

## CUANTIFICACIÓN DE NITRITO DE SODIO EN EMBUTIDOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV- VISIBLE

### QUANTIFICATION OF SODIUM NITRITE IN SAUSAGES BY UV-VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

<sup>1</sup>Vernon Sandoval Ramos

Recibido: 14-1-2020

Aceptado: 18-3-2020

<sup>1</sup>Docente del Departamento de Química, Facultad de Ciencias y Tecnología, UNAN-León  
[vernon.sandoval@ct.unanleon.edu.ni](mailto:vernon.sandoval@ct.unanleon.edu.ni)

**R**ESUMEN—En el presente trabajo de investigación se cuantificó nitrito en los diferentes tipos de embutidos comercializados en las ciudades de León, Chichigalpa y Chinadega, se utilizó el método espectrofotométrico UV-vis, a una longitud de onda de 535.5nm, obteniéndose los resultados siguientes de concentraciones de nitrito, mortadela 52.24mg/kg, choricitito 45.88mg/kg y salchichón 73.97mg/kg, valores que se encuentran por debajo del límite máximo permitido de 125mg/kg de NaNO<sub>2</sub> según establece la norma técnica alimentaria. Los resultados obtenidos de los diferentes parámetros de validación estudiados fueron: linealidad del método con un coeficiente de determinación  $r^2$  0.999, un intervalo de confianza comprendido de 0.2 a 1.8 mg/kgNaNO<sub>2</sub>, límite de cuantificación de 0.189 mg/ kgNaNO<sub>2</sub> y límite de detección de 0.057 mg/ kgNaNO<sub>2</sub> respectivamente. La precisión del método se evaluó a través del parámetro de repetibilidad obteniéndose un resultado 0.6913%. Se determinó la exactitud del método, evaluando el porcentaje de recuperación, obteniéndose como resultado un Coeficiente de variación de 1.64%.

**A**BSTRACT—In the present research work, nitrite was quantified in the different types of sausages marketed in the cities of León, Chichigalpa and Chinadega, the UV-vis spectrophotometric method was obtained, at a wavelength of 535.5nm, obtaining the following results of nitrite concentrations, 52.24 mg/kg bologna, 45.88 mg/kg chorizo and 73.97 mg/kg sausage, values that are below the maximum allowed limit of 125 mg/kg of NaNO<sub>2</sub> as established by the food technical standard. The results obtained from the different validation parameters studied were: linearity of the method with a coefficient of determination  $r^2$  0.999, an intermediate confidence interval of 0.2 to 1.8 mg/kgNaNO<sub>2</sub>, quantification limit of 0.189 mg/kgNaNO<sub>2</sub> and detection limit of 0.057. mg/kgNaNO<sub>2</sub> respectively. The precision of the method was evaluated through the repeatability parameter, obtaining a result of 0.6913%. The accuracy of the method will be extended, evaluating the recovery percentage, obtaining as a result a coefficient of variation of 1.64%.

Palabras claves: nitrito, embutidos, espectrofotometria UV-vis

Keywords: nitrite, sausages, UV-vis spectrophotometry, Griess



## INTRODUCCIÓN

Los embutidos son derivados cárnicos a partir de una mezcla de carne picada ya sea de res, pavo o cerdo. Para su conservación y rendimiento se requiere de una serie de aditivos esenciales para conservar sus propiedades organolépticas, uno de los más utilizados en el curado de la carne es el nitrito de sodio el cual es el responsable de darle el color rosa que lo caracteriza, es un buen inhibidor del desarrollo anaeróbico de ciertos microorganismos especialmente *Clostridium botulinum* (Badui Dergal, 2006). El nitrito de sodio a altas concentraciones puede provocar formaciones de metahemoglobina en sangre y formación de N-nitrosamina siendo estas mutagénicas y cancerígenas. Por esta razón existen normativas que establecen límites máximos tolerables de concentración de Nitrito de sodio en la elaboración de productos cárnicos.

