

**Efecto del procesamiento y aplicación de cura
en la estabilidad del nitrito y color de un
tocino curado**

Kevin Estuardo Hernández Caballero

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2009

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Efecto del procesamiento y aplicación de cura en la estabilidad del nitrito y color de un tocino curado

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Kevin Estuardo Hernández Caballero

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2009

Efecto del procesamiento y aplicación de cura en la estabilidad del nitrito y color de un tocino curado

Presentado por:

Kevin Estuardo Hernández Caballero

Aprobado:

Francisco Javier Bueso, Ph.D.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Carrera de Agroindustria Alimentaria

Adela Acosta, D. C.T.A.
Asesora

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

RESUMEN

Hernández, K. 2009. Efecto del procesamiento y aplicación de cura en la estabilidad del nitrito y color de un tocino curado. Proyecto Especial de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria. Zamorano, Honduras 23 p.

El nitrito es un aditivo que se utiliza como agente de cura en los productos cárnicos curados, con el fin de inhibir microorganismos patógenos y desarrollar un color agradable y estable en el tiempo. En éste estudio se cuantificó el nitrito residual de un tocino bajo tres tratamientos de aplicación de cura (inmersión y masajeo, inyección y masajeo y control (inmersión sin masajeo). Se hicieron tres cuantificaciones de nitritos para observar la estabilidad del mismo y color en el tiempo. Se realizó un Diseño Completamente al Azar con medidas repetidas en el tiempo, con 3 tratamientos y 3 repeticiones para un total de 9 unidades experimentales. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza con separación de medias LSD y medidas repetidas en el tiempo con una significancia de $P \leq 0.05$ utilizando SAS ® versión 9.1. Se evaluó cambios en color (L^*a^* y b^*) y la cantidad de nitrito en mg/kg a los 0, 14 y 28 días de aplicados los tratamientos. El efecto del tiempo sobre los tratamientos fue significativo ($p \leq 0.05$), no obstante la interacción entre tratamiento y tiempo no fue significativa en la concentración de nitrito en cada tratamiento. El tratamiento con mayor estabilidad en la concentración de nitrito fue Inmersión más Masajeo. Inmersión más Masajeo fue el tratamiento con mayor estabilidad en cuanto a coloración y claridad siendo éste significativamente mayor durante el período de almacenaje.

Palabras clave: aditivos en cárnicos, cuantificación, inmersión, inyección, salmuera.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3. MATERIALES Y MÉTODOS	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
5. CONCLUSIONES	15
6. RECOMENDACIONES	16
7. LITERATURA CITADA	17
8. ANEXOS.....	19

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadro

1. Efecto del método de inyección de salmuera sobre la claridad (L*) del tocino almacenado 28 días a 6 °C y 57.8 % de humedad relativa..... 10
2. Efecto del método de inyección de salmuera sobre la tonalidad rojiza (a*) del tocino almacenado 28 días a 6 °C y 57.8 % de humedad relativa..... 11
3. Efecto del método de inyección de salmuera sobre la tonalidad amarilla (b*) del tocino almacenado 28 días a 6 °C y 57.8 % de humedad relativa..... 12
4. Concentración de nitrito del tocino con relación al tiempo de almacenamiento..... 13

Figura

1. Cambios en la concentración de nitrito del tocino almacenado 28 días a 6° C y 57.8% de humedad relativa..... 13

Anexo

1. Guía de procedimientos para Análisis de Nitritos en Carnes Curadas (AOAC 973.31). 19

1. INTRODUCCIÓN

La incertidumbre en cuanto a la ingestión de nitratos y nitritos surgió por primera vez en la década de 1970 cuando se reconoció que las nitrosaminas carcinogénicas podrían formarse en el estómago después de la ingestión. Investigaciones posteriores han mostrado que menos del 5% de los nitritos y nitratos ingeridos normalmente proviene de la carne curada, el resto de las verduras y la saliva (Archer 2002; Cassens 1997; Milkowski 2006). Sin embargo, en el 2006, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) llegó a la conclusión que "el nitrato o nitrito ingerido en condiciones que resultan de la nitración endógena es probablemente carcinogénico para los seres humanos" (Coughlin 2006).

Químicamente los nitritos en la carne curada son una mezcla compleja de reacciones químicas con participación interactiva de diferentes reactivos. El nitrito es un compuesto muy reactivo, que puede funcionar como una oxidación o reducción y puede ser convertido a una variedad de compuestos incluidos en la carne como ácido nitroso, óxido nítrico y nitratos (Honikel 2004). Afortunadamente, la investigación fundamental sobre el óxido nítrico se ha convertido en uno de los campos más activos de investigación en biología, porque se ha encontrado que el óxido nítrico desempeña funciones cruciales en muchas funciones fisiológicas en los organismos vivos.

El nitrito desempeña un papel clave en la carne curada como agente bacteriostático y bactericida. El nitrito es un fuerte inhibidor de bacterias anaerobias, como *Clostridium botulinum* el cual es muy importante, también, contribuye al control de otros microorganismos, como la *Listeria monocytogenes*. Los efectos de los nitritos y el probable mecanismo inhibidor es diferente en diferentes especies bacterianas (Tompkin 2005). La eficacia de nitritos como un agente antibotulinal depende de varios factores ambientales, incluyendo el pH, la concentración de cloruro de sodio, agentes reductores y contenido de hierro, entre otros (Tompkin 2005).

