 22 y 42). Estos porcentajes reflejan aproximadamente la mitad de la formación observada en presencia de 125 ppm de nitrito.

Así, de los 75 mg/kg de NaNO_2 adicionados en las muestras 31 y 41 quedan, respectivamente, 41,36 y 35,38 mg/kg, como nitrito sódico residual. Además se han transformado en nitrato 29,86 y 33,25 mg/kg. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Wirth (1992), quien indica que de las 80 ppm de nitrito añadidas a un producto escaldado, entre 20 y 30 ppm son transformadas por oxidación a nitrato antes del calentamiento.

La principal pérdida de sales nitrogenadas durante el proceso de elaboración de las salchichas se produce en la etapa de escaldado. Representa un descenso comprendido entre el 20 y el 30%, respecto del total de sales de la pasta nitrificada, a excepción de la muestra 22, en la que la pérdida es aún mayor (47%).

De esta forma, la cantidad de nitrito residual en las salchichas recién envasadas es aproximadamente la mitad de la adicionada en un principio, salvo en la muestra 22 en la que sólo queda un 36,6% de las 250 ppm añadidas.

La cantidad de nitrato que llega a la salchicha envasada sigue encontrándose en relación inversa a la concentración inicial de nitrito y , por tanto, es proporcional a la cantidad formada en las etapas anteriores. En las muestras elaboradas con 250 ppm de nitrito (22, 32 y 42), el nitrato constituye entre un 6 y un 9% del total de sales nitrogenadas; un 15% cuando se adicionan 125 ppm de nitrito (muestra 12) y un 27% si dicha adición ha sido de 75 ppm. (muestra 31). En este último caso, la muestra 41, es una excepción, ya que el nitrato sólo representa un 13,5% de la suma del nitrito más nitrato residuales.

En definitiva, el contenido de nitrito total en las salchichas recién envasadas se sitúa en valores comprendidos entre el 60 y el 75 % de la cantidad inicialmente incorporada a la formulación, con una mayor presencia de su forma oxidada, el nitrato, cuanto menor concentración inicial de nitrito se haya utilizado.

La evolución de las sales nitrogenadas durante la conservación de las muestras se encuentra representada en

las Gráficas nº 25 a nº 30.

En las salchichas elaboradas con 125 mg de NaNO_2/kg (Gráfica nº 25) se encuentra un periodo de estabilidad en los niveles de nitrato residual que transcurre durante los diecisiete primeros días de vida del producto envasado. A partir de esta fecha el contenido de nitrito disminuye hasta quedar reducido a trazas en el primer mes de la conservación, y el nitrato experimenta el mismo descenso, si bien se recupera posteriormente su nivel inicial.

Los dos mínimos observados en esta gráfica se encuentran también en la correspondiente a la evolución del pH para estas salchichas (Gráfica nº 7), donde este parámetro presenta valores inferiores a 5,8. Como se indicaba en el apartado 5.3.1.2. , referente a las salchichas comerciales, se confirma la inestabilidad del nitrito a pH ácido.

Debido a la rápida e inesperada desaparición del nitrito residual en las formulaciones del lote 2, frente a lo observado en el lote 1, elaborado en primer lugar, se ha pretendido comprobar la posible influencia del ingrediente que diferencia ambos lotes, el extracto de humo, sobre el comportamiento de los aditivos nitrificantes.

Para ello se prepararon dos nuevos lotes de salchichas con idénticas concentraciones de aditivos , incorporando extracto de humo sólo en uno de ellos (lote 3). Al observarse el mismo efecto sobre la evolución de los aditivos, se han preparado las soluciones patrón descritas en el apartado 3.2.1.8. y se ha procedido a su análisis periódico. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla nº 29.

Se ha podido comprobar que la presencia de extracto de humo (2 g/L) en soluciones patrón de nitrito sódico (75 y 250 mg/L) da lugar a recuperaciones ligeramente inferiores que las obtenidas en su ausencia. Después de dos meses de conservación de dichas soluciones las recuperaciones de nitrito son del 64,6% y del 93,5% , en las soluciones preparadas con 75 y 250 ppm de nitrito sódico, respectivamente. El efecto del extracto de humo en soluciones patrón de nitrato potásico (200 mg/L) ha sido más acusado. Después de una semana de conservación, desaparece aproximadamente un 50% del nitrato inicial, y la desaparición es completa en dos semanas.

Aunque la complejidad del medio cárnico no es comparable al medio acuoso en el que se ha realizado esta experiencia, los resultados obtenidos señalan la existencia de un efecto del extracto de humo sobre los

aditivos nitrificantes.

Como se ha indicado anteriormente, entre los componentes del extracto de humo figuran reductores potentes como el fenol, que pueden influir sobre las reacciones del nitrito y del nitrato en el medio cárnico.

En los cuatro lotes estudiados la disminución de los niveles de nitrito residual va acompañada por una pérdida de nitrato. Mientras en los lotes 2 y 3 , adicionados del extracto de humo, se obtienen niveles de nitrito sódico inferiores a 10 mg/kg en, aproximadamente 11 días, independientemente de la concentración inicial de este aditivo, en el lote 4 los contenidos de nitrito residual se mantienen por encima de esta cifra durante el primer mes de conservación y durante todo el periodo estudiado en el lote 1.

5.3.2.3.- Formulaciones con nitrato potásico

La utilización de nitrato, como único agente nitrificante, no es una práctica habitual en la tecnología de los embutidos escaldados. Con la preparación de este tipo de formulaciones, en el presente estudio, se ha pretendido obtener información sobre el comportamiento aislado del nitrato en un medio cárnico comparable con el

que se ha sometido a curado con nitrito.

Posteriormente, esta información se ha utilizado para estudiar las posibles interacciones entre ambos aditivos, cuando se encuentran en una misma formulación, es decir, en el caso de la nitrificación mixta.

Las salchichas elaboradas con 200 mg KNO_3/kg , corresponden a las muestras 13, 23, 33 y 43. Los niveles residuales de sales nitrogenadas encontrados en ellas se recogen en las Tablas nº 21 a nº24, respectivamente.

En la pasta recién elaborada se recupera entre un 94,5 y un 97% del nitrato adicionado (Gráficas nº 31 a nº 34), salvo en la muestra correspondiente al lote 2 (23) en la que la recuperación es de un 109,5%. Como se ha indicado en el apartado 5.3.2.1., la formulación control de este mismo lote ha presentado un nivel cuantificable de nitrato, procedente, en parte, del agua empleada en la elaboración de las muestras. Por la misma razón, se explicaría la elevación del contenido de nitrato en la muestra 23, por encima de la cantidad adicionada.

Durante las 20 horas de nitrificación en cámara no se detecta nitrito residual en ningún caso, salvo la aparición de indicios de esta forma reducida en el lote 3 ($2,40 \pm 0,08$ mg NaNO_2/kg).

Tras el tratamiento térmico, los niveles de nitrato residual representan un porcentaje muy variable de la cantidad inicialmente adicionada, que oscila entre un 43% para la muestra 13 y un 69% para la muestra 43. En esta última se detectan ya trazas de nitrito residual ($2,94 \pm 0,13$ mg NaNO_2/kg); sin embargo, su aparición se retrasa hasta el séptimo día de la conservación en el lote 2 y no se detecta en el lote 1 durante los primeros diecisiete días .

Salem y col. (1984) estudian el comportamiento del nitrato en salchichas elaboradas con carne de vacuno y señalan la aparición, en el primer día de conservación a 4°C , de $90,2$ mg/kg de nitrito cuando se adicionan 200 mg de NaNO_3/kg , cantidad que desciende hasta $49,5$ mg/kg transcurrido un mes. Indican estos autores que , en este momento del análisis, las salchichas estaban ya contaminadas, y consideran la posibilidad de que el NaCl adicionado contuviera algo de nitrito como impureza.

A diferencia de lo indicado por estos autores, nuestras muestras han llegado a presentar un valor máximo de nitrito sódico residual de $42,93 \pm 0,83$ mg/kg en el lote 4 (Tabla nº 24) después de 18 días de conservación, y de $30,92 \pm 1,12$ mg/kg en el lote 1 y en el mismo tiempo (Tabla nº 21). En este momento del análisis, se recupera en ambos lotes, aproximadamente, un 50% de los 200 mg/kg

de KNO_3 adicionados : $93,00 \pm 0,60$ y $92,73 \pm 1,71$ mg/kg, respectivamente.

En presencia de extracto de humo (muestras 23 y 33) la formación de nitrito es aún menor, aunque temprana, y el nitrato desaparece en tan sólo una semana de conservación. En el apartado 5.3.2.2. se ha comentado ya la influencia del extracto de humo sobre la desaparición del nitrato en soluciones patrón. Ésta era total en dos semanas y, según indican nuestros resultados, el medio cárnico parece potenciar el efecto de esta sustancia.

Las Gráficas nº 35 a nº 38 muestran cómo la formación de nitrito va acompañada de una disminución de ambas formas nitrogenadas.

En la muestra 13 se observa un periodo de estabilidad de los niveles de nitrato residual, similar al que se producía en las salchichas curadas sólo con nitrito (muestra 12). De nuevo, los días en que el pH es mínimo (27 y 75) se obtienen los menores niveles residuales de sales nitrogenadas.

En la muestra 43 (Gráfica nº 38) se produce un brusco descenso de los contenidos de nitrato, después de diez días de conservación. En este momento el pH de las salchichas es de 6,09.

5.3.2.4.- Formulaciones con nitrito sódico y con
nitrato potásico.

Las salchichas experimentales sometidas a nitrificación mixta corresponden a los siguientes números de muestra y cantidades de aditivos:

Muestra nº	NaNO ₂ (mg/kg)	KNO ₃ (mg/kg)	Extracto de humo (g/kg)
14	125	200	-
24	250	200	2
34	75	200	2
44	75	200	-

Los niveles residuales de sales nitrogenadas en estas muestras se recogen en las Tablas nº 25 a nº 28.

