

CAMBIOS QUIMICOS DURANTE LA MADURACION DEL SALCHICHON.  
2: DINAMICA DEL NITRITO Y DE LOS PIGMENTOS CARNICOS.

(CHEMICAL CHANGES DURING RIPENING OF A SPANISH DRIED SAUSAGE (SALCHICHON). 2: DYNAMICS OF RESIDUAL NITRITE AND MEAT PIGMENTS).

por

FRANCISCO LEON CRESPO Y RAFAEL MILLAN\*

En los últimos años se asiste a una gran controversia con respecto a la inclusión o no de los nitritos en los productos alimenticios. Al ser esta sal altamente reactiva, es probable la formación, en los productos a que se añade, de nitrosaminas, compuestos químicos de carácter cancerígeno (IFT, 1972). Sin embargo, esta misma reactividad del nitrito le hace intervenir en combinaciones con muy diversos componentes de los alimentos, lo que condiciona una reducción considerable de su concentración efectiva y en la misma medida su interacción con las aminas secundarias responsable de la génesis de nitrosaminas (Sebranek *et al.* 1973). De hecho, investigaciones llevadas a cabo en diversos productos cárnicos no han confirmado la presencia de nitrosaminas a niveles que puedan considerarse peligrosos (Fazio, *et al.* 1971, Fiddler, *et al.*, 1971, Dethness *et al.*, 1975).

Los nitritos se incluyen en los productos cárnicos principalmente para estabilizar el color de los mismos; aunque simultáneamente se obtienen efectos tan interesantes como la inhibición de microorganismos potencialmente peligrosos para la salud (Johnston *et al.*, 1969; Emodi y Lechowick, 1969; Wasserman y Huhtanen, 1972) o el desarrollo del sabor típico de las carnes curadas (Cho y Bratzler, 1970; Wasserman y Talley, 1972; Simon *et al.*, 1973; Hustad, *et al.*, 1973). También se considera que los nitritos tienen un efecto antioxidante (Hadden *et al.* 1975), que se cree es debido a que mantienen los pigmentos cárnicos en estado reducido, previniendo la acción catalítica de los mismos sobre los lípidos (Greene y Price, 1975).

Como se ha señalado, el papel fundamental de los nitritos es estabilizar el color. El color de los productos cárnicos se debe a la mioglobina, pigmento altamente inestable y que puede adoptar diversas formas químicas, dependiendo del pH y del potencial redox del medio (Parr y Solberg, 1972).

---

\* Cátedra de Tecnología y Bioquímica de los alimentos. Universidad de Córdoba. Facultad de veterinaria.

Recibido para publicación el 20-7-1977.

En presencia del nitrito, y más precisamente del óxido nítrico generado al descomponerse esta sal, se forma nitrosomioglobina, que es el principal pigmento responsable del color rojo intenso de los embutidos curados (Bard y Townsend, 1971; Woolford *et al.*, 1972). Cálculos a partir de cifras medias, teniendo en cuenta que existen notables variaciones en la concentración de pigmentos entre diversos músculos (Parr y Hendrickson, 1970, indican que la mioglobina en base molar se combina con aproximadamente 15 ppm de nitrito (Sebranek *et al.*, 1973). El nitrito también reacciona con otros pigmentos porfirínicos como los citocromos, aunque la concentración de éstos es relativamente reducida en comparación con la concentración de mioglobina (Cassen *et al.*, 1974). Asimismo interactúa con el resto de las proteínas de la carne (Olsman y Krol, 1972), fundamentalmente con los grupos sulfhidrilo libres (Fox y Nicholas, 1974). Esta reacción con los grupos sulfhidrilo, con formación de nuevos entrecruzamientos en las proteínas, puede considerarse responsable, al menos en parte, de cambios en la textura de los productos cárnicos (Dubé *et al.*, 1972).