En la planta de Cárnicos de Zamorano, la salmuera es adicionada al tocino principalmente por medio de la inmersión del producto en dicha salmuera. Este método consiste en sumergir el bloque de tocino en la salmuera durante cuatro días, lo cual es necesario para que la cura logre penetrar al tocino de una manera homogénea y efectiva.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es necesario cuantificar el nitrito residual en los productos curados, para lograr identificar si se está logrando llegar a los niveles adecuados de cura y determinar si dicho nivel de nitrito cumple las funciones antimicrobiales y de generación de color deseable en los productos. El laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano no había implementado el análisis de nitritos anteriormente, a pesar de poseer la tecnología y recursos para llevarlo a cabo. No obstante la implementación del mismo generará un ingreso adicional al realizarse periódicamente para los productos curados ya sea de la planta de cárnicos de Zamorano lo cual asegurará la inocuidad de los mismos como también público en general que desee realizar dichos análisis.

1.2 ANTECEDENTES

Un estudio realizado por Abadie (2006), en la planta de cárnicos de Zamorano, evaluó el efecto de los métodos de aplicación de salmuera (inmersión, inyección más inmersión y masajeo más inmersión) sobre las cualidades sensoriales y físicas de un jamón. Encontrando que el tratamiento de inyectado más inmersión por 24 horas resultó en el jamón con la textura más suave y color más pálido de los tres tratamientos. La aplicación de salmuera por inmersión y masajeo más inmersión dieron resultados igual de intensos en cuanto a las características físicas de color.

1.3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La planta de cárnicos de Zamorano vende anualmente alrededor de 30 kg de tocino al exterior, 360 kg al comedor de estudiantes y 85 kg al puesto de ventas de Zamorano. Actualmente la planta de cárnicos no realiza análisis de nitrito residual en sus productos curados debido a que en Tegucigalpa no existen laboratorios que brinden este servicio. Realizando cuantificación de nitritos periódicamente en los productos curados, se logrará enriquecer el plan HACCP de la planta de cárnicos. El Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano posee la capacidad de realizar dichos análisis, los cuales permitirán a la planta de cárnicos monitorear las concentraciones de nitrito residual de sus productos finales cuando sea necesario.

1.4 LÍMITES DEL ESTUDIO

El límite real es que no se validó el método de cuantificación de nitritos, como también la indisponibilidad de los reactivos sulfanilamida y naftiletilediamina, los cuales únicamente pueden ser encontrados en Estados Unidos.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo general:

- Cuantificar la cantidad de nitrito residual de tres procedimientos de producción de tocino, en función del tiempo de almacenamiento.

1.5.2 Objetivos específicos:

- Determinar la estabilidad del nitrito residual y color en el tocino curado bajo tres tipos de procesamiento (inmersión, inmersión más masajeo e inyección más masajeo).
- Desarrollar una guía en español del método de análisis de nitritos residuales de la AOAC 973.31 en productos cárnicos curados para uso del Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 CURA

El ingrediente más importante en la cura de productos cárnicos es la sal. La sal representa la mayor parte en la mezcla para curar porque no solo es un buen preservante, sino también provee un sabor deseable en la carne. La sal inhibe el crecimiento de bacterias y en otros productos, sin embargo es más efectiva conjuntamente con nitrito (Ziegler 1968).

El nitrito es un aditivo agregado a la carne que propiedades antimicrobiales, principalmente en *Clostridium botulinum* como también propiedades de estabilidad de color deseable en la carne curada (rosado). El nivel de nitrito mínimo que inhibe esporas y la producción de toxinas de varios grupos de *Clostridium botulinum*, varía de 50-300 Mg NO₂/kg de alimento en función del pH de la matriz de los alimentos (Szabo y Gibson 1997). Sin embargo en tocino el nivel requerido de nitrito residual es de 120 ppm, para brindar un color deseable e impartir inocuidad al producto.

2.2 REGULACIONES EN ESTADOS UNIDOS PARA ADICIÓN DE NITRITOS

La normativa actual sobre el uso de nitritos y nitratos en los Estados Unidos varía en función del método de curado y el producto que está siendo curado. Para los productos pulverizados, la concentración convergente máximo de nitrito de sodio o de potasio es de 156 partes por millón (ppm) o 0.25 oz por cada 100 libras. (7 g/45.4 kg), basado en el peso del bloque de carne (USDA 1995).

Para curado por inmersión y masaje o de los productos inyectados, lo máximo adicionado de nitrito de sodio o potasio es de 200 ppm y 700 ppm, respectivamente, de nuevo basada en el peso del bloque de carne. Productos curados en seco están limitados a 625 ppm de nitrito.

El tocino es una excepción a los límites generales para los agentes de curado, debido al potencial para la formación de nitrosamina. Para tocino inyectado y / o masajeado sin piel, son requeridos 120 ppm como máximo de nitrito de sodio junto con 550 ppm de ascorbato de sodio o eritorbato de sodio, que también es necesario.

Es importante señalar que esta es una cantidad específica requerida. Para adaptarse a la variación en los procedimientos de inyección y drenaje de la salmuera de los productos inyectados, el reglamento en tocino inyectado y masajeado permite $\pm 20\%$ de la concentración objetivo en el momento de la inyección o el masaje. El tocino curado por

inmersión está limitado a 120 ppm de nitrito de sodio o 148 ppm de nitrito de potasio, mientras que el tocino curado en seco está limitado a 200 ppm o 246 ppm, respectivamente.