En las salchichas elaboradas con 75 mg/kg de NaNO₂ y 200 mg/kg de KNO₃, muestras 34 y 44, se recuperan en la pasta recién elaborada $43,88 \pm 0,99$ y $46,20 \pm 0,60$ mg/kg de nitrito sódico, respectivamente, es decir, niveles próximos a los obtenidos en ausencia de nitrato para los mismos lotes (muestras 31 y 41). Esto también se puede

comprobar comparando los niveles de nitrito residual en las muestras 14 y 24 con los encontrados en las correspondientes salchichas curadas sólo con nitrito (12 y 22).

En las Gráficas nº 39 a nº 42 se observa que las pastas recién elaboradas contienen un nivel de nitrito residual entre un 11 y un 15% inferior a la cantidad inicialmente adicionada. Este descenso en la concentración de nitrito es debida, en parte, a la oxidación a nitrato. Así, el porcentaje de éste en las pastas se incrementa en un 7-8% , respecto a la cantidad adicionada (200 mg KNO_3/kg).

La pérdida total de sales nitrogenadas durante el proceso de picado de los ingredientes y mezclado en cutter es, por tanto, del 5 al 8% y se manifiesta en los niveles de nitrito residual. Como se indica en el apartado 5.3.2.2., la transformación de nitrito en gases de nitrógeno, en esta fase de la elaboración de los productos cárnicos, ha sido mencionada por distintos autores.

Durante la nitrificación de las pastas en cámara, se produce de nuevo un ligero descenso de la concentración residual de nitrito en las muestras 14, 24 y 34. En esta última todo el nitrito se recupera en forma de nitrato, mientras que en la muestra 24, la formación de nitrato no

es significativa en esta fase. Existe una gran diferencia entre las cantidades de nitrito adicionadas en una y otra formulación: 75 y 250 mg/kg de NaNO_2 en las muestras 34 y 24, respectivamente. Podría, por tanto, deducirse la misma relación encontrada para las salchichas curadas con nitrito, es decir, que la oxidación a nitrato es mayor cuanto menor sea el nivel de nitrito adicionado. Sin embargo, en la muestra 44 también se han utilizado 75 mg NaNO_2/kg y lo que se observa en este caso es una reducción parcial a nitrito del nitrato formado en la fase anterior.

Tras el proceso de escaldado, los niveles residuales de nitrito más nitrato en las salchichas constituyen entre el 55 y el 60% de la cantidad total de estos aditivos que se había incorporado a cada formulación. En el lote 4, la recuperación es aún mayor (69%). Estos datos son del mismo orden que los obtenidos por Bello y col. (1988).

Del total recuperado, la relación nitrito/nitrato es, aproximadamente, 1/2 en las salchichas adicionadas de 125 mg NaNO_2/kg (muestra 14); 1/1 cuando se añade una cantidad doble de este aditivo (muestra 24), y 1/3 si se han adicionado 75 mg NaNO_2/kg (muestra 34). En el lote 4, elaborado también con esta última cifra de nitrito, la relación encontrada es 1/2, debido al fenómeno de formación de nitrito a partir del nitrato, observado en la etapa previa al escaldado.

La posterior evolución de las sales nitrogenadas durante la conservación de las muestras se representa en las Gráficas nº 43 a nº 46. Se puede observar la existencia de un periodo de relativa estabilidad en los niveles residuales de nitrito que se prolonga durante un mes en las muestras 14 y 44; durante 20 días en el lote 2 y tan sólo cuatro días en el lote 3.

La estabilidad de los niveles residuales de nitrato es también característica en los lotes 1 y 2, durante un mes y medio de conservación. Sin embargo, la adición de menores concentraciones de nitrito en los lotes 3 y 4, parece favorecer la reducción del nitrato para mantener un nivel residual de nitrito más elevado. Este fenómeno podía deducirse también del comportamiento observado en las salchichas comerciales pertenecientes a la marca 4.

En la Tabla nº 29 se recogen los resultados de la recuperación, en presencia de extracto de humo, del nitrito y nitrato en las dos soluciones patrón preparadas con las mismas concentraciones de ambos aditivos que las correspondientes a las muestras 24 y 34. A diferencia de lo indicado para la solución patrón de nitrato potásico, no se ha observado su desaparición en el periodo estudiado, independientemente de la cantidad de nitrito sódico presente (75 ó 250 mg/L). Respecto al nivel de nitrito las recuperaciones son similares a las obtenidas

en ausencia de nitrato, si bien en la solución preparada con 75 mg/L de nitrito sódico y 200 mg/L de nitrato potásico, se ha recuperado el 90,6% del nitrito, frente al 64,6% encontrado en ausencia de nitrato.

En la Gráfica nº 44 se comprueba que las concentraciones de nitrito y de nitrato residuales en las salchichas pertenecientes al lote 2 (muestra 24) no experimentan la repentina desaparición observada en este lote para las muestras curadas sólo con nitrito, sino que se mantienen elevadas durante dos meses, aproximadamente. Sin embargo, la evolución de los niveles residuales de sales nitrogenadas en la muestra 34 (Gráfica nº45) refleja, como en las restantes formulaciones de este lote, una rápida desaparición de los aditivos utilizados en su elaboración.

Este distinto comportamiento podría ser debido a la diferencia existente entre las cantidades de nitrito que se han adicionado en cada caso.

5.3.3.- Tratamiento estadístico

Mediante el paquete estadístico BMDP, se ha realizado un análisis de regresión lineal múltiple con una triple finalidad:

a) Buscar un tipo de expresión matemática que nos permita definir la evolución experimentada por los niveles residuales de sales nitrificantes a lo largo del tiempo, con la adecuada correlación estadística , en los diferentes casos estudiados.

b) Comparar la evolución en el tiempo de los contenidos residuales tanto de nitrito como de nitrato y de la suma de ambos, cuando determinadas concentraciones de estos agentes se adicionan conjuntamente en una misma formulación cárnica, con la evolución que experimentan en dos formulaciones idénticas a la anterior pero en las que el nitrito y el nitrato se han incorporado individualmente.

c) Estudiar la existencia de posibles similitudes entre las muestras comerciales y alguna de las formulaciones modelo o experimentales elaboradas.

5.3.3.1.- Evolución de los niveles residuales de sales nitrificantes

El análisis de regresión no lineal aplicado a las concentraciones residuales de nitrito, nitrato y de la suma de ambos , de las salchichas analizadas, expresadas sobre sustancia seca, reveló que la evolución de las

mismas en el tiempo era de tipo exponencial, en la mayoría de los casos.

Para facilitar tanto la discusión de los resultados obtenidos como la visualización gráfica de los mismos, se han tomado logaritmos neperianos de las citadas concentraciones y se han sometido a un análisis de regresión lineal múltiple.

De esta forma, se han obtenido las rectas de regresión, que nos permiten expresar la evolución del nitrito residual mediante una sencilla ecuación matemática del tipo Ln de la concentración (sobre sustancia seca) frente al tiempo. En las Gráficas nº 47 a nº 54 se encuentran representados todos los casos en los que el coeficiente de correlación (r) ha sido superior a 0,7.

Las rectas de regresión correspondientes a los niveles de nitrito residual de las salchichas comerciales, marcas 1, 2 y 3 (Gráficas nº 47 a nº 49), presentan coeficientes de correlación superiores a 0,9. En el caso de la marca 4, donde las concentraciones de nitrito eran inferiores a 10 mg/kg desde el primer día de análisis, no se ha obtenido una buena correlación entre éstas y el tiempo. Sin embargo, tanto el nitrato residual como la suma de ambos aditivos, presentan una correlación superior

a 0,7 frente al tiempo de conservación (Gráficas nº 62 y nº 55, respectivamente).

También se han obtenido coeficientes de correlación superiores a 0,7 para los niveles de nitrito residual de las salchichas pertenecientes al lote 1, en todas sus formulaciones, y a los lotes 2 y 4, en los casos de nitrificación mixta, es decir, en las muestras 24 y 44 (Gráficas nº 50 a nº 54).

Se encuentra además una correlación lineal entre el tiempo y las concentraciones de nitrito más nitrato, expresadas como Ln del nitrito sódico total, en aquellas formulaciones en las que se emplearon ambos aditivos, para los cuatro lotes de salchichas experimentales (muestras 14, 24, 34 y 44), así como en las muestras 13 y 43, adicionadas sólo de nitrato, correspondientes a los lotes 1 y 4 (Gráficas nº 56 a nº 61).

Cuando se estudia la evolución del nitrato residual en el tiempo de conservación, se obtiene una buena linealidad entre ambos parámetros, en las salchichas curadas con nitrito y con nitrato de todos los lotes (Gráficas nº 63 a nº 66). También en las muestras 23 y 43, adicionadas sólo de nitrato, y en la muestra 41, elaborada con 75 mg/kg de nitrito sódico (Gráficas nº 67 a nº 69).

Sin embargo, para el nitrato, se han encontrado coeficientes de correlación más elevados, cuando su concentración residual se expresa en función de dos variables: Tiempo y nivel residual de nitrito (Gráficas nº 70 a nº 82). Esta interdependencia entre ambos aditivos señala su participación en reacciones de óxido-reducción durante la conservación de las muestras.

5.3.3.2.- Comparación entre el comportamiento individual del nitrito y del nitrato y su evolución conjunta.

Se ha utilizado el programa BMDP para estudiar, mediante un test de comparación de medias, el grado de igualdad existente entre la suma de las evoluciones individuales del nitrito y del nitrato y su evolución conjunta en las salchichas elaboradas en planta piloto.

En cada lote se considera el comportamiento temporal de los niveles residuales tanto de nitrito, como de nitrato y de la suma de ambos (total), en los casos de nitrificación mixta (formulación 4), y se compara con el que resulta de sumar los niveles correspondientes encontrados en los casos de nitrificación sólo con nitrito (12, 22, 31 y 41) y sólo con nitrato (13, 23, 33 y 43).