Según la norma técnica para el uso de Aditivos en embutidos cárnicos CODEX ALIMENTARIUS (FAO/OMS, 1990) establece que la dosis máxima calculada para nitrito de sodio sobre el contenido neto total del producto final es de 125mg/kg. La razón principal por la cual se realiza este estudio es para determinar la dosis contenida de nitrito de sodio, en los embutidos comercializados en nuestra localidad y evaluar si se cumple lo que establece la norma técnica. El método espectrofotométrico UV- vis, en la determinación de nitrito, se fundamenta en la reacción colorimétrica entre los nitritos y el colorante con grupo funcional azo-púrpura rojizo producido a pH 2.0–2.5, por acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina; resultando una coloración roja (AOAC, 1990). El sistema de color obedece a la ley de Beer a 535.5 nm. Los parámetros de validación estudiados en el presente trabajo fueron: linealidad, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC), precisión y exactitud del método.

## MATERIALES Y METODOS

### Preparación de soluciones

**Solución saturada de Bórax:** Disolver 12.5g de tetra borato di sódico decahidratado en agua destilada, calentar hasta disolución completa, enfriar a temperatura ambiente y aforar a 250 mL.

**Acetato de Zinc:** Disolver 75g de acetato de zinc en agua destilada calentando. Enfriar y transferirlo en un balón de 250mL y adicionar 30mL de ácido acético glacial y diluir hasta la marca con agua destilada.

**Ferrocianuro de potasio:** Disolver 37.5g de ferrocianuro de potasio en agua destilada, calentar para una total disolución una vez disuelto enfriar y transferir la solución a un balón de 250mL y aforar con agua destilada.

**Reactivo de Griess: Ácido sulfanílico:** Disolver 0.5g de ácido sulfanílico en 120mL de agua y adicionar 30mL de ácido acético glacial. **N-naftilendiamida (NED):** Disolver 0.1g de N-naftilendiamida en 120mL de agua y adicionar 30mL de ácido acético glacial.

**Solución estándar de Nitrito de sodio:**

**Solución Madre (1,000ppm NaNO<sub>2</sub>):** Disolver 1 g ( $\pm 0.0001$ ) NaNO<sub>2</sub> en agua destilada y diluir a un litro. En esta parte es importante mezclar bien por aproximadamente 10 minutos ya que dicha solución dará paso a las siguientes y se utilizará como base para la curva de nitritos estándar.

### EQUIPO UTILIZADO

Para el trabajo de investigación se utilizó un Espectrofotómetro UV-visible, shimadzu 1203, Celda de cuarzo 10mm, Balanza analítica ( $\pm 0.0001$ ).



## TIPO DE ESTUDIO

La investigación es de tipo descriptivo, se desea cuantificar la cantidad de nitrito de sodio que contiene algunos tipos de embutidos comercializados en la ciudad de León, Chichigalpa y Chinandega. La medición se realizó con el espectrofotómetro UV-vis. Se evaluaron un total de nueve muestras de embutidos recolectadas de forma aleatoria. Las muestras analizadas fueron recolectadas en supermercado de la localidad, la cuales se clasificaron por marcas, tipos de embutidos y con diferentes tipos de lotes.

### Curva de calibración

Para conocer la linealidad del método elaboro una curva de calibración lineal, utilizando estándares de nitrito de sodio estableciendo una relación entre las características fisicoquímicas del analito y las señales del instrumento. En la figura 1 se presenta la curva de calibración obtenida en un rango de concentraciones de 0.2mg/kg a 1.8mg/kg de  $\text{NaNO}_2$ , determinándose una coeficiente de correlación de  $R^2= 0.999$  con este resultado podemos ver que en este rango de concentraciones existe una buena linealidad en el gráfico.