Es importante señalar que las normas también requieren un mínimo de 120 ppm de nitrito de insumo para todos los productos curados "Mantener refrigerados" los productos "al menos que la seguridad esté garantizada por un proceso de conservación, tales como el tratamiento térmico, el pH y la humedad". El establecimiento de un mínimo de concentración de nitrito suministrado se considera crítico para la seguridad del producto posterior. Esta es una consideración importante para productos cárnicos curados naturalmente y orgánicos. Por otra parte, para los productos curados que son procesados para garantizar la estabilidad en anaquel (almacenarse a temperatura ambiente y no requieren de refrigeración), no hay nivel mínimo de nitrito suministrados. El manual de cálculos del Inspector de procesamiento del USDA (USDA 1995) sugiere que para tener productos con vida de anaquel estable 40 ppm de nitrito son suficientes para preservar. Esta cantidad también ha mostrado ser suficiente para propósitos de mejoramiento del color.

2.3 CURADO

El término "curado" en relación a carnes procesadas es universalmente entendido en el sentido de la adición de nitritos o nitratos, sal y otros ingredientes a la carne para mejorar la conservación (Pegg y Shahidi 2000). Si bien es cierto que varios ingredientes incluyendo el azúcar, especias, fosfatos y otros suelen ser incluidos en embutidos, es la adición de nitrito que de una u otra forma brinda las características distintivas de la carne curada (Cassens 1990). El típico de color, sabor, vida útil y la seguridad de jamón, *tocino* (120 ppm), Frankfurters, mortadela y otros productos curados son ampliamente reconocidas por los consumidores ya que estos nombres de productos son considerados "normalizados" y "tradicionales" por el USDA en la etiqueta del producto y no requiere ninguna aclaración adicional.

Según Pegg y Shahidi (2000), cuando se añade nitrito para conservación de carne, la misma obtiene un color marrón con rapidez debido a la formación de metmioglobina ya que el nitrito actúa como un oxidante fuerte con el pigmento hemo y éste a su vez, se reduce a óxido nítrico. El óxido nítrico reacciona con la metmioglobina en reacciones de reducción y posteriormente se convierte de hemo oxidado a reducción de óxido nítrico, (mioglobina) color típico a curado después de la cocción.

2.4 NITRITOS Y NITRATOS

Se emplean para contrarrestar los efectos negativos en el color de la sal, que produce oxidaciones. Los nitritos producen compuestos muy estables y son utilizados directamente; en cambio, el nitrato primero es reducido por los microorganismos y después se utiliza en la siguiente reacción:

Nitrato	Microorganismos reductores	Nitrito
Nitrito	—————→	NO + H ₂ O Óxido nítrico
NO + Mioglobina	—————→	NO- MMB Óxido nítrico de Metamioglobina
NO – MMB	—————→	NO – MB Óxido nítrico De Mioglobina
NO – MB + Calor	—————→	NO- Hemocromógeno

El nitrito se emplea más que el nitrato porque reacciona más rápidamente y se requiere menor cantidad para tener efectos similares, aunque es común utilizar juntos nitritos y nitratos de sodio y potasio.

2.5 INYECTADO

El propósito de un inyector de salmuera es bombearla dentro de la carne para obtener una distribución oprimada y ganar peso. Casi siempre una parte de la salmuera que no es retenida por el músculo con jugos de la carne y demás, es depositada nuevamente y recirculada al tanque de bombeo de salmuera. Las salmueras son caras y haciendo la reutilización de la misma hace la inyección más económica.

La optimización del sabor y humedad en un músculo de carne puede ser acompañada de un inyector con patrón de agujas cerradas y un bombeado relativamente menor. Adicionalmente el masajeo al vacío dispersará el marinado por todas las membranas de la carne. Para grandes volúmenes el masajeo no es la mejor opción. (Ziegler 1968)

2.6 MASAJEO

El masajeo está usualmente acompañado de contenedores de llenado asimétricos con carne inyectada la cual es tratada con un suave masajeo de baja velocidad. Regularmente la forma del masajeo carne sobre carne: la carne no es levantada o volteada, puede haber poca destrucción o nada en las fibras de carne y tejidos conectivos, dando como resultado productos cárnicos de alta calidad, aunque sea en niveles de inyección baja (Hoogenkamp 2005).

El masajeo de carne es un sistema en el cual retenedores asimétricos rotan en una dirección a altas velocidades, mediante el cual la carne es inyectada mientras es levantada. Este es un tratamiento más agresivo, el cual tiene menos tiempo de procesamiento y es regularmente usado en carnes con niveles más altos de inyección. El masajeo regularmente provee una textura más firme y una textura más suave en cortes de músculos completos. Regularmente el masajeo se realiza para obtener la mayor cantidad de proteínas solubles en sal y con esto adherir piezas de carne (Hoogenkamp 2005).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

La elaboración del tocino curado se llevó a cabo en la planta de industrias cárnicas de Zamorano. El análisis de estabilidad del Nitrito en carnes curadas se realizó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano, ambos localizados en el valle del Yeguaré, departamento de Francisco Morazán, Honduras, C.A.