En el presente estudio hemos seguido las variaciones en la concentración en nitrito, así como las modificaciones seguidas por los pigmentos cárnicos durante la maduración del salchichón.

#### *Material y métodos.*

Los análisis se realizaron sobre muestras preparadas tal y como se ha descrito previamente (León Crespo y Millán, 1977) y en las que se incluían en la masa fresca 120 ppm de nitrito sódico y 360 ppm de nitrato de potasio.

La evaluación del contenido en nitrito residual se llevó a cabo de acuerdo, básicamente, con el procedimiento descrito por Kramlich *et al.* (1973). Muestras de 4 g de carne se mezclaron en un homogeneizador Omnimixer con aproximadamente 50 ml de agua alcalina caliente (agua destilada con reacción alcalina al papel de tornasol, por adición de unas gotas de NaOH 1 N, aproximadamente a 80° C). La papi-lla se trasvasó cuantitativamente con ayuda de unos 20 ml de agua alcalina caliente a un matraz erlenmeyer de 100 ml, incubándose seguidamente en estufa a 80° C durante dos horas, con agitación ocasional. Al final se añadió 1 ml de una solución saturada de cloruro mercúrico, se mezcló y enfrió, llevándose el volumen a 100 ml con agua. El extracto se filtró y partes alícuotas de 1 ml del filtrado se añadieron a tubos graduados que contenían 0,5 ml de solución de ácido sulfanílico (0,33 g de ácido sulfanílico, 15 ml de ácido acético glacial; diluir hasta 100 ml con agua) y 0,5 ml de solución de alfa-naftilamina (0,1 g de alfa-naftilamina, 15 ml de ácido acético glacial; diluir hasta 100 ml con agua). Se enrasaron los tubos con agua a 25 ml y se mezcló el contenido de los mismos. Después de dejarlos en reposo a

LEON Y MILLAN: DINAMICA DEL NITRITO Y DE LOS PIGMENTOS CARNICOS.

temperatura ambiente y protegidos de la luz durante una hora, el color desarrollado se leyó a 520 nm con un espectofotómetro Beckman DB-G. La concentración de nitrito se calculó por referencias a una curva patrón construida con diluciones conocidas de nitrito.

Los pigmentos totales y nitrosos se extrajeron de acuerdo con Hornsey (1956). Para la extracción de pigmentos totales, 6 g de la muestra se homogeneizaron con 27 ml de acetona ácida (4 ml de CIH concentrado, 16 ml de agua; diluir hasta 200 ml con acetona). La papilla resultante se dejó a resguardo de la luz durante 1 hora y finalmente se filtró a través de papel Whatman núm 42 en un tubo de ensayo. Se transfirió el filtrado a una cubeta espectofotométrica de 1 cm de espesor y se leyó la absorbancia (A) a 640 nm. A partir de estas lecturas se calculó el contenido en pigmentos totales de acuerdo con Kramlich *et al.*, (1973):

$$\text{Pigmentos totales (ppm)} = 680 \cdot A \begin{cases} 1 \text{ cm} \\ 540 \end{cases}$$

Para la determinación de la concentración de pigmentos nitrosos, 6 g de embutido se homogeneizaron con 27 ml de acetona acuosa (18 ml de agua; diluir hasta 200 ml de acetona). La papilla resultante se dejó en reposo, protegida de la luz, durante 10 minutos, se filtró a través de papel Whatman núm. 42 y se transfirió el filtrado a una cubeta espectofotométrica de 1 cm de espesor, leyéndose la A a 540 nm. El contenido en pigmentos nitrosos se calculó de acuerdo con Kramlich *et al.*, (1973):

$$\text{Pigmentos nitrosos (ppm)} = 290 \cdot A \begin{cases} 1 \text{ cm} \\ 540 \end{cases}$$

El porcentaje de conversión de pigmentos se calculó como:

$$\text{Por 100 conversión} = \frac{\text{Pigmentos nitrosos} \times 100}{\text{Pigmentos totales}}$$

### Resultados.

En la figura 1 se expone la concentración de nitrito residual en el salchichón a lo largo del proceso de maduración. Inmediatamente después de la preparación de la masa del embutido se recogieron  $96,7 \pm 29,8$  ppm de nitrito, lo que supone un 80,6 p. 100 de la cantidad inicialmente añadida. Durante los dos días de estabilización de la masa en refrigeración a 10°C se produjo una ligera reducción, no significativa, en el nitrito residual, recogiéndose  $84,5 \pm 14,4$  ppm.

LEON Y MILLAN: DINAMICA DEL NITRITO Y DE LOS PIGMENTOS CARNICOS.

En el control efectuado a los 4 días de la preparación de la masa, después de 48 horas en la cámara de maduración a 20 °C pudo apreciarse un incremento significativo en el nitrito residual, que se elevó a 136,9 ± ppm; valores superiores a los 120 ppm inicialmente añadidos. La concentración continuó elevándose y a los nueve días era de 190 ± 22,0 ppm. con posterioridad el nitrito residual comenzó a disminuir. Este descenso siguió un curso logarítmico, como puede apreciarse en la figura 2.<sup>a</sup> A partir de esta gráfica puede calcularse que el valor de 26,8 ppm, encontrado experimentalmente a los 58 días de la maduración, se alcanzaría aproximadamente a los 48 días.

La concentración de pigmentos totales y nitrosos, así como la tasa de conversión a lo largo del proceso, se exponen en la tabla I. Puede apreciarse que los pigmentos totales aumentaron su concentración absoluta, pasando de 121,9 ppm, en la masa fresca, a 177,9 ppm en el embutido madurado a los 58 días. Pero este aumento puede atribuirse a la pérdida de humedad, que condiciona un aumento proporcional de los sólidos. Cuando la concentración de pigmentos totales se expresó en relación a la materia seca se observó que los valores no presentaban diferencias significativas entre ellos.

La concentración de pigmentos nitrosos presentó valores muy bajos en el momento de la preparación de la masa (14,4 ± 3,5 ppm) y se elevó considerablemente a los dos días de la maduración, alcanzando valores de 56,1 ± 8,4 ppm. Con posterioridad continuó este incremento hasta los 16 días, en cuyo momento se observaron 55,4 ± 5,6 ppm, manteniéndose después estos valores de una forma bastante estable hasta los 44 días de la maduración. En las muestras analizadas a los 58 días se encontró una cantidad significativamente menor (59,8 ± 7,4 ppm). La concentración de pigmentos nitrosos expresada en materia seca siguió un modelo similar, a pesar de la variación en los sólidos debida a la desecación de los embutidos.

El porcentaje de conversión fue sólo de 11,8 p. 100 en la masa fresca y se elevó al 48,2 p. 100 a los 2 días, manteniéndose después bastante constante, con oscilaciones entre el 56,4 y el 44,4 p. 100 durante las 6 primeras semanas de la maduración. A los 58 días la tasa de conversión se redujo al 33,6 p. 100.

### *Discusión.*

Es de destacar que inmediatamente después de la preparación de la masa del embutido sólo se recuperó el 80,6 p. 100 del nitrito añadido. La mayor parte de los resultados indican que inmediatamente después de la formulación sólo puede medirse como nitrito residual alrededor del 75 p. 100 del nitrito añadido (Greemberg, 1972; Kolari y Annan, 1972). Repetidamente se ha señalado que parte del nitrito se pierde al formarse productos gaseosos, entre los que cabe incluir al nitrógeno libre

LEON Y MILLAN: DINAMICA DEL NITRITO Y DE LOS PIGMENTOS CARNICOS.

resultante de la reacción de Van Slyke en los aminoácidos (Woolford *et al.*, 1972; Walters y Casselden, 1973). Sin embargo, Fox y Nicholas (1974) observaron que la reacción de Van Slyke no es una de las causas principales de la pérdida del nitrito. Según Woolford *et al.*, (1972) los principales gases formados al añadir el nitrito serían NO y NO<sub>2</sub>.

