

# **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

## **Determinación de nitritos y nitratos en hot dogs de consumo directo por estudiantes del 5° y 6° grado de educación primaria del distrito de Villa el Salvador**

**TESIS**

para optar al título profesional de Químico Farmacéutica

**AUTORAS**

**Daniela Ángela Huanca Sucasaire**

**Rocío del Pilar Solís Medina**

**ASESOR**

**Jesús Víctor Lizano Gutiérrez**

**Lima –Perú**

**2010**

Dedico este trabajo a mis padres Gregorio Huanca Copari y Rosario Sucasaire Cruz, mi hermano Simón Alberto Huanca Sucasaire y a mi esposo Luis Miguel Castilla Morán, que con su confianza, apoyo y motivación permitieron cumplir uno de mis mayores logros en la vida.

*Daniela Ángela Huanca Sucasaire*

A Dios, porque grande es su amor e incomparable.

A mi padre quien en vida fue Toribio Solís Quispe, por que sus consejos siempre estarán vivos en mí.

A mi madre Cecilia Medina Tito porque es mi ejemplo de lucha en la vida.

Y a todas aquellas personas que luchan por un mundo mejor, en el que reine la fe, la esperanza y el amor.

*Rocío del Pilar Solís Medina*

## **Agradecimientos:**

A *Dios*, por estar siempre presente a lo largo de nuestras vidas y por darnos la oportunidad de estudiar en nuestra *Alma Mater*, la Facultad de Farmacia y Bioquímica, la que gracias a ella hemos podido conocer tanto a nuestros mejores amigos y a brillantes personas que nos dejaron bellas enseñanzas.

A nuestro Asesor, Dr. Jesús Víctor Lizano Gutiérrez por su gentileza, orientación, apoyo y recomendaciones en el desarrollo del presente trabajo

A los distinguidos Miembros del Jurado:

Dra. Norma Carlos Casas

Dra. Fabiola Guadalupe

Dr. Alfonso Apesteguía Infantes

Dr. Manuel Torres Roca

Por su colaboración y sugerencias recibidas en la culminación de este trabajo.

Al personal (docentes y trabajadores) de los laboratorios de Toxicología, Farmacología, CENPROFARMA y CICOTOX por su colaboración con el préstamo de equipos y materiales, así como también a todas aquellas personas que nos brindaron su tiempo y ayuda desinteresada en el desarrollo del trabajo.

*Daniela y Rocío*

# SUMARIO

	<b>Páginas</b>
<b>RESUMEN</b>	
<b>SUMMARY</b>	
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II GENERALIDADES</b>	<b>4</b>
2.1 Productos y derivados cárnicos elaborados	4
2.2 Aditivos Alimentarios	6
2.3 Nitratos y Nitritos	8
2.4 Aspecto Legal	15
2.5 Ingestión Diaria Admisible (Ida) de nitratos y nitritos	17
2.6 Aspectos Sanitarios	19
2.6.1 Toxicocinética de los nitratos y nitritos	19
2.6.2 Toxicodinámica de los nitratos y nitritos	21
2.7 Compuestos de N-Nitroso	24
2.7.1 Nitrosaminas	27
2.8 Comercialización de embutidos en el país	38
<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	
<b>III MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>40</b>
3.1 Toma de muestra	
3.2 Materiales y Equipos	40
3.3 Determinación del contenido de nitritos	42
3.4 Método de referencia NTP ISO 2918:2006	42
3.5 Determinación del contenido de nitratos	48
3.6 Método de referencia NTP ISO 3091:2005	
<b>IV RESULTADOS</b>	<b>53</b>
<b>V DISCUSIÓN</b>	<b>66</b>
<b>VI CONCLUSIONES</b>	<b>71</b>
<b>VII RECOMENDACIONES</b>	<b>72</b>
<b>VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>73</b>
<b>ANEXO: FICHA DE ENCUESTA</b>	

## RESUMEN

El presente es un estudio transversal y descriptivo realizado en 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador, con el objetivo de determinar las concentraciones de nitritos y nitratos presentes en los hot dogs de consumo directo que se expenden en dichas instituciones educativas, debido a sus reconocidos efectos tóxicos sobre la salud, como son la metahemoglobinemia y la formación de nitrosaminas carcinogénicas. Para tal fin, se determinaron las concentraciones de estos aditivos mediante análisis espectrofotométrico en un equipo Spectronic – G Bauch & Lomb, y luego se comparó estos valores con las cantidades establecidas por las normativas nacional (INDECOPI) e internacional (Codex Alimentarius) vigentes. El método analítico se basa en la Norma Técnica Peruana ISO 2918:2006 para el caso de nitritos y en la Norma Técnica Peruana ISO 3091:2005 en el caso de nitratos. Los valores encontrados para nitritos y nitratos en las 23 muestras analizadas varían en un rango de 122 ppm hasta 399 ppm y de 482 ppm hasta 738 ppm, respectivamente y el promedio de las concentraciones para el caso de los nitritos es de 176.96 ppm y para el caso de los nitratos es de 530.31 ppm. Paralelamente, se determinó el porcentaje y frecuencia de consumo de los hot dogs en los alumnos del quinto y sexto grado de primaria de las mismas instituciones educativas seleccionadas, mediante la realización de una encuesta de consumo semanal, la cual nos indica que el 55,4 % de los alumnos consume hot dog en el colegio, mientras que la frecuencia de consumo se da mayormente una vez a la semana principalmente en los kioscos de las instituciones educativas estatales. Por lo tanto se concluye que las concentraciones de nitritos y nitratos presentes en las muestras analizadas de hot dogs de las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador superan los niveles máximos permitidos dados por el Codex Alimentarius e INDECOPI respectivamente y el porcentaje de consumo en estudiantes de 5° y 6° grado de educación primaria es también elevado.

Palabras claves: productos cárnicos, nitritos, nitratos, hot dogs, análisis toxicológico.

## SUMMARY

This is a cross-sectional and descriptive study conducted in 23 state educational institutions in the district of Villa El Salvador, with the aim of determining concentrations of nitrites and nitrates in hot dogs that are sold for direct consumption in these educational institutions, because of their known toxic effects on health, such as methemoglobinemia and formation of carcinogenic nitrosamines. For this purpose, it was determined the concentrations of these additives in samples of hot dog in the 23 schools through spectrophotometric analysis on a Spectronic - G Bauch & Lomb, and then compared these values with the quantities established by national (INDECOPI) and international (Codex Alimentarius) regulations nowadays. The analytical method is based on the Peruvian Technical Standard ISO 2918:2006 for the case of nitrite and the Peruvian Technical Standard ISO 3091:2005 in the case of nitrate. The values found for nitrites and nitrates in the 23 samples analyzed varied in a range from 122 ppm to 399 ppm and 482 ppm to 738 ppm, respectively, and average concentrations of nitrite in the case is 176.96 ppm and for the case of potassium nitrate is 530.31 ppm. In parallel, we determined the percentage and frequency of consumption of hot dogs in the students of fifth and sixth grade primary educational institutions themselves by conducting a weekly consumer survey, which indicates that 55.4% the students themselves consumed hot dog at school, while the frequency of consumption occurs mostly once a week mainly in the stores of state educational institutions. Therefore concluded that the concentrations of nitrites and nitrates present in samples of hot dogs in the 23 state educational institutions in the district of Villa El Salvador exceeds the maximum permissible levels given by the Codex Alimentarius and INDECOPI respectively and the rate of consumption students in grades 5 and 6th grade of primary education is also high.

**Key words:** meat products, nitrites, nitrates, hot dogs, toxicological analysis.

## I.- INTRODUCCIÓN

Los hot dogs son una fuente de exposición de la dieta a los nitritos y nitratos, aditivos considerados como precursores de agentes cancerígenos (nitrosaminas), sustancias que se pueden formar tanto en el alimento como en el propio organismo <sup>(1, 2)</sup>. La exposición a niveles elevados de concentraciones de estos aditivos origina graves riesgos para la salud humana, no sólo por la posible producción de metahemoglobinemia si no por el posible riesgo de cáncer <sup>(3, 4)</sup>, siendo los más susceptibles los niños de sufrir graves intoxicaciones, mas aún si presentan enfermedades inflamatorias gastrointestinales <sup>(5)</sup>.

En el último informe del comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios, se evaluaron los estudios epidemiológicos de las relaciones entre el consumo de nitritos y el riesgo de cáncer, señalándose que así como existen algunos estudios que indican un aumento del riesgo para cáncer esofágico y gástrico, también hay otros estudios que no revelan tal asociación, debido a que no proporcionan suficientes evidencias <sup>(6)</sup>.

La normativa nacional vigente dada por INDECOPI, sobre aditivos en productos cárnicos, limita las cantidades residuales de nitritos a 200 ppm y de nitratos a 500 ppm <sup>(7)</sup>; sin embargo el Codex Alimentarius establece que la dosis máxima calculada de nitritos, sobre el contenido neto total del producto final, es de 125 ppm <sup>(8)</sup>.

Diversos estudios reportan los resultados de los análisis del contenido de nitratos y nitritos en diferentes tipos de productos cárnicos. En un estudio realizado en Perú (1996), se encontraron niveles de nitritos considerados peligrosos para la salud humana en algunas muestras de embutidos provenientes de los mercados de Lima Metropolitana (342 ppm), superando los valores permitidos por el reglamento sanitario de alimentos <sup>(9)</sup>.

Otro estudio realizado en Estonia (2005), en muestras de productos cárnicos curados provenientes de mercados, afirma que no se encontraron valores mayores a los límites permitidos basado en su legislación y en los resultados de los cuestionarios, para estimar la ingesta de estos compuestos en niños y adolescentes, se observó que las fuentes principales de ingesta de nitrito fueron las salchichas cocidas <sup>(10)</sup>.

En el país, no se han reportado trabajos que evalúen las concentraciones de estos aditivos en embutidos consumidos por la población infantil, sobretodo si se conoce que en la actualidad existe en las instituciones educativas de Lima, una mayor preferencia

por el consumo de comida no saludable “chatarra” en los niños en edad escolar (81%), que comprende a los embutidos (destacándose el hot dog y la jamonada); esto es, debido a la fuerte influencia que ejerce la publicidad sobre la alimentación, que los induce a comer diversos productos sin tener en cuenta su valor nutricional <sup>(11)</sup>. En las instituciones educativas estatales, los lugares predominantes de consumo vienen a ser los kioscos y comedores, donde se expenden bajo la forma de panes con hot dogs, panchitos, salchipapas, etc.

Además; se sabe que la elaboración de los hot dogs, es muchas veces de tipo artesanal y/o informal, donde no se tiene un control de las concentraciones de estos aditivos y por otro lado, existe también un bajo control sanitario por parte de los municipios principalmente en los conos de Lima Metropolitana.

Es por ello que el propósito de este trabajo, consiste en determinar las concentraciones de nitritos y nitratos en los hot dogs, preparados para el consumo directo, que se expenden en las instituciones educativas estatales de Villa El Salvador. Así, como determinar el porcentaje y frecuencia de consumo de dichos hot dogs en estudiantes de quinto y sexto grado de educación primaria.



## ❖ **HIPÓTESIS**

Las concentraciones de nitritos y nitratos presentes en los hot dogs de consumo directo por estudiantes de 5° y 6° grado de educación primaria que se expenden en las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador, superan los límites máximos establecidos por el Codex Alimentarius e INDECOPI. Asimismo su porcentaje y frecuencia de consumo es elevado.

## ❖ **OBJETIVOS**

### **GENERAL:**

- Determinar las concentraciones de nitritos y nitratos presentes en los hot dogs de consumo directo que se expenden en las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador, su porcentaje y frecuencia de consumo en estudiantes de quinto y sexto grado de educación primaria.

### **ESPECÍFICOS:**

- Determinar la concentración de nitritos en los hot dogs de consumo directo que se expenden en las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador.
- Determinar la concentración de nitratos en los hot dogs de consumo directo que se expenden en las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador.
- Determinar el porcentaje y la frecuencia de consumo en estudiantes de quinto y sexto grado de educación primaria de las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador.

## **II.- GENERALIDADES**

### **2.1 PRODUCTOS Y DERIVADOS CÁRNICOS ELABORADOS**

Son los productos alimenticios preparados total o parcialmente con carnes, despojos, grasas y subproductos comestibles, procedentes de los animales de abasto u otras especies y, en su caso, ingredientes de origen vegetal o animal, así como condimentos, especias y aditivos, siempre que estén autorizados, ajustándose en su caso, a las normas específicas de calidad. Son los productos específicos de la industria cárnica de transformación, que para su elaboración acude a las tecnologías más variadas <sup>(12, 13, 14)</sup>.

De acuerdo con tales tecnologías y tratamientos, se pueden considerar los siguientes grupos <sup>(13)</sup>:

- 1.- Productos cárnicos frescos.
- 2.- Embutidos crudos curados.
- 3.- Salazones cárnicas
- 4.- Productos tratados por el calor.

#### **2.1.1 EMBUTIDOS**

Los embutidos son productos cárnicos elaborados a partir de carne y grasa con o sin otros productos o subproductos animales aptos para el consumo humano, adicionando o no aditivos alimentarios, especias y agregados de origen vegetal; a los cuales se les embute o no en tripas naturales o artificiales para proporcionar forma, aumentar la consistencia y para que se pueda someter el embutido a tratamientos posteriores <sup>(15)</sup>. De acuerdo con el tipo de materias primas utilizadas, su forma de preparación y la tecnología de elaboración se distinguen los embutidos en tres clases: crudos, escaldados y cocidos <sup>(16)</sup>.

### **2.1.1.1 CLASIFICACIÓN**

Los embutidos se clasifican de acuerdo a si reciben o no tratamiento térmico en <sup>(15)</sup>:

#### **SIN TRATAMIENTO TÉRMICO**

##### **EMBUTIDOS CRUDOS:**

Aquellos que en su procesamiento utilizan materias primas crudas, curadas o no y que no requieren de tratamiento térmico. El ahumado no está considerado dentro del proceso de tratamiento térmico, por tanto los embutidos crudos pueden ser ahumados o no <sup>(15)</sup>. Entre éstos figuran el chorizo, salame, cabanosi <sup>(17)</sup>.

#### **CON TRATAMIENTO TÉRMICO**

##### **1.-Antes de embutir o enmoldar:**

Aquellos embutidos que antes de embutir o enmoldar reciben un tratamiento térmico de escaldado y/o cocido <sup>(15)</sup>. La temperatura a la cual se someten se encuentra entre los 80 y 90 ° C. Entre lo más utilizados figuran el chicharrón de prensa, morcilla, queso de chanco y relleno <sup>(17)</sup>.

##### **2.-Después de embutir o enmoldar:**

Aquellos embutidos que después de embutir o enmoldar reciben un tratamiento térmico de escaldado y/o cocido entre, 75 ° C y 80 ° C <sup>(15)</sup>. Entre los más importantes figuran la jamonada, mortadela, salchicha tipo Frankfurt y salchicha tipo Viena o hot dog <sup>(17)</sup>.

### **2.1.2 SALCHICHA TIPO VIENA O HOT DOG:**

Las salchichas son embutidos cuya masa se hace con carnes rojas y/o blancas, y/o grasa, y/o pellejo de ave, y/o porcino, y/o vacuno, y/o equino, todo debidamente triturado, molido y mezclado, que además se le pueden agregar algunos aditivos alimentarios permitidos <sup>(16)</sup>. La masa es embutida en membrana artificial, cocida y eventualmente ahumada. Se presentan como salchichas de 12 cm. de largo y 2 cm. de ancho, con una masa homogénea picada y de color rosa pálido <sup>(18)</sup>.

#### **Composición <sup>(18, 19)</sup>:**

Ingredientes: carne de res, carne de cerdo, sal, azúcares, aromas, hierbas aromáticas, especias, condimentos, fermentos, agua, hielo, caldo, salmuera.

- sangre, hematíes, hemoglobina, en la cantidad estrictamente necesaria para reforzar la coloración.
- Estabilizantes: leche y derivados, clara de huevo, plasma, globina, proteínas vegetales no texturizadas, levaduras.

Aditivos: nitritos, nitratos, ácido ascórbico, ácidos orgánicos, acetatos, lactatos, polifosfatos, colorantes y potenciadores del sabor.

## **2.2 ADITIVOS ALIMENTARIOS**

Cualquier sustancia que, normalmente, no se consume como alimento en sí, ni tampoco se use como ingrediente básico en los alimentos, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición intencionada al alimento con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) en que el propio aditivo o sus subproductos, se conviertan en un componente del alimento o en un elemento que afecte a sus características <sup>(20, 21)</sup>. Esta definición no incluye “contaminantes” o sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales <sup>(21)</sup>.

### **2.2.1 JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ADITIVOS**

El uso de aditivos alimentarios está justificado únicamente si ello ofrece alguna ventaja, no presenta riesgos apreciables para la salud de los consumidores, no induce a error a éstos, y cumple una o más de las funciones tecnológicas establecidas por el Codex y los requisitos que se indican a continuación en los apartados a) a d), y únicamente cuando estos fines no pueden alcanzarse por otros medios que son factibles económica y tecnológicamente <sup>(15, 19, 20)</sup>.

- a) Conservar la calidad nutricional del alimento; una disminución intencionada en la calidad nutricional de un alimento estaría justificada en las circunstancias indicadas en el subpárrafo b) y también en otras circunstancias en las que el alimento no constituye un componente importante de una dieta normal.
- b) Proporcionar los ingredientes o constituyentes necesarios para los alimentos fabricados para grupos de consumidores que tienen necesidades dietéticas especiales.

c) Aumentar la calidad de conservación o la estabilidad de un alimento o mejorar sus propiedades organolépticas, a condición de que ello no altere la naturaleza, sustancia o calidad del alimento de forma que engañe al consumidor.

d) Proporcionar ayuda en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento del alimento, a condición de que el aditivo no se utilice para encubrir los efectos del empleo de materias primas defectuosas o de prácticas (incluidas las no higiénicas) o técnicas indeseables durante el curso de cualquiera de estas operaciones.

### **2.2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS**

El estudio de los aditivos ha sido abordado desde numerosos puntos de vista, en virtud de los cuales se han establecido diversos criterios para su clasificación, sin embargo para fines del presente trabajo se empleará la clasificación del Código Alimentario Español, el cuál los clasifica en cuatro grupos <sup>(20)</sup>:

#### **Sustancias que modifican los caracteres organolépticos.**

Aquellos que eliminen, proporcionen, mantengan o aviven el color, olor y sabor de los alimentos.

#### **Estabilizadores del aspecto y caracteres físicos.**

Los que permiten proporcionar un aspecto y consistencia adecuados a los alimentos (emulgentes, espesantes, espumantes, anti endurecedores, humectantes, etc.)

#### **Sustancias que impiden alteraciones químicas y biológicas.**

Son los antioxidantes y los agentes conservadores que se añaden a alimentos y bebidas.

#### **Correctores de los alimentos.**

Son aquellos aditivos que, formando parte o no de su composición final, se añaden en los procesos tecnológicos para modificar sus cualidades plásticas, para extraer, purificar o desnaturalizar los productos alimenticios. Ejemplos de correctores son los disolventes, neutralizadores, clarificadores, etc.

### 2.2.2.1 CONSERVADORES

En principio no deben emplearse los conservantes por comodidad, sino solamente cuando su uso esté indicado por fines sanitarios, técnicos o económicos. Es preferible una conservación por congelación, desecado o esterilización, seguidos de envasado en recipientes herméticos, que la adición de sustancias químicas; pero estos procedimientos no pueden emplearse con todos los alimentos. Los conservadores tienen sobretodo una acción antiséptica y bacteriostática <sup>(4)</sup> y de esa manera prolongan la vida útil de los productos alimenticios protegiéndolos frente al deterioro causado por microorganismos. Entre los conservadores figuran los nitratos y nitritos <sup>(20)</sup>.

## 2.3 NITRATOS Y NITRITOS

### a. Propiedades Químicas

El ión nitrato es la base conjugada del ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ). El ácido nítrico es un ácido fuerte ( $\text{pK}_a = -1.37$ ) que se disocia en el agua produciendo iones nitrato e iones hidroxonio ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ). Los nitratos son sales del ácido nítrico <sup>(22, 23, 24)</sup> de fórmula general  $\text{R-NO}_3$ , donde R es un radical monovalente <sup>(24)</sup>, los nitratos se disuelven fácilmente en agua, con la excepción de los nitratos básicos de mercurio y bismuto <sup>(22)</sup>. En contraste con su comportamiento en disolución ácida, los nitratos en medio básico son agentes oxidantes débiles. Los nitratos pueden ser descompuestos por el calor <sup>(23)</sup>.

El ión nitrito es la base conjugada del ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), un ácido débil ( $\text{pK}_a = 3.37$ ), que existe sólo en solución acuosa diluida fría dado que se descomponen fácilmente y producen agua y trióxido de dinitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) o ácido nítrico, óxido nítrico (NO) y agua <sup>(22)</sup>. Los nitritos son sales del ácido nitroso <sup>(22, 23, 24)</sup>, de fórmula general  $\text{R-NO}_2$  donde R es un radical monovalente <sup>(24)</sup>. Los nitritos de los metales alcalinos son solubles en agua, los de los metales alcalino-térreos son menos solubles y el nitrito de plata es insoluble <sup>(23)</sup>. Actúan como agente oxidante y reductor, son sensibles al calor y muy reactivos con la materia orgánica <sup>(23, 24)</sup>.

### b. Fuentes Alimentarias

La principal fuente dietética de nitritos son las carnes curadas donde representa hasta el 70% de la ingesta alimentaria total de esta sustancia, según el tipo y origen de carne curada consumido <sup>(1, 2)</sup> por otro lado los productos de origen vegetal (incluso las papas)

constituyen la principal fuente alimentaria de nitrato y suelen proporcionar más del 85% de la ingesta diaria en alimentación <sup>(1)</sup>. Las concentraciones de nitrato en esos productos varían mucho (de 1 a 10000 mg por kg), según la clase, la fuente y las condiciones de cultivo y almacenamiento. Las verduras foliáceas y algunos cultivos de raíz comestible (por ejemplo, remolacha y rábano) contienen a menudo concentraciones de nitrato superiores a 2500 mg por kg <sup>(1, 19)</sup>. Cuando se tiene en cuenta la conversión del nitrato en nitrito en el cuerpo humano, la mayor parte del nitrito al que están expuestas las poblaciones proviene de los productos de origen vegetal y menos del 10 % de las carnes curadas <sup>(1)</sup>.

### **c. Propiedades Analíticas**

El análisis separado de los nitratos y de los nitritos ofrece un gran interés en diversos productos, como los derivados cárnicos donde las concentraciones máximas de unos y otros están reglamentadas. Por otro lado, la creciente abundancia de nitratos de origen agrícola en nuestra alimentación, justifica las investigaciones analíticas que son objeto de estudio <sup>(25)</sup>.

#### **Métodos de determinación de Nitrato:**

Existe una gran variedad de métodos para la determinación de nitrato, pero ninguno es particularmente exacto o sensible en el rango de concentraciones de miligramos por litro. Tradicionalmente se han utilizado tres tipos de reacciones de los nitratos que forman compuestos coloreados, como base para su determinación espectrofotométrica. Estas reacciones son <sup>(23)</sup>:

- Nitración de un compuesto orgánico.
- Oxidación de un compuesto orgánico.
- Reducción del nitrato a nitrito o amoníaco.

Como ejemplo del primer tipo de reacción, se encuentra el método del ácido fenoldisulfónico, utilizado fundamentalmente para suelo y aguas. Se basa en la medición del color amarillo del ácido pícrico formado por la reacción entre los nitratos y el ácido fenoldisulfónico. El principal inconveniente del método es que los cloruros interfieren en concentraciones superiores a 10 mg/L, por lo que resulta necesaria su

eliminación previa. También se ha utilizado un método con ácido cromotrópico <sup>(23)</sup>.

Entre los métodos de oxidación se encuentra el de la brucina, con el cual el color desarrollado no obedece la ley de Beer y hay que realizar la calibración del equipo con frecuencia <sup>(23)</sup>.

La reducción de los nitratos a nitritos puede llevarse a cabo con la utilización de varios reactivos tales como cobre, zinc, sulfato de hidracina y cadmio en polvo o granulado. Estos agentes reductores no son lo suficientemente específicos y algunos provocan una reducción incompleta, o la posterior reducción de los nitritos a amoníaco. Ambos casos dan lugar a la obtención de concentraciones bajas de nitritos, lo que afecta la exactitud de los resultados. El método de reducción con hidracina ha sido empleado para la determinación de nitratos en aire en forma gaseosa y de partículas <sup>(23)</sup>.

De igual forma, la reducción de nitrato a amoníaco con zinc o alguna aleación tiende a ser incompleta a las concentraciones frecuentemente halladas en aguas. Se ha descrito la utilización de un método para análisis de aguas que utiliza cloruro de titanio como reductor y la determinación del amoníaco formado se realiza con un electrodo sensible al amoníaco gaseoso. En el caso de los análisis de nitrato en los alimentos, los métodos basados en la reducción a través de una columna que contiene cadmio metálico cuprizado son los más utilizados. Estos métodos conllevan una extracción con agua caliente, limpieza con agentes desproteinizantes tales como sulfato o acetato de zinc más ferrocianuro de sodio o potasio, posterior reducción del nitrato y determinación del nitrito con sulfanilamida y clorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina. El nitrato se calcula por la diferencia de concentraciones de la solución eluída y la no eluída a través de la columna. Esta última por separado constituye la concentración de nitritos, por lo cual el método tiene la ventaja de permitir el análisis de los dos compuestos simultáneamente y si se une a una variante automatizada, se obtiene una gran productividad <sup>(23)</sup>. Las determinaciones basadas en la absorción ultravioleta del nitrato proporcionan resultados exactos, así como una gran sensibilidad, si son eliminadas las interferencias. Este método se recomienda fundamentalmente para la pesquisa de nitratos en aguas no contaminadas, con un bajo contenido de materia orgánica y también se ha sugerido su uso para el análisis de nitratos en leche y suero de queso <sup>(23)</sup>.



También se puede determinar los nitratos por vía enzimática usando la nitrato reductasa de *E. coli* y un donador de electrones como el NADH, H<sup>+</sup>, el NADPH, H<sup>+</sup> o de naturaleza química; en este caso, la determinación proporciona la suma de los nitratos y nitritos. La cantidad de nitratos inicialmente presentes en la muestra, se obtiene por diferencia entre el contenido de nitritos totales, determinados después de la reducción, y los nitritos libres inicialmente presentes en la muestra <sup>(25)</sup>.

### **Métodos de determinación de Nitrito:**

En contraste con la determinación de nitrato, la de nitrito es altamente sensible y exacta. Los métodos se basan en una reacción con una amina primaria aromática en solución ácida para formar una sal de diazonio seguida de un acoplamiento con una segunda amina aromática que da un colorante azoico intenso. El método más utilizado es el la sulfanilamida y el clorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina <sup>(23, 25)</sup>.

A nivel de laboratorio se determina el nitrito residual, que es la cantidad analíticamente detectable en los productos curados, la cual puede ser un poco o considerablemente más baja que la cantidad añadida, de ahí que esta variable sea empleada para evaluar el uso del nitrito en el proceso del curado <sup>(26)</sup>.

En los últimos años se han desarrollado otros métodos que requieren el empleo de equipos más costosos, como son: la espectrometría de masa y dilución isotópica, la cromatografía iónica y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Estas dos últimas técnicas se han propuesto para el análisis de vegetales <sup>(23)</sup>.

### **2.3.1 EMPLEO DE LOS NITRATOS Y NITRITOS EN LOS PRODUCTOS CÁRNICOS**

La sal mezclada con nitrato de potasio fue empleada para la conservación de las carnes desde épocas remotas <sup>(19, 23, 24)</sup>. En el presente siglo se reconoció que la acción antimicrobiana se debía al ion nitrito, cuyo uso en proporciones de 0.4 a 0.6% de nitrito de sodio en la sal común como conservador de las carnes curadas está mucho más extendido <sup>(23, 27)</sup>. El empleo directo del nitrito en los productos cárnicos curados, tiene varias ventajas: rapidez de acción, puesto que no se necesita esperar a que las bacterias nitro-reductoras transformen en nitrito una parte de nitrato; mejor higiene, porque se

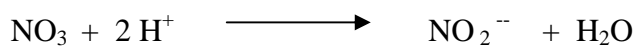
inhibe más rápido la proliferación de la flora bacteriana indeseable; posibilidad de regular con precisión la cantidad de nitrito añadido <sup>(27)</sup>. Mientras que el objetivo de emplear nitratos, actualmente en vías de desuso, es adicionar al producto una fuente de nitritos ya que la reducción por enzimas microbianas puede proporcionar una reserva de nitritos <sup>(23)</sup>.

El ión nitrito es altamente reactivo y un gran número de reacciones ocurren cuando se le adiciona al complejo sistema que es la carne. Se ha indicado que el nitrito en la carne se distribuye entre un 5 y 15% comprometido con la mioglobina, del 5 al 15% enlazado a grupos sulfhidrilos, del 1 al 5% reacciona con lípidos, entre el 1 y el 5% se pierde como gas (óxidos de nitrógeno), del 1 al 10% se oxida a nitrato, entre 20 y 30% se enlaza a la fracción proteica y entre 5 y 20% permanece como nitrito libre residual <sup>(23)</sup>.

### **Influencia sobre la formación del color**

La mayor parte de los productos cárnicos se tratan, para formar el color, con nitrato y/o nitrito. El nitrato no tiene ninguna incidencia sobre el color. Solamente es un precursor del nitrito <sup>(19)</sup>. El nitrato de potasio o de sodio se disocia en un medio rico en agua de constitución y el ión nitrato se reduce a ión nitrito bajo la influencia de nitrato-reductasas producidos por los microorganismos presentes de forma natural en la carne o añadidos en forma de cultivos iniciadores (llamados también starters) <sup>(19)</sup>.

Las características esenciales de las complejas series de reacciones se pueden resumir así <sup>(28)</sup>:



El nitrito ha oxidado el hierro de la mioglobina al estado férrico es decir, ha convertido la mioglobina (Mb) en metamioglobina (MMb).



El óxido nítrico resultante ha reaccionado con el hierro de la metamioglobina, para formar nitrosil metamioglobina (MMbNO).

La MMbNO se ha reducido, de inmediato, bajo la acción de los sistemas respiratorios del tejido muscular, a nitrosilmioglobina (MbNO). La distribución de electrones en torno al hierro de la MbNO es similar a la que se da en la oximioglobina (MbO<sub>2</sub>), de ahí las semejanzas en el color.

El compuesto nitrosilmioglobina es un pigmento inestable, responsable del color rojo brillante de los productos cárnicos curados antes de su calentamiento; tanto la parte proteínica de la mioglobina como el grupo hemo que contiene Fe<sup>+2</sup> permanecen intactos <sup>(24, 28, 29)</sup>.

Cuando se fríe o gratina el beicon y cuando el jamón se cuece, la nitrosilmioglobina se desnaturaliza y se forma un pigmento rosa brillante, comúnmente conocido como nitrosilhemocromógeno o nitrosilhemocromo <sup>(24, 28)</sup>.

La formación de óxido nítrico a partir de nitrito y la reacción de aquél con el pigmento muscular o con el de la sangre se ve afectada por factores como la temperatura, pH, oxígeno y sustancias reductoras. La cantidad mínima de nitrito necesaria, para la formación de color de curado en la carne y productos cárnicos y por tanto en embutidos escaldados es de 30 a 50 ppm (mg/kg) <sup>(29)</sup>.

### **Influencia sobre el sabor**

El sabor de una carne tratada con nitrato y/o con nitrito es totalmente diferente del sabor de una carne solamente salada <sup>(19, 29)</sup>. La utilización de nitrato en salazón lenta, por inmersión en salmuera o salado con sal seca, se acompaña de fenómenos enzimáticos de proteólisis y lipólisis que conducen a la formación de compuestos sápidos que no están en relación directa con la utilización del nitrato. Simplemente la obligación de dejar transformarse el nitrato en nitrito conduce a estas reacciones paralelas que no se producen cuando la salazón es rápida con nitrito <sup>(19)</sup>.

Por el contrario se ha demostrado que el nitrito tiene una acción específica sobre la formación del aroma característico de las salazones. Se forma de los compuestos sápidos todavía no identificados pero que son ciertamente o bien derivados nitratos o derivados nitrosados <sup>(19)</sup>.

## **Influencia sobre la microbiología**

El interés práctico de la conservación de alimentos con nitrito estriba en primer lugar en su acción contra los *Clostridium* y por lo tanto contra la formación de toxina botulínica (2, 19, 24, 29); también afecta el crecimiento de *Clostridium perfringens* y del *Staphylococcus aureus* (19).

La concentración de 80 a 160 mg/kg en la que normalmente se emplea el nitrito en la tecnología de las carnes no es suficiente para asegurar la inhibición de las bacterias. A menudo la combinación con sal común, que disminuye el valor de  $a_w$ , una disminución apropiada del pH, el potencial redox, la temperatura y la pobreza en gérmenes del material conservado llevan consigo una actividad suficiente para la práctica (29, 30).

La cuestión acerca de saber cual es la forma activa del nitrito, o de sus derivados, que influye sobre la microbiología de los productos cárnicos no ha sido dilucidada en todos sus detalles (2, 19, 30). Sin embargo existen varias hipótesis; una de ellas afirma que su acción se debe al ácido nitroso que desprenden y a los óxidos que se forman a partir de él, los cuales se unen a los grupos amino del sistema de deshidrogenasas de la célula microbiana, produciendo una inhibición. Existen no obstante otros puntos del metabolismo microbiano afectados por los nitritos que explican su acción inhibidora del crecimiento, por ejemplo reacciones con hemoproteínas, como citocromos y SH-enzimas (30).

Otros trabajos realizados sobre la influencia del nitrito en los productos cárnicos, coinciden en pensar en la intervención de derivados nitrados o nitrosados en su acción antibacteriana. Esta hipótesis parece confirmada por el efecto Perigo. Este efecto permite constatar que 30 mg de nitrito calentados en presencia de carne, tienen el mismo efecto bacteriostático sobre el *Clostridium botulinum* que 300 mg de nitrito no calentados (19). Entre las explicaciones propuestas de acuerdo con las investigaciones están la formación de compuestos a causa del calentamiento, entre el nitrito y sustancias contenidas en la carne, con una actividad bactericida muy superior a la del nitrito. Puede tratarse de nitrosotioles y otros productos de reacción del nitrito con compuestos azufrados y  $Fe^{+2}$ , del tipo de las sales de Roussin. Otra posibilidad discutida es la formación por el calor de S-nitrosocisteína, complejo de cisteína con  $Fe^{+2}$  y óxido nitroso (30).

## 2.4 ASPECTO LEGAL

### **NORMAS LEGALES DE EMPLEO DE NITRATOS Y NITRITOS.**

La necesidad de transmitir a los consumidores una sensación de seguridad en torno a la utilización de aditivos alimentarios y el deber de velar por su salud han sido dos razones decisivas que en su momento impulsaron la puesta en marcha de la normativa legal que regulara el empleo de estas sustancias.

#### **Antecedentes Históricos de la reglamentación sobre aditivos alimentarios**

En 1953, la Asamblea Mundial de la Salud, órgano rector de la OMS, declaró que la utilización cada vez más amplia de sustancias químicas en la industria alimentaria representaba un nuevo problema para la salud pública, y se propuso que las dos organizaciones llevaran a cabo los estudios pertinentes <sup>(20)</sup>.

Uno de esos estudios determinó que el uso de aditivos alimentarios constituía un factor esencial. Como resultado de ello, la FAO y la OMS convocaron en 1955 la primera Conferencia Mixta FAO/OMS sobre Aditivos Alimentarios. De esa conferencia surgió el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JEFCA) que, más de 40 años después de su creación, continúa reuniéndose periódicamente <sup>(20)</sup>.

El JEFCA, que es independiente de la Comisión del Codex Alimentarius (CAC), proporciona asesoramiento especializado a la comisión y a otros cuerpos del Codex en relación con aditivos alimentarios, contaminantes y residuos de medicamentos veterinarios, sus evaluaciones toxicológicas son objeto de publicación <sup>(20)</sup>.

El Codex Alimentarius es en esencia, un instrumento que sirve de medio para lograr la armonización de estándares de exigencia sanitaria de los alimentos a nivel internacional; con el objeto de contribuir a la protección de la salud de los consumidores, por un lado, y, así mismo, de establecer prácticas equitativas en el comercio alimentario internacional <sup>(31)</sup>.

Las concentraciones permitidas de nitrito en los alimentos curados varían de país a país y están comprendidas entre 10 y 200 ppm <sup>(2)</sup>. En casi todos los países se admite el nitrito para las salazones y la conservación de productos cárnicos, pero en algunos países se renuncia al empleo de nitratos debido a su imperfecta y no controlable conversión en nitritos y se prefiere la adición directa de nitritos <sup>(30)</sup>.

En nuestro país, la Norma Técnica Nacional vigente dada por INDECOPI, establece en relación al empleo de Nitrito sódico y de Nitrato sódico o potásico, como conservantes

y fijadores del color en las carnes y productos cárnicos lo siguiente: que se limita las cantidades residuales a no más de 200 partes por millón de nitrito de sodio en el producto cárnico terminado y a no más de 500 partes por millón de nitrato de sodio o potasio en el producto cárnico terminado <sup>(7)</sup>, por otro lado la Ley General de Salud cuenta con un Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de los Alimentos y Bebidas (Decreto Supremo N° 007-98-SA, Septiembre de 1998) el cual constituye un instrumento muy útil para la definición del marco de competencias intersectoriales y asimismo para la determinación de los parámetros legales a los cuales deben sujetarse la industria y el comercio en cuanto a higiene alimentaria <sup>(32)</sup>.

Sin embargo, cabe señalar que un conjunto de reglamentos complementