

RECYT

Año 21 / N° 31 / 2019 / 36–41

Influencia de las características químicas y el tiempo de almacenamiento en el contenido de nitrito de sodio en salchichas elaboradas industrialmente

Chemical characteristics and storage time influence on residual sodium nitrite content in industrially processed sausages

Laura A. Vindas Angulo^{1,*}, Nazareth Rodríguez Arce², Yorleny Araya-Quesada³

1- Ciencias Naturales, Universidad de Costa Rica. Costa Rica; 2- Bachiller en Laboratorista Químico, Universidad de Costa Rica. Costa Rica; 3- Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica. Costa Rica.

* E-mail: laura.vindasangulo@ucr.ac.cr

Resumen

Se realizaron análisis químicos de nitrito de sodio, proteína, grasa, humedad, cenizas, carbohidratos y pH, en salchichas de pollo con diferentes tiempos de almacenamiento, y de diferentes lotes de producción de una empresa productora, con el objetivo de identificar los factores que influyen en los niveles finales de nitrito de sodio. Los datos se analizaron por medio de regresiones entre el nitrito de sodio respecto a la composición química proximal, el pH y el tiempo de almacenamiento.

Se identificó que el tiempo de almacenamiento fue la única variable que presentó una relación no lineal con el contenido de nitrito de sodio, lo que proporciona evidencia de que existe una relación significativa entre el nitrito de sodio y el tiempo de almacenamiento, a un nivel de significancia de 0,05.

La ecuación de regresión no lineal que describe la relación entre el contenido de nitrito de sodio y el tiempo de almacenamiento es: Nitrito de sodio (ppm) = $b_1 + b_2 * \text{Tiempo Almacenamiento} + b_3 * \text{Tiempo Almacenamiento}^2$. No hubo relación entre las características químicas y el contenido de nitrito de sodio.

Palabras clave: Nitrito de sodio; Carne procesada; Embutidos; Regresión no lineal.

Abstract

Sodium nitrite, protein, fat, water content, ash, carbohydrate and pH were determined in chicken sausages with different storage time, in order to identify the effect of chemical composition on sodium nitrite content. Chicken sausages were sampled from company' different production batches. Regressions between the sodium nitrite with respect to the proximal chemical composition, pH and storage time were done.

Storage time presented a non-linear relationship with sodium nitrite content, there is a significant relationship between sodium nitrite and storage time, with significance level of 0.05. The non-linear regression equation was: Sodium nitrite (ppm) = $b_1 + b_2 * \text{storage time} + b_3 * \text{storage time}^2$. There was no relationship between chemical characteristics and residual sodium nitrite content.

Keywords: Sodium nitrite; Processed meat; Sausages; Nonlinear regression.

Introducción

La conservación de la carne mediante el uso de nitrito de sodio es una práctica conocida y difundida, el uso del nitrito de sodio se debe principalmente a su efecto sobre el color, sabor y textura de los productos, logrando que estas características sensoriales sean muy apreciadas, el efecto antioxidante y antimicrobiano es otra de las funciones de este aditivo, con respecto a este último, el nitrito de sodio inhibe a las bacterias del género *Clostridium* [1], es capaz de evitar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* [2].

El uso del nitrito de sodio debe ser regulado por dos

razones: es tóxico, puede reducir la capacidad de la sangre para transportar oxígeno [3]. La ingesta diaria admisible del ion nitrito es de 0,07 mg por kg peso corporal/día [4]. Además, en los años setenta se descubrió la potencial formación de nitrosaminas, asociadas con cáncer, por la reacción del nitrito de sodio residual con aminas secundarias; constituyendo la base para las regulaciones del contenido permitido [5] [6] [7]. Muchos países han establecido legislación donde regulan las cantidades máximas permitidas de nitritos y nitratos [8]. Por ejemplo, Costa Rica en el decreto 35079 [9] que entró a regir en setiembre del 2009, establece una cantidad máxima admisible de 125 mg/kg

para el nitrito y nitrato de sodio o potasio.

Cuando el nitrito se adiciona a la carne éste se reduce a monóxido de nitrógeno (NO), que es el que reacciona con la mioglobina para que luego de la cocción se forme un complejo coloreado estable, que da el color rosado propio del curado [8]. En el procesamiento la cantidad de nitrito adicionada es conocida, pero por la reacción con mioglobina y la cocción, el contenido de nitrito disminuye, ese es el nitrito residual; esa disminución puede rondar el 65% [8]. Merino y col [10], encontraron que el contenido de nitrito disminuye drásticamente durante las primeras 24 horas de elaboración del producto, luego de ese periodo continúa disminuyendo lentamente. También se ha encontrado relación entre el nitrito residual y los fosfatos asociada con variación de pH [11].

En el trabajo de Vindas-Angulo y col [12] se muestrearon 30 lotes de salchichas de una misma marca que fueron analizados para determinar su contenido de nitrito de sodio, cuyo rango osciló entre 121 ± 2 mg/kg y 38 ± 2 mg/kg. Ante esta variación, en el presente estudio se busca encontrar si el contenido de nitrito de sodio en salchichas de pollo está relacionada con alguna variable química, que para fines de esta investigación se escogieron el pH, humedad, grasa, cenizas, proteína o el tiempo de almacenamiento.

Materiales y Métodos

Los análisis químicos se llevaron a cabo en el laboratorio de Química de la Universidad de Costa Rica, Recinto de Grecia, ubicada en Tacaes de Grecia; durante los meses comprendidos entre octubre de 2015 a febrero de 2016.

Metodología de muestreo

El procedimiento utilizado fue el muestreo a juicio, metodología empleada por los entes nacionales encargados de la regulación de los productos embutidos en Costa Rica, el Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA) y el Ministerio de Salud (institución que da la orden de realizar los análisis).

Las muestras se obtuvieron de supermercados localizados en el cantón de San Ramón, Alajuela, Costa Rica. En total se analizaron 24 lotes de salchichas de pollo de la misma marca, producidas por una empresa productora de embutidos costarricense, que las elabora bajo una única formulación y procedimiento estandarizado.

Análisis químicos

Para los análisis se emplearon métodos AOAC [13] (Tabla 1). Para el tiempo de almacenamiento se contabilizaron los días transcurridos entre la fecha de producción y el día de realización del análisis químico.

Tabla 1: Metodología aplicada para el desarrollo de los análisis químicos en los lotes de salchichas de una misma empresa productora.

Parámetro	Metodología
Nitrito de sodio	AOAC 973.31
Grasa	AOAC 960.39
Cenizas	AOAC 942.05
pH	AOAC 981.12
Humedad	AOAC 950.46
Proteína	AOAC 2001.11, Application Note No. 114/2013 BÜCHI
Carbohidratos	Se Calculó de la siguiente forma: % Carbohidratos = 100 -(%Proteína+% Grasa+%Humedad+%cenizas)

Análisis estadístico

Se utilizó el software estadístico Minitab 17, para elaborar gráficas de dispersión de cada una de las variables químicas con el nitrito de sodio, con el objetivo de determinar cuales tenían relación para posteriormente, efectuar un análisis de regresión no lineal y de residuales con la variable que presentó relación con el nitrito de sodio en las salchichas de pollo.