La elevación del contenido del nitrito residual durante los 9 primeros días de la maduración, incluso con valores superiores al nitrito inicialmente incluido en la formulación, podría explicarse en base a la reducción del nitrato por acción de la microflora, proceso que es difícilmente previsible (Bard y Townsend, 1971). Incluso se ha señalado la posibilidad de interconversión de las formas nitrosa y nítrica sin requerir la intervención microbiana y sólo dependiendo de las condiciones de óxido-reducción imperantes en la masa del embutido (Herring, 1973).

Después de los 9 días de maduración se observó un descenso logarítmico de la concentración de nitrito de acuerdo con nuestros resultados, y por tal motivo podría deberse a una reacción de primer orden. Sin embargo es muy difícil hacer algún tipo de aseveración a este respecto, pues no se controló la posible interconversión simultánea con el nitrato. No obstante, la desaparición gradual del nitrito durante la maduración ha sido constatada por Dethners *et al.*, (1975), en embutidos desecados similares a los analizados en nuestras pruebas.

La cantidad de nitrito residual al final del proceso de maduración se incluye dentro de los valores de 10 a 50 ppm, considerados como normales para los productos cárnicos curados en general (Cassen *et al.*, 1974). Sebranek *et al.*, (1973) también encontraron aproximadamente 20 ppm de nitrito residual a los 60 días de maduración de los embutidos desecados que ellos estudiaron.

La concentración de pigmentos totales en el salchichón fresco se encuentra dentro de los márgenes normales para la carne, teniendo en cuenta que estos márgenes son muy amplios, al existir considerables variaciones en el contenido en pigmentos totales entre los distintos músculos de la canal (Homsey, 1964).

La cantidad de pigmentos nitrosos solubles del producto madurado se encuentra también dentro de los valores normales, entre 50 y 102 ppm, de acuerdo con Parr y Hendrickson (1970). Igualmente, la conversión de pigmentos conseguida en nuestras pruebas se incluye en los valores comunes para este tipo de productos. Simón *et al.* (1973) vieron que la conversión de pigmentos en el salchichón oscilaba entre el 48,7 y el 61,2 p. 100, cuando la cantidad de nitrito añadida era de 39 ppm.

La disminución de los pigmentos nitrosos y de la tasa de conversión al final del proceso de maduración puede encontrar su explicación en la desaparición del nitrito residual, que tiene lugar en este periodo. El fenómeno de la formación de los pigmentos nitrosos es altamente dinámico y estos pigmentos, aunque más estables

que otras formas químicas de la mioglobina, sufren fácilmente cambios en su estructura, por acción del medio en que se encuentran (Bard y Townsend, 1971).

A modo de conclusión cabe señalar que la máxima conversión de pigmentos tiene lugar durante los 2 primeros días, en los que la masa del embutido se mantiene en refrigeración. Sigue después un periodo óptimo de maduración con respecto al color, en el que la tasa de conversión es máxima: aproximadamente entre la primera y la sexta semana en nuestras pruebas. Finalmente se produce una destrucción paulatina de los pigmentos nitrosos, pasando a otras formas químicas (posiblemente metamioglobina), sin alternativa de reconversión a las formas nitrosas, al existir sólo una cantidad residual mínima de nitrito.

### *Resumen.*

Se ha estudiado la concentración de nitrito residual así como la de pigmentos totales nitrosos, durante la maduración del salchichón. La concentración de nitrito residual aumentó en los primeros días, posiblemente como consecuencia de la reducción del nitrato también incluido en la formulación. Posteriormente, la concentración se redujo siguiendo un curso logarítmico, hasta alcanzar unos valores mínimos estables.

La conversión de pigmentos fue máxima al principio del proceso, se mantuvo estable con estos valores elevados durante unas seis semanas y después disminuyó al final de la maduración.

### *Summary.*

The amount of residual nitrite and meat pigments during aging of a Spanish dried sausage (salchichón) has been studied. The concentration of nitrite increased in the first period, probably due to the inclusion of nitrate in the sausage. In the following time the residual nitrite decreased in a logarithmic pattern.

The rate of pigment conversion was highest at the beginning of the process, maintained a high value for six weeks and finally decreased at the end.

### *Bibliografía.*

Bard J. y Townsend, W. E. 1971.—Meat curing. *Apud* The Science of Meat and Meat Products. Ed. Freeman.

Cassens, R. G.; Sebranek, J. G.; Kubberod, G. y Wollford, G. 1974.—Where the nitrite go? *Food Product Development*. Dec. 1974.

- Cho, I. C. y Bratzler, L. J., 1970.—Effect of sodium nitrite on flavor of cured pork. J. Food Science, 35: 668.
- Dethners, A. E.; Rock, H.; Fazio, T. y Johnston, R. W. 1975.—Effects of sodium nitrate and sodium nitrite on sensory quality and nitrosamine formation in thuringer sausage. J. Food Science. 40: 491.
- Dubé, G.; Bramblett, V. D.; Judge, M. D. y Harrington, R. B. 1972.—Physical properties and sulfhydryl content of bovine muscles. J. Food Science. 37: 23.
- Emodi, A. y Lechowich, R. 1969.—Low-temperature growth of type E *Clostridium botulinum* spores. 1. Effect of sodium chloride, sodium nitrate and pH. J. Food Science. 34: 78.
- Fazio, T.; White, R. H. y Howard, J. W. 1971.—Analysis of nitrite and/or nitrate processed meats for n-nitrosodimethylamine. J.A.O.A.C., 54: 1157.
- Fiddler, W.; Doerr, R. G.; Ertel, J. W. y Wasserman, A. E. 1971.—Gas liquid chromatographic determination of n-nitroso dimethylamine in ham. J. A. O. A. C., 54: 1160.
- Fox, J. B. y Nicholas, R. A. 1974.—Nitrite in meat. Effect of various compounds on loss of nitrite. J. Agr. Food Chem., 22: 302.
- Greenberg, R. A. 1972.—Nitrite in the control of *Clostridium botulinum*. Proc. Meat Ind. Conf. Chicago. p. 25.
- Greene, B. E. y Price, L. G. 1975.—Oxidation induced color and flavor changes in meat. J. Agr. Food Chem. 23: 164.
- Hadden, J. P.; Ockerman, H. W.; Cahill, V. R.; Parrett, N.A. y Borton, R. J. 1975.—Influence of sodium nitrite on the chemical and organoleptic properties of comminuted pork. J. Food Science, 40: 626.
- Herrong, H. K. 1973.—Effect of nitrite and other factors on the physiological characteristics and nitrosamine formation in bacon. Proc. Meat. Res. Con. AMIF. Chicago.
- Hornsey, H. C. 1956.—The colour of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-hem pigments. J. Sci. Food Agr., 7: 534.
- Hornsey, H. C. 1964.—The coloration and discoloration of cured meats. Int. Food Indust. Congress. Inglaterra.
- Hustad, G. O.; Cervený, J. G.; Trenk, H.; Deibel, R. H.; Kautel, D. A.; Fazio, T.; Johnston, R. W. y Kolari, O. E. 1973.—Effect of sodium nitrate and sodium nitrite on botulinal toxin production and nitrosamine formation in Wieners. Appl. Microbiol., 26: 22.

LEON Y MILLAN: DINAMICA DEL NITRITO Y DE LOS PIGMENTOS CARNICOS.