Con un nivel de confianza del 99% , se ha obtenido igualdad en todos los casos considerados , a excepción de los correspondientes al lote 2. Los valores de los parámetros estadísticos obtenidos se recogen en la Tabla nº 30.

Las Gráficas nº 83 a nº 94 reflejan claramente los resultados obtenidos en este estudio. En ellas se puede observar el gran paralelismo existente entre la evolución de los niveles residuales tanto de nitrito, como de nitrato y de la suma de ambos, en la formulación 4, y la evolución suma de estos mismos niveles en las formulaciones elaboradas sólo con nitrito y sólo con nitrato, para los tres lotes en los que se ha comprobado la existencia de igualdad.

La presencia de niveles considerables de nitrito en las muestras 14 (125 mg/kg) y 24 (250 mg/kg), parece ser la responsable de que la disminución de los niveles de nitrato en los lotes correspondientes (1 y 2), se vea retardada respecto a lo ocurrido en los casos de adición individual de estos conservadores (Gráficas nº 84 y nº 87). Sin embargo, esta diferencia sólo resulta estadísticamente significativa para el lote 2.

A la vista de estos resultados se podría concluir que en la nitrificación mixta de las salchichas elaboradas en

planta piloto, el nitrato adicionado ha sido utilizado de la misma forma que en ausencia de nitrito, siempre que los niveles adicionados de este último hayan sido inferiores a 250 mg/kg. La utilización de esta concentración en el lote 2, parece relegar el papel del nitrato hasta que el nitrito residual comienza a desaparecer.

5.3.3.3.- Comparación de las salchichas comerciales con las experimentales.

Se han estudiado las similitudes y diferencias existentes entre la evolución experimentada por los niveles residuales de aditivos nitrificantes en las salchichas comerciales y las salchichas elaboradas en planta piloto.

Las marcas comerciales 1 y 2, curadas sólo con nitrito, se han comparado con aquellos modelos de laboratorio en los que también se ha empleado este agente nitrificante, es decir, con las muestras 12, 22, 31, 32 , 41 y 42.

Las marcas comerciales 3 y 4, en cuya elaboración se utilizan nitrato y nitrito, según se indica en sus respectivos envases, se han comparado con las salchichas

sometidas a nitrificación mixta, es decir, con las muestras 14, 24, 34 y 44.

Los valores de los parámetros estadísticos se recogen en las Tablas nº 31 y nº 32.

Los niveles residuales tanto de nitrito, como de nitrato y la suma de ambos en las salchichas de la firma comercial 1 se comportan igual ($p > 0,01$), que los correspondientes niveles encontrados en la muestra 12, elaborada con 125 mg NaNO_2/kg . También existe igualdad entre la evolución del nitrito residual en esta marca y las muestras 41 y 42, elaboradas con 75 y 250 mg NaNO_2/kg , respectivamente. Sin embargo, el comportamiento del nitrato es diferente en estos casos. Puesto que el nitrato residual procede de la oxidación del nitrito, se podría considerar que las salchichas pertenecientes a la marca comercial 1 se han elaborado con una cantidad de nitrito próxima a 125 ppm.

La evolución del nitrito residual en la marca 2 es comparable a la de la muestra 42, adicionada de 250 mg NaNO_2/kg ($p > 0,01$).

Respecto a las salchichas curadas con mezcla de nitrito y nitrato, no se han encontrado semejanzas entre la marca comercial 3 y ninguna de las formulaciones

elaboradas en planta piloto. Sin embargo, la evolución del nitrato en las salchichas pertenecientes a la marca 4, es comparable ($p > 0,01$), a la de las muestras 14, 34, y 44. La suma de nitrito y nitrato residuales evoluciona en esta marca de la misma forma que en las muestras elaboradas con 75 mg de NaNO_2/kg y 200 mg de KNO_3/kg (34 y 44). Los bajos contenidos de nitrito residual encontrados en las salchichas de esta firma comercial nos llevan a pensar que en su elaboración se han podido utilizar estas concentraciones de aditivos nitrificantes, si bien la acidez observada en estas muestras hace que el nitrito escape a la detección analítica antes que en las salchichas experimentales.

6.-CONCLUSIONES

6.- CONCLUSIONES

Del estudio de los resultados obtenidos, y basándonos en las consideraciones expuestas en la discusión de los mismos, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

A/ Salchichas comerciales

1º/ Durante el periodo de vida útil de las salchichas comerciales la concentración de nitrito residual disminuye más de un 50%, y se ha comprobado una correlación lineal, con un coeficiente superior a 0,9, entre el logaritmo neperiano de dicha concentración y el tiempo de conservación. No se observa este comportamiento cuando el nivel inicial de nitrito es muy bajo.

2º/ En las salchichas en cuyo envase figura el nitrito, como único agente nitrificante, se detecta la presencia de nitrato en cantidades que, inicialmente, suponen alrededor del 50% del total de sales nitrogenadas. La evolución del nitrato durante la conservación se define en función de la concentración de nitrito y del tiempo, con un coeficiente

de correlación superior a 0,7.

3º/ El contenido global de sales nitrificantes , durante el periodo de estudio, disminuye en torno al 25% en los productos curados con nitrito, independientemente de la cantidad inicial encontrada de este aditivo.

4º/ Cuando la participación del nitrito en la nitrificación mixta no es significativa, el total de sales disminuye rápidamente por la utilización del nitrato, mientras que permanece estable ante una mayor presencia del nitrito.

B/ Salchichas experimentales

Método analítico

5º/ La extracción de sales nitrificantes de la pasta fina se ve favorecida por el tratamiento de la misma con sulfato sódico anhidro, como agente disgregante.

Tratamiento tecnológico

6º/ En las salchichas curadas con nitrito se produce una pérdida del mismo comprendida entre un 5 y un 12% durante la etapa previa al tratamiento térmico. Así mismo, se observa una oxidación a nitrato en relación inversamente

proporcional a la cantidad de nitrito incorporada a las distintas formulaciones.

7º/ En el proceso de elaboración, la pérdida total de sales nitrificantes ha sido del $36,75 \pm 11,64$ % en las salchichas curadas con nitrito, del $43,32 \pm 11,01$ % en las tratadas con nitrato, y del $39,29 \pm 6,04$ % cuando se emplea la nitrificación mixta, siendo la fase de escaldado la responsable de la mayor parte de estas pérdidas.

8º/ En las formulaciones adicionadas sólo de nitrato no se detecta nitrito residual en las diferentes etapas del proceso de elaboración.

Periodo de conservación

9º/ La evolución del nitrato procedente de la oxidación del nitrito adicionado se puede expresar, igual que en las muestras comerciales, en función de dos variables, tiempo y nitrito residual, con un coeficiente de correlación superior a 0,7.

10º/ La adición de extracto de humo a las salchichas provoca un descenso brusco del nitrito y nitrato residual cuando estos aditivos se utilizan individualmente.

11º/ No se ha encontrado correlación lineal significativa

entre la pérdida de nitrito y el tiempo de conservación en las distintas formulaciones elaboradas únicamente con este aditivo.

12º/ En todas las formulaciones en las que se utiliza la nitrificación mixta la evolución en el tiempo de la concentración total de sales, expresada como logaritmo neperiano, es lineal. El coeficiente de correlación se aproxima más a la unidad cuanto mayor es la cantidad de nitrito adicionada.

13º/ La evolución de las sales nitrificantes presenta el mismo comportamiento ($p > 0,01$) cuando éstas se emplean conjunta o individualmente, siempre que la cantidad de nitrito sódico adicionada sea inferior a 250 mg/kg.

C/ Relación entre salchichas comerciales y experimentales

14º/ Del comportamiento experimentado por las sales nitrificantes en las salchichas comerciales y en las elaboradas en planta piloto, curadas sólo con nitrito, se deduce que la cantidad empleada en la elaboración de las marcas 1 y 2 ha sido próxima a 125 y 250 mg/kg de NaNO_2 , respectivamente ($p > 0,01$).

15º/ Las sales nitrogenadas en la marca 4 experimentan

una evolución comparable al de las salchichas elaboradas con 75 mg/kg de nitrito sódico y 200 mg/kg de nitrato potásico ($p > 0,01$). No se observan semejanzas entre la marca 3 y ninguno de los modelos experimentales.

16º/ Por todo lo anteriormente descrito, cabe pensar que el comportamiento de las sales nitrificantes, en un medio cárnico homogéneo, no es tan imprevisible como cabría pensar dada su elevada reactividad química, ya que se ha conseguido expresar su evolución en el tiempo mediante un mismo tipo de ecuación matemática, en la mayoría de los casos estudiados.

7.-BIBLIOGRAFÍA

7.- BIBLIOGRAFIA

AMO VISIER, A. (1980). "Industria de la carne. Salazones y chacinería". Ed. Aedos, Barcelona.

ANDO, N. (1974). "Some compounds influencing colour formation". En: Krol, B. y Tinbergen, B.J. (Eds) (1974), pp. 149-160.

ANDO, N. y NAGATA, Y. (1970). "Effects of some fractions of porcine muscle on the behavior of nitrite and the formation of cooked cured meat color". 16th European Meet. Meat Res. Workers, Varna, pp. 859-878.

ANDO, N.; OHASHI, T. e ITO, T. (1973). "Some observations on the waterholding capacity of meat". 19th European Meet. Meat Res. Workers, Paris, pp. 1431-1445.

ARCHER, M.C. (1984). "Catalysis and inhibition of N-nitrosation reactions". En: "N-nitroso Compounds: Ocurrence, Biological Effects and Relevance to Human Cancer". I.K. O'Neill, R.C. von Borstel, C.T. Miller, J.

Long y H. Bartsch. (eds.) ,International Agency for Research on Cancer (I.A.R.C.), Lyon, France, Pub. No. 57, p. 263.