Resultados y Discusión

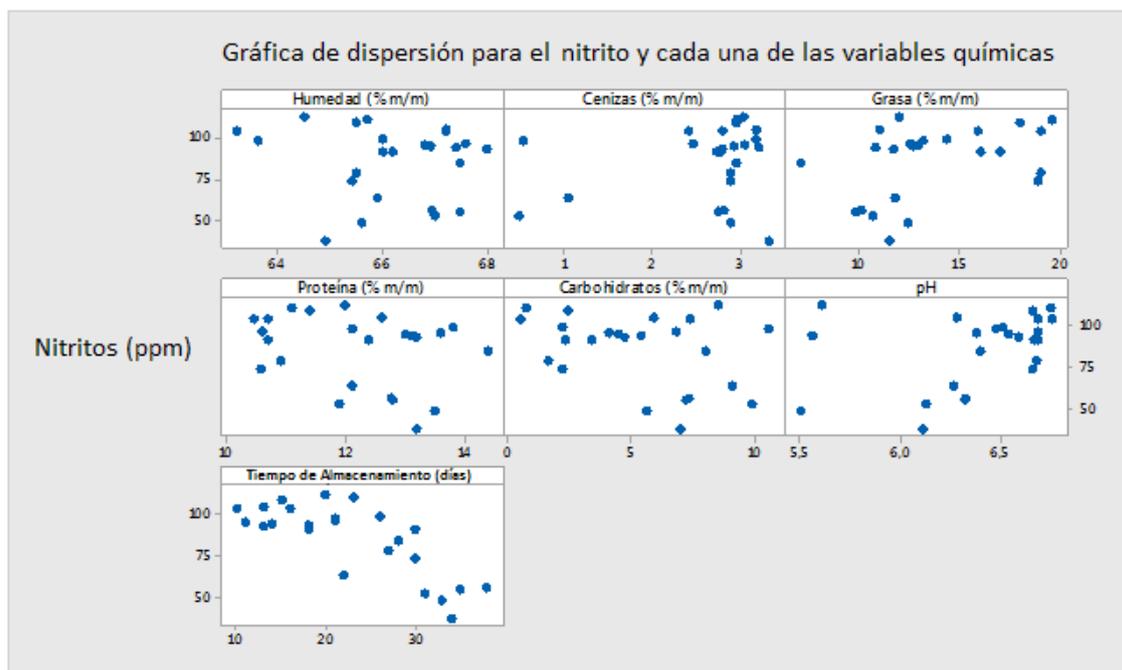
En este estudio se realizaron gráficas de dispersión, para determinar si alguna de las variables químicas; grasa, proteína, pH, humedad, carbohidratos, cenizas, y el tiempo de almacenamiento, tienen una relación directa con el contenido de nitrito de sodio en salchichas de pollo. Al determinar que el tiempo de almacenamiento fue la variable que presentó relación con el nitrito de sodio, se realizó el análisis de regresión no lineal. A continuación, se muestran los resultados de cada variable para cada uno de los lotes del embutido.

En la Figura 1 se muestran las gráficas de dispersión, para las variables humedad, cenizas, grasa, proteína, carbohidratos y pH no fue posible determinar una relación modelo que ajuste para describir los datos.

Por el contrario, se demuestra en la gráfica de nitrito de sodio respecto al tiempo de almacenamiento, una disminución del contenido del nitrito de sodio conforme aumenta el tiempo de almacenamiento.

Tabla 2: Informe de análisis químicos realizados a los lotes de salchichas de pollo.

Lote	Humedad ($\pm 0,5$ % m/m)	Cenizas ($\pm 0,05$ % m/m)	Grasa ($\pm 0,9$ % m/m)	Proteína ($\pm 0,2$ %m/m)	Carbohidratos %m/m	Nitrito de sodio (± 6 mg/kg)	pH ($\pm 0,05$)	Tiempo Almacenamiento (Días)
4	66,2	2,75	16,4	12,4	2,3	92	6,67	30
5	65,5	2,97	17,7	11,4	2,4	109	6,66	15
9	67,2	2,43	19,4	10,5	0,5	104	6,76	10
10	65,4	2,90	18,9	10,6	2,2	74	6,66	30
11	65,5	2,91	19,1	10,9	1,6	79	6,68	27
12	65,7	2,97	19,6	11,1	0,7	111	6,75	23
13	67,6	2,47	12,6	10,6	6,8	97	6,69	21
14	66,0	2,78	17,1	10,7	3,4	92	6,69	18
15	63,2	2,80	15,9	10,7	7,4	104	6,69	16
16	65,9	1,05	11,8	12,1	9,1	64	6,27	22
17	63,6	0,53	13,2	12,1	10,6	98	6,48	21
18	67,0	0,48	10,7	11,9	9,9	53	6,12	31
19	64,9	3,34	11,5	13,2	7,0	38	6,11	34
20	66,8	3,06	12,5	13,6	4,1	96	6,38	11
21	67,2	3,19	11,1	12,6	5,9	105	6,28	13
22	67,4	3,23	10,8	13,1	5,4	94	5,56	18
23	65,6	2,90	12,4	13,5	5,6	49	5,50	33
24	64,5	3,05	12,0	12,0	8,5	113	5,61	20
25	67,0	2,82	10,1	12,8	7,3	56	6,32	38
26	67,5	2,76	9,8	12,8	7,2	55	6,32	35
27	67,5	2,96	7,1	14,4	8,0	85	6,40	28
28	66,9	2,94	12,7	13,0	4,5	95	6,53	14
29	67,6	2,81	11,7	13,2	4,7	93	6,59	13
30	66,4	3,19	14,4	13,8	2,2	99	6,51	26