- I. F. T. (Expert Panel), 1972.--Nitrites, nitrates and nitrosamines in food --A dilemma. Food Technol., 26: (sin paginación).
- Johnston, M.; Pivnick, H. y Swanson, J. 1969.--Inhibition of *Clostridium botulinum* by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meta. Can Inst. Food Technol. J., 2 (2): 52.
- Kolari, O. E. y Annan, W. J. 1972.--The residual levels of nitrite in cured meat products. Proc. European Meat Research Workers. Ontario.
- Kramlich, W. E.; Pearson, A. M. y Tauber, F. W. 1973.--Processed Meats. Avi Publishing, Co.
- León Crespo, F. y Millán, R. 1977.--Cambios químicos durante la maduración del salchichón. 1. Alteraciones de la fracción lipídica. Arch. de Zootec., 26: 291.
- Olsman, W. J. y Krol, B. 1972.--Depletion of nitrite in heated meat products during storage. Proc. 18th Meeting Meat Research Workers. Ontario.
- Parr, A. A. y Hendrickson, R. L. 1970.--Nitric oxide pigments in Pre and post-chill processed ham. Food. Technol. 24: 118.
- Parr, A. A. y Solberg, M. 1972.--The effect of pH on bovine oxymyoglobin structure and stability. J. Food. Science, 37: 29.
- Sebranek, J. G.; Cassens, R. G.; Hoekstra, W. G.; Winder, W. C.; Podebradsky, E. V. y Kielsmeyer, W. E. 1973.--<sup>15</sup>N tracer studies on nitrite added to a comminuted meat product. J. Food Science, 38: 1220.
- Simon, S.; Ellis, D. E.; McDonald, B. D.; Miller, D. G.; Wadman, R. C. y Westenberg, D. O. 1973.--Influence of nitrite and nitrate curing ingredients on quality of packaged Frankfurters. J. Food Science, 38: 919.
- Walters, C. L. y Casselden, R. J. 1973.--The gaseous products of nitrite incubation with skeletal muscle. Z. Lebensm Unters. u-Forsch. 150: 335.
- Wasserman, A. E. y Hhtanen, C. N. 1972.--Nitrosamines and the inhibition of clostridium in medium heated with sodium nitrite. J. Food Science, 37: 785.
- Wasserman, A. E. y Talley, F. 1972.--The effect of sodium nitrite on the flavor of Frankfurters. J. Food Science, 37: 536.
- 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 P.

## LEON Y MILLAN: DINAMICA DEL NITRITO Y DE LOS PIGMENTOS CARNICOS.

CUADRO I. - Concentración de pigmentos totales y nitrosos y porcentaje de conversión de pigmentos durante la maduración del salchichón.

Días de maduración	PIGMENTOS TOTALES		PIGMENTOS NITROSOS		Conversión por 100
	(A)	(B)	(A)	(B)	
0	121,9 ± 19,8 <sup>a</sup>	242,5 ± 21,5 <sup>a</sup>	14,4 ± 3,5 <sup>a</sup>	28,6 ± 6,8 <sup>a</sup>	11,8
2	116,3 ± 8,6 <sup>a</sup>	230,8 ± 19,8 <sup>a</sup>	56,1 ± 8,4 <sup>b</sup>	102,4 ± 10,4 <sup>b</sup>	48,2
4	127,1 ± 12,4 <sup>a</sup>	229,6 ± 14,3 <sup>a</sup>	67,6 ± 3,1 <sup>bc</sup>	122,1 ± 8,7 <sup>b</sup>	53,2
9	114,1 ± 8,8 <sup>a</sup>	198,8 ± 17,3 <sup>a</sup>	64,4 ± 7,4 <sup>bc</sup>	112,2 ± 9,1 <sup>b</sup>	56,4
16	141,3 ± 9,3 <sup>ab</sup>	240,5 ± 16,2 <sup>a</sup>	75,4 ± 5,6 <sup>cd</sup>	128,3 ± 8,6 <sup>b</sup>	53,4
23	145,5 ± 9,7 <sup>ab</sup>	233,6 ± 13,6 <sup>a</sup>	71,0 ± 8,7 <sup>bcd</sup>	114,0 ± 9,4 <sup>b</sup>	48,8
30	156,2 ± 12,1 <sup>b</sup>	231,8 ± 19,7 <sup>a</sup>	69,4 ± 10,3 <sup>bc</sup>	103,0 ± 7,3 <sup>b</sup>	44,4
37	180,4 ± 10,9 <sup>b</sup>	254,2 ± 21,2 <sup>a</sup>	87,3 ± 10,7 <sup>d</sup>	123,0 ± 10,2 <sup>b</sup>	48,3
44	161,3 ± 9,7 <sup>b</sup>	229,5 ± 16,4 <sup>a</sup>	71,6 ± 18,8 <sup>bcd</sup>	101,9 ± 8,4 <sup>b</sup>	44,4
58	177,9 ± 11,2 <sup>b</sup>	242,6 ± 18,3 <sup>a</sup>	59,8 ± 7,4 <sup>b</sup>	81,6 ± 9,3 <sup>c</sup>	33,6

Los valores de esta tabla representan el valor medio ± la desviación típica.

(A): Concentración en ppm del embutido.

(B) Concentración en ppm referida a los sólidos totales.

a, b, c,....: Valores en la misma columna, con una misma letra, no son significativamente diferentes.

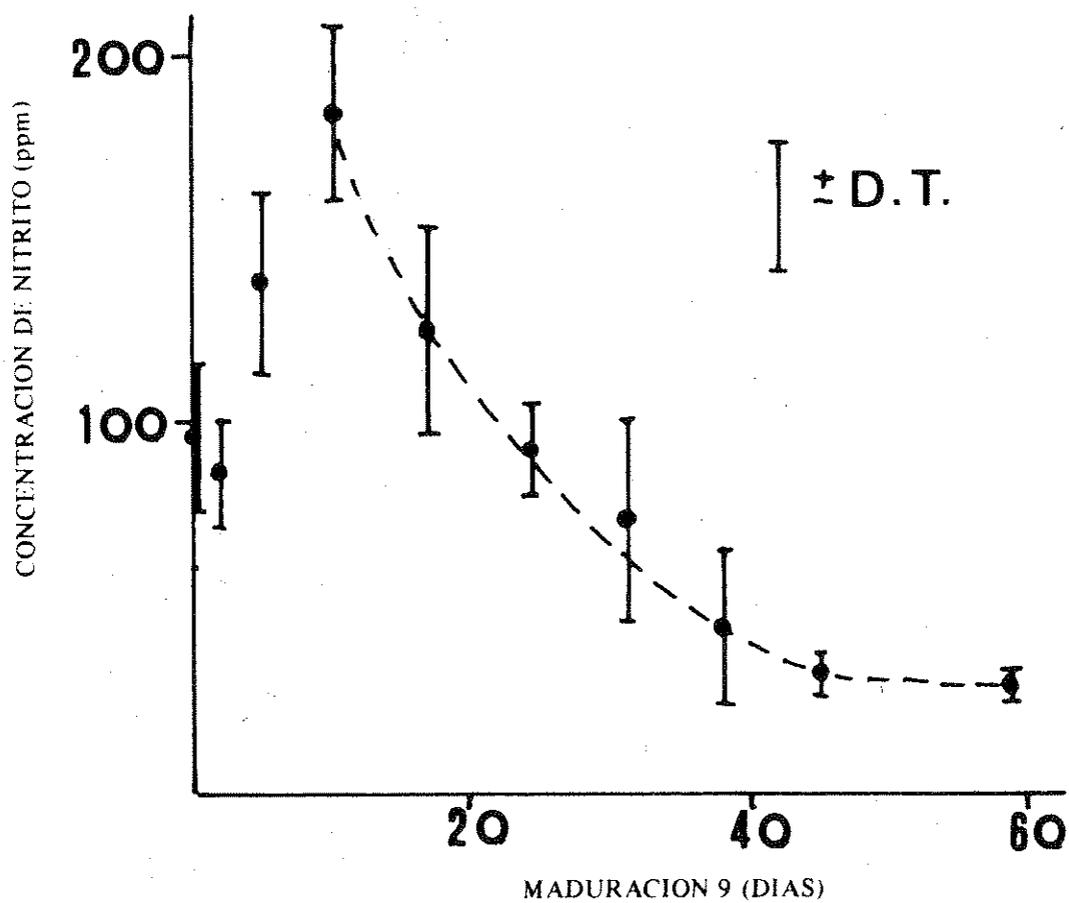


FIGURA 1. -Valores medios  $\pm$  desviación típica de la concentración de nitrito (ppm) durante la maduración del salchichón.

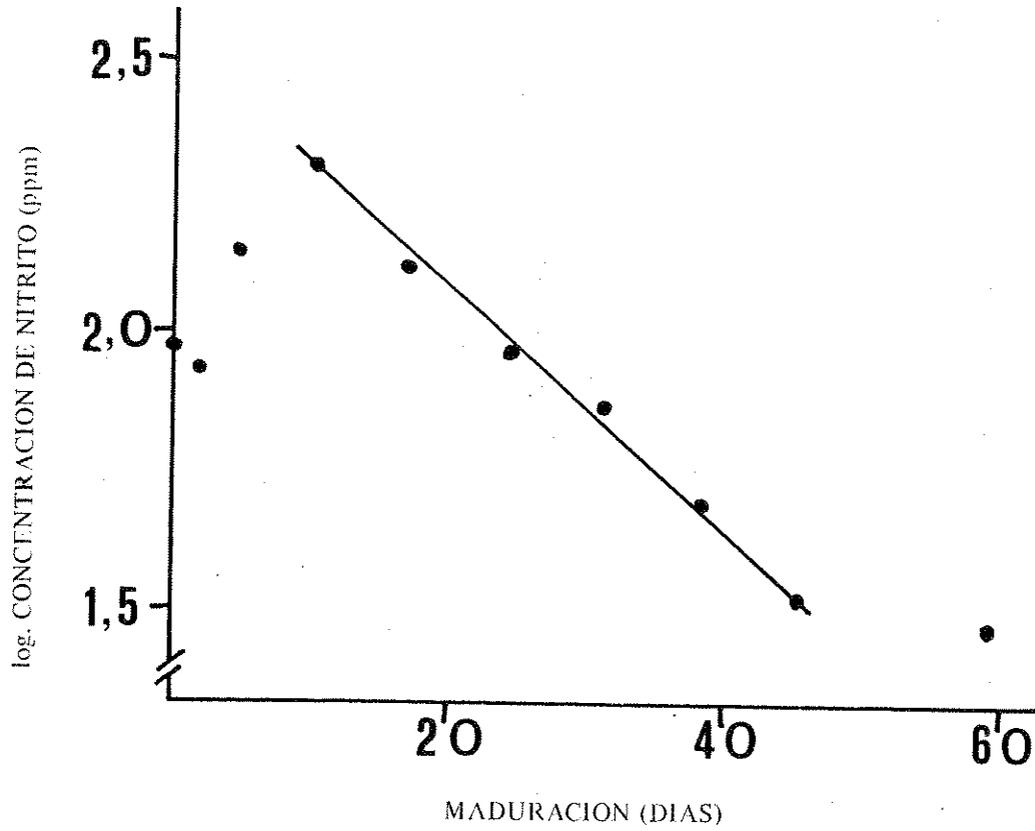


FIGURA 2.—Logaritmo de la concentración de nitrito (ppm) durante la maduración del salchichón.