ARCHER, M.C. ; CLARK, S.D. ; THILLY, J.E. y TANNENBAUM, S.R. (1971). "Environmental nitroso compounds: "Reaction of nitrite with creatine and creatinine". Science, 174, 1341.

ARMIJO, R. y COULSON, A.H. (1975). "Epidemiology of stomach cancer in Chile: The role of nitrogen fertilisers". Int. J. Epimiology, 4, 301-310.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (1990) "Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.", Vol.II. 15ª ed. Kenneth Helrich (ed.), Arlington, Virginia, p. 931.

BADUI DERGAL, S. (1981). "Química de los alimentos". Ed. Alhambra Mexicana, Méjico.

BAILEY, M.E.; DUPUY, H.P. y LEGENDRE, M.G. (1980). "Undesirable meat flavour and its control". En: "The analysis and control of less desirable flavours in foods and beverages". Charalambous, G. (ed.), Academic Press, New York, pp. 31-52.

BAILEY, M.E. y SWAIN, J.W. (1973). "Influence of nitrite on meat flavour". Proc. Meat Ind. Res. Conf., American Meat Institute, Chicago, pp. 29-45.

BARTHOLOMEW, B. y HILL, M.J. (1984). "The pharmacology of dietary nitrate and the origin of urinary nitrate". Fd. Chem. Toxicol., 22, 789-795.

BELLO, J.; GOROSPE, O. y SÁNCHEZ-MONGE, J.M. (1988). "Estudio químico de la formación del color en derivados cárnicos tratados por el calor, en función de la tecnología aplicada". Anal. Bromatol., XL-1, 121-131.

BENDALL, J.R. (1954). "The swelling effect of polyphosphates on lean meat". J. Sci. Food Agric., 5, 468-475.

BENEDICT, R.C. (1980). "Biochemical basis for nitrite-inhibition of Clostridium botulinum in cured meat". J. Food Protection, 43, 877-891.

BINKERD, E.F. y KOLARI, O.E. (1975), "The History and use of nitrate and nitrite in the curing of meat". Fd. Cosmet. Toxicol., 13, 6, 655-661.

BODWELL, C.E. y McCLAIN, P.E. (1976). "Proteínas". En: "Ciencia de la carne y de los productos cárnicos". Price,

J.F. y Schweigert, B.S. (eds.) Ed. Acribia, Zaragoza.

BORENSTEIN, B. (1976). "Potentiation of the ascorbate effect in cured meat pigment development". J. Food Sci., 41, 1054.

BOSCH BOSCH, N. (1985). "Nitratos y nitritos en productos vegetales y sus modificaciones por la cocción". Tesis doctoral, Facultad de Farmacia, U.C.M., Madrid.

BOYLAND, E.; NICE, E.; y WILLIAMS, K. (1971).. "The catalysis of nitrosation by thiocyanate from saliva". Food Cosmet. Toxicol., 9, 639.

BOYLAND, E. y WALKER, S.A. (1975). "Thiocyanate catalysis of nitrosamine formation and some dietary implications". International Agency for Research on Cancer (I.A.R.C.), Lyon, France, 9, 132.

BRIMBLECOMBE, P. y STEDMAN, D.H. (1982). "Historical evidence for a dramatic increase in the nitrate component in acid rain". Nature, 298, 460-462.

BROOKS, J.; HAINES, R.B.; MORAN, T. y PACE, J. (1940). "The function of nitrate, nitrite and bacteria in the curing of bacon and hams". Food Invest. Bd. Spec. Rept. No. 49, HMSO, London.

BROWN, C.L., HEDRICK, H.B. y BAILEY, M.E. (1974). "Characteristics of cured ham as influenced by levels of sodium nitrite and sodium ascorbate". J. Food. Sci., 39, 977-979.

BUTLER, S.J. (1980). "USDA's role and plans regarding use of nitrite in cured meats". Food Technol., may, 252-253.

CALMELS, S.; OHSHIMA, H.; VINCENT, P.; GOUNOT, A.M. y BARTSCH, H. (1985). "Screening of microorganisms for nitrosation catalysis at pH 7 and kinetics studies on nitrosamine formation from secondary amines by E. coli strains". Carcinogenesis, 6, 911-915.

CARRASCO, T.V. (1992). "El consumo de carne en España y su evolución". Eurocarne, II, 9, 40-43.

CASSENS, R.G. (1990). "Nitrite-cured meat. A food safety issue in perspective". Food & Nutrition Press Inc., USA.

CASSENS, R.G.; GREASER, M.L.; ITO, T. y LEE, M. (1979). "Reactions of Nitrite in Meat". Food Technol., July, 46-57.

CASSENS, R.G.; WOOLFORD, G.; LEE, S.H. y GOUTEFONGEA, R. (1977). "Fate of nitrite in meat". En: Tinbergen, B.J. y Krol, B. (Eds) (1977).

CAVETT, J.J. (1962), "The microbiology of vacuum-packed sliced bacon". J. Appl. Bact., 25, 282-289.

CERVENY, J.G. (1980). "Effects of changes in the production and marketing of cured meats on the risk of botulism". Food Technol., 34, 5, 240-243.

CHALLIS, B.C. y CHALLIS, J.A. (1982). "N-Nitrosamines and N-nitrosoimines". En: "The Chemistry of Amino, Nitroso and Nitro-compounds and their Derivatives", Ed. S. Patai, Wiley, New York, p. 1151.

CHEAH, K.S. (1976). "Formation of nitrosylmyoglobin in bacon involving lactate deshydrogenase". J. Food Technol., 11, 181.

CHO, I.C. y BRATZLER, L.J. (1970). "Effect of sodium nitrite on flavour of cured pork". J. Food Sci., 35, 668-670.

CHRISTIANSEN, L.N.; JONHSTON, R.W.; KAUTTER., D.A.; HOWARD, J.W. y AUNAN, W.J. (1973). "Effect of nitrite and nitrate on toxin production by Clostridium botulinum and on nitrosamine formation in perishable canned comminuted cured meat". Appl. Microbiol., 25, 357.

CHRISTIANSEN, L.N.; TOMPKIN, R.B. y SHAPARIS, A.B. (1978). "Fate of Clostridium botulinum in perishable canned cured meat at abuse temperature". J. Food Protection, 41, 354-355.

CHRISTIANSEN, L.N.; TOMPKIN, R.B. ; SHAPARIS, A.B.; JOHNSTON, R.W. y KAUTTER, D.A. (1975). "Effect of sodium nitrite and nitrate on Clostridium botulinum growth and toxin production in a Summer style sausage". J. Food Sci, 40, 488.

CHRISTIANSEN, L.N.; TOMPKIN, R.B. ; SHAPARIS, A.B.; KUEPER, T.V.; JOHNSTON, R.W.; KAUTTER, D.A. y KOLARI, O.J. (1974). "Effect of sodium nitrite on toxin production by Clostridium botulinum in bacon". Appl. Microbiol., 27, 733.

CHRISTY, M.; BROWN, J.R. y SMITH, G.R. (1973). "Nitrate in soils and plants". Science & Technology Guide, University of Missouri, Columbia Extension Division.

CODE DE LA CHARCUTERIE, DE LA SALAISON ET DES CONSERVES DE VIANDES (Réglementation et usages) (1980). Ed. Centre Technique de la Salaison, de la Charcuterie et des conserves de viandes. 2ª ed., Francia.

CONCON, J.M. (1988). "Food Toxicology. Principles and Concepts". Part. A. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, p. 642.

CUSTOT, F.; LOUIS, H. y LAPEYRIE, R. (1976). "Nitrates et nitrites dans quelques produits de charcuterie du commerce". Ann. Nutr. Alim., 30, 5-6, 751-757.

DORDEVIC, V.; BUKOLIC, S.; PINTARIC, V.; POSPISIL, A. y HAK, D. (1980). "Investigation into the possibility of reducing the contents of nitrites in sausages and ground meat preserves". Technologija Mesa, 21, 11, 316-319.

DURAND, P; ROSSET, R. y VENDEUVRE, J.L. (1988). "Charcutería industrial, salazones, platos cocinados y productos derivados de la carne". En: "Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias". Multon, J.L. (ed.), Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 475-530.

DURAND, P. y VENDEUVRE, J.L. (1980). "Teneurs résiduares en nitrites et nitrates des produits cuits français". Ann. Nutr. Alim., 34, 1019-1024.

ELLERKAMP, M. y HANNERLAND, H. (1952). "Permissibility of polymerized phosphates in sausage meat". Dtsch. Lebensmitt. Rdsch., 48, 32-37.

FAN, T.Y. y TANNENBAUM, S.R. (1973). "Natural inhibitors of nitrosation reactions: The concept of available nitrite". J. Food Sci., 38, 1067.

FENNEMA, O. (1977). "Water and protein hydration". En: "Food Proteins". Whitaker, J.R. y Tannenbaum, S.R. (eds.), Avi. Publishing Co. Westport, Conn., EE.UU., pp. 50-90.

FIDDLER, W.; PENSABENE, J.W.; PIOTROWSKI, E.G.; PHILLIPS, J.G.; KEATING, J.; MERGENS, W.J. y NEWMARK, H.L. (1978). "Inhibition of formation of volatile nitrosamines in fried bacon by the use of cure-solubilized α -tocopherol". J. Agr. Food Chem., 26, 653.

FIDDLER, W.; PIOTROWSKI, E.G.; PENSABENE, J.W. y WASSERMAN, A.E. (1972). "Some current observations on the occurrence and formation of N-nitrosamines". 18th European Meet. Meat Res. Workers, Guelph, Canada.

FINE, D.H.; ROSS, R.; ROUNBEHLER, D.P.; SILVERGLEID, A. y SONG, L. (1977). "Formation in vivo of volatile N-nitrosamines in man after ingestion of cooked bacon and spinach". Nature, 265, 753-755.

FLORES, J. y BERMELL, S. (1984). "Propiedades funcionales de las proteínas miofibrilares: capacidad de retención de agua". Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 24 (2), 151-158.