**Figura 1:** Gráfica de dispersión para el nitrito de sodio (ppm / mg/kg) respecto a los diferentes parámetros químicos: humedad (%m/m), cenizas (%m/m), grasa (%m/m), proteína (%m/m), carbohidratos (%m/m), pH y tiempo de almacenamiento (días).

Al encontrarse relación entre el nitrito de sodio y el tiempo de almacenamiento, se realiza una regresión no lineal, como se muestra en la siguiente gráfica (Figura 2). La regresión no lineal genera una ecuación para describir la relación entre una variable de respuesta continua y una o más variables predictoras y advierte nuevas observaciones [14].

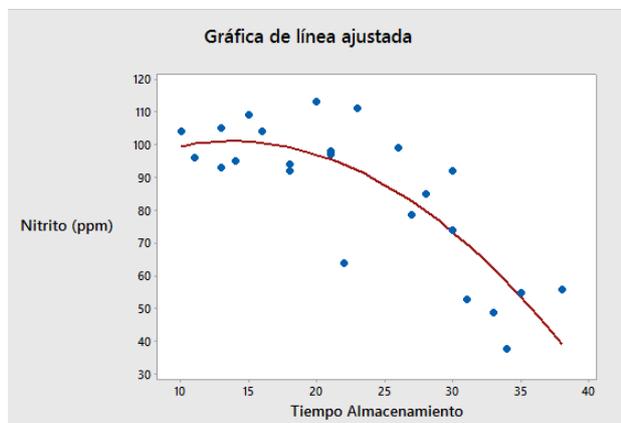


Figura 2: Gráfica de línea ajustada para el nitrito de sodio (ppm / mg/kg) vs el tiempo de almacenamiento (días).

A partir de la gráfica anterior se determina que la ecuación de regresión que describe la relación entre respuesta y los términos modelo es: Nitrito de sodio (ppm) = 81,112 + 2,898 * Tiempo Almacenamiento - 0,0152 * Tiempo Almacenamiento²

Para determinar que tan bien se ajusta el modelo a los datos es importante analizar varios valores que son arrojados por el programa estadístico. Entre ellos el valor de R^2 y el valor de p .

Se determina que el valor de R^2 corresponde a un valor de 67,8% lo cual nos establece como se ajustan los datos al modelo propuesto con una desviación de 13,18.

Se cuenta con una variable de respuesta que es el nitrito de sodio y la variable predictora que es el tiempo de almacenamiento expresado en días. El efecto que representa el incremento de los días de almacenamiento en la cantidad de nitrito de sodio presentes en la salchicha depende en gran medida de la cantidad de días de almacenamiento que tenga el producto. Se puede indicar que, a medida que el tiempo de almacenamiento incrementa la cantidad de nitrito de sodio disminuye en el producto.

Tabla 3: Datos del análisis de varianza del modelo de regresión no lineal para el nitrito de sodio vs el tiempo de almacenamiento.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	p
Regresión	2	7450,1	3725,05	22,07	0,000
Error	21	3545,0	168,81	-	-
Total	23	10995,1		-	-

Tabla 4: Datos del análisis secuencial de varianza del modelo de regresión no lineal del nitrito de sodio vs el tiempo de almacenamiento.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	F	p
Lineal	1	6512,09	31,96	0,000
Cuadrático	1	938,00	5,56	0,028

Minitab 17 [11], agrega que para determinar si el modelo especifica correctamente la relación entre la respuesta y los predictores, se debe comparar el valor p del término con el nivel de significancia para evaluar la hipótesis nula. La hipótesis nula es que el coeficiente del término es igual a cero, lo cual indica que no hay asociación entre término y la respuesta. Por lo general, un nivel de significancia (denotado como alfa o α) de 0,05 funciona adecuadamente. Un nivel de significancia de 0,05 indica un riesgo de 5% de concluir que existe una relación cuando no hay una asociación real.

- **Valor $p \leq \alpha$: La asociación es estadísticamente significativa:** Si el valor p es menor que o igual al nivel de significancia, se puede concluir que hay una asociación estadísticamente significativa entre la variable de respuesta y el término. Si ajusta un modelo cuadrático o cúbico y los términos cuadráticos o cúbicos son significativos, puede concluir que los datos contienen curvatura.
- **Valor $p > \alpha$: La asociación no es estadísticamente significativa:** Si el valor p es mayor que el nivel de significancia, usted no puede concluir que existe una asociación estadísticamente significativa entre la variable de respuesta y el término. Si ajusta un modelo cuadrático o cúbico y los términos cuadráticos o cúbicos no son estadísticamente significativos, convendría que seleccione un modelo diferente.

Se puede observar en la tabla 3 que el valor de p es de 0,000 ($0,000 < \alpha$) lo que indica que, el modelo propuesto, explica el comportamiento del nitrito de sodio y el tiempo de almacenamiento. Para el caso del valor de p de 0,000 ($0,000 < \alpha$) para el término lineal y de 0,028 ($0,028 < \alpha$) para el término cuadrático de la tabla 4, proporciona evidencia, de que existe una relación significativa entre el nitrito de sodio y el tiempo de almacenamiento.

Por otra parte, es importante analizar las gráficas de residuos versus orden, residuos versus ajuste y probabilidad normal de los residuos (Figura 3).

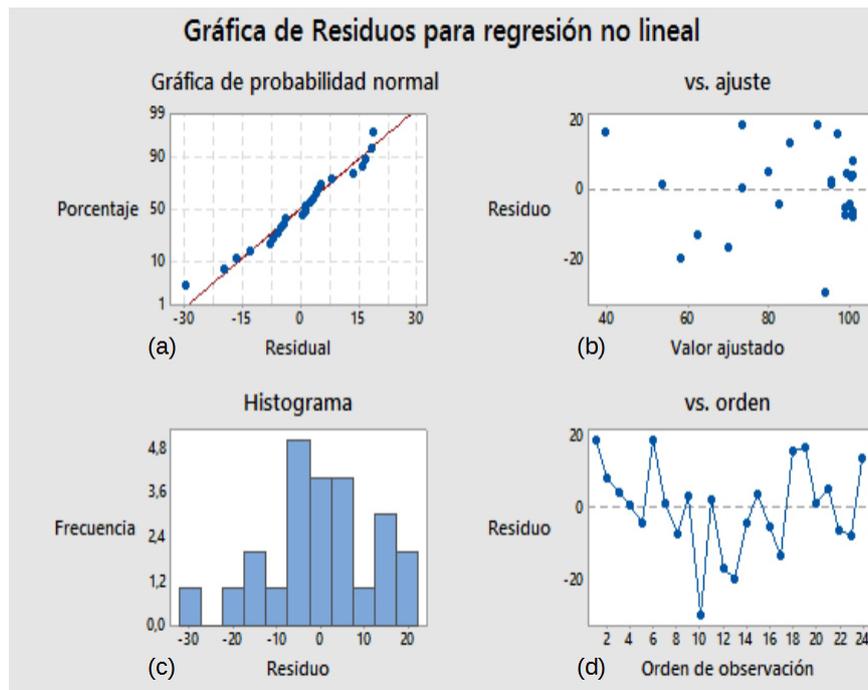


Figura 3: Gráficas de residuos versus orden, residuos versus ajuste, probabilidad normal de los residuos e histograma.

En la gráfica de residuos vs ajustes (Figura 3b), los datos parecen estar distribuidos aleatoriamente alrededor de cero y no existe evidencia de que el valor del residuo dependa del valor ajustado. Ésta se utiliza para verificar el supuesto de que los residuos están distribuidos aleatoriamente y tienen una varianza constante. Lo ideal es que los puntos se ubiquen aleatoriamente a ambos lados del 0, con patrones no detectables en los puntos [14]. Para la gráfica de residuos vs orden (Figura 3d), que se emplea para verificar el supuesto de que los residuos son independientes entre sí; lo ideal es que los residuos que se muestran en la gráfica se ubiquen aleatoriamente alrededor de la línea central. En el caso de los datos de esta investigación los residuos parecen estar ubicados aleatoriamente alrededor de la línea central y no hay evidencia de que los residuos no sean independientes. Por último, en la gráfica de probabilidad normal (Figura 3a), que permite verificar el supuesto de que los residuos están distribuidos normalmente, ésta debe seguir aproximadamente una línea recta [14]. En la Figura 3a los puntos generalmente siguen una línea recta, por lo que no hay evidencia de no normalidad, valores atípicos o variables no identificadas.

Finalmente, se puede indicar que, de las variables estudiadas se determinó una correlación con el tiempo de almacenamiento, y no con los parámetros químicos de estudio; siendo el tiempo un valor importante a considerar por las plantas procesadoras para liberar el producto al consumidor, ya que, de estos dependerá el valor encontrado de nitrito de sodio en el mercado a la hora de ser verificado por los entes reguladores.

En relación a la disminución del nitrito de sodio a lo largo de la vida útil del embutido, Merino y col [10], indican que durante la vida del producto embutido hay

una disminución inicial rápida del nitrito de sodio desde el momento de su adición, que continúa en etapas posteriores de la vida útil, pero a un ritmo más lento y que depende del tipo de producto cárnico curado.

Asimismo, Honikel [8] indica que la concentración del nitrito de sodio cae con el tiempo de almacenamiento, siendo una reducción más lenta con el aumento de pH. De igual manera, Kilic y col [15], indican que el nitrito de sodio en su investigación fue más alto en períodos de tiempo más tempranos para luego continuar reduciéndose. Pérez y col [16], evidenciaron que el nitrito de sodio disminuía en muestras de salchichas durante el tiempo de almacenamiento.

Como ya se ha demostrado, el modelo es estadísticamente adecuado para predecir la cantidad de nitrito de sodio a partir de los días de almacenamiento del producto. Por ejemplo, una salchicha de pollo con 20 días de almacenamiento tendría una cantidad de nitrito de sodio de 96,9 ppm, lo cual corresponde a un valor muy cercano al obtenido experimentalmente de 113 ppm.

Conclusiones

Las variables químicas humedad, carbohidratos, pH, cenizas, proteína y grasa no mostraron una relación directa con los valores de nitrito de sodio en salchichas de pollo de una misma empresa productora. Siendo lo anterior un gran aporte ya que no fue posible encontrar estudios previos con estas variables.

La ecuación de regresión que describe la relación entre el contenido de nitrito de sodio y el tiempo de almacenamiento presenta una relación de segundo orden: Nitrito de sodio (ppm) = $b_1 + b_2 * \text{Tiempo Almacenamiento} + b_3 * \text{Tiempo Almacenamiento}^2$.

El tiempo de almacenamiento presentó una relación no lineal con el contenido de nitrito de sodio en las salchichas de pollo de una misma empresa productora, por lo que proporciona evidencia, de que existe una relación significativa entre el nitrito de sodio y el tiempo de almacenamiento. Esta relación determina que a mayor tiempo de almacenamiento menor cantidad de nitrito de sodio en el producto

Agradecimientos

Las autoras agradecen a la Universidad de Costa Rica y el Laboratorio de Química del Recinto de Grecia, Universidad de Costa Rica, por permitir el desarrollo del proyecto código 540-B5-025 “Determinación de la dosis de nitrito que debe agregarse en los productos embutidos: mortadela, salchichas, salchichón y chorizo para asegurar el cumplimiento del límite permitido por la legislación aplicable”.

Bibliografía

- Hui, Y. H. (2001). *Meat curing technology*. In *Meat Science and Applications*. CRC Press. <https://doi.org/doi:10.1201/9780203908082.ch20\r10.1201/9780203908082.ch20>
- Sullivan, G. A., Jackson-Davis, A. L., Schrader, K. D., Xi, Y., Kulchayawat, C., Sebranek, J. G., & Dickson, J. S. (2012). *Survey of naturally and conventionally cured commercial frankfurters, ham, and bacon for physio-chemical characteristics that affect bacterial growth*. *Meat Science*, 92(4), 808–815. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.07.005>
- Erkekoglu, P., & Baydar, T. (2010). *Nitrite, a hidden foe in foods: Evaluation of nitrite in toxicological perspective*. *Gazi University Journal of Science*, 23 (3), 261-270 <http://dergipark.gov.tr/gujs/issue/7404/96968>
- Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Di Domenico, A., Dusemund, B., Frutos, M. J., ... Younes, M. (2017). Re-evaluation of potassium nitrite (E 249) and sodium nitrite (E 250) as food additives. *EFSA Journal*, 15(6), e04786. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4786>
- Sindelar, J. J., & Milkowski, A. L. (2012). *Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet*. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, 26(4), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2012.03.011>
- Armenteros, M., Aristoy, M.-C., & Toldrá, F. (2012). *Evolution of nitrate and nitrite during the processing of dry-cured ham with partial replacement of NaCl by other chloride salts*. *Meat Science*, 91(3), 378–381. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2012.02.017>
- Khodadady, M., Shahryari, T., Dorri, H., & Sharifzadah, G. R. (2012). *Evaluation of nitrite in meat products (sausages and salami) are distributed in Birjand in 2012*. *European Journal of Experimental Biology*, 2(6), 2120–2124. <http://www.imedpub.com/articles/evaluation-of-nitrite-in-meat-products-sausages-and-salami-are-distributed-in-birjand-in-2012.pdf>
- Honikel, K.-O. (2008). *The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products*. *Meat Science*, 78(1–2), 68–76. <https://doi.org/10.1016/J.MEATS-CI.2007.05.030>
- MEIC-MAG-S. 2008. *Decreto #35079 MEIC-MAG-S Reglamento Técnico RTCR: 411-2008 Productos cárnicos embutidos: salchicha, salchichón, mortadela y chorizo*. Especificaciones. Recuperado de: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=64990&nValor3=75733&strTipM=TC (verificado 18 diciembre 2018)
- Merino, L., Darnerud, P. O., Toldrá, F., & Ilbäck, N. G. (2016). *Time-dependent depletion of nitrite in pork/beef and chicken meat products and its effect on nitrite intake estimation*. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 33(2), 186–192. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1125530>
- Kilic, B., Cassens, R. G., & Borchert, L. L. (2002). *Effect of turkey meat, phosphate, sodium lactate, carrageenan, and konjac on residual nitrite in cured meats*. *Journal of Food Science*, 67(1), 29–31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11353.x>
- Vindas-Angulo, L., Rodríguez-Arce, N & Araya-Quesada, Y. (2017). *Variación del contenido de nitrito de sodio residual en diferentes lotes de salchichas, de una misma formulación de una empresa productora costarricense*. *Pensamiento Actual*, 17(28), 88–98. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/pensamiento-actual/article/view/29525>.
- AOAC. (2005). *Nitrites in cured meat*. *Colorimetric Method*. AOAC Official Method of Analysis 973.31
- Minitab 17. (2017). *Explicación Regresión no lineal*. Recuperado de: <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/regression/supporting-topics/nonlinear-regression/understanding-nonlinear-regression/>. (Verificado 18 diciembre 2018).
- Kilic, B., Cassens, R., & Borchert, L. (2001). *Influence of turkey meat on residual nitrite in cured meat products*. *Journal of Food Protection*; 64(2): 235–239. <http://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-64.2.235?code=fopr-site>
- Pérez, M.L., Bosch, N. y Garcíá-Mata, M. (1996). *Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage*. *Meat Science*. 44(1-2): 66-73. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(96\)00036-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(96)00036-8)

Recibido: 25/05/2018.

Aprobado: 04/02/2019.