

Treball de recerca

# **Determinació del contingut residual de nitrats en fuets**

**Laura Bernadette Penkert**



Dirigit per Anna Maria Ortega i Martí Roura

2n de Batxillerat A  
IES Castelló d'Empúries

Castelló d'Empúries, 15 de desembre de 2009

*Vull agrair la col·laboració de totes aquelles persones que m'han ajudat a realitzar aquest treball.*

*En primer lloc, dono les gràcies a la professora de la Universitat de Girona Elena Saguer, que amb el seu ampli coneixement del tema del treball de recerca m'ha ajudat molt en la seva elaboració. Gràcies a ella he pogut utilitzar el laboratori de la Universitat de Girona i m'ha guiat al llarg de les pràctiques realitzades, sempre amb molta dedicació i paciència.*

*Als meus tutors de treball, Anna Maria Ortega i Martí Roura, que m'han guiat en l'estructuració de l'estudi, m'han acompanyat a la universitat per fer les anàlisis i m'han corregit el treball.*

*I a la meva família i amics, per haver-me recolzat en tot moment.*

## Índex general

<b>0</b>	<b>Introducció</b>	<b>5</b>
<b>1</b>	<b>Els additius alimentaris</b>	<b>7</b>
1.1	Definició	7
1.2	Raons per a l'ús d'additius	7
1.2.1	Raons econòmiques i socials	8
1.2.2	Raons fisiològiques i psicològiques	8
1.2.3	Raons tecnològiques	9
1.2.4	Raons nutricionals i de seguretat	9
1.3	Funcions dels additius	9
1.4	Tipus d'additius alimentaris	10
1.5	Identificació i etiquetatge dels additius: els números E	18
1.6	Regulació de l'ús dels additius	18
1.6.1	Normativa	19
1.6.2	Fonament de les proves d'innocuitat	20
1.6.3	Ingesta Diària Admissible (IDA) i Ingesta Diària Possible o Potencial (IDP)	21
<b>2</b>	<b>Nitrats i nitrats en productes carnis</b>	<b>22</b>
2.1	Funcions dels nitrats	23
2.1.2	Funció estabilitzant del color de la carn	25
2.1.3	Influència sobre el gust i l'aroma	27
2.2	Riscos de l'ús de nitrats	27
2.3	Toxicitat dels nitrats	27
2.3.1	Toxicitat directa	28
2.3.2	Toxicitat indirecta	28
2.4	Normativa legal	29
2.5	Seguretat pels consumidors	31

<b>3 La tècnica espectrofotomètrica .....</b>	<b>32</b>
3.1 <i>Principi de la tècnica espectrofotomètrica .....</i>	33
3.2 <i>Transmitància i absorbància de les radiacions i relació entre elles .....</i>	33
3.2.1 <i>Transmitància .....</i>	33
3.2.2 <i>Absorbància.....</i>	34
3.2.3 <i>Relació entre absorbància i transmitància .....</i>	35
3.3 <i>Aplicacions .....</i>	35
<b>4 Determinació de nitrats en un embotit curat.....</b>	<b>36</b>
4.1 <i>Objectiu .....</i>	36
4.2 <i>Mostres, reactius i material.....</i>	36
4.2.1 <i>Mostres .....</i>	36
4.2.2 <i>Reactius.....</i>	36
4.2.3 <i>Material i aparells.....</i>	37
4.3 <i>Procediment .....</i>	38
4.3.1 <i>Construcció de la corba patró .....</i>	38
4.3.2 <i>Preparació i valoració de les mostres .....</i>	40
4.4 <i>Resultats .....</i>	43
4.4.1 <i>Resultats de la corba patró .....</i>	43
4.4.2 <i>Resultats de les mostres analitzades i càlcul de concentracions.....</i>	46
4.5 <i>Anàlisi dels resultats obtinguts .....</i>	50
<b>5 Conclusions .....</b>	<b>52</b>
<b>6 Bibliografia .....</b>	<b>54</b>

## 0 Introducció

A l'hora d'escollir un tema pel treball de recerca, m'he basat en què tingués alguna relació amb la química, o ciència en general, ja que des de sempre m'ha agradat aquest camp. A més, tinc pensat estudiar alguna carrera relacionada amb la química, i en concret amb la química alimentària.

La determinació de nitrats estava proposada des del Departament de Química, i encara que primer volia fer un treball sobre la llet, finalment vaig optar pels nitrats, principalment perquè tenia curiositat de conèixer per què s'utilitzen.

Els nitrats són un tipus d'additius alimentaris que actualment s'utilitza molt en productes carnis. Per tant, és un tema actual, i em semblava interessant saber-ne una mica més, ja que crec que és important veure què hi ha en el que mengem diàriament. Un altre tema que em preocupa és la seguretat alimentària, perquè és bàsica per a la producció d'aliments avui dia i generalment se'n sap poc, perquè el camp de l'ús d'additius és ampli i complex.

També he valorat la possibilitat de poder realitzar un mètode analític que normalment no s'utilitza a les classes de batxillerat, el mètode espectrofotomètric, i el treball sobre els nitrats m'ho permetia.

## Objectius

Els objectius que m'he proposat assolir en aquest treball són:

- Conèixer quins són els additius alimentaris que s'utilitzen més actualment i la normativa que en regula el seu ús
- Conèixer els nitrats com a additius alimentaris
- Entendre el fonament de la tècnica espectrofotomètrica
- Determinar el contingut residual de nitrats en diferents embotits (fuets) per comparació / interpolació amb una recta patró i veure si aquest valor s'ajusta a la normativa

## **Metodologia**

La metodologia que vull seguir per aconseguir aquests objectius és la següent:

- Cercar informació bibliogràfica sobre additius alimentaris, nitrats i el fonament de la tècnica espectrofotomètrica
- Elaborar la part teòrica del treball utilitzant la informació trobada
- Construir una recta patró
- Analitzar el contingut de nitrats en fuets de diferents marques comercials
- Comparar els resultats obtinguts
- Extreure conclusions

# 1 Els additius alimentaris

## 1.1 Definició

D'acord amb la definició establerta pel *Codex Alimentarius* (1995), un additiu alimentari és “qualsevol substància que normalment no es consumeix com a aliment en si mateixa ni s'utilitza com a ingredient bàsic en l'alimentació, tingui o no valor nutritiu<sup>1</sup>, i l'addició intencionada del qual a l'aliment, amb un propòsit tecnològic (incloent els organolèptics<sup>2</sup>) en les seves fases de fabricació, elaboració, preparació, tractament, envasament, empaquetatge, transport o emmagatzematge, resulti o pugui esperar-se raonablement que resulti, de manera directa o indirecta, per si sol o els seus subproductes en un component de l'aliment o un element que afecti les seves característiques”. No es consideren additius les substàncies estranyes que s'incorporen als aliments de manera accidental o involuntària (considerades contaminants d'aliments) ni les substàncies de caràcter vitamínic, mineral o proteic emprades per a l'enriquiment del valor nutritiu dels aliments (denominades globalment suplement nutritiu).

## 1.2 Raons per a l'ús d'additius

Ja fa molts segles que s'utilitzen additius. Els egipcis utilitzaven colorants i aromes per potenciar l'atractiu d'alguns aliments i els romans usaven una salmorra que contenia nitrat potàssic, així com espècies i colorants per a conservar i millorar l'aparença dels aliments.

En general, els motius que porten a l'ús d'additius inclouen:

---

<sup>1</sup> Valor nutritiu: expressa la quantitat de nutrients (lípid, glúcids, proteïnes, vitamines i minerals) que aporten els aliments al nostre organisme quan són consumits. El valor nutritiu és diferent en cada grup d'aliments.

<sup>2</sup> Organolèptic: referit a les característiques de la matèria que es perceben a través dels sentits, com per exemple el seu sabor, textura, olor, color. Aquestes sensacions influeixen en la percepció agradable o desagradable en menjar un aliment.

### **1.2.1 Raons econòmiques i socials**

#### **- Possibilitat de regular i coordinar la producció i el consum**

En els països desenvolupats actuals, en els quals la producció d'aliments sol estar allunyada en l'espai i en el temps del seu consum, és impossible que hi hagi aliments "frescos" i "naturals" per a tothom i en tot moment a un preu assequible. L'ús de certs additius és necessari per poder gaudir de la disponibilitat alimentària actual, i disposar d'uns determinats productes en unes èpoques i llocs que d'altra manera no seria possible.

#### **- Accés d'aliments a un major nombre de consumidors**

Gràcies als additius, es poden abaratir alguns processos de la fabricació i comercialització dels aliments, fent-los així més assequibles a un major nombre de consumidors. S'aconsegueix reduir el preu de venda sense perjudicar la qualitat de l'aliment.

#### **- Aprofitament d'excedents**

Els excedents que es puguin crear per collites de productes vegetals, la producció de certs productes transformats i la producció ramadera es poden aprofitar gràcies a la seva conservació o transformació a través d'additius. Això significa notables beneficis.

### **1.2.2 Raons fisiològiques i psicològiques**

#### **- Consideracions fisiològiques**

El color, el gust i l'olor d'un menjar, actuant simultàniament sobre els sentits, són factors que augmenten l'apetit, estimulant les glàndules digestives. Per tant, és important que els productes alimentaris tinguin un aspecte i presentació agradables i, a més, el consumidor demana una gran estabilitat en les característiques dels productes industrials. Aquestes necessitats es poden satisfer amb la coloració, aromatització i l'estabilització o modificació dels seus caràcters físics, mètodes possibles gràcies als additius.



## **- Consideracions psicològiques**

L'aliment ha de ser atractiu per al consumidor ja que si no aquest no el comprarà. En aquest sentit psicològic, els colorants tenen una gran importància. Així, per exemple, un caramel de menta tindrà més èxit si és de color verd, simplement per correspondre a les costums tradicionals.

### **1.2.3 Raons tecnològiques**

Els additius també permeten realitzar determinats tractaments tecnològics que sense ells serien impossibles. Per a l'elaboració de molts aliments preparats es necessiten additius com correctors, estabilitzadors i millorants. Les indústries alimentàries també han de disposar d'additius necessaris per poder conservar els seus productes.

### **1.2.4 Raons nutricionals i de seguretat**

En els aliments poden desenvolupar-se reaccions químiques i bioquímiques que disminueixin el seu valor nutritiu i fins i tot que generin compostos tòxics. També poden proliferar microorganismes letals per a l'ésser humà. L'addició d'additius als aliments evita que es donin reaccions indesitjades i dificulta el desenvolupament dels microorganismes.

## **1.3 Funcions dels additius**

D'acord amb el que s'acaba d'explicar, les funcions que compleixen els additius en els aliments són:

- assegurar la seguretat i la salubritat de l'aliment
- mantenir o assegurar el valor nutritiu de l'aliment, impedit la degradació de vitamines, aminoàcids essencials i greixos insaturats
- millorar la conservació, evitant que es facin malbé per contaminació microbiana i endarrerint l'oxidació
- augmentar l'estabilitat del producte
- donar homogeneïtat al producte

- potenciar l'acceptació del consumidor
- proporcionar ingredients per a consumidors amb exigències nutricionals concretes, com els edulcorants, que substitueixen el sucre per als diabètics
- fer possible la disponibilitat d'aliments fora de temporada
- mantenir o millorar la consistència, textura i altres propietats sensorials, com el gust, l'aroma i el color
- com a ajuda en el procés de fabricació, transformació, preparació, envasament, transport i emmagatzematge de l'aliment

### 1.4 Tipus d'additius alimentaris

Els additius es poden classificar de diferents maneres. Segons el *Código Alimentario Español* (CAE, 2003) es classifiquen en 4 grans grups d'acord amb la funció que exerceixen en l'aliment:

- a) substàncies que modifiquen les característiques organolèptiques
- b) estabilitzadors de l'aspecte i els caràcters físics (texturitzants)
- c) substàncies que impedeixen les alteracions químiques i biològiques
- d) substàncies correctores de les qualitats dels aliments

Tanmateix, la UE en les seves Directives 94/35/CE, 94/36/CE i 95/2/CE estableix una altra classificació, més directament relacionada amb la seva funció, la qual no ha estat afectada pel Reglament (CE) N° 1333/2008, actualment vigent.

Aquesta classificació és la següent:

- |  |  |
|--|--|
| - colorants                                | - edulcorants                              |
| - conservants (incloent nitrats i nitrats) | - substàncies per al tractament de farines |
| - antioxidants                             | - antiescumants                            |
| - emulgents i sals emulsionants            | - agents de recobriment                    |

- espesseïdors
- agents gelificants
- estabilitzants
- potenciadors del gust i l'aroma
- acidulants i correctors de l'acidesa
- antiaglutinants
- midons modificats
- agents gasificants
- enduridors
- humectants
- segregants de metalls
- enzims
- agents de càrrega
- gasos propulsors o d'envasament

A la Taula 1 s'intenta recollir la informació existent sobre els diferents tipus d'additius alimentaris tenint en compte la seva funció.

Taula 1. Additius alimentaris: tipus, funcions i exemples

Substàncies que modifiquen les característiques organolèptiques			
Subgrup	Tipus d'additiu	Funció	Exemples
Afecten el color	Colorants	proporcionen, intensifiquen, reforcen o varien el color natural dels aliments	<u>Naturals:</u> curcumina, vermell cotxinilla, riboflavina, clorofil·la, β-carotè, caramel <u>Artificials:</u> groc tartracina, vermell carmoisina
	Fixadors de color	fixen el color dels aliments	nitrit potàssic, nitrit sòdic, nitrat potàssic, nitrat sòdic, sulfat de coure, polivinilpirrolidona
	Agents de retenció del color	retenen el color dels aliments	clorur estannós, hidròxid de magnesi, gluconat ferrós, 4-hexiresorcinol, carbonat de magnesi, àcid nicotínic, àcid ascòrbic
	Decolorants	utilitzats per decolorar un aliment (que no siguin les farines); no contenen colorants	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (coadjuvant)
Afecten l'aspecte superficial	Agents de recobriment	aplicats a la superfície de l'aliment, li confereixen un aspecte brillant o els aporta protecció	isomaliltol, cera d'abelles, oli mineral de qualitat alimentària, lanolina

(continua)

Afecten el gust	Edulcorants	aporten gust dolç a l'aliment i/o s'utilitzen com a edulcorants de taula	<u>Naturals:</u> taumatina <u>Artificials:</u> sacarina, aspartam, ciclamat
	Acidulants	incrementen l'acidesa d'un aliment o li confereixen un sabor àcid, o ambdues coses	àcid cítric, àcid fumàric, àcid propiònic, àcid làctic, àcid succínic, àcid adípic, àcid màlic, àcid tartàric
	Potenciadors del sabor	realcen el sabor i/o l'aroma, o ambdós, que té un aliment	glutamat monosòdic, àcid guanílic, àcid inosínic
Afecten l'aroma	Agents aromatitzants	comuniquen una aroma o milloren/reforcen l'existent en un aliment	espècies, essències naturals de fruites, olis essencials, oleoresines, composts químics obtinguts per transformació de productes naturals o per síntesi

(continua)

<b>Estabilitzadors de les característiques físiques</b>			
<b>Subgrup</b>	<b>Tipus d'additiu</b>	<b>Funció</b>	<b>Exemples</b>
Estabilitzadors de sistemes dispersos	Emulgents i estabilitzadors	donen i mantenen la textura i la consistència desitjada en aliments elaborats a partir de la barreja d'ingredients que normalment no es barrejarien, com el greix i l'aigua	lecitina, mono i diglicèrids d'àcids grassos
	Espesseïdors, agents de suport i texturitzants	augmenten la viscositat i la densitat d'un aliment	polifosfats, lactat sòdic, midó de blat de moro, midó modificat, pectina, gomes, pols de cel·lulosa, altres polímers modificats
	Gelificants	donen consistència de gel a un producte	gelatina, agar-agar, alginats
	Escumants	faciliten la formació o el manteniment d'una dispersió uniforme d'una fase gasosa en un aliment líquid o sòlid	metil etil cel·lulosa, cel·lulosa microcristal·lina
	Antiescumants	prevenen o redueixen la formació d'escuma	alginat càlcic, mono i diglicèrids d'àcids grassos, polisilicon de metil
Estabilitzadors de la textura	Enduridors	mantenen els teixits de fruites o hortalisses fermes o crocants, o actuen com agents gelificants	àcid adípic, lactat càlcic, gluconat magnèsic, sulfat magnèsic

(continua)

	Humectants i agents de retenció d'aigua	protegeixen els aliments de la pèrdua d'humitat, o faciliten la dissolució d'una pols en un medi aquós	sorbitol, glicerol, propilenglicol, difosfat dicàlcic, lactat sòdic, fosfat sòdic, malat sòdic
	Antiaglomerants o antiaglutinants	redueixen la tendència de les partícules a adherir unes a les altres, evitant que els productes en pols s'endureixin i/o facin grumolls	ortofosfat monocàlcic, polidimetilsiloxà, ferrocianur potàssic, sals càlciques, sòdiques i potàssiques de l'àcid oleic
	Ablanidors	fan el producte més tou, com els enzims ablandidors de carn	papaïna, bromelaïna, ficina, proteases
Afecten el volum	Agents de càrrega	substàncies diferents de l'aire i de l'aigua que augmenten el volum sense contribuir en el valor energètic	agar-agar, goma guar, midons modificats, polidextroses A i N
	Gasificants	substàncies o combinacions de substàncies que alliberen gas i, d'aquesta manera augmenten el volum d'una massa	bicarbonat sòdic, carbonat potàssic, fosfat càlcic

(continua)

<b>Substàncies que impedeixen les alteracions dels aliments</b>			
<b>Subgrup</b>	<b>Tipus d'additiu</b>	<b>Funció</b>	<b>Exemples</b>
Inhibidors d'alteracions químiques	Antioxidants	allarguen la vida útil dels aliments, retardant o inhibint la seva oxidació autocatàtica o autooxidació <sup>3</sup> , produïda per l'oxigen molecular de l'atmosfera a la temperatura ambient o a temperatures poc elevades	amines aromàtiques, polifenols, alquifenols, aminofenols, tocofenols, composts orgànics de sofre, composts orgànics del fòsfor, derivats dels sucres, àcid ascòrbic, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitoluol (BHT)
	Sinèrgics d'antioxidants (agents segrestants)	alenteixen els fenòmens d'oxidació degut a la seva acció quelant de metalls que els acceleren	àcid làctic, àcid cítric, àcid tartàric, lactat sòdic, acetat sòdic, lactat sòdic
Inhibidors d'alteracions biològiques	Conservants	allarguen la vida útil dels productes alimentosos impedit o retardant la seva descomposició provocada pels microorganismes (bacteris, llevats i fongs) que es nodreixen d'ells, o pels productes del seu metabolisme que poden ser perjudicials per la salut del consumidor	diòxid de sofre i sulfits, nitrats i nitrits, nisina (antibiòtic), àcids benzoic, sòrbic, p-clorobenzoic i les seves sals, propiatans
Gasos d'envasat		són gasos inerts diferents de l'aire, introduïts en un envàs abans, durant o després de col·locar-hi un producte alimentós, per tal d'allargar la seva conservació	nitrogen, diòxid de carboni, argó, heli, protòxid de nitrogen, oxigen, hidrogen

(continua)

<sup>3</sup> Oxidació autocatàtica o autooxidació: oxidació (reacció química a partir de la qual un àtom, ió o molècula cedeix electrons) dels greixos dels productes alimentaris, produït que aquests es descomponguin, generant productes tòxics per al nostre organisme.



Millorants i correctors dels aliments			
Subgrup	Tipus d'additiu	Funció	Exemples
Agents de tractament de les farines	Condicionadors de la massa i millorants de les farines	substàncies, diferents dels emulgents, que s'afegeixen a la farina o a la massa per millorar la qualitat de la seva cocció. S'hi inclouen també agents blanquejadors	$\alpha$ -amilasa d' <i>Aspergillus oryzae</i> , $\alpha$ -amilasa de <i>Bacillus subtilis</i> , bisulfit potàssic, lactat càlcic, L-cisteïna, àcid ascòrbic, metabisulfit sòdic
Correctors	Dissolvents	s'afegeixen durant el procés tecnològic per modificar qualitats plàstiques, extreure, purificar o desnaturalitzar	
	Reguladors de pH		Acidulants: àcid acètic, àcid cítric, àcid tartàric Alcalinitzants: carbonat sòdic, carbonat potàssic, carbonat càlcic
	Substàncies clarificants (són coadjuvants)		fosfat trisòdic, gelatina, caseïna, polivinilpirrolidona

## 1.5 Identificació i etiquetatge dels additius: els números E

Amb l'objectiu de facilitar-ne l'ús, l'etiquetatge i que es puguin reconèixer internacionalment, els additius s'anomenen amb un codi que comença per la lletra E, seguida d'un nombre amb tres o quatre xifres. La primera xifra fa referència al tipus d'additiu:

- 1:** colorants
- 2:** conservants
- 3:** antioxidants
- 4:** estabilitzadors
- 5 i 6:** potenciadors del gust
- 9:** edulcorants

El segon dígit fa referència a la família de l'additiu; per exemple, en el cas dels colorants indica el color, mentre que en el cas dels conservants i els antioxidants indica el grup químic al qual pertanyen. Finalment, la resta de dígit fa referència a l'espècie en concret i serveixen per identificar la substància. Per poder adjudicar un número E a un additiu, aquest ha d'haver estat aprovat per la UE després d'haver superat les proves d'avaluació de seguretat.

Els additius han d'estar indicats obligatòriament en la llista d'ingredients amb el nom de la categoria, seguit del seu nom específic o del seu número E, que permet al consumidor identificar-los a l'etiqueta.

## 1.6 Regulació de l'ús dels additius

Malgrat que els additius s'han estat utilitzant des de l'antiguitat, al llarg dels anys s'han anat millorant per augmentar-ne l'eficiència i assegurar-ne la innocuïtat<sup>4</sup>. En aquest sentit, l'ús d'additius és objecte de polèmiques pel fet de ser substàncies alienes a la composició natural dels aliments. Actualment, tots els additius existents són regulats més estrictament que en qualsevol altra època de la història.

---

<sup>4</sup> Innocuïtat: condició dels aliments que garanteix que no causin dany al consumidor quan es preparen i/o consumeixin d'acord amb l'ús al qual es destinen.

### 1.6.1 Normativa

Perquè s'autoritzi l'ús d'un additiu sempre ha d'estar justificat per raons tecnològiques o higièniques, ha de tenir un propòsit útil demostrat i respondre a una necessitat manifesta (preservar les propietats nutritives d'un aliment, facilitar-ne la conservació, millorar-ne la tecnologia...). Requereix també una autorització sanitària i, per això, s'ha de sotmetre a una valoració científica rigorosa i completa basada en dades experimentals degudament comprovades per garantir la seva seguretat. En principi, és essencial l'absència comprovada internacionalment de qualsevol risc toxicològic. Tanmateix, l'acceptació del seu ús depèn sempre d'una avaluació risc/benefici.

Qualsevol potencial additiu alimentari ha de ser objecte d'un profund estudi de toxicitat i innocuïtat, especialment dels possibles efectes a llarg termini. Cal tenir present, a més, els principis de la "toxicitat per etapes", és a dir, les possibles transformacions que experimenten els additius en l'aliment provocades pels tractaments industrials o culinàries i per les possibles interaccions amb altres components dels aliments, ja que el que interessa són les substàncies que en definitiva ingerirà el consumidor. Amb determinats tipus d'additius hi ha hagut controvèrsies sobre la seva necessitat i seguretat, i es tendeix cada vegada més o bé a l'ús d'additius naturals (extrets de productes naturals o d'anàlegs obtinguts per síntesi) o a restringir-los. No s'autoritza un additiu si l'efecte buscat es pot aconseguir per mitjans tècnics d'obtenció o elaboració més adients, si la conservació de l'aliment es pot fer per mitjans físics o si la seva utilització pretén amagar defectes o alteracions o enganyar el consumidor.

L'ús dels additius ha de ser sempre controlat, dut a terme per experts i realitzat segons criteris restrictius. Les legislacions de tots els països han establert llistes positives dels productes que poden ésser emprats i defineixen, a més, en quins aliments i a quina concentració màxima es poden utilitzar. A la UE, l'avaluació de la seguretat dels additius és a càrrec del Panell Científic sobre additius alimentaris (*ANS – Panel on food additives and nutrient sources added to food*) de l'*European Food Safety Authority* (EFSA) creada l'any 2002 i, prèviament, pel Comitè Científic per a l'Alimentació Humana – *Scientific Committee for Food*

(SCF). A Catalunya són també importants els criteris que sobre els additius marquen les corresponents Directives de la UE.

A escala mundial, aquesta avaluació la realitza el Comitè Conjunt d'Experts en Additius Alimentaris – *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA) – de l'Organització de les Nacions Unides per a l'Agricultura i l'Alimentació (FAO) i l'Organització Mundial de la Salut (OMS). Actualitzen i harmonitzen els criteris de necessitat i seguretat en l'ús d'additius i la consegüent normalització de llistes positives (és a dir, que només es poden usar com additius les substàncies legalment acceptades expressament). Les seves valoracions es basen en la revisió de totes les dades toxicològiques disponibles. A partir de l'anàlisi de les dades de què es disposa, es determina un nivell dietètic màxim de l'additiu que no tingui efectes negatius sobre la salut.

### **1.6.2 Fonament de les proves d'innocuitat**

Tota substància, abans de ser acceptada com additiu, ha de complir les següents condicions:

1. que la substància produeixi efectes detectables en determinades circumstàncies
2. que l'efecte depengui de la dosi
3. que existeixi una dosi-lindar (Nivell d'Efecte Nul o NOAEL) que no produeixi cap efecte advers
4. que la innocuitat pugui ser acceptada com a absència d'efecte detectable
5. que puguin aplicar-se factors de seguretat per cobrir de forma adient les diferències entre els animals i l'home, i variacions de susceptibilitat entre humans

### **1.6.3 Ingesta Diària Admissible (IDA) i Ingesta Diària Possible o Potencial (IDP)**

La Ingesta Diària Admissible (IDA) és la quantitat màxima d'una substància química present en un aliment que es recomana ingerir al dia, i que no té risc apreciable. Es determina en funció de la dosi líndar establerta i s'expressa en mg d'additiu per kg de pes corporal. La Ingesta Diària Possible o Potencial (IDP) es refereix a la quantitat d'additiu que probablement ingereix un individu per dia, expressada en mg/kg de pes corporal. Òbviament ha de ser menor que la IDA. És d'importància tenir coneixement de les quantitats d'aquestes substàncies ingerides diàriament, per saber si se superen els màxims permesos.

## 2 Nitrats i nitrits en productes carnis

Nitrats i nitrits són molt importants en productes carnis per dos motius: el primer és que s'utilitzen com a conservants i el segon és per obtenir el color típic dels productes carnis curats i cuits. El component actiu és, en tots els casos, el nitrit.

Els nitrits són sals o èsters de l'àcid nítrós ( $\text{HNO}_2$ ). En els nitrits inorgànics es troba l'anió  $\text{NO}_2^-$ . A la natura els nitrits es formen o bé per oxidació biològica de les amines<sup>5</sup> i de l'amoniac o bé per reducció del nitrat en condicions anaeròbiques catalitzada per enzims de determinats bacteris. Hi ha jaciments importants naturals d'aquesta sal a Xile d'on rep també la denominació de "Sal de Xile" o "Nitrat de Xile". En la indústria es poden obtenir en dissoldre  $\text{N}_2\text{O}_3$  en dissolucions bàsiques.

Els nitrats, particularment el potàssic (salnitre), s'han utilitzat en el curat de productes carnis des de l'època romana. Probablement el seu efecte es produïa també amb la sal utilitzada des d'almenys 3000 anys abans que, procedent en molts casos de deserts salins, solia estar impurificada amb nitrats.

Les formes comercials dels nitrats i nitrits són els de la Taula 2, on també estan indicades les seves fórmules químiques i els seus números E corresponents.

**Taula 2.** Formes comercials dels nitrats i nitrits, les seves fórmules químiques i números E corresponents

Additiu	Fórmula	Número E
Nitrit potàssic	$\text{KNO}_2$	E-249
Nitrit sòdic	$\text{NaNO}_2$	E-250
Nitrat sòdic	$\text{NaNO}_3$	E-251
Nitrat potàssic	$\text{KNO}_3$	E-252

<sup>5</sup> Amines: compostos orgànics que es consideren formalment derivats de l'amoniac, per substitució d'un o més àtoms d'hidrogen per radicals alquil, aril, o de les dues classes.

L'efecte del curat, en el qual participa també la sal i les espècies, és aconseguir la conservació de la carn evitant la seva alteració i millorant el color. El color de curat es forma per una reacció química entre el pigment de la carn – la mioglobina – i l'ió nitrit. Quan s'afegeixen nitrats, aquests es transformen en part en nitrats per acció de certs bacteris, (principalment micrococs i lactobacils). És per això que l'efecte final és el mateix s'afegeixin nitrats o nitrats.

Actualment la majoria de països utilitzen els nitrats barrejats amb sal en proporcions fixades per la llei per controlar l'efecte en el temps, ja que és força inestable. Per això, si s'afegeix a una dosi inicial baixa, cal mantenir la concentració amb el que es forma a partir del nitrat, perquè sinó desapareixeria aviat, perdent l'efecte protector. La concentració de nitrats pot disminuir dràsticament des dels 300 mg/kg afegits fins a nivells inferiors a 10 mg/kg en només cinc dies. Aquesta disminució és especialment perillosa si les temperatures de conservació són elevades (fins a 35 °C). Si la temperatura de manteniment és de refrigeració, es pot mantenir la concentració més o menys estable entre una i tres setmanes. Tanmateix, no per posar més quantitat de nitrats o nitrats s'aconsegueix mantenir els seus nivells durant més temps. La concentració residual, de fet, depèn també d'altres factors com el pH, la temperatura de conservació o la presència de ascorbat i fosfats.

## **2.1 Funcions dels nitrats**

Els nitrats s'utilitzen com a additius alimentaris, i exerceixen les següents funcions:

- conservadora
- estabilitzant del color
- pels seus efectes sobre el sabor i l'aroma

### 2.1.1 Funció conservadora

Tenen aquesta capacitat perquè tenen acció antimicrobiana, deguda a l'àcid nítric que desprenen i als òxids que es formen a partir d'ells, els quals s'uneixen a grups amino<sup>6</sup> del sistema de deshidrogenases<sup>7</sup> de la cèl·lula microbiana produint una inhibició. L'acció antimicrobiana d'aquests conservants depèn del pH, augmentant 100 vegades per cada unitat de pH de descens. Tanmateix, els nitrats no afecten al creixement ni de llevats ni de fongs, i la seva acció és diferent per a cada bacteri. Així, inhibeixen el creixement de *Clostridium botulinum* però no afecten als lactobacils. El *C. botulinum*, encara que no és patògen, produeix durant el seu desenvolupament la toxina botulínica, una proteïna que és extremadament tòxica (una dosi d'entre  $0,1 \cdot 10^{-6}$  i  $1 \cdot 10^{-6}$  g pot causar la mort d'una persona). La intoxicació botulínica o botulisme es deu al consum de productes carnis, peix salat o conserves casolanes mal esterilitzades en les que s'ha desenvolupat aquest bacteri, podent resultar mortal. La toxina afecta el sistema nerviós central, i produeix incapacitat progressiva, paràlisi de músculs respiratoris, asfíxia i mort en poques hores o dies.

El risc del consum de productes carnis és conegut des d'antic – de fet, botulisme ve del llatí “botulus”, que significa embotit – ja que molts productes d'aquest tipus es consumeixen crus mentre que la toxina es destrueix per escalfament a uns 80 °C. Encara que l'acció inhibidora dels nitrats depèn de diferents factors, s'ha determinat que en presència de 100, 200 o 300 mg de nítric per kg de producte, la probabilitat de producció de toxina disminueix a mesura que augmenta la concentració del conservant del 96% al 35%, respectivament. D'altra banda, s'ha vist que el potencial conservador dels nitrats incrementa si s'escalfa el producte carni (Efecte Perigo), ja que durant el tractament tèrmic es formen compostos amb una activitat bactericida molt superior.

---

<sup>6</sup> Grup amino: grup funcional derivat de l'amoniac o algun dels seus derivats per eliminació d'un dels seus àtoms d'hidrogen.

<sup>7</sup> Deshidrogenasa: enzim capaç de catalitzar l'oxidació o reducció d'un substrat per sostracció o addició de dos àtoms d'hidrogen (deshidrogenació), emprant un parell de coenzims que actuen com a acceptors o com a donadors d'electrons i protons.

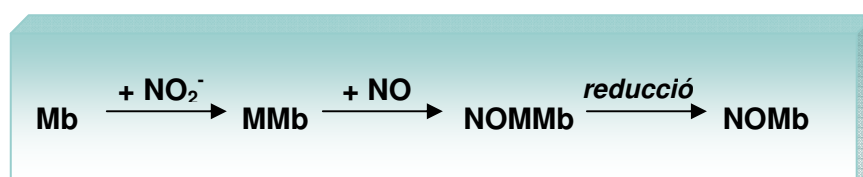


D'altra banda, des del punt de vista de l'estabilitat bioquímica dels aliments, cal indicar que als nitrts se'ls atribueix també un efecte antioxidant, ja que en formar-se NO s'acomplexa el Fe, evitant el seu efecte pro-oxidant. És a dir, protegeixen els lípids insaturats de l'oxidació per Fe.

### 2.1.2 Funció estabilitzant del color de la carn

Els consumidors es basen en el color dels productes carnis per valorar la seva qualitat i per determinar si són frescos. Els nitrts provoquen la formació del pigment nitrosil-mioglobina<sup>8</sup>, que caracteritza el típic color dels productes curats. Altres factors que influeixen en l'estat d'aquest pigment són el llescat, el tipus d'envasat, la temperatura i la llum.

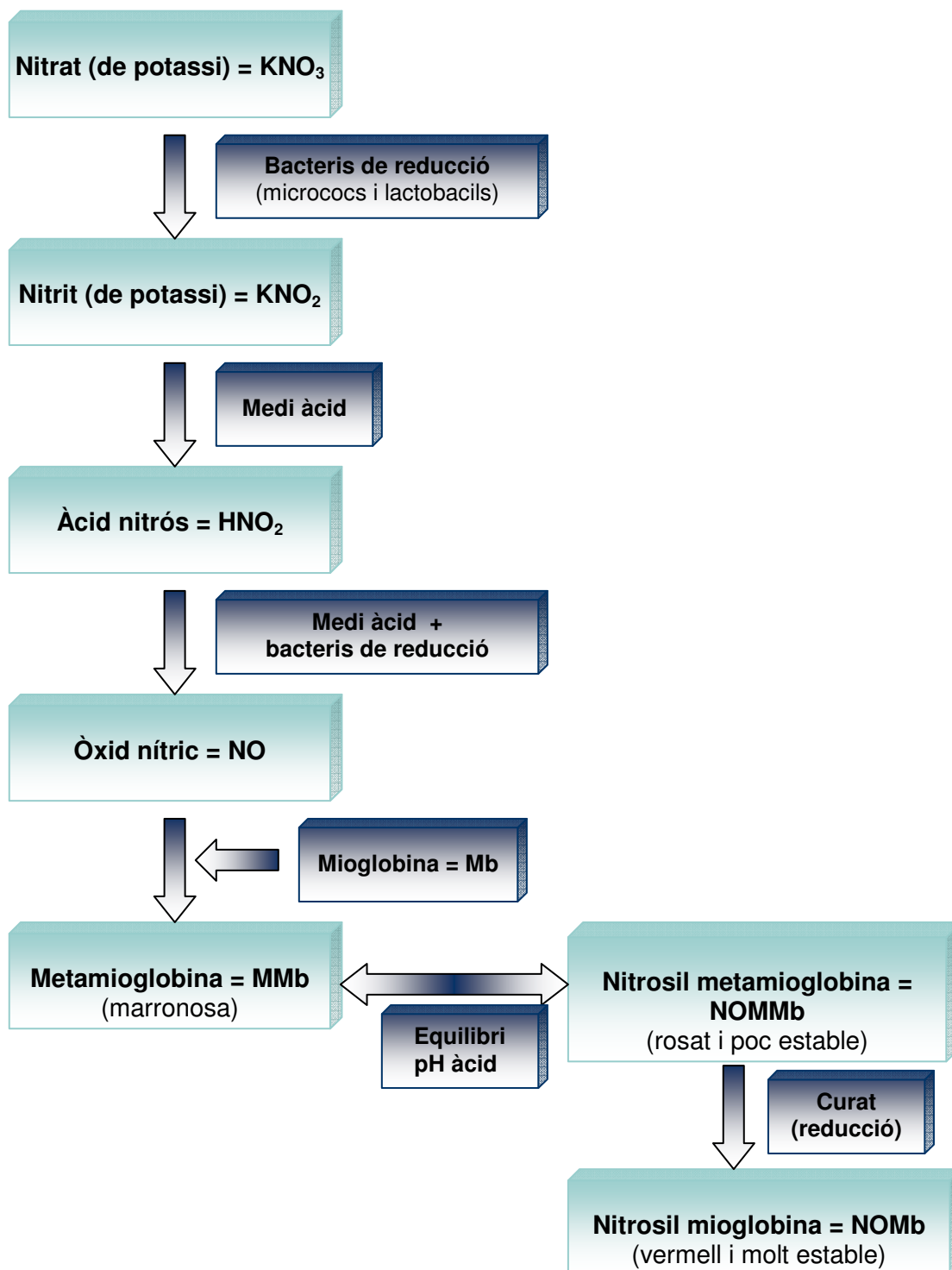
Com ja s'ha indicat anteriorment, el color dels productes curats es forma per una reacció química entre la mioglobina i l'ió nitrit (Figura 1). Aquesta combinació fa que la carn no s'oxidi tan ràpidament i evita així les tonalitats marronoses indesitjables de la carn oxidada.



**Figura 1.** Participació del nitrts en la formació del pigment característic de la carn curada (nitrosil mioglobina).

Els nitrts oxiden la mioglobina (Mb) convertint-la en metamioglobina (MMb). L'òxid nítric (NO) format es complexa amb la MMb per formar nitrosil metamioglobina (NOMMb), la qual posteriorment es redueix donant lloc a la nitrosil mioglobina (NOMb). En condicions àcides s'afavoreix la formació de NO a partir de nitrts els quals es troben més aviat en forma d'àcid nitrós. Les transformacions dels nitrts i la seva relació amb la mioglobina estan representats a la Figura 2.

<sup>8</sup> Nitrosil-mioglobina: pigment rosat típic de la carn curada, que es forma quan a la mioglobina (hemoproteïna muscular, semblant a l'hemoglobina, que té la funció d'emmagatzemar i transportar oxigen) s'hi uneix l'òxid nítric.



**Figura 2.** Participació de nitrats i nitrts en la formació del pigment característic del productes carnis curats (Font: modificat de [http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2001819/lecciones/cap06/cap06\\_20.html](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2001819/lecciones/cap06/cap06_20.html))

### 2.1.3 Influència sobre el gust i l'aroma

Els consumidors desitgen que els aliments tinguin l'aroma i sabor de sempre. El desenvolupament de l'aroma en productes curats és molt complex degut al gran nombre de reaccions implicades. L'addició de nitrats i nitrits afecta la lipòlisi<sup>9</sup> i les reaccions de degradació d'aminoàcids en compostos aromàtics. També generen substàncies aromàtiques indirectament i eviten el desenvolupament del que en anglès es coneix com a *warmed over flavour* (WOF), un aroma particular degut a l'oxidació dels lípids insaturats pel Fe que es desenvolupa en reescalfar productes carnis cuinats.

### 2.2 Riscos de l'ús de nitrits

La decisió de l'aplicació dels nitrats i nitrits està basada en la relació risc/benefici. D'una banda, hi ha el risc de la formació de nitrosamines, potencials cancerígens, mentre que per l'altra s'obté el benefici d'evitar el botulisme. Amb mesures complementàries, com la restricció dels nivells i l'ús d'inhibidors de la formació de nitrosamines, els organismes reguladors de tots els països accepten l'ús de nitrats i nitrits com a additius, considerant-los necessaris per garantir la seguretat de certs aliments. Tot i així, a l'incloure la indicació de la seva presència en les etiquetes dels aliments la decisió darrera queda en mans del consumidor.

### 2.3 Toxicitat dels nitrits

Es necessita una dosi de nitrats/nitrits alta per produir intoxicacions agudes en adults, però en nens i nadons, quantitats mínimes poden desencadenar trastorns greus. Els nitrats per si mateixos no són tòxics, però la seva transformació a nitrits sí que ho és. Tanmateix, els nitrats es transformen en nitrits per processos enzimàtics a l'intestí (en adults) i en l'estómac i duodè (en lactants).

---

<sup>9</sup> Lipòlisi: procés metabòlic mitjançant el qual els lípids de l'organisme són transformats per produir àcids grassos i glicerol per cobrir les necessitats energètiques.

Els nitrats s'absorbeixen ràpidament en el tracte intestinal, els quals reaccionen amb l'hemoglobina formant metahemoglobina<sup>10</sup>. A nivells de 20-50% d'aquesta substància a la sang, es produeix cianosi, els símptomes de la qual són baix nivell d'oxigen, debilitat, dispnea, cefalees, taquicàrdia, etc. Els nens menors de 3 mesos no posseeixen el sistema enzimàtic completament desenvolupat, de manera que l'increment de metahemoglobina origina la condició clínica característica anomenada metahemoglobinèmia. En organismes adults els nitrats incorporats són excretats per via renal.

En els darrers anys la CE està analitzant la possibilitat d'autoritzar nous additius que permetin reemplaçar els nitrats, ja que aquests, i també els nitrats, són molt polèmics degut a la seva toxicitat. Es pot distingir entre:

- Toxicitat directa
- Toxicitat indirecta

### **2.3.1 Toxicitat directa**

Una dosi de 15-20 g de nitrit és mortal. Per aquest motiu, la indústria càrnia només permet la utilització de 0,3 g/kg de carn (s'hauria de consumir 50 kg/dia per arribar a la xifra mortal de 15-20 g de nitrit). Tanmateix, cal dir que els mètodes per analitzar les quantitats de nitrats en un aliment són inexactes ja que una part del nitrit que s'afegeix a la carn no es combina amb les proteïnes i aminoàcids i se'n va en forma de gas volàtil com a òxid nítrós.

### **2.3.2 Toxicitat indirecta**

És deguda a la formació de nitrosamines, substàncies que són agents cancerígens. Hi ha dues possibilitats de formació de nitrosamines: en l'aliment o en el propi organisme. En el primer cas, el risc es limita a aquells productes que s'escalfen molt durant la cocció (per exemple, el bacó) o que són rics en amines (peix i productes fermentats). En el segon cas, es poden formar nitrosamines en les condicions ambientals de l'estómac. Hi ha diferents maneres per disminuir el

---

<sup>10</sup> Metahemoglobina: hemoglobina (pigment vermell de la sang que transporta l'oxigen des dels òrgans respiratoris fins als teixits) amb un grup hemo amb ferro en estat fèrric, Fe (III) (oxidat). Aquest tipus d'hemoglobina no s'uneix a l'oxigen.

risc de formació de nitrosamines. En primer lloc, reduir la concentració de nitrits i nitrats si és possible. També es poden utilitzar altres additius que bloquegen el mecanisme químic de la seva formació. Aquests additius són l'àcid ascòrbic (E-330) i els seus derivats, que s'apliquen en medis aquosos, i els tocoferols (E-306 i següents) per a productes greixosos. Quan en l'aliment s'hi troba ascorbat, l'acció dels nitrits s'estimula considerablement. És per això que l'ús d'àcid ascòrbic és molt freqüent, i en alguns països (EEUU, per exemple), fins i tot obligatori.

## 2.4 Normativa legal

En quasi tots el països s'admet la utilització de nitrit per a la salaó i conservació de productes carnis. Les dosis afegides de nitrats i nitrits han d'estar al nivell mínim indispensable per obtenir l'efecte conservant necessari per garantir la seguretat des del punt de vista microbiològic. La legislació actual (Reglament 1333/2008) de l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA, en les seves sigles en anglès) preveu les concentracions màximes recollides a la Taula 3. La dosi normal d'utilització és de 80-150 ppm.

**Taula 3.** Concentracions de nitrats ( $\text{NO}_3^-$ ) i nitrits ( $\text{NO}_2^-$ ) màxims permesos en la producció de productes carnis, expressades en ppm.

	Màxim $\text{NO}_3^-$ (ppm)	Màxim $\text{NO}_2^-$ (ppm)
Durant l'elaboració del producte	300	150
Punt de venda al consumidor	250	50

A la Taula 4 s'expressen els nivells de nitrats i nitrats permesos per la UE per alguns productes carnis.

**Taula 4.** Nivells de nitrats ( $\text{NO}_3^-$ ) i nitrats ( $\text{NO}_2^-$ ) màxims permesos per la UE per alguns productes carnis, expressats en mg d'ions nitrit/nitrat per kg de producte final (Font: Ranken, 2003)

	Màxim $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ (mg/kg)	Màxim $\text{NO}_2^-$ (mg/kg)
Carns curades en envasats estèrils	150	50
Carns curades acidificades o fermentades	400	50
Bacó i pernil, en envases no estèrils	500	200
Altres carns curades	250	150

Actualment, la UE considera que cal baixar aquests límits i segurament hi haurà canvis pel que fa als productes curats, especialment al pernil. De totes maneres, hi ha diferències entre les normatives sobre l'ús de nitrit en productes carnis de diferents països. Per exemple, a la República Federal d'Alemanya, només es pot utilitzar nitrit barrejat amb sal comuna, mentre que en altres països, com els Estats Units, està permesa la utilització de nitrit en forma pura, sempre i quan s'acompanyi de la dosi d'àcid ascòrbic corresponent.

El Comitè Conjunt d'Experts en additius de la FAO / OMS (JECFA) i el Comitè Científic per a l'Alimentació Humana de la Comissió Europea (*Scientific Committee on Food – SCF*) recomanen les IDAs (Ingesta Diària Admissible) que es mostren a la Taula 5. Aquestes IDAs s'apliquen a totes les fonts d'ingesta, a excepció dels aliments per a nens menors de tres mesos, en els quals no està autoritzat el seu ús.

**Taula 5.** Quantitat de nitrats ( $\text{NO}_3^-$ ) i nitrits ( $\text{NO}_2^-$ ) recomanada com a IDA, expressada en mg d'ions nitrit/nitrat per kg de pes corporal

	<b>IDA (mg ions / kg pes corporal)</b>
Nitrats ( $\text{NO}_3^-$ )	0 – 3,7
Nitrits ( $\text{NO}_2^-$ )	0 – 0,06

## 2.5 Seguretat pels consumidors

Encara que hi ha unes normes clares respecte a quantitats màximes d'ús dels nitrats i nitrits, també és important una correcta utilització per part dels productors, consumidors i professionals de la salut.

També té importància la correcta divulgació de normes per al retolat dels aliments, i identificar els aliments de major perill no només pel seu contingut sinó també per l'hàbit de consum.

Per últim, cal educar al consumidor en les bones pràctiques d'ús i elaboració dels aliments per tal de disminuir els riscos per a la salut.

### 3 La tècnica espectrofotomètrica

L'espectrofotometria és una tècnica analítica que utilitza els efectes de la interacció de les radiacions electromagnètiques amb la matèria (àtoms i molècules) per mesurar l'absorció o la transmissió de llum per les substàncies. Es tracta d'una tècnica quantitativa d'anàlisi química que s'utilitza, entre altres aplicacions, per mesurar la concentració de moltes substàncies químiques. Segons la radiació utilitzada es distingeixen l'espectrofotometria d'absorció visible (colorimetria), la ultraviolada i la infraroja.

L'espectrofotòmetre (Figura 3) és un instrument que té la capacitat de projectar un feix de llum monocromàtica a través d'una mostra que conté una quantitat desconeguda de solut, i una que conté una quantitat coneguda de la mateixa substància, i mesurar la quantitat de llum que és absorbida per les mostres. Així es pot determinar la quantitat de solut desconeguda.



**Figura 3.** *Espectrofotòmetre UV-Visible de doble feix*



### **3.1 Principi de la tècnica espectrofotomètrica**

Totes les substàncies poden absorbir energia radiant. L'absorció de les radiacions ultraviolades, visibles i infraroges depèn de l'estructura de les molècules i és característica per a cada substància química. Quan la llum travessa una substància, part de l'energia és absorbida.

L'espectrofotometria ultraviolada-visible (UV-Visible) utilitza feixos de radiació de l'espectre electromagnètic en el rang UV (de 80 a 400 nm, encara que des d'un punt de vista analític es treballa en el rang de 200 a 400 nm) i en el de la llum visible (de 400 a 800 nm).

Segons la llei de Beer-Lambert, la quantitat de llum absorbida depèn tant de la concentració en la solució com de la distància recorreguda pel feix de radiacions. D'una banda, quant més concentrada sigui una solució, més quantitat de llum absorbeix, ja que les ones electromagnètiques topen amb un major nombre de partícules i són absorbides per aquestes. De l'altra, quant més gran és la distància que ha de recórrer el feix de llum, amb més partícules toparà i l'absorbància serà major.

### **3.2 Transmissió i absorbància de les radiacions i relació entre elles**

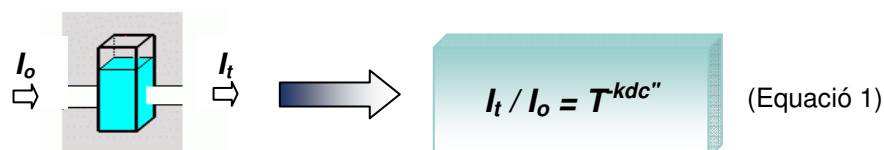
Totes les equacions referides a la transmissió i l'absorbància només són vàlides si es compleixen les següents condicions:

- la radiació incident és monocromàtica
- les espècies actuen independentment unes de les altres durant l'absorció
- el volum de secció transversal és uniforme.

#### **3.2.1 Transmissió**

La transmissió és una magnitud que expressa la quantitat d'energia que travessa un cos per unitat de temps. En fer passar una quantitat de radiacions,

per les lleis esmentades anteriorment, hi ha una pèrdua que s'expressa segons l'Equació 1.


$$I_t / I_o = T^{kdc} \quad (\text{Equació 1})$$

on  $I_t$ : intensitat de llum transmesa per la mostra

$I_o$ : intensitat de llum que incideix a la mostra i prové de la font

$T$ : transmitància

**Signe negatiu a l'exponent:** l'energia decreix a mesura que el recorregut augmenta

$k$ : capacitat de la mostra per a la captació del feix del camp electromagnètic

$d$ : gruix recorregut per la radiació

$c$ : concentració del solut en la mostra

### 3.2.2 Absorbància

L'absorbància és el grau d'absorció de la llum o d'una altra energia radiant al seu pas a través d'un cos. Ve determinada per l'Equació 2.


$$A = \epsilon \cdot d \cdot c \quad (\text{Equació 2})$$

Aquesta equació és la llei de Beer-Lambert i relaciona l'absorbància de la mostra ( $A$ ) amb la concentració ( $c$ ), el gruix recorregut per la radiació ( $d$ ) i el coeficient d'extinció molar ( $\epsilon$ ), que és característic de cada substància i depenent de la  $\lambda$ .

### 3.2.3 Relació entre absorbància i transmissió

L'absorbància és igual al logaritme del recíproc de la transmissió (Equacions 3 i 4).

$$A = \log 1 / T \quad (\text{Equació 3})$$

que és igual a:

$$A = -\log T \quad (\text{Equació 4})$$

### 3.3 Aplicacions

La tècnica espectrofotomètrica és molt utilitzada en les investigacions químiques i biològiques, on les principals aplicacions són:

- Determinació de la quantitat de concentració d'un compost en una dissolució
- Identificació d'unitats estructurals específiques, ja que aquestes tenen diferents tipus d'absorbància (grups funcionals o isomeria)
- Determinació de la glucosa en sang
- Seguiment del curs de reaccions químiques i enzimàtiques
- Determinació quantitativa de proteïnes, en la determinació d'àcids nucleics incloent DNA / RNA, enzims

## 4 Determinació de nitrats en un embotit curat

### 4.1 Objectiu

L'objectiu d'aquest estudi és conèixer la quantitat residual de nitrats que hi ha en fuets procedents de diferents cases comercials utilitzant un mètode espectrofotomètric, per tal de comprovar si el seu contingut es troba per sota dels límits legals.

### 4.2 Mostres, reactius i material

#### 4.2.1 Mostres

- 10 fuets (2 lots diferents de 5 cases comercials)

#### 4.2.2 Reactius

- dissolució de borat de sodi al 5% (dissolució de bòrax)
- Solució Carrez I: solució de 24 g d'acetat de zinc ( $\text{CH}_3\text{COOZn}$ ) i 3 g d'àcid acètic glacial en 100 mL d'aigua
- Solució Carrez II: solució aquosa de fenocianur potàssic trihidratat (15% p/v)
- àcid sulfanílic
- $\alpha$ -naftilamina
- reactiu colorimètric: s'obté extemporàniament mesclant volums iguals de les dues solucions que el componen:

Solució I (solució clorhídrica d'àcid sulfanílic): dissoldre 0,26 g d'àcid sulfanílic en 100 mL de HCl 0,2 N

Solució II (solució àcida de  $\alpha$ -naftilamina): dissoldre 0,6 g de  $\alpha$ -naftilamina en 1 mL de HCl concentrat i 99 mL d'aigua destil·lada

- nitrit de sodi ( $\text{NaNO}_2$ ) per anàlisi (Panreac Barcelona)

### 4.2.3 Material i aparells

- ganivet de cuina
- picadora
- erlenmeyers de 250 mL
- espàtula
- paper d'alumini
- pipetes aforades de 2, 5 i 10 mL
- pipetes automàtiques d'1 mL
- embuts
- erlenmeyers de 100 mL
- provetes de 100 mL
- matrassos aforats de 100 i 250 mL
- paper de filtre
- picadora
- balança electrònica AND Electronic Balance FY-3000 (precisió de dècima de g)
- balança de precisió AND HR-200 (precisió de dècima de mg)
- bany d'aigua Selecta Precistern
- espectrofotòmetre model UV-160A (Shimatzu Corporation, Kyoto, Japó)
- cubetes de plàstic per a la lectura espectrofotomètrica

## 4.3 Procediment

### 4.3.1 Construcció de la corba patró

Es prepara primer una solució *stock* de nitrit sòdic de 1000 ppm utilitzant  $\text{NaNO}_2$ . Per fer-ho, es pesen 0,1 g de  $\text{NaNO}_2$  (Càlcul 1) amb precisió de dècima de mg, i es passen amb un embut a un matràs aforat de 100 mL, arrossegant-los amb aigua destil·lada i procurant que quedi ben dissolt. A continuació s'enrasa.

**Càlcul 1.** Càlcul per a determinar la quantitat de  $\text{NaNO}_2$  necessària per a preparar 100 mL de dissolució *stock* (1000 ppm)

$$1000 \text{ ppm} = 1 \text{ mg} / \text{L}$$

↓

$$100 \text{ mL} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \cdot \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 0,1 \text{ g}$$

A continuació, es prepara una solució de treball de 10 ppm. Per això, es pipeteja 1 mL de la solució *stock* (Càlcul 2, aplicant l'Equació 5) i es col·loca en un matràs aforat de 100 mL. S'enrasa amb aigua destil·lada, es col·loca el tap i es barreja el líquid movent el matràs.

$$C \cdot V = C' \cdot V'$$

(Equació 5)

**C:** concentració de la dissolució inicial

**V:** volum de la dissolució inicial

**C':** concentració de la dissolució que es vol preparar

**V':** volum de la dissolució que es vol preparar

**Càlcul 2.** Càlcul per a determinar la quantitat de solució *stock* necessària per a preparar 100 mL de solució de treball de 10 ppm

$$1000 \text{ ppm} \cdot V = 10 \text{ ppm} \cdot 100 \rightarrow V = 1 \text{ mL (solució de treball)}$$

A partir de la solució de treball es preparen 100 mL de 5 solucions patró diferents dins d'un rang de concentracions de 0,2 – 1 ppm. El volum de solució de treball necessari en cada cas es determina a partir de l'Equació 5 (Càlcul 3).

**Càlcul 3.** Càlcul per a determinar la quantitat de solució de treball necessària per a preparar les solucions patró

- Patró de 0,2 ppm  $\rightarrow 10 \text{ ppm} \cdot V = 0,2 \cdot 100 \rightarrow V = 2 \text{ mL}$
- Patró de 0,4 ppm  $\rightarrow 10 \text{ ppm} \cdot V = 0,4 \cdot 100 \rightarrow V = 4 \text{ mL}$
- Patró de 0,6 ppm  $\rightarrow 10 \text{ ppm} \cdot V = 0,6 \cdot 100 \rightarrow V = 6 \text{ mL}$
- Patró de 0,8 ppm  $\rightarrow 10 \text{ ppm} \cdot V = 0,8 \cdot 100 \rightarrow V = 8 \text{ mL}$
- Patró d'1 ppm  $\rightarrow 10 \text{ ppm} \cdot V = 1 \cdot 100 \rightarrow V = 10 \text{ mL}$

A continuació, s'enrasen a 100 mL amb aigua destil·lada, es col·loquen els taps i es barreja bé el líquid. De cada una d'elles, s'agafa una alíquota<sup>17</sup> de 10 mL i es transfereix a un erlenmeyer de 100 mL. S'hi afegeixen 5 mL de la solució d'àcid sulfanílic (Solució I) i 5 mL de la solució d' $\alpha$ -naftilamina (Solució II) amb una pipeta aforada corresponent, es remena i es deixa en repòs durant 20 min a temperatura ambient perquè es doni la reacció (Figura 4).



**Figura 4.** Corba patró preparada per a la determinació de nitrats (0-1 ppm, amb increments de 0,2 ppm) utilitzant  $\text{NaNO}_2$

<sup>17</sup> Alíquota: volum o quantitat de massa que s'utilitza en una prova de laboratori. És el resultat de repartir un volum inicial en diverses parts iguals.

Passat aquest temps, es mesura l'absorbància a una  $\lambda = 525 \text{ nm}$  utilitzant un l'espectrofotòmetre de doble feix, prenent com a blanc el Patró de 0 ppm – no conté solució de treball – (Figura 5).



**Figura 5.** Lectura espectrofotomètrica durant la realització de la corba patró per a la determinació de nitrats en productes carnis

#### **4.3.2 Preparació i valoració de les mostres**

Es treu el budell del fuet, es talla en petits trossets i es pica amb una picadora fins que quedi una massa homogènia. A continuació es pesen 15 g de mostra amb precisió de dècima de g en un erlenmeyer de 250 mL. Això es realitza per duplicat per a cada fuet. S'hi afegixen 100 mL d'aigua destil·lada i a continuació 5 mL de dissolució de bòrax al 5%. Es tapa amb paper d'alumini, es remena i es posa en un bany d'aigua a 90 °C durant 30 min (Figura 6).





**Figura 6.** *Extracció de nitrits de mostres de fuets en un bany d'aigua*

Passat aquest temps, es filtra en calent, procurant que no quedin restes líquides (Figura 7). Si el filtre queda obturat pel greix del fuet després d'un temps, és recomanable canviar el paper de filtre per accelerar el filtratge. És important esperar fins que no quedin restes líquides per assegurar que tots el nitrits estiguin en el filtrat.



**Figura 7.** *Filtració de les solucions de fuet una vegada s'han extret els nitrits*

S'afegeixen 2 mL de solució de Carrez I i 2 mL de solució de Carrez II al filtrat. Es produeix una defecació<sup>12</sup> (Figura 8).



**Figura 8.** Defecació dels extractes de les diferents mostres

Es deixa refredar a temperatura ambient i es torna a filtrar per tal d'obtenir un extracte transparent (Figura 9).



**Figura 9.** Aspecte del filtrat després de la defecació

---

<sup>12</sup> Defecació: clarificació o desproteïnitació d'extractes. És una etapa necessària en molts procediments analítics i és un sistema per purificar extractes rics en proteïna, que consisteix en la precipitació de les proteïnes amb reactius químics capaços d'insolubilitzar-les, com sals minerals pesants.

Es transfereix el filtrat en un matràs aforat de 250 mL i s'enrasa amb aigua destil·lada. Es passa a un erlenmeyer de 250 mL (Figura 10).



**Figura 10.** Dissolucions de les mostres

S'agafa una alíquota de 10 mL d'aquesta dissolució i es transfereix a un erlenmeyer de 100 mL. S'afegeixen 5 mL de la solució d'àcid sulfanílic (Solució I) i 5 mL de la solució d' $\alpha$ -naftilamina (Solució II), es remena i es deixa en repòs durant 20 min a temperatura ambient perquè es doni la reacció. Passat aquest temps, es mesura l'absorbància de les mostres a una  $\lambda = 525$  nm utilitzant un l'espectrofotòmetre de doble feix.

## 4.4 Resultats

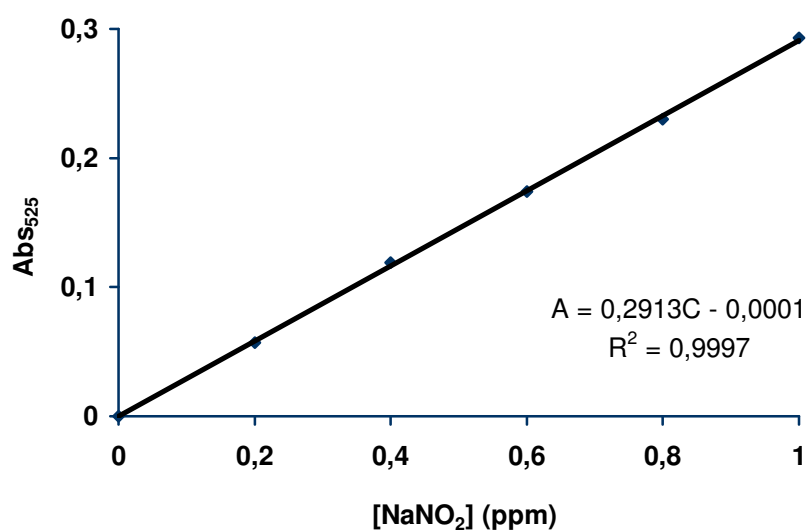
### 4.4.1 Resultats de la corba patró

S'ha realitzat la determinació de la corba en dos dies diferents; per tant, s'han preparat dues vegades les dissolucions patró. Els resultats del primer dia (23.10.2009) es mostren a la Taula 6.

**Taula 6.** Corba patró per a la determinació de nitrats en productes carnis curats: relació entre concentració de  $\text{NaNO}_2$  (ppm) i absorbància a 525 nm.  
Data: 23.09.2009

$[\text{NaNO}_2]$ (ppm)	$\text{Abs}_{525}$
0,0	0,000
0,2	0,057
0,4	0,119
0,6	0,174
0,8	0,230
1,0	0,293

A partir d'aquests valors es pot construir la recta de calibrat, la qual es mostra a la Figura 11.



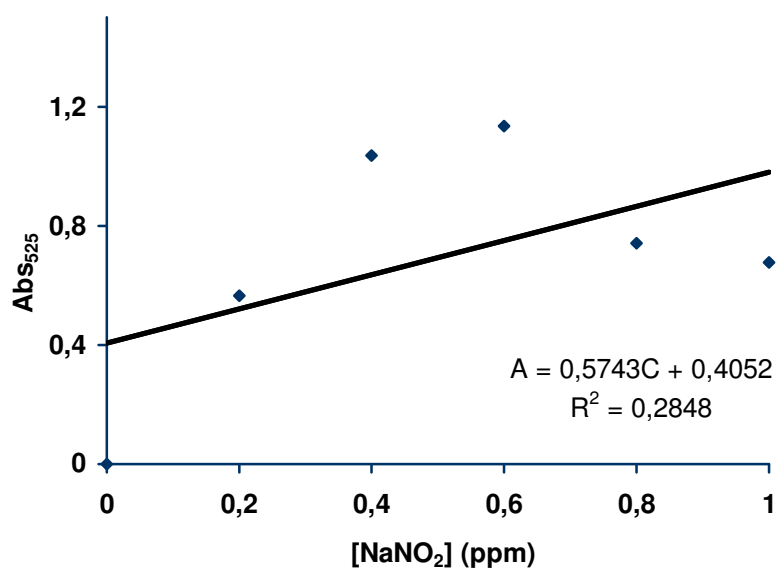
**Figura 11.** Recta de calibrat per a la determinació de la concentració de nitrats (23.09.2009)

Els resultats corresponents a la segona corba de calibrat (4.11.2009) es mostren a la Taula 7.

**Taula 7.** Corba patró per a la determinació de nitrts en productes carnis curats: relació entre concentració de  $\text{NaNO}_2$  (ppm) i absorbància a 525 nm. Data: 4.09.2009

$[\text{NaNO}_2]$ (ppm)	$\text{Abs}_{525}$
0,0	0,000
0,2	0,565
0,4	1,035
0,6	1,134
0,8	0,742
1,0	0,678

La Figura 12 mostra la relació entre absorbància a 525 nm i concentració de nitrts obtinguda per a aquesta segona recta de calibrat.



**Figura 12.** Recta de calibrat per a la determinació de la concentració de nitrts (4.11.2009)

Com es pot observar en la Figura 12, hi ha molta desviació de les dades, que també ens indica el coeficient de correlació ( $R^2 = 0,2848$ ), que hauria d'aproximar-se a 1. Segurament, aquesta desviació és deguda a un error comès a l'hora de preparar la dissolució de treball. El primer dia vam partir de la dissolució de 100 ppm mentre que el segon dia vam partir de la de 1000 ppm. Això explica que l'absorbància dels tres patrons més petits (0,2, 0,4 i 0,6 ppm) és de l'ordre de 10 vegades inferior en la primera corba que en la segona (comparar els valors de les taules 6 i 7). Per patrons més grans de 0,6 ppm deixa de complir-se aquesta relació, degut a que el detector, en treballar amb concentracions tan elevades en el segon cas, se satura de manera que la resposta deixa de ser lineal. El fet de que a les concentracions més elevades fins i tot disminueixi l'absorbància és degut a que es donava un canvi en el to de la coloració, és a dir, el màxim d'absorció es donava a una altra longitud d'ona.

Per tot això farem servir l'equació de la recta de calibrat del dia 23.10.2009 (Figura 11) per calcular les concentracions de nitrat de totes les mostres. Aquesta recta patró té un valor de coeficient de correlació pràcticament de 1, cosa que indica que és quasi lineal.

#### 4.4.2 Resultats de les mostres analitzades i càlcul de concentracions

A la Taula 8 estan recollits els lectures obtingudes amb l'espectrofotòmetre per a les diferents mostres. També hi apareix la concentració de nitrats per a cada mostra, calculada a partir de l'equació de la recta de calibrat escollida (Càlcul 4).

**Càlcul 4.** Càlcul per a determinar la quantitat de  $\text{NaNO}_2$  en els extractes de les mostres a partir de la recta de calibrat

$$A = 0,2913C - 0,0001 \rightarrow C = \frac{A + 0,0001}{0,2913}$$

A continuació es pot calcular la concentració de nitrats que hi havia a cada mostra, relacionant el pes de cada mostra de fuet i la concentració obtinguda en l'apartat anterior.

Aplicant els factors de conversió del Càlcul 5, es calcula la concentració per a cada fuet.

**Càlcul 5.** Càlcul de la concentració de nitrits per a cada fuet

$$C \text{ (ppm)} = C \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)$$
$$C \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \cdot \frac{0,25 \text{ L}}{\text{massa mostra (g)}} \cdot \frac{10^3 \text{ g}}{1 \text{ kg}} = X \left( \frac{\text{mg NaNO}_2}{\text{kg fuet}} \right)$$

El càlcul d'exemple (Càlcul 6) està fet per a la primera mostra del lot 265 de *TOP BUDGET*.

**Càlcul 6.** Càlcul de la concentració de  $\text{NaNO}_2$  per a la primera mostra del lot 265 de *TOP BUDGET*

$$\frac{0,0862 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \cdot \frac{0,25 \text{ L}}{15,1 \text{ g}} \cdot \frac{10^3 \text{ g}}{1 \text{ kg}} = 1,4272 \frac{\text{mg NaNO}_2}{\text{kg fuet}}$$

A la Taula 8 es presenten el contingut de nitrits obtingut per a les diferents mostres de fuet analitzades.

**Taula 8.** Contingut de nitrits de les diferents mostres de fuet analitzades. (Els resultats dels càlculs estan arrodonits a 4 xifres decimals)

<b>Marca del fuet</b>	<b>Lot</b>	<b>Massa<sub>mostra</sub> (g)</b>	<b>Abs<sub>mostra</sub></b>	<b>[Nitrits]<sub>mostra</sub> (ppm)</b>	<b>[Nitrits]<sub>fuet</sub> <math>\left(\frac{\text{mg NaNO}_2}{\text{kg fuet}}\right)</math></b>	<b>[Nitrits]<sub>lot</sub> <math>\left(\frac{\text{mg NaNO}_2}{\text{kg fuet}}\right)</math></b>
TOP BUDGET	265	15,1	0,025	0,0862	1,4272	1,4320
		15,0	0,025	0,0862	1,4367	
	258	14,9	0,033	0,1136	1,9060	1,7864
		15,0	0,029	0,1000	1,6667	
Casademont	092531	15,1	0,043	0,1580	2,6159	2,4189
		15,1	0,039	0,1342	2,2219	
	092221	15,0	0,042	0,1445	2,4083	2,4658
		15,0	0,044	0,1514	2,5233	

(continua)

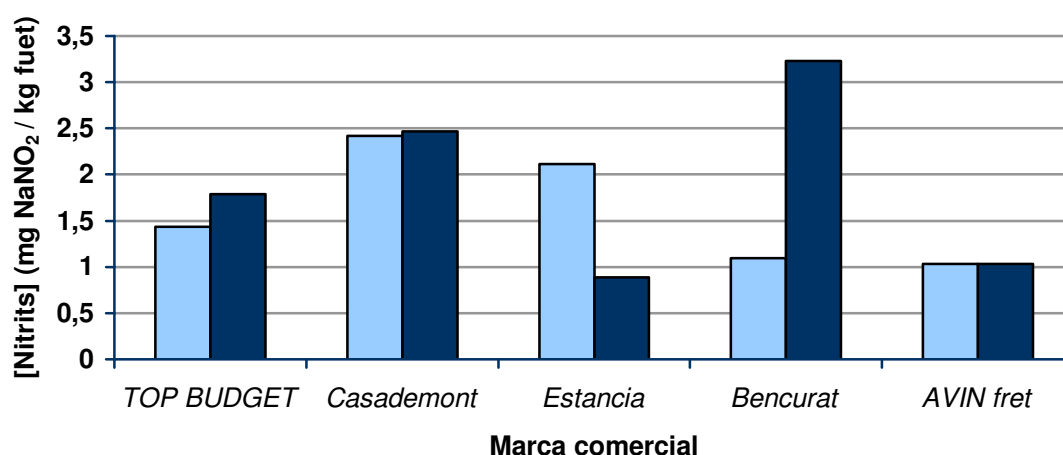


Estancia	3207	15,0	0,039	0,1342	2,2367	2,1159
		15,1	0,035	0,1205	1,9950	
	3102	15,1	0,015	0,0518	0,8576	0,8897
		15,0	0,016	0,0553	0,9217	
Bencurat	26/09	15,0	0,023	0,0793	1,3217	1,0954
		14,9	0,015	0,0518	0,8691	
	09/09	15,1	0,037	0,1274	2,1092	3,2313
		15,0	0,076	0,2612	4,3533	
AVIN fret	0118/09	15,0	0,018	0,0621	1,0350	1,0350
		15,0	0,018	0,0621	1,0350	
	0127/09	15,0	0,015	0,0518	0,8633	0,8350
		15,0	0,014	0,0484	0,8067	

## 4.5 Anàlisi dels resultats obtinguts

L'anàlisi dels resultats s'ha fet a partir de la mitjana en la concentració de nitrts obtinguda per a cada lot i per a cada marca comercial. Aquestes concentracions es troben entre 0,8350 ppm (lot 0127/09 de *AVIN fret*) i 3,2313 ppm (lot 09/09 de *Bencurat*).

Entre els fuets de diferents marques analitzades, la concentració de nitrts més elevada s'ha trobat en la mostra de *Bencurat* (4,3533 ppm) i la més baixa en la de *AVIN fret* (0,8067 ppm).



**Figura 13.** Concentració de nitrts en els dos lots de fuets de les diferents marques.

Si es comparen les concentracions de les dues mostres que hem preparat per a cada lot (Figura 13), s'han obtingut resultats molt semblants entre si, i fins i tot una coincidència en les mostres del lot 0118/09 de *AVIN fret* (1,0350 ppm). Això ens dóna idea o ens confirma que el mètode que hem utilitzat és força precís. Només hi ha una diferència destacable entre les dues mostres del lot 09/09 de *Bencurat* (2,1092 i 4,3533 ppm). En principi, no hi hauria una explicació concreta al fet que una concentració sigui el doble de la de l'altra per a una mateixa mostra del mateix lot, ja que en la preparació inicial d'aquesta s'ha intentat que fos el màxim d'homogènia possible. Podria tractar-se d'un error que s'hauria de confirmar repetint l'anàlisi.

Observant els resultats dels dos lots respectius a una marca comercial, es pot dir que la diferència de concentracions de nitrits es troba entre 0,0469 ppm (lots 092531 i 092221 de *Casademont*) i 2,1359 ppm (lots 26/09 i 09/09 de *Bencurat*). Els resultats tornen a ser força similars entre ells; per tant, es pot concloure que la concentració de nitrits de cada marca comercial és força constant, és a dir, independent del lot.

Respecte a la normativa, que permet una concentració màxima de 50 ppm de nitrits en el punt de venda al consumidor, els embotits analitzats estan molt per sota d'aquest màxim.

En el cas dels productes carnis, la concentració màxima permesa de nitrits durant la seva elaboració és de  $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (veure Taula 3). Malgrat aquest valor relativament elevat, cal tenir present que la seva concentració es redueix a menys de la meitat durant els primers dies després de la producció, podent arribar a reduir-se a menys d'un 10% del seu valor inicial després de varies setmanes d'emmagatzematge (EFSA, 2003). Això fa que sigui relativament freqüent trobar, en aquest tipus de productes, continguts residuals de nitrits molt per sota dels nivells màxims permesos en el punt de venda (veure Taula 3). En principi, això no ha de suposar cap perill de cares a la protecció enfront *C. botulinum*, ja que no sembla que hi hagi evidències de que una major quantitat residual de nitrits estigui relacionada amb un major control del creixement d'aquest microorganisme. D'acord amb el Scientific Panel of Biological Hazards (BIOHAZ), és la quantitat de nitrits afegida durant l'elaboració dels productes carnis la que contribueix principalment al control de *C. botulinum* més que no la quantitat residual d'aquests compostos (EFSA, 2003).

De totes maneres, malgrat que s'ha observat que els productes carnis curats no representen globalment la principal font de nitrits en la dieta espanyola, sí que són els que més contribueixen a la ingesta de nitrosamines (Jakszyn et al., 2006). Per tant, és molt important respectar els límits màxims establerts, els quals reflecteixen l'equilibri entre garantir el control de *C. botulinum* i minimitzar la formació de nitrosamines.

## 5 Conclusions

Els additius alimentaris són unes substàncies que s'afegeixen als aliments amb la intenció de millorar-ne les característiques. Hi ha molts tipus d'additius, i s'agrupen segons la seva funció en quatre grans grups: substàncies que modifiquen les característiques organolèptiques, estabilitzadors de l'aspecte i els caràcters físics (texturitzants), substàncies que impedeixen les alteracions químiques i biològiques, i substàncies correctores de les qualitats dels aliments.

A cada additiu li correspon un número E, que és internacional i facilita la seva identificació. Perquè un additiu s'autoritzi ha de satisfer una necessitat i passar favorablement unes proves de seguretat i innocuïtat. L'ús d'additius està regulat molt estrictament.

Els nitrats són un tipus d'additius alimentaris que s'utilitzen principalment per productes càrnics, on exerceixen les funcions següents: conservadora, estabilitzant del color, i millorant del sabor i l'aroma.

L'aplicació dels nitrats es basa en la relació risc/benefici. D'una banda, hi ha el risc de la formació de nitrosamines, potencials cancerígens, mentre que per l'altra s'obté el benefici d'evitar el botulisme. La legislació actual permet una concentració màxima en el punt de venda al consumidor de 50 ppm de nitrats.

És important determinar la quantitat de nitrats que hi ha en productes càrnics, per tal de garantir la seguretat dels consumidors. Un possible mètode per fer-ho és a través de la tècnica espectrofotomètrica, que està basada en la mesura de l'absorbància de llum d'una mostra per determinar-ne la seva concentració.

Per conèixer la concentració de nitrats que hi ha en diferents fuets, hem utilitzat aquest mètode. Hem realitzat l'estudi amb 10 fuets de 5 marques comercials diferents (2 lots diferents de cada marca), i hem preparat mostres per duplicat per a cadascun. Aquesta preparació ha estat llarga i ens hem trobat amb alguns inconvenients, com per exemple que ha costat molt filtrar la mostra, ja que la gran quantitat de proteïnes obturava el paper de filtre, o que hem hagut de repetir la preparació de 10 mostres per no haver acabat el filtrat, cosa que modificaria els resultats.

A continuació hem obtingut una recta patró a partir de dissolucions de  $\text{NaNO}_2$  en concentracions entre 0 i 1 ppm i mesurant les seves absorbàncies a 525 nm amb un espectrofotòmetre UV-Visible de doble feix. De les dues rectes fetes només n'hem utilitzat una, la més precisa, ja que amb l'altra vam preparar de manera incorrecta les dissolucions. Els resultats obtinguts de la mesura de la concentració de nitrits en les mostres es troben tots entre 0,8350 i 3,2313 ppm, i per tant estan per sota del valor màxim de la normativa, 50 ppm.

Hem comparat les mostres entre elles, entre els lots i entre les diferents marques. Tots els resultats són força similars, per la qual cosa podem dir que el mètode és precís. Només hi ha un resultat que destaca de la resta, el de 4,3533 ppm, i caldria repetir l'anàlisi, ja que per a aquest valor no hi ha una explicació concreta.

Per tant, com a conclusió puc dir que he aconseguit els objectius que m'havia proposat en començar el treball, tant pel que fa a la part d'adquirir coneixements nous – sobre additius alimentaris, nitrits i el mètode espectrofotomètric – com pel que fa a la realització pràctica de la determinació del contingut residual de nitrits de diferents fuets.

Després de realitzar aquest treball de recerca, puc afirmar que els additius alimentaris i els nitrits en particular són un tema que trobo realment interessant. A més, m'ha agradat realitzar les pràctiques en el laboratori de la Universitat de Girona; és una forma de treballar que fins ara no havia conegut però que m'hi identifico bastant, i fins i tot em podria imaginar treballar d'aquesta manera en el futur.

## 6 Bibliografia

CAE. 2003. *Código Alimentario Español y disposiciones complementarias*. 6ª Edición. Colección "Biblioteca Textos Legales". Madrid.

CALVO, M. *Conservantes*. [en línia].  
<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/conservantes.html>. [última consulta: 23.09.2009]

CODEX ALIMENTARIUS. *Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios*. (CODEX STAN, 192-1995). 1995. [en línia].  
[http://www.codexalimentarius.net/gsfonline/CXS\\_192s.pdf](http://www.codexalimentarius.net/gsfonline/CXS_192s.pdf). [última consulta: 23.09.2009]

DEPARTAMENT DE SALUT. AGÈNCIA CATALANA DE SEGURETAT ALIMENTÀRIA. *Additius alimentaris*. [en línia].  
<http://www.gencat.cat/salut/acsa/Du12/html/ca/dir1531/doc10766.html>. [última consulta: 4.12.2009].

— *Nitrats, nitrats i nitrosamines*. [en línia].  
<http://www.gencat.cat/salut/acsa/Du12/html/ca/dir1351/doc16296.html>. [última consulta: 23.09.2009].

DIRECTIVA 94/35/CE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 30 de juny de 1994, relativa als edulcorants utilitzats en els productes alimentosos. Official Journal of the European Communities No. L237 de 10 de Setembre de 1994.

DIRECTIVA 94/36/CE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 30 de juny de 1994, relativa als colorants utilitzats en els productes alimentosos. Official Journal of the European Communities No. L237 de 10 de Setembre de 1994.

DIRECTIVA 95/2/CE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 20 de febrer de 1995 relativa a additius alimentaris diferents dels colorants i edulcorants. Official Journal of the European Communities No. L61 de 18 de Març de 1995.

DOME, E. *Nitratos y nitritos en alimentos*. [en línia].  
<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/NitratosyNi.htm>. [última consulta: 23.09.2009].

EFSA. (2003). *Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the commission related to the effects of nitrites/nitrates on the microbiological safety of meat products*. The EFSA Journal, 14, 1-31.

EL CUADERNO DEL *POR QUÉ BIOTECNOLOGIA*. Cuaderno nº 75. Los aditivos alimentarios. [en línia].  
<http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/doc/EI%20Cuaderno%2075.doc>. [última consulta: 4.12.2009].

ENCICLOPÈDIA CATALANA, SAU. [en línia]. <http://www.enciclopedia.cat>. [última consulta: 4.12.2009].

GRAL, C.N. i PASOTTI, N.S. 2006. Tema: *Espectrofotometría visible-ultravioleta*. A: Química Analítica. Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura. UNNE, Argentina. [en línia]. [http://exa.unne.edu.ar/depar/areas/quimica/quimica.analitica/arch\\_descargas/arch\\_seminarios2006/EspectrofotometriaGralPasotti.doc](http://exa.unne.edu.ar/depar/areas/quimica/quimica.analitica/arch_descargas/arch_seminarios2006/EspectrofotometriaGralPasotti.doc). [última consulta: 26.10.2009].

JAKSZYN, P.; AGUDO, A.; BERENQUER, A.; IBÁÑEZ, R.; AMIANO, P.; PERA, G.; ARDANAZ, E.; BARRICARTE, A.; CHIRLAQUE, M.D.; DORRONSORO, M.; LARRAÑAGA, N.; MARTINEZ, C.; NAVARRO, C.; QUIRÓS, J.R.; SANCHÉZ, M.J.; TORMO, M.J.; & GONZÁLEZ, C.A. 2006. *Intake and food sources of nitrites and N-nitrosodimethylamine in Spain*. Public Health Nutrition: 9: 785–791.

QUIROGA TAPIAS, G i LÓPEZ, J.H. *Industrias cárnicas. Nitratos y nitritos*. Programa Universidad Virtual. Universidad Nacional de Colombia. [en línia]. [http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2001819/lecciones/cap06/cap06\\_20.html](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2001819/lecciones/cap06/cap06_20.html). [última consulta: 23.09.2009].

RANKEN, M.D. 2003. Manual de Industrias de la Carne. A. Madrid Vicente Ediciones & Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, Espanya.

REGLAMENT (CE) N° 1333/2008 DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 16 de Desembre de 2008, relatiu a additius alimentaris. Official Journal of the European Union L354/16 de 31 de Desembre de 2008.

RUÍZ ARAGON, A. *Aditivos alimentarios*. [en línia]. [http://personal.us.es/calarcon/doctorado/pbl\\_cancer/aditivos\\_alimentarios.pdf](http://personal.us.es/calarcon/doctorado/pbl_cancer/aditivos_alimentarios.pdf). [última consulta: 23.09.2009].

SOLER, T. *Nitritos y nitratos*. [en línia]. <http://www.nutricionyrecetas.com/recetas/infoalimenta/nitratos.htm>. [última consulta: 23.09.2009]

VILLANÚA, LEÓN. 1986 . *Aditivos alimentarios*. Publicaciones Serie “Divulgación”. Fundación Española de la Nutrición. Madrid, Espanya.