FOX, J.B. (1966). "The chemistry of meat pigments". J. Agr. Food Chem., 14, 207.

FOX, J.B. y ACKERMAN, S.A. (1968). "Formation of nitric oxide myoglobin: Mechanisms of the reaction with various reductants". J. Food Sci., 33, 364.

FOX, J.B y THOMSON, J.S. (1963). "Formation of bovine nitrosylmyoglobin. I. pH 4.5-6.5". Biochemistry, 2, 465.

FRENTZ, J.C. y MIGAUD, M. (1976). "La charcuterie cuite". Ed. Soussana, Francia.

FREUND, H.A. (1937). "Clinical manifestations and studies in parenchymatous hepatitis". Ann. Inter. Med. 10 , 1144-1155. Citado por: CONCON, J.M. (1988).

FRITSCH, P. y SAINT BLANQUAT DE, G. (1990). "Nitratos-Nitritos-Nitrosaminas". En: "Toxicología y Seguridad de los alimentos" J. Derache (coord.), Ed. Omega, Barcelona, pp. 238-247.

FROUIN, A. (1977). "Nitrates and nitrites: Reinterpretation of analytical data by means of bound nitrous oxide". En: Tinbergen, B.J. y Krol, B. (Eds.) (1977).

FROUIN, A.; JONDEAU, D.; BIDARD, J-P. y JOANNES, M. (1980). "Dosage des nitrates et des nitrites dans les produits animaux". Ann. Nutr. Alim., 34, 5-6, 765-778.

FROUIN, A.; JONDEAU, D. y THENOT, M. (1975). "Etude sur l'état et la disponibilité du nitrite dans les produits de viande pour la formation de nitrosamines". 21st European Meet. Meat Res. Workers, Berne, Switzerland.

FUJIMAKI, M.; EMI, M. y OKITANI, A. (1975). "Fate of nitrite in meat-curing model systems composed of myoglobin, nitrite and ascorbate". Agr. Biol. Chem. 39, 371.

GANDEMER, G.; GIRARD, J.P. y TOURAILLE, C. (1982). "Le cuttérage sous vide son bien fondé technologique". Industries alimentaires et agricoles, 99 (5), 321-324.

GARCÍA MATA, M. (1985). "Nitratos y nitritos residuales en embutidos (chorizo). Influencia de los tratamientos culinarios en su contenido". Tesis doctoral. Facultad de Farmacia. U.C.M., Madrid.

GIBSON, A.M.; BRATCHELL, N. y ROBERTS, T.A. (1988). "Predicting microbial growth: growth responses of salmonellae in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature". Int. J. Food

Microbiology, 6, 155-178.

GIBSON, A.M.; ROBERTS, T.A. y ROBISON, A. (1984). "Factors controlling the growth of Clostridium botulinum types A and B in pasteurized cured meats VI. Nitrite monitoring during storage of pasteurized pork slurries". J. Food Technol., 19, 29-44.

GIBSON, Q.H. (1943). "The reduction of methaemoglobin by ascorbic acid". Biochem.J. 37, 615-618.

GIRARD, J.P. (1991). "El ahumado". En: "Tecnología de la carne y de los productos cárnicos". Girard, J.P. (ed.), Ed. Acribia, Zaragoza, p. 194.

GIRARD, J.P. y CALDERÓN, F. (1983). "Productos cárnicos picados. Emulsiones cárnicas o pastas finas". Rev. Agroquim. Technol. Aliment., 23 (3), 291-302.

GIRARD, J.P. y RENERRE, M. (1983). "Les altérations chimiques occasionnées par le cuttérage de la viande: les moyens d'y rémédier". Sciences des Aliments, 3, 37-52.

GOUTEFONGEA, R. (1969). "Etude du pouvoir de rétention d'eau de la viande de porc. II-Influence du calcium et du magnésium". Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 9, 117-122.

GOUTENFONGEA, R. (1980). "Influence du taux de nitrite résiduel et des conditions d'emballage sur la stabilité de la couleur du jambon cuit". 26th European Meet. Meat Res. Workers, Colorado Springs.

GOUTENFONGEA, R. (1991). "La Salazón". En: "Tecnología de la carne y de los productos cárnicos". Girard, J.P. (ed.), Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 125-149.

GOUTEFONGEA, R.; CASSENS, R.G. y WOOLFORD, G. (1977). "Distribution of sodium nitrite in adipose tissue during curing". J. Food Sci. 42, 1637.

GOUTEFONGEA, R.; RENERRE, M. y VALIN, C. (1974). "Contribution à l'étude de la fixation du nitrite aux myofibrilles du muscle de porc". 20th European Meet. Meat Res. Workers, Dublin.

GRAY, J.I. y DUGAN, L.R. jr. (1975) "Formation of N-Nitrosopyrrolidine from proline and collagen". J. Food Sci., 40, 484.

GRAY, J.I.; McDONALD, B.; PEARSON, A.M. y MORTON, I.D. (1981). "Role of nitrite in cured meat flavour: a review". J. Food Protection, 44, 302-312.

GRAY, J.I. y RANDALL, C.J. (1979). "The nitrite/N-nitrosamine problem in meats: An update". J. Food Protection, 42, 168.

GREENBERG, R.A. (1973a). "Nitrite in the control of Clostridium botulinum". Proc. Meat. Ind. Res. Conf., American Meat Institute, Chicago, p. 25.

GREENBERG, R.A. (1973b). "The effects of nitrite on botulinal toxin formation in bacon". Proc. Meat. Ind. Res. Conf., American Meat Institute, Chicago, p. 69.

GREENE, B.E. y PRICE, L.B. (1975) "Oxidation-induced color and flavor changes in meat". J. Agr. Food Chem., 23, 164-167.

GRINDLEY, H.S. (1929). "The influence of potassium nitrate on the action of bacteria and enzymes". Studies in Nutrition, Univ. of Illinois, Urbana, Ill., 2, 359.

GUBLER, D. y VERNONIS, M. (1972). "Nouvelles techniques de fumage". Industries Alimentaires et Agricoles, LXXXIX, 5, 621-624.

GUYTON, A.C. (1984). "Tratado de Fisiología Médica". 6ªed, Ed. Interamericana, Madrid, p. 922.

HALDANE, J. (1901). "The red color of salted meat".
J. Huq. Camb., 1, 115.

HAMM, R. (1960). "Biochemistry of meat hydratation". Adv. Food Res., 10, 355-463.

HAMM, R. (1971). "Interactions between phosphates and meat proteins". En: "Phosphates in food processing". J.M. Deman y P. Melnychyn, Ph. D. (eds.), Avi Publishing Co. Inc. Westport, Conn., EE.UU.

HAMM, R. (1972). "Chimie colloïdale des viandes". Ed. Parey, Berlin.

HAMM, R. (1973). "Die Bedeutung des Wasserbindungsvermögens des Fleisches bei der Brühwurstherstellung". Die Fleischwirtschaft, 1, 73-81.

HAMM, R. (1975). "Water-holding capacity of meat". En: "Meat". Cole, D.J.A. y Lawrie, R.A. (eds.), Butterworths, London.

HAMM, R. (1982). "Sobre la capacidad de la carne para ligar agua". Die Fleischerei, 9-VII.

HAMMER, G.F. (1992). "Sustancias aditivas y aditivos". En: "Tecnología de los embutidos escaldados". Wirth, F. (ed.),

Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 83-105.

HANNAN, R.S. (1981). "Use of nitrite as a preservative in British meat products". Proc. Inst. Food Sci. and Technology, 14, 8-14.

HARTMAN, P.E. (1982). "Nitrates and nitrites: ingestion, pharmacodynamics and toxicology". En: "Chemical Mutagens", Vol. 7, F.J. de Serres y A. Hollander (eds.), Plenum, pp. 211-293.

HAUSCHILD, A.H.W. (1982). "Assessment of botulism hazards from cured meat products". Food Technol., 36, 95-104.

HAUSCHILD, A.H.W.; HILSHEINER, R.; JARVIS, G. y RAYMOND, D.P. (1982). "Contribution of nitrite to the control of Clostridium botulinum in liver sausage". J. Food Protection, 45, 500-506.

HERRING, H.K. (1973). "Effect of nitrite and other factors on the physico-chemical characteristics and nitrosamine formation in bacon". Proc. Meat Ind. Res. Conf. American Meat Institute, Chicago, pp. 47-60.

HIBBS, J.B.; READ,, J.R.; TAINTOR, R. y VAVRIN, Z. (1987). "Macrophage cytotoxicity: role of L-arginine deaminase and imino/nitrogen oxidation to nitrite". Science, 235,

473-476.

HILDRUM, K.I; WILLIAMS, J.L. y SCANLON, R.A. (1975). "Effect of sodium chloride concentration on the nitrosation of proline at different pH levels". J. Agr. Food Chem., 23, 439.

HILL, M.J. (1991). "Nitrates and nitrites in food and water in relation to human disease". En: "Nitrates and nitrites in food and water". Ed. M.J. Hill, Ellis Horwood, Chichester, Londres, pp. 163-193.

HILL, M.J.; HAWKSWORTH, G.M. y TATTERSALL, G. (1973). "Bacterial, nitrosamines and cancer of the stomach". Brit. J. Cancer, 28, 562-567.

HOAGLAND, R. (1908). "The action of saltpeter upon the color of meat". U.S. Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry, 25th Ann. Rept. p. 301, Washington, D.C.

HORNSEY, H.C. (1956). "The color of cooked cured pork. I. Estimation of nitric oxide-haempigments". J. Sci. Food Agric., 7, 534.

HUSTAD, G.O.; CERVENY, J.G.; TRENK, H.; DEIBEL, R.H.; KAUTTER, D.A.; FAZIO, T.; JOHNSTON, R.W.; y KOLARI, O.E. (1973). "Effect of sodium nitrite and sodium nitrate on

botulinal toxin production and nitrosamine formation in wieners". Appl. Microbiol., 26, 22.

IFT (1987). Institute of food technologist' expert panel on food safety and nutrition. "Nitrate, nitrite and Nitroso Compounds in Foods". Scientific Status Summary. Food Technol., 41, 4, 127-136.

IGENE, J.O.; KING, J.A.; PEARSON, A.M. y GRAY, J.I. (1979). "Influence of Heme Pigments, Nitrite and Non-Heme Iron on Development of Warmed-over Flavor (WOF) in cooked Meat". J. Agric. Food Chem., 27, 4, 838-842.

IGLESIAS, E.; LEIS, J.R. y PEÑA, M.E. (1984). "Implicaciones biológicas de los N-Nitroso compuestos como cancerígenos ambientales". Alimentaria, 151, 45-50.

INGRAM, M. (1974). "The microbiological effects of nitrite". En: Krol, B. y Tinbergen, B.J. (Eds.) (1974), pp. 63-75.

INGRAM, M. (1976). "The microbiological roles of nitrite in meat products". En: "Microbiology in Agriculture, Fisheries and Food". F.A. Skinner y J.G. Carr (eds.). Society for Applied Bacteriology Symposium Series No. 4, Academic Press, London, pp. 1-18.

ITO, T.; CASSENS, R.G. y GREASER, M.L. (1979). "Reaction of nitrite with tryptophyl residues of protein". J. Food Sci. , 44, 1144.

ITO, T.; CASSENS, R.G.; GREASER, M.L.; LEE, M. e IZUMI, K. (1983). "Lability and Reactivity of Nonheme Protein-Bound Nitrite". J. Food Sci., 48 (4), 1204-1207.

IZUMI, K.; CASSENS, R.G. y GREASER, M.L. (1980). "Effects of pH and heating on reaction of nitrite with cytochrome C". 26th European Meet. Meat Res. Workers, Colorado Springs, M7.

JAUBERT, J.N. (1988). "Aromatizantes y modificadores del flavor". En: "Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias". Multon, J.L(ed.), Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 237-256.

KEEFER, L.K. (1976). "Promotion of N-nitrosation reactions by metal complexes". International Agency for Research on Cancer (I.A.R.C.) Lyon, France, 14, 153.

KERR, R.H.; MARSH, C.T.N., SCHROEDER, W.F. y BOYER, E.A. (1926). "The use of sodium nitrite in curing meat". J. Agric. Res., 33, 541.

KIM, Y.K.; TANNENBAUM, S.R. y WISHNOK, J.S. (1981). "Effects of ascorbic acid on the nitrosation of dialkyl amines". En: "Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses", P.A. Seib y B.M. Tolbert (eds.), Advances in Chemistry 200, Am. Chem. Soc., Washington, DC., p. 571.

KISSKALT, K. (1899). "Beitrage zur Kenntnis der Ursachen des Rotwerdens des Fleisches beim Kochen, nebst einigen Versuchen über die Wirkung der schwefligen Säure auf die Fleischfarbe". Arch. Hyg. Bakt., 35, 11.

KLETTNER, P.C. y AMBROSIADIS, Y. (1980). "Einfluss Verschiedener Kutter-und Fiilltechniken anf Qualitätsparameter bei Brühwurst". Die Fleischwirtschaft, 60, 11.

KNOWLES, M.W.; McWEENEY, D.J.,; COUCHMAN, L. y THOROGOOD, M. (1974). "Interaction of nitrite with protein at gastric pH". Nature, 247, 288.

KOIZUMI, C. y BROWN, W.D. (1971). "Formation of nitric oxide myoglobin by nicotinamide adenine dinucleotides and flavins". J. Food Sci., 36, 1, 105.

KROL, B. Y TINBERGEN, B.J. (Eds.) (1974). "Proceedings of the International Symposium on Nitrite in Meat Products". Zeist, 1973, Pudoc, Wageningen, The Netherlands.

KUBBERØD, G.; CASSENS, R.G. y GREASER, M.L. (1974).
"Reaction of nitrite with sulfhydryl groups of myosin". J. Food Sci., 39, 1228-1230.

KUO, J.C.; YUAN, C.K.R.; LEE, F.L. y EHIN, CH. (1986).
"Vacuum packaged Chinese sausage as influenced by different fat and nitrite levels". Food Science, China, 13, 1/2, 21-31.

KUROSUKY, A. y HOFMANN, T. (1972). "Kinetics of the reaction of nitrous acid with model compounds and proteins, and the conformational state of N-terminal groups in the chymotrypsin family". Can. J. Biochem., 50, 1282.

LAWRIE, R.A. (1967). "Ciencia de la carne". Ed. Acribia, Zaragoza.

LEACH, S.A. (1988). "Mechanisms of endogenous N-nitrosation". En : "Nitrosamines: Toxicology and Microbiology". M.J. Hill (ed.), VCH Publishers, Cambridge, p. 69.

LEACH, S.A.; CHALLIS, B.; COOK, A.R.; HILL, M. y THOMPSON, M. (1985). "Bacterial catalysis of the N-nitrosation of secondary amines". Trans. Biochem. Soc., 13, 380-381.

LEACH, S.A.; COOK, A.R.; CHALLIS, B.C.; HILL, M.J. y THOMPSON, M.H. (1987a). "Bacterially mediated N-nitrosation reactions and endogenous formation of N-Nitroso compounds". En: "The Relevance of N-nitroso Compounds to Human Cancer: Exposure and Mechanisms". Eds. H.Bartsch, I. O'Neill y R. Schulte-Herman, I.A.R.C. Scientific Publication 84, Lyon, France, p. 396.

LEACH, S.A; THOMPSON, M.H. y HILL, M.J. (1987b). "Bacterially catalysed N-nitrosation reactions and their relative importance in the human stomach". Carcinogenesis, 8, 1907-1912.

LEAF, C.D.; WISHNOK, J.S.; HURLEY, J.P.; ROSENBALD, W.D; FOX, J.G. y TANNENBAUM, S.R. (1990). "Nitrate biosynthesis in rats, ferrets and humans. Precursor studies with L-arginine". Carcinogenesis, 11, 855-858.

LEE, M. y CASSENS, R.G. (1980). "The effects of sodium chloride on residual nitrite". J. Food Sci., 45, 267-269.

LEE, M.; CASSENS, R.G. y FENNEMA, O.R. (1981). "Effect of metal ions on residual nitrite". Journal of Food Processing and Preservation., 5, 191-205.

LEE, SH. y CASSENS, R.G. (1976). "Nitrite binding sites on myoglobin". J. Food Sci., 41, 969.

LEE, SH., CASSENS, R.G. y FENNEMA, O.R. (1976). "Effect of muscle type on residual nitrite in cured meat". J. Food Sci., 41, 100.

LEE, SH., CASSENS, R.G.; WINDER, W.C. y FENNEMA, O.R. (1978). "Factors affecting the formation of nitrate from added nitrite in model systems and cured meat products". J. Food Sci., 43, 673.

LEHMAN, K.B. (1899). "Über das haemorrhodin, ein neues weitverbreitetes Blutfarbstoffderivat" Sitzb. Physikal. Med. Ges. Würzburg. 4, 57.

LEISTNER, L. (1974). "Rapporteurs's paper: nitrites and nitrosamines in processed meats". Session G. Microbiology: 20th European Meet. Meat Res. Workers, Dublin.

LIJINSKI, W. y TAYLOR, H.W. (1977). "Feeding test in rats on mixtures of nitrite with secondary and tertiary amines of environmental importance". Food Cosmet. Toxicol., 15, 269-274.

LIN, J.K. y YEN, J.Y. (1980). "Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh vegetables during cultivation and post-harvest storage". Food Cosmet. Toxicol., 18, 597-603.

LOPEZ DE TORRE, G. y CARBALLO GARCÍA, B.M. (1991). "Manual de Bioquímica y Tecnología de la carne". Ed. A. Madrid Vicente, Madrid.

MAGEE, P.N. y BARNES, J.M. (1956). "The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine". Br. J. Cancer, 10, 114-122.

MAGEE, P.N; MONTESANO, R. y PREUSSMANN, R.(1976). "N-Nitroso compounds and related carcinogens". En: "Chemical Carcinogens". C.E. Searle (ed.). ACS Monograph 173. American Chemical Society, Washington, D.C.

MARLETTA, M.A. (1988). "Mammalian synthesis of nitrite, nitrate, nitric oxide and N-nitrosating agents". Chem. Res. Toxicol., 1, 250-257.

MASSEY, R.C. (1988). "Analysis of N-nitroso compounds in food and human body fluids". En: "Nitrosamines: Toxicology and Microbiology". M.J. Hill (ed.), VCH Publishers, Cambridge, pp. 16-47.

McDONALD, B. ; GRAY, J.I. y GIBBINS, L.N. (1980a). "Role of nitrite in cured meat flavor: Antioxydant role of nitrite". J. Food Sci., 45, 893-897.

McDONALD, B. ; GRAY, J.I.; KAKUDA, Y. y LEE, M.L. (1980b). "Role of nitrite in cured meat flavor: Chemical analysis". J. Food Sci., 45, 889-892.

MILLER, S.A. (1980). "Balancing the risks regarding the use of nitrites in meats". Food Technol., may, pp. 254-257.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN (1991). "Consumo Alimentario en España 1990". Tomo I. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica.

MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO (1982). Orden de 16 de Septiembre de 1982 por la que se aprueban las normas de identidad y pureza de los aditivos conservadores autorizados para uso en la elaboración de diversos productos alimenticios. ("B. O. del Estado" núm. 242, de 9 de octubre de 1982).

MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO (1985). Secretaría General para el Consumo. Dirección General de Control y Análisis de la Calidad. "Análisis de alimentos". Métodos oficiales y recomendados por el Centro de Investigación y Control de la Calidad. Ed. Servicio de Publicaciones. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.

MINISTERIO DE TRABAJO, SANIDAD Y SEGURIDAD SOCIAL (1982). Resolución de 23 de enero de 1982, de la Subsecretaría para la Sanidad, por la que se aprueba la lista positiva general de aditivos autorizados en la elaboración de los productos cárnicos tratados por el calor ("B. O. del Estado" núm. 43, de 19 de febrero de 1982).

MIRNA, A. (1970). "Über die Umsetzung von Nitrit in Fleischwaren und dessen Verteilung in verschiedenen Fraktionen". 16th European Meet. Meat Res. Workers, Varna.

MIRNA, A. y CORETTI, K. (1977). "Inhibitory effects of nitrite reaction products and of degradation products of food additives". En: Tinbergen, B.J. y Krol, B. (Eds) (1977).

MIRNA, A. y HOFMANN, K (1969). "Über den Vervleib von Nitrit in Fleischwaren. I. Umsetzung von Nitrit mit sulfhydryl-Verbindungen". Fleischwirtschaft, 49, 1.361.

MIRVISH, S.S; ARNOLD, S. ; CONRAD, E.; GHADIRIAN,P.; KOMMIVENI, V.R.C.; y SAMS, J. (1975). "Formation of N-nitroso compounds, preparation of heptafluorobutryl derivatives of ureas, and fate of nitrite in the rat stomach". International Agency of Research on Cancer (I.A.R.C.), Lyon, France, 9, 67.

MIRVISH, S.S.; WALLCAVE, L.; EAGEN, M. y SHUBIK, P. (1972). "Ascorbate nitrite reaction: Possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds". Science, 111, 65.

MIWA, M.; STUEHR, D.J.; MARLETTA, M.A.; WISHNOK, J.S. y TANNENBAUM, S.R. (1987). "Nitrosation of amines by stimulated macrophages". Carcinogenesis, 8, 955-958.

MÖHLER, K. (1971). "Bilanz der Bildung des Pökelfarbstoffs im Muskel fleisch. II. Hitzekatalysierte Bildung des stickoxydkomplexes". Z. Lebensm. Untersuch. Forsch., 147, 123-127.

MÖHLER, K. (1974). "Formation of curing pigments by chemical, biochemical or enzymatic reactions". En: Krol, B. y Tinbergen, B.J. (Eds.) (1974), pp. 13-19.

MÖHLER, K. (1980). "El ahumado". Colección: "Ciencia y Tecnología de la carne. Teoría y práctica". Ed. Acribia, Zaragoza.

MÖHLER, K.; MAYRHOFER, O.L.,; y HALLEIMAYER, E. (1975). "Possible mechanisms of nitrosamine formation in food and animal feeding stuffs". International Agency for Research on Cancer (I.A.R.C.), Lyon, France. 9, 142.

MORRISEY, P.A. y APTE, Sh. (1988). "Influence of species, haem and non-haem iron fractions and nitrite on hexanal production in cooked muscle systems". Sciences des Aliments, 8, 1, 3-14.

MOTTRAM, D.S.; CROFT, S.E. y PATTERSON, R.L. (1984). "Volatile components of cured and uncured pork: the role of nitrite and the formation of Nitrogen compounds". J. Sci. Food Agric., 35, 233-239.

MOTTRAM, D.S. y RHODES, D.N. (1974). "Nitrite and the flavor of cured meat". En: Krol, B. y Tinbergen, B.J. (Eds.) (1974), pp. 161-171.

MÜLLER, W.D. (1992). "Embutir y ahumar". En: "Tecnología de los embutidos escaldados". Wirth, F (ed.), Ed. Acribia. Zaragoza, pp. 149-169.

MULTON, J.L. (1988). "Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias.". Ed. Acribia, Zaragoza.

NAGATA, Y. y ANDO, N. (1972). "Cooked cured meat color". Japanese J. Nutr. Foods, 25, 28.

NAKAI, H.; CASSENS, R.G.; GREASER, M.L. y WOOLFORD, G. (1978). "Significance of the reaction of nitrite with

tryptofan". J. Food Sci., 43, 1857.

NEWMARK, H.L.; OSADCA, M.; ARAUJO, M.; GERENZ, C.N. Y DE RITTER, E. (1974). "Stability of ascorbate in bacon". Food Technol., 28 (5), 28.

NORME AFNOR: NF.V. 04.409 (1974). Dètermination de la teneur en nitrites (Méthode de référence). Viandes et produits á base de viande.

NORME AFNOR: NF.V. 04.410 (1974). Dètermination de la teneur en nitrates (Méthode de référence). Viandes et produits á base de viande.

OFFER, G. y TRINICK, J. (1983). "On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils". Meat Sci., 8, 245-281.

OHSHIMA, H. y BARTSCH, H. (1981). "Quantitative estimation of endogenous nitrosation in man by monitoring N-nitrosoproline excreted in the urine". Cancer Res., 41, 3658-3662.

OLSMAN, W.J. (1974). "About the mechanism of nitrite loss during storage of cooked meat products". En: Krol, B. y Tinbergen, B.J. (Eds) (1974), pp. 129-137.

OLSMAN, W.J. y KROL, B. (1972). "Depletion of nitrite in heated meat products during storage". 18th European Meet. Meat Res. Workers, Guelph, Canada, pp. 409-415.

OSCAR MAYER CONSUMER CENTER (1988). "Nutritional Information. German Brand Frankfurters". Madison, Wisconsin.

PACKER, P.J. y LEACH, S.A. (1991). "Human exposure, pharmacology and metabolism of nitrate and nitrite". En: "Nitrates and Nitrites in food and water". Ed. M.J. Hill, Ellis Horwood , Chichester, Londres, pp. 131-155.

PACKER, P.J.; LEACH, S.A.; DUNCAN, S.N.; THOMPSON, M.H. y HILL, M.J. (1989). "The effect of different sources of nitrate exposure on urinary nitrate recovery in humans and its relevance to the methods of estimating nitrate exposure in epidemiological studies". Carcinogenesis, 10, 1989-1994.

PENSABENE, J.W.; FIDDLER, W.; FEINBERG, J. y WASSERMAN, A.E. (1976). "Evaluation of ascorbyl monoesters for the inhibition of nitrosopyrrolidine formation in a model system". J. Food Sci., 41, 199.

PENSABENE, J.W.; FIDDLER, W.; MERGENS, W. y WASSERMAN, A.E. (1978). "Effect of α -tocopherol formulations on the

inhibition of nitrosopyrrolidine formation in model systems". J. Food Sci., 43, 801.

PHILLIPS, W.E.J. (1968). "Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh and processed spinach during storage". J. Agric. Food Chem., 16, 88-91.

PIVNICK, H. y CHANG, P.C. (1974). "Perigo effect in pork". En: Krol, B. y Tinbergen, B.J. (Eds.) (1974), pp. 111-116.

POLENSKE, E. (1891). "Über den Verlust, welchen das Rindfleisch und Nahrwert durch das Pökeln erleidet, sowie über die Veränderungen salpeterhaltiger Pökellaken". Arb. Kais. Gesundh Amt., 7, 471.

PRESIDENCIA DEL GOBIERNO (1981). Orden de 5 de noviembre por la que se aprueba la norma genérica de calidad para productos cárnicos tratados por el calor. ("BOE" núm. 268, de 9 de noviembre de 1981).

PREUSSMANN, R. y TRICKER, A.R. (1988). "Endogenous nitrosamine formation and nitrate burden in relation to gastric cancer epidemiology". En: "Gastric carcinogenesis". P.I. Reed y M.J.Hill (eds.), ECP Symposium/5, Elsevier, Amsterdam, p. 147.

PUOLANNE, E.J. y TERRELL, R.N. (1983). "Effects of salt levels in prerigor blends and cooked sausages on water binding, released fat and pH". J. Food Sci., 48, 1022-1024.

REICHERT, J.E. y HOLL, J.C. (1974). "Möglichkeiten zur verbesserung der Pflanzfestigkeit von Würstchen". Die Fleischwirtschaft, 29-32.

REITH, J.E.; y SZAKALY, M. (1967). "Formation and stability of nitric oxide myoglobin. I. Studies with model systems". J. Food Sci., 32, 188-193.

RENERRE, M. y ROUGIE, P. (1979). "Influence du chauffage sur la fixation du nitrite à la myoglobine". Ann. Technol. Agric., 28, 423.

RINCÓN LEÓN, F.; ZUREA COSANO, G.; POLO VILLAR, L.M. y POZO LORA, R. (1983). "Niveles de nitrito residual en embutidos y fiambres españoles". Alimentaria, nº 148, 27-29.

ROBERTS, T.A. (1989). "Combinations of antimicrobials and processing methods". Food Technol., 43, 156-163.

ROBERTS, T.A. y DAINTY, R.H. (1991). "Nitrite and nitrate as food additives: rationale and mode of action". En:

"Nitrates and Nitrites in Food and Water". Ed. M.J. Hill, Ellis Horwood, Chichester, Londres, pp. 113-124.

ROBERTS, T.A.; GIBSON, A.M. y ROBINSON, A. (1981). "Factors controlling the growth of Clostridium botulinum types A and B in pasteurized cured meats. I. Growth in pork slurries prepared from low pH meat (pH range 5,5-6,3)". J. Food Technol., 16, 239-266.

ROBERTS, T.A. e INGRAM, M. (1973). "Inhibition of growth of Clostridium botulinum at different pH values by sodium chloride and sodium nitrite". J. Food Technol., 8, 467-475.

ROBERTS, T.A. e INGRAM, M. (1977). "Nitrite and nitrate in the control of Clostridium botulinum in cured meats: discussion". En: Tinbergen, B.J. y Krol, B. (Eds.) (1977).

ROBERTS, T.A. y THOMAS, J. (1982). "Germination and outgrowth of single spores of Clostridium botulinum and putrefactive anaerobes". J. Appl. Bacteriology, 53, 317-321.

ROLLER, P.P.; UHM, S.J.; SLAVIN, B.W. y KEEFER, L.K. (1979). "N-nitrosation by solid sodium nitrite, promotion by halo-carbon solvents and inhibition by ascorbic acid". ACS / CSJ. Chem. Congress, Honolulu, Hawaii.

ROSE, D. y PETERSON, R. (1953). "Non-bacterial reduction of nitrite in pork". Food Technol., 7, 369-372.

ROUGIE, P. y GOUTEFONGEA, R. (1981). "Devenir du nitrite dans les produits carnés saumurés". 27th European Meet. Meat Res. Workers, Wien, August 24-28th.

ROWLAND, I.R. (1988). "The toxicology of N-nitroso compounds". En: "Nitrosamines : Toxicology and Microbiology". M.J.Hill (ed.), VCH Publishers, Cambridge, pp. 117-141.

SAFFLE, R.L. y GALBREATH, J.W. (1964). "Quantitative determination of salt soluble proteins in various type of meat". Food Technol., 18, 119-120.

SAINT-BLANQUAT DE, G. (1980). "Aspects toxicologiques et nutritionnels des nitrates et des nitrites". Ann. Nutr. Alim., 34, (5-6), 827-864.

SALEM, F.A.; ABC-EL-BAKI, M.N.; EL-MANAWATY, H.K.; EL-DASHLOUTY, A.A.; ASKAR, A.A. y KHAZBAK, A.I. (1984). "Effect of nitrate level on the chemical and microbiological properties of sausage during storage". Proc. 30th European Meet. Meat Res. Workers, 6:28, pp. 308-309.

SANDER, J. (1968). "Nitrosaminsynthese durch Bakterien". Z. Physiol. Chem., 349, 429-432.

SARASÍBAR, B.; SÁNCHEZ-MONGE, J.M. y BELLO, J. (1989). "Influencia de nitratos y nitritos sobre la estabilidad del pimentón (*Capsicum annuum* L.) y el desarrollo del color en el chorizo de Pamplona". Alimentaria, 207, 19-23.

SCHMÄHL, D. (1976). "Combination effects in carcinogenesis (experimental results)". Oncology, 33, 73-76.

SEBRANEK, J.G.; CASSENS, R.G.; HOEKSTRA, W.G.; WINDER, W.C.; PODEBRADSKY, E.V. y KEILSMEIER, E.W. (1973). "¹⁵N tracer studies of nitrite added to a comminuted meat product". J. Food Sci., 38, 1220.

SHUKER, C.E.G. (1988). "The chemistry of N-nitrosation". En: "Nitrosamines: Toxicology and Microbiology". M.J. Hill (ed.), VCH Publishers, Cambridge, pp. 48-66.

SIEDLER, A.J. y SCHWEIGERT, B.S. (1959). "Effects of heat, nitrite level, iron salts, and reducing agents on formation of denatures nitrosomyoglobin". J. Agr. Food Chem., 7, 271-274.

SIMON, S.; FIELD, J.C.; KRAMLICH, W.E. y TAUBER, F.W. (1965). "Factors affecting Frankfurter texture and a

method of measurement". Food Technol., 14, 410-413.

SINELL, H.J. (1981). "Introducción a la higiene de los alimentos". Ed. Acribia. Zaragoza.

SOFOS, J.N., BUSTA, F.F. y ALLEN, C.E. (1979a). "Botulism control by nitrite and sorbate in cured meats: a review". J. Food Protection, 42, 739-770.

SOFOS, J.N., BUSTA, F.F. y ALLEN, C.E. (1979b). "Clostridium botulinum control by sodium nitrite and sorbic acid in various meat and soy proteins formulation". J. Food Sci., 44, 1, 662.

STIEBING, A. (1992). "Tratamiento por calor - conservabilidad". En: "Tecnología de los embutidos escaldados". Wirth, F. (ed.), Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 171-190.

SURI, B.R. (1961). "Action antioxydative des polyphosphates dans les produits de viandes saumurés". Fleischwirtschaft, 5, 403-405.

SWIFT, C.E. y BERMAN, M.D. (1959). "Factors affecting the water retention of beef. I. Variations in composition and properties among eight muscles". Food Technol., 13, 365-370.

TÄNDLER, K. (1992). "Productos frescos y preenvasados". En: "Tecnología de los embutidos escaldados". Wirth, F. (ed.), Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 191-211.

TARLADGIS, B.G. (1962). "Interpretations of the spectra of meat pigments. II cured meats, the mechanism of color fading". J. Sci. Food Agric., 13, 48.

TARR, H.L.A. (1941). "Bacteriostatic action of nitrites". Nature , 147, 417.

TERREL, R.N.; SWASDEE, R.L.; SMITH, G.C.; HEILIGMAN, F.; WEIBICKI, E. y CARPENTER, Z.L. (1982). "Effects of sodium nitrite, sodium acid pyrophosphate and meat formulation on properties of irradiated frankfurters". J. Food Protection 45 (8), 689-694.

TINBERGEN, B.J. y KROL, B. (Eds.) (1977). "Proceedings of the Second International Symposium on Nitrite in Meat Products". Pudoc, Wageningen, The Netherlands.

TOMPKIN, R.B. (1983). "Nitrite". En: "Antimicrobials In Foods". Ed. A.L. Branen y P.M. Davinson Marcel Dekker, Inc. New York.

TOMPKIN, R.B.; CHRISTIANSEN, L.N. y SHAPARIS, A.B. (1977). "Antibotulinal role of isoascorbate in cured meat". J.

Food Sci., 43, 4, 1368-1370.

TOURAILLE, C. y GOUTEFONGEA, R. (1985). "Influence du taux de nitrite sur la flaveur de la viande de porc saumurée cuite". Sciences des Aliments, 5, 313-318.

TRICKER, A.R., MOSTAJA, M.H.; SPIEGELHALDER, B. y PREUSSMANN, R. (1989). "Urinary excretion of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds in Schistosomiasis and bilharzia bladder cancer patients". Carcinogenesis, 10, 547-552.

USDA.APHIS (1975). "Nitrates, Nitrites and Salt". Federal Register. Vol. 40: 52614.

USDA.FSQS. (1978). "Final Report on nitrites and nitrosamines". Report of the Secretary of Agriculture by the Expert Panel on Nitrites and Nitrosamines.

WAGNER, D.A. y TANNENBAUM, S.R. (1985). "In-vivo formation of N-nitroso compounds". Food Technol., 39, 1, 89-90.

WALTERS, C.L. y CASSELDEN, R.J. (1973). "The gaseous products of nitrite incubation with skeletal muscle". Z. Lebensmittel. Untersuch. U. Forsch., 150, 335.

WALTERS, C.L.; HART, R.J. y PERSE, S. (1979). "The possible role of lipid pseudonitrosites in nitrosamine formation in fried bacon". Z. Lebensm. Unters. U. Forsch., 168, 177.

WALTERS, C.L. y TAYLOR, A. McM. (1963). "Biochemical properties of pork muscle in relation to curing". Food Technol., 17, 354-359.

WALTERS, C.L. Y TAYLOR, A. McM. (1964). "Nitrite metabolism by muscle in vitro". Biochim. Biophys. Acta 86, 448.

WALTERS, C.L. ; TAYLOR, A. McM.; CASSELDEN, R.J. y RAY, N. (1968). "Investigation of specific reducing systems in relation to meat curing". Res. Rep., 139, B.F.M.I.R.A. Leatherhead.

WARD, F.W.; COATES, M.E. y WALKER, R. (1986). "Nitrate reduction, gastrointestinal pH and N-Nitrosation in gnotobiotic and conventional rats". Food Chem. Toxicol., 24, 17-22.

WASSERMAN, A.E. y TALLEY, F. (1972). "The effect of sodium nitrite on the flavour of frankfurters". J. Food. Sci., 37, 536-538.

WEISBURGER, J.H. y RAINERI, R. (1975). "Dietary factors and the etiology of gastric cancer". Cancer Res., 35, 3469-3474.

WEISS, T.J.; GREEN, R. y WATTS, B.M. (1953). "Effect of metal ions on the formation of nitric oxide hemoglobin". Food Research, 18, 11-16.

WESTERBERG, D.O. (1973). "Cured meat flavor and the role of nitrite in its development". Proc. Recip. Meat Conf. p. 45. Citado por: GOUTEFONGEA, R. (1991).

WHITE, R.J. (1983). "Nitrate in British waters". Aqua, 2, 51-57.

WHO (1977). "Nitrates, Nitrites and N-Nitroso Compounds", Health Criteria, 5, World Health Organisation, Geneva, Switzerland.

WIRTH, F. (1973a). "Herstellung haltbarer Dosenwürstchen". Die Fleischwirtschaft, 5, 661-673.

WIRTH, F. (1973b). "Vakuumküttern bei Brühund Kochwurst auch im Handwerksbetrieb". Die Fleischwirtschaft, 8, 1080-1084.

WIRTH, F. (1992). "Curado-formación y conservación del color". En: "Tecnología de los embutidos escaldados". Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 127-148.

WOODS, L.F.J. y WOOD, J.M. (1982). "A note on the effect of nitrite inhibition on the metabolism of Clostridium botulinum". J. Appl. Bacteriol., 52, pp. 109-110.

WOOLFORD, G., CASSELDEN, R.J. y WALTERS, C.L. (1972). "Gaseous products of the interaction of sodium nitrite with porcine skeletal muscle". Biochem. J., 130, 82.

WOOLFORD, G. y CASSENS, R.G. (1977). "The fate of sodium nitrite in bacon". J. Food Sci., 42 (3), 586-589.

WOOLFORD, G.; CASSENS, R.G.; GREASER, M.L., y SEBRANEK, G. (1976). "The fate of nitrite: Reaction with protein". J. Food Sci., 41, 585.

YARBROUGH, J.M.; RAKE, J.B. y EAGON, R.G. (1980). "Bacterial inhibitory effects of nitrite: inhibition of active transport, but not of group translocation and of intracellular enzymes". Appl. Env. Microbiol., 39, 831-834.