3.2 MATERIALES

3.2.1 Materiales utilizados en la elaboración de tocino:

- Tocineta (cerdo)
- Sal yodada (Alimentos y Especies S.A.)
- Nitrito de sodio (Prima S.A.)
- Azúcar (Prima S.A.)
- Agua purificada
- Baldes plásticos

3.2.2 Equipos utilizados en la elaboración de tocino:

- Ahumador Koch, Modelo OM 6000
- Balanza UWE, Modelo A5 III
- Empacadora al vacío Ultravac Koch
- Masajeadora HOLLY 200, modelo HVT 200

3.2.3 Materiales y equipos utilizados en el análisis de nitritos:

- Varillas de vidrio
- Beakers de 100 ml
- Matraz Volumétricos 1000 ml
- Matraz Volumétricos 500 ml
- Matraz Volumétricos 50 ml
- Pipetas 5 ml
- Pipetas 10 ml
- Spec cuvettes
- Erlenmeyer flasks 500 ml
- Papel Filtro Whatman® No. 2

- Heated Water Bath Precision, GCA Corporation
- Procesador de comida KitchenAid, modelo KFP600
- Hot Plate Coning, modelo PC620D
- Espectrofotómetro Spectronic 20, Milton Roy Co. (540 nm)

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño DCA con tres repeticiones y medidas repetidas en el tiempo en los días 0, 14, 28 para los tratamientos. Las variables evaluadas fueron: cantidad de nitrito en mg/kg y color $L^*a^*b^*$.

3.3.2 Métodos

Durante el estudio se hicieron tres tandas de tocino en un período de 28 días, el cual es el tiempo óptimo de almacenamiento del tocino empacado al vacío a 6 °C y 57.8% de humedad relativa. Los análisis fueron realizados en los días 0, 14 y 28 después de haber sometido el tocino a procesamiento y aplicación de cura.

Se compararon las cantidades de nitrito y color tanto en el momento de adición de cura como al final del estudio, para verificar cambios y reportarlos.

3.3.3 Proceso de Elaboración de Tocino

- **Desposte:** La hoja de tocino está limitada por cuatro cortes que le dan forma rectangular: uno superior a lo largo del espinazo, otro inferior del pecho y el vientre, otro anterior que sigue el borde de la paleta y termina en la punta del esternón, y el último o posterior, que sigue el borde del jamón hasta la babilla.
- **Segmentación y pesado:** Se dividió la tocineta de diez kg y se tomaron 5.4 kg para segmentarlos en tres partes iguales en pesos de 1.8 kg los cuales fueron destinados para los tres tipos distintos de tratamientos.
- **Pesado de ingredientes de cura:** Se pesaron los ingredientes de la cura por separado, percatándose de la exactitud en los porcentajes.
- **Masajeo:** Se colocaron cordones de colores distintivos para dos de los tratamientos y se sometieron a cuatro horas intermitentes de masajeo para un total de dos horas efectivas de masajeo.
- **Curado por Inmersión e inyección:** Las tres partes de tocino fueron identificadas siendo dos de estas sumergidas en la cura, (control e inmersión) y otra inyectada con una jeringa manual, ambos tratamientos duraron cuatro días.
- **Tratamiento térmico:** Los tocinos fueron sometidos a un tratamiento térmico de 72 °C por tres horas en el ahumador Koch.
- **Enfriado:** Se dejó enfriar por una hora a temperatura ambiente y otra hora más a 4°C.

- **Cortado:** El enfriado permitió que el tocino tomara una textura semirrígida facilitando el corte en partes de 200 gramos.
- **Empacado:** Se empacó al vacío en porciones de 200 gramos.
- **Almacenado:** Se almacenó a 6 °C y 57.8 % de humedad relativa durante 28 días.

3.3.4 Tamaño de Muestra

Se realizó una muestra de 200 g por cada tratamiento para lograr correr la prueba de análisis de nitritos, siendo necesarios 1.8 kg por cada tratamiento.

3.4 ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS

Se procedió a determinar el contenido de nitrito en mg/kg de cada tratamiento por medio del método oficial de la AOAC 973.31. Para cuantificación de nitrito residual en carnes curadas (Anexo 1).

3.4.1 Análisis colorimétrico ColorFlex HunterLab

Los análisis de color se realizaron a través del Colorflex Hunterlab (ASTM E1455). El valor L* mide la claridad de 0 a 100 (0 = negro y 100 = blanco), a* (-60 = Verde y + 60 = rojo) y b* (-60 = azul y +60 = amarillo) (HunterLab 2000). Los análisis fueron realizados en el día 0, 14 y 28 evaluando cada muestra por triplicado. A continuación el procedimiento:

- Se colocaron las muestras en recipientes plásticos.
- Se tomó una submuestra con la copa especial transparente del colorflex
- Se colocó la copa de la submuestra en la región de lectura de color del colorflex
- Se corrió el análisis con el software de color del colorflex
- Se tomaron los datos L*a*b
- Se ordenaron los datos en el programa de cálculo Microsoft Office Excel.
- Se analizaron los datos en el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS) v. 9.1.

3.4.2 Análisis Estadístico

Se utilizó el programa Sistema de Análisis Estadísticos (SAS) v. 9.1 evaluando los resultados con un nivel de significancia de 5% ($p \leq 0.05$). Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con medidas repetidas en el tiempo para los tres tratamientos. Para observar si hubo algún cambio en las variables, se realizó una separación de medias LSD entre tratamientos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ESTABILIDAD DEL COLOR DEL TOCINO

4.1.1 Valor de L*

Con respecto al valor L* el cual denota la claridad, hubo diferencia significativa entre tratamientos en el tiempo de almacenamiento del tocino (28 días), generándose una pérdida de claridad cómo se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Efecto del método de inyección de salmuera sobre la claridad (L*) del tocino almacenado 28 días a 6 °C y 57.8 % de humedad relativa.

TRT	L*		
	día 0 Media ± DE	día 14 Media ± DE	Día 28 Media ± DE
Inmersión y masajeo	71.1± 0.38 ^{bx}	69.9± 0.41 ^{by}	69.8± 0.14 ^{ay}
Inyección y masajeo	73.9± 0.22 ^{ax}	69.2± 0.22 ^{cy}	69.2± 0.26 ^{by}
Inmersión	70.9± 0.29 ^{bx}	70.3± 0.19 ^{ay}	66.9± 0.17 ^{cz}
%C.V.	0.41	0.42	0.29

a-c Medias en la misma columna con letra diferente son estadísticamente diferentes (P≤0.05)

x-z Medias en la misma fila con letra diferente son estadísticamente diferentes (P≤0.05)

%C.V- Coeficiente de variación

DE- Desviación estándar

Como se muestra en el Cuadro 1, el efecto del tiempo fue significativo (p≤0.05), al igual que la interacción tratamiento y tiempo fue significativamente diferente. En el día cero los tratamientos inmersión más masajeo e inmersión, fueron estadísticamente diferentes que el tratamiento Inyección más masajeo, siendo el tratamiento inyección más masajeo el más luminoso. En el día 14 los tres tratamientos fueron estadísticamente diferentes (p<0.05) siendo el tratamiento inmersión el más luminoso de los tres tratamientos. Al finalizar el estudio en el día 28 se observó diferencia estadística entre todos los tratamientos siendo el tratamiento con inmersión más masajeo el más luminoso seguido por el tratamiento con inyección más masajeo y el tratamiento inmersión. El tratamiento inmersión fue el tratamiento con la media más baja en el valor de L* para el tocino denotando una pérdida de luminosidad mayor a través del período de almacenamiento de 28 días.

4.1.2 Valor de a*

Con respecto al valor a* el cual denota la coloración rojiza, se puede observar una tendencia negativa lo cual indica que la intensidad del color se fue perdiendo con forme el pasar del tiempo.

Cuadro 2. Efecto del método de inyección de salmuera sobre la tonalidad rojiza (a*) del tocino almacenado 28 días a 6 °C y 57.8 % de humedad relativa.

TRT	a*		
	día 0 Media± DE	día 14 Media ± DE	día 28 Media ± DE
Inmersión y masajeo	5.9± 0.25 ^{ax}	1.9± 0.41 ^{by}	1.9± 0.24 ^{cy}
Inyección y masajeo	4.9± 0.40 ^{bx}	4.7± 0.67 ^{ax}	3.0± 0.29 ^{ay}
Inmersión	5.8± 0.15 ^{ax}	4.8± 0.11 ^{ay}	2.5± 0.28 ^{bz}
%C.V.	12.9	11.04	17.6

a-c Medias en la misma columna con letra diferente son estadísticamente diferentes (P≤0.05)

x-z Medias en la misma fila con letra diferente son estadísticamente diferentes (P≤0.05)

%C.V.- Coeficiente de variación

DE- Desviación estándar

Como se puede observar en el Cuadro 2, el efecto del tiempo fue significativo ($p \leq 0.05$), al igual que la interacción tratamiento y tiempo en la tonalidad rojiza del tocino. Los datos muestran que en el día cero los tratamientos inmersión e inmersión más masajeo denotaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con relación al tratamiento inyección más masajeo, el cual mostró una media más baja denotando un color rojizo menos intenso con relación a los otros dos tratamientos. En el día 14 continuó con la media más alta el tratamiento Inmersión sin presentar diferencia significativa con el tratamiento inyección más masajeo, sin embargo ambos tratamientos sí fueron diferentes significativamente con relación al tratamiento inmersión más masajeo. Los datos del día 28 mostraron una conducta diferente con relación a los datos de los días anteriores, siendo todos los tratamientos significativamente diferentes entre sí. El tratamiento inyección más masajeo presentó una tonalidad final más rojiza con relación a los otros tratamientos al finalizar el estudio.

4.1.3 Valor de b*

Con respecto al valor de b* el cual denota el color amarillento, se logra observar cambios significativos con una tendencia positiva en los distintos tratamientos.

Cuadro 3. Efecto del método de inyección de salmuera sobre la tonalidad amarilla (b*) del tocino almacenado 28 días a 6 °C y 57.8 % de humedad relativa.

TRT	b*		
	día 0 Media +DE	día 14 Media +DE	día 28 Media +DE
Inmersión y masajeo	11.2± 0.02 ^{cy}	11.8± 0.17 ^{ax}	9.5± 0.11 ^{cz}
Inyección y masajeo	11.6± 0.06 ^{bx}	11.2± 0.03 ^{cy}	11.1± 0.12 ^{ay}
Inmersión	12.1± 0.29 ^{ax}	11.4± 0.05 ^{by}	10.9± 0.02 ^{bz}
%C.V.	1.75	0.34	0.83

a-c Medias en la misma columna con letra diferente son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$)

x-z Medias en la misma fila con letra diferente son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$)

%C.V.- Coeficiente de variación

DE- Desviación estándar

El Cuadro 3 muestra que el efecto del tiempo es significativo ($p \leq 0.05$) con relación a las tonalidades amarillentas del tocino, al igual que la interacción tratamiento y tiempo. En el día cero todos los tratamientos fueron significativamente diferentes ($p \leq 0.05$), siendo el tratamiento inmersión el cual presentó mayor tonalidad amarillenta con relación a los tratamientos inyección más masajeo e inmersión más masajeo.

En el día 14 la tendencia continuó siendo el tratamiento inmersión el más amarillento con relación a los otros dos tratamientos. En el día 28 fue el tratamiento inyección más masajeo el que presentó mayor tonalidad amarillenta seguido por el tratamiento inmersión e inmersión y masajeo, siendo todos los tratamientos diferentes significativamente ($p \leq 0.05$) entre sí.

4.2 ANÁLISIS QUÍMICOS

4.2.1 Contenido de nitrito del tocino en el tiempo

Como se muestra en el Cuadro 1, el efecto del tiempo es significativo ($p \leq 0.05$), no obstante la interacción tratamiento y tiempo no fue significativamente diferente. Con respecto a la concentración de nitritos tomada en el día cero del experimento, no se logró observar diferencia estadística significativa entre tratamientos. Siendo el tratamiento Inyección más masajeo el cual mostró un contenido mayor de nitritos seguido por inmersión, finalizando con el tratamiento inmersión más masajeo. No obstante el contenido de nitrito se redujo en la segunda medición (día 14) estabilizándose y sin mostrar diferencia estadística significativa. Todos los tratamientos estuvieron en el rango de (69 – 170 mg/kg). En la última cuantificación de nitritos residuales, siendo ésta a los 28 días de haber empezado el experimento, se logró observar diferencia significativa entre cada tratamiento en el período de almacenamiento, siendo inmersión el tratamiento con más contenido de nitrito final (113.8 mg/kg), seguido por el tratamiento inmersión más masajeo y finalizando con el tratamiento inyección más masajeo. Estas variaciones se pueden observar en el cuadro 4.

Cuadro 4. Concentración de nitrito del tocino con relación al tiempo de almacenamiento.

TRT	Contenido de nitrito del tocino en almacenamiento (mg/kg)		
	día 0 Media ± DE	día 14 Media ± DE	día 28 Media ± DE
Inmersión y masajeo	136.1± 5.7 ^{ax}	123.7± 10.7 ^{ax}	105.2± 2.14 ^{ay}
Inyección y masajeo	146.6± 44.6 ^{ax}	108.9± 24.7 ^{ay}	69.9± 22.6 ^{bz}
Inmersión	165.8± 18.7 ^{ax}	138.6± 2.1 ^{ay}	113.8± 2.14 ^{az}
%C.V.	17.6	10.9	6.8

a-c Medias en la misma columna con letra diferente son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$)

x-z Medias en la misma fila con letra diferente son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$)

%C.V.- Coeficiente de variación

DE- Desviación estándar

Según Azanza y Rustia (2003), el porcentaje residual de nitrito debe estar cerca de 125 mg/kg de carne curada, para que en realidad el nitrito logre desarrollar sus funcionalidades como agente antimicrobial. Sin embargo la mayoría de productores están más enfocados en la parte de color que en la parte de seguridad alimentaria. Es por eso que es posible encontrar tocinos con niveles de nitrito residual de 0.9 mg/kg, el cual únicamente está brindando color deseable, sin embargo, la función antimicrobial no se estaría cumpliendo.

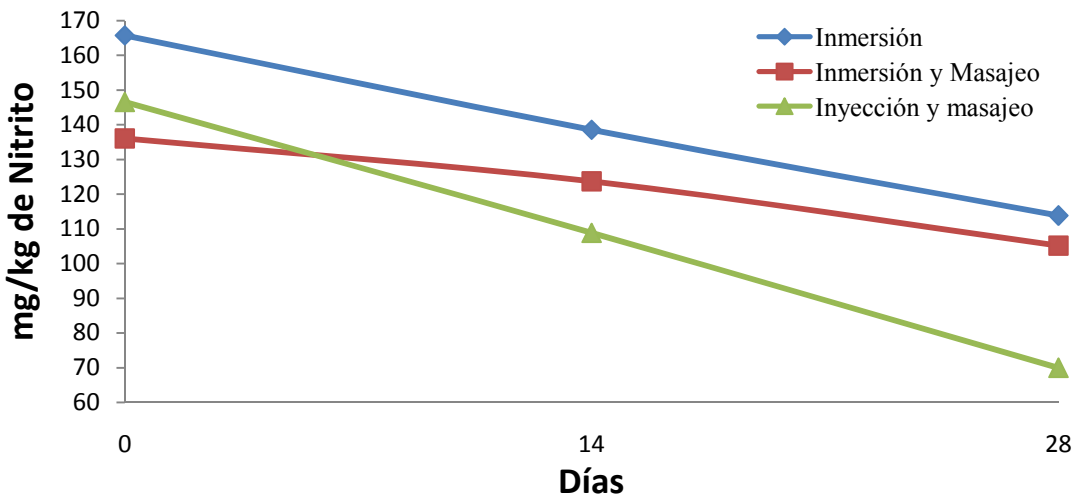


Figura 1. Cambios en la concentración de nitrito del tocino almacenado 28 días a 6° C y 57.8% de humedad relativa.

Según Hoogenkamp (1998), el uso de masajeo mecánico facilita la absorción de los agentes de cura contenidos en la mezcla. El tratamiento inmersión y masajeo fue el que obtuvo mejores resultados en cuanto a estabilidad, ya que el contenido de nitrito inicial con el final tienen una diferencia menor comparado con los otros dos tratamientos.

No hubo diferencia estadística significativa entre el tratamiento Inmersión y el tratamiento inmersión más masajeo al finalizar el estudio, sin embargo ambos tratamientos están cerca del contenido de nitrito óptimo (*120 ppm*). Es decir el tratamiento Inmersión puede ser bien sustituido por el tratamiento inmersión más masajeo, conteniendo una cantidad de nitritos estable dentro del rango sugerido para tocino en 28 días de almacenamiento.

5. CONCLUSIONES

- La adición de salmuera por inmersión más masaje resultó en el tocino con una tonalidad rosada más clara.
- La aplicación de la salmuera por inmersión más masaje resultó en el tocino con nitrito residual más estable en el tiempo de almacenamiento.
- El nitrito residual del tocino evaluado en todos los tratamientos disminuyó significativamente su concentración con el pasar del tiempo.
- La adición de salmuera por inmersión presentó mayor cantidad de nitrito residual, comparado con los demás tratamientos al finalizar el estudio.

6. RECOMENDACIONES

- Utilizar masajeo previo a la inmersión del tocino para una mejor absorción y uniformidad de los agentes de cura en carnes curadas.
- Capacitar al personal que labora en la planta en cuanto a las funciones desempeñadas por los agentes de cura, en productos curados.
- Verificar la exactitud y precisión del método de cuantificación de nitritos mediante estudios interlaboratorio.
- Implementar el análisis de nitritos como laboratorio práctico de la curso de Análisis de Alimentos.

7. LITERATURA CITADA

Abadie, M. 2006. Efecto de tres métodos de aplicación de salmuera sobre las cualidades sensoriales y físicas de un jamón. Proyecto especial de graduación. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 19 p.

Archer, D. L. 2002. Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health, Journal of Food Protection. 65: 872 - 873.

Azanza, P. B. y Rustia, A.S. 2003. Residual nitrite levels in Philippine sweet bacon. Journal of Food Control. 15: 385 - 389.

Cassens, R. G. 1990. Nitrite-cured meat, London, England, Food and Nutrition Press inc. 566 p.

Cassens, R. G. 1997. Composition and safety of cured meats in the USA, Food Chemistry. 561 p.

Coughlin, J. R. 2006. Update on International Agency for Research on Cancer monograph on ingested nitrite and nitrate. In Proceedings of the meat industry research conference. Consultado 3 oct. 2009. Disponible en:
<http://www.meatscience.org/Pubs/mircarchiv/2006/default.htm>

Dayrit et al. (1992). Nitrite poisoning in two children. Field epidemiological training program (en línea). Consultado 15 sep. 2009. Disponible en:
<http://www.cdc.gov.tw/public/Attachment/85913483771.doc>

Honikel, K.O. 2004. Curing agents. In: W.K. Jensen, C. Devine and M. Dikeman, Editors, Encyclopedia of meat sciences, Elsevier Ltd, Oxford, UK (2004), 195 p.

Hoogenkamp, H. W. 2005. Soy protein and formulated meat products. (En línea). Consultado 22 sep. 2009. Disponible en:
http://books.google.es/books?id=IRIRBOd_oTcC&pg=PA176&dq=meat+tumbling#v=onepage&q=meat%20tumbling&f=false

Hoogenkamp, H. W. 1998. Vegetable protein interactive technology and marketing for meat, poultry & lifestyle foods (3rd ed.). MO, USA: Protein Technologies International, Inc.

Hunter lab. 2000. What is Color and How is Measured (en línea). Consultado 4 oct. 2009. Disponible en: <http://www.hunterlab.com/>

Milkowski, A. L. 2006. The controversy about sodium nitrite. In Proceedings of the meat industry research conference. (en línea). Consultado 7 oct. 2009. Disponible en: <http://www.meatscience.org/Pubs/mircarchiv/2006/default.htm>

Pegg, R. B. y Shahidi, F. 2000. Nitrite curing of meat. The n-nitrosamine problem and nitrite alternatives, Food and Nutrition Press, Inc, Trumbull, CT (2000).

Szabo, E. A. y Gibson, A. M. 1997. Clostridium botulinum. In A.D. Hocking, G. Arnold, I. Jenson, K. Newton, & P. Sutherland (Eds.), Foodborne microorganisms of public health significance (5th ed.) 429 p.

Tompkin, R.B. 2005. Nitrite. In: P.M. Davidson, J.N. Sofos and A.L. Branen, Editors, Antimicrobials in food (3rd ed.), CRC Press, Taylor & Frances Group, Boca Raton.

(USDA) (United States Department of Agriculture), 1995. Processing Inspector's Calculations Handbook (FSIS Directive 7620.3). (en línea). Consultado 3 sep. 2009. Disponible en: <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISDirectives/7620-3.pdf>

(USDA) (United States Department of Agriculture), 1995 Food standards and labeling policy book.(en línea). Consultado 6 sep. 2009. Disponible en: www.fsis.usda.gov/OPPDE/larc/Policies/Labeling_Policy_Book_082005.pdf

Ziegler, T. 1968. The Meat We Eat. The preservation smoking and storing of meat. Printers & Publishers, Inc. 148 p.

8. ANEXOS

Anexo 1. Guía de procedimientos para Análisis de Nitritos en Carnes Curadas (AOAC 973.31)

Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano

Elaborado por:
Kevin Hernández Caballero

Introducción:

La siguiente guía, posee los procedimientos detallados para cada paso en la realización del análisis de nitritos para carnes curadas (AOAC 973.31, 2000, 39.1.21). Cada uno de los pasos está específicamente ilustrado con fotografías en las cuales se puede tener una mejor idea de lo que es necesario realizar en cada paso, como también los puntos clave a tomar en cuenta para obtener resultados fidedignos al momento del cálculo de nitrito residual.

Materiales y Equipos:

- Varillas de vidrio
- Beakers de 100 ml
- Matraz Volumétricos 1000 ml
- Matraz Volumétricos 500 ml
- Matraz Volumétricos 50 ml
- Spec cuvettes
- Pipetas 5 ml
- Pipetas 10 ml
- Erlenmeyer flasks 500 ml
- Papel Filtro Whatman® No. 2
- Baño María
- Balanza Analítica
- Procesador de comida u Homogeneizador
- Hot Plate
- Espectrofotómetro (UV/VIS 540 nm)

Preparación de Reactivos:

Reactivo NED: Disolver 0.2 g N-(1-naphthyl) ethylene diamina • 2HCl in 150 ml 15% (v/v) ácido acético. Mezclar por 10 minutos aproximadamente para lograr una solución homogénea. Almacenar en una botella de vidrio café. Si es necesario filtre de nuevo antes de usar.



Reactivos Sulfanilamida y NED en botellas oscuras

Reactivo Sulfanilamida: Disolver 0.5 g de sulfanilamida en 150 ml 15% (v/v) ácido acético. Mezclar bien por aproximadamente 10 minutos para lograr una solución homogénea. Almacenar en una botella oscura. Si es necesario filtre antes de usar.

Solución de Nitrito Estándar

- **Solución Madre (1,000 ppm NaNO_2):** Disolver 1 g (± 0.0001) NaNO_2 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.
- **Solución Intermedia (100 ppm NaNO_2):** Diluir 100 ml de la Solución madre a 1,000 ml con agua destilada.
- **Solución a Utilizar (1 ppm NaNO_2):** Diluir 10 ml de la solución intermedia a 1,000 ml de agua destilada

Preparación de la curva estándar:

Añadir 10, 20, 30 y 40 ml de solución estándar de nitrito (1ppm NaNO_2) en distintos frascos de 50 ml. La concentración de nitrito en cada frasco será de 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8 ppm, respectivamente. Añadir 2.5 ml de reactivo de sulfanilamida, mezclar. Después de haber dejado reposar por 5 minutos, añadir 2.5 ml de reactivo NED mezclando bien. Diluir el volumen con agua destilada, mezclando por otros 15 minutos para permitir el desarrollo del color.

Preparación de la muestra

1. Pesar aproximadamente 200 gr de muestra y colocarla en un procesador de alimentos bien distribuida. Triturar la muestra por un minuto aproximadamente, deteniéndose cada 15 segundos para regresar las porciones de la muestra que pudiesen haber salido del área efectiva del procesador. Continuar hasta lograr una pasta homogénea.



Muestra en el procesador de alimentos



Muestra después de 1 minuto de procesamiento

2. Pesar 5 g (± 0.01) de muestra finamente procesada siendo ésta mezclada en un beaker de 100 ml. Añadir aproximadamente 40 ml de agua destilada para luego calentar a 80°C. Utilizando una varilla de vidrio romper todos los grumos y mezclar bien.



Pesado de 5g de muestra en balanza analítica



Rompiendo grumos en Hot plate con muestra a 80 °C

3. Trasferir la solución caliente a un matraz de 500 ml. Continuamente lavando el vaso con la varilla de vidrio con sucesivas porciones de agua destilada caliente, agregando en los lados con el fin de lavar el matraz (aproximadamente 300 ml).



Matraz de 500 ml en Hot plate

4. Transferir el matraz a un baño de vapor ($\sim 100^\circ\text{C}$) agitando de vez en cuando por 2 horas. Después de haber enfriado a temperatura ambiente, llevar el volumen a 500 ml con agua destilada mezclado bien. Filtrar a través de dos filtros de papel Whatman N^o 2 al matraz mezclando cuidadosamente la solución (descartar el residuo).

Muestras en baño maría a 100°C 

Filtrado de muestras (tiempo aproximado 45 min)

5. Trasferir 25 ml del filtrado a un matraz aforado de 50 ml añadiendo 2.5 ml de reactivo sulfanilamida y mezclando bien. Después de haber dejado reposar por 5 minutos, se añadieron 2.5 ml de reactivo NED mezclando bien. Se Diluyó el volumen con agua destilada, mezclando por otros 15 minutos para permitir el desarrollo del color.



Filtrado con filtro Whatman No 2



Mezcla de la muestra en el Bortex

6. Transferir una parte de la solución al cuvette para leer la absorbancia a 540 nm contra un blanco de 45 ml de agua destilada más 2.5 ml de reactivo sulfanilamida NED + 2.5 ml de reactivo.



Muestras terminadas a evaluar



Muestra en cuvette para tomar absorbancia

Cálculos y Formulas:

Nitrito residual (ppm ó mg / kg) = Absorbancia x K x F

K = Curva estándar Pendiente = Realizar cálculos de regresión en excel para lograr obtener la pendiente. Rango aproximado (1.6 – 1.9).

F = Factor de dilución = $500 \times 2 \times 1 / 5 = 200$

Nota:

Siguiendo los pasos del procedimiento a la perfección, el valor del factor de dilución siempre será 200.