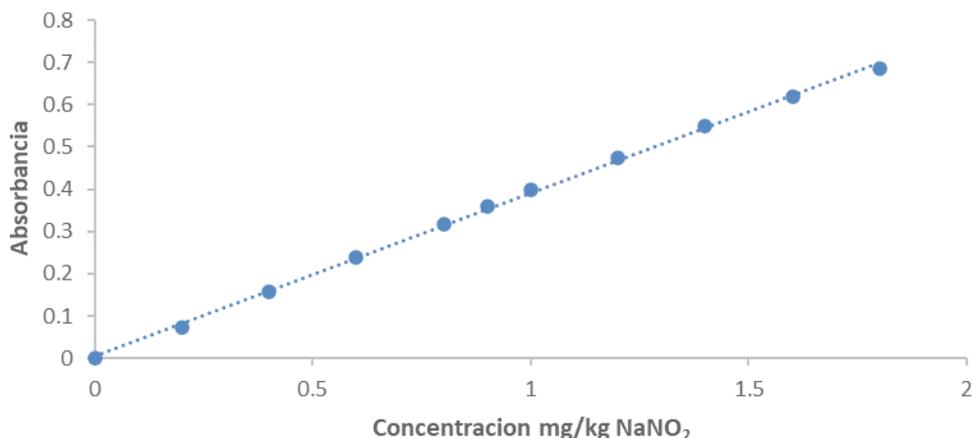


Figura 1. Curva de calibración, rango de concentraciones 0.2-1.8mg/kg

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Límite de Detección y cuantificación

Cuando se utiliza métodos instrumentales es importante tener en cuenta la capacidad de detectar cantidades trazas de analito, para esto utilizamos un método estadístico para la determinación de límite de Detección (L.D) y límite de Cuantificación (L.C), los parámetros de regresión (intercepto, pendiente, desvío residual) se obtienen

a partir de la recta de calibración (Miller N. J., Miller C. J. 2002). En la tabla 1, se presentan los resultados obtenidos de intercepto (a), pendiente (b) y desviación residual ( $S_y/x$ ) de parámetros estadísticos de regresión para determinar el límite de detección y límite de cuantificación. Se obtuvo un resultado de 0.057 mg/kg, esta concentración mínima detectable indica que este método es adecuado para determinar  $\text{NaNO}_2$  en las muestra analizadas y se puede decir que el método utilizado es adecuado para la detección de concentraciones muy pequeñas. Utilizando las ecuaciones anteriores para su determinación se obtuvo un resultado de 0.189 mg/kg esto nos indica la cantidad mínima de  $\text{NaNO}_2$  que se puede cuantificar.

#### Datos Resultados

a=	0.00436
b=	0.386
$S_y(x)$ =	0.00729
$y_{LD}$ =	0.0262
$y_{LC}$ =	0.0773
L.D.	0.057mg/kg
L.C.	0.189 mg/kg

Tabla 1. Resultados de Límite de Detección y cuantificación

## Precisión (Repetibilidad)

Para evaluar el parámetro de precisión, se realizó a través del % RSD obtenido de la repetibilidad en 5 días diferentes. En este estudio hemos analizado 25 datos de una solución patrón de nitrito de sodio de 1.2mg/kg de concentración. A cada una de las concentraciones se le realizó lectura de absorbancia bajo las mismas condiciones, en la tabla 2 se observan las lecturas de absorbancia de la concentración de nitrito de sodio.

Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
0.473	0.475	0.474	0.474	0.474
0.473	0.475	0.475	0.476	0.475
0.476	0.478	0.478	0.478	0.479
0.482	0.478	0.479	0.479	0.480
0.482	0.480	0.482	0.481	0.482

Tabla 2. Lecturas de Absorbancias de concentraciones NaNO<sub>2</sub>

Se estudio la presencia de valores aberrantes en los resultados obtenidos de las lecturas de absorbancias de concentraciones de nitrito de sodio, aplicando el método de Hubber. En la tabla 3 se observa que para cada serie de resultados, sus valores están entre los límites inferiores y límites superiores, por lo cual se afirma que los resultados pertenecen a la misma serie de resultados y por lo tanto no existen valores aberrantes. La precisión del método se evaluó a través del parámetro de repetibilidad obteniéndose un resultado 0.6913% ver tabla 4.

Resultados	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Xmedia	0.4772	0.4772	0.4776	0.4776	0.4780
Mediana	0.476	0.478	0.478	0.478	0.479
MAD	0.003	0.002	0.003	0.002	0.003
LI	0.4667	0.4702	0.4671	0.4706	0.4675
LS	0.4877	0.4842	0.4881	0.4846	0.4885

Tabla3. Resultados del Metodo de Hubber

Resultados	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Promedio	0.4772	0.4772	0.4776	0.4776	0.4780
Desv.(S)	0.00454973	0.002167950	0.003209360	0.002701851	0.003391165
Varianza(S <sup>2</sup> )	0.0000207	0.0000047	0.0000103	0.0000073	0.0000115
Gcalculado	0.37981651				
Gtabla	0.598				
Gcal < Gtab					
Varianza promedio	0.0000109				
Xglobal	0.47752				
Sr	0.00330151				
RSD%	0.69138775				

Tabla 4. Evaluacion de la precisión del método(repetibilidad)

## Exactitud (Porcentaje de Recuperación)

Es importante conocer la exactitud del método, para lo cual es necesario calcular el porcentaje de Recuperación. Estos porcentajes deberán estar en un rango de 80-110%. Como se observa en la tabla 5, los valores de porcentaje de recuperación de NaNO<sub>2</sub> calculados se encuentran dentro del rango establecido de aceptación para la recuperación de NaNO<sub>2</sub> en alimentos esto nos indica que el método propuesto presenta la exactitud necesaria para considerarlo adecuado para la determinación de NaNO<sub>2</sub> en embutidos. A partir de estos resultados se calculo el coeficiente de variación con un valor de 1.64% indicando que existe buena precisión en el método utilizado ya que existe poca variación de los porcentajes de recuperación calculados.

No.	Peso muestra (g)	Masa NaNO <sub>2</sub> agregado a muestra (g)	Abs. de muestra	[Estándar] mg/kg	Abs. de estándar	NaNO <sub>2</sub> muestra (g)	NaNO <sub>2</sub> recuperado	% recobro	L.I.	L.S.
1	5.0002	0.0030	0.1300	0.4000	0.1540	0.00338	0.00300	100.05	80	110
2	5.0004	0.0030	0.1300	0.4000	0.1540	0.00338	0.00300	100.05	80	110
3	5.0005	0.0030	0.1300	0.4000	0.1540	0.00338	0.00300	100.05	80	110
4	5.0008	0.0030	0.1330	0.4000	0.1540	0.00345	0.00308	102.65	80	110
5	5.0006	0.0030	0.1330	0.4000	0.1540	0.00345	0.00308	102.65	80	110
6	5.0008	0.0030	0.1320	0.4000	0.1540	0.00343	0.00305	101.79	80	110
7	5.0005	0.0030	0.1320	0.4000	0.1540	0.00343	0.00305	101.79	80	110
8	5.0009	0.0030	0.1320	0.4000	0.1540	0.00343	0.00305	101.79	80	110
9	5.0050	0.0030	0.1360	0.4000	0.1540	0.00353	0.00316	105.25	80	110
10	5.0150	0.0030	0.1340	0.4000	0.1540	0.00348	0.00311	103.52	80	110
Blanco	5.0003	0.0000	0.1080	0.4000	0.1540	0.00035				

Tabla 5. Evaluación de la exactitud (porcentaje de recuperación)

## Resultados de Concentraciones de Nitrito de Sodio expresados en mg/kg de embutidos

En la tabla 6 se muestran los resultados de concentraciones de nitrito de sodio en embutidos de tres distintas marcas y presentaciones para cada una de las muestras de embutidos. Se analizaron nueve muestras y se hicieron seis replicas para cada muestra de embutido. Según los resultados de las concentraciones de nitrito de sodio en embutidos, para las muestras de mortadela se obtuvo una concentración mínima de 36.2mg/kg y una concentración máxima de 80.5mg/kg, en el caso de las muestras de choricito se obtuvo una concentración mínima de 37.2mg/kg y una concentración máxima de 55.5mg/kg, para las muestras de salchichón una concentración mínima de 55mg/kg y una concentración máxima de 99.5mg/kg.

Los resultados obtenidos fueron comparados con la norma técnica Codex alimentarius, que establece que la dosis máxima calculada para nitrito de sodio sobre el contenido neto total del producto es de 125mg/kg de nitrito de sodio en embutido. Por lo que siendo estas concentraciones menores se puede decir que cumplen con la concentración máxima permitida que establece la norma técnica siendo estos productos aptos para el consumo humano.

TIPO	MORTADELA mg/kg			CHORICITO mg/kg			SALCHICHON mg/kg		
	N°	D-1M	C-2M	S-3M	D-1C	C-2C	S-3C	D-1S	C-2S
1	42.7	36.21	74.35	51.66	37.29	44.32	72.21	57.77	92.30
2	43.78	36.76	75.38	53.33	39.46	44.32	71.11	58.33	91.27
3	43.24	37.30	76.40	56.10	37.83	45.93	70.55	58.33	94.87
4	44.86	38.37	76.41	55.55	37.83	45.93	70.00	55.00	99.46
5	44.32	36.22	79.00	55.00	37.29	45.4	68.90	56.66	98.45
6	44.32	36.75	80.51	54.44	39.44	44.86	68.87	56.66	90.76
Promedio:	43.80	36.90	77.0	54.30	38.20	45.10	70.20	57.10	94.50

Tabla 6. Concentraciones de nitrito de sodio (mg/kg) en embutidos comerciales.

## Conclusiones

Los resultados de los valores promedios de las concentraciones de nitrito de sodio analizados fueron: choricito (45.88mg/kg), mortadela (52.24mg/kg), salchichón (73.97mg/kg) los cuales no exceden el nivel máximo permitido por la norma técnica Codex Alimentarius para aditivos en productos cárnicos y embutidos (máximo permitido 125mg/kg), lo cual se concluye que estos productos de embutidos pueden ser consumidos por la población. Se obtuvo una correlación lineal con un coeficiente de 0.999 en un rango de concentración de  $\text{NaNO}_2$  de 0.2 mg/kg hasta 1.8mg/kg lo que indica una buena linealidad. A partir de la curva de calibración normal, se evaluó el límite de cuantificación (L.C.) que es de 0.189 mg/kg de  $\text{NaNO}_2$  el cual es la cantidad mínima de nitrito de sodio que se puede cuantificar, se determinó el límite de detección (L.D.) el cual se obtuvo un resultado de 0.057mg/kg de  $\text{NaNO}_2$  respectivamente.

Se evaluó la exactitud del método calculando el porcentaje de recuperación de  $\text{NaNO}_2$  obteniendo porcentaje de recuperación de 100.05% a 105.25%, estos resultados obtenidos se encuentran dentro del rango establecido de aceptación para la recuperación de  $\text{NaNO}_2$  en alimentos, se obtuvo un porcentaje de coeficiente de variación de 1.64 % menor que el valor de referencia, demostrándose que el método presenta buena precisión. De acuerdo a los resultados anteriores se establece que el método utilizado de análisis espectrofotométrico UV-vis, para la cuantificación de nitrito de sodio, proporciona resultados confiables y cumple satisfactoriamente su determinación.

## Referencias

AOAC (1990), Association of Official Analytical Chemists Official. Methods of Analysis. 973.31. Nitrites in cured meat. Colorimetric method. Association of Official Analytical Chemists, Arlington.

Badui Dergal S. (2006) Química de los alimentos. 4ª ed. México Pearson Educación.

Codex Alimentario(1990). Comision del Codex alimentarius FAO/OMS. ALINORM 91/16.

Miller N. J., Miller C. J. (2002) Estadística y Quimiometría para Química Analítica 4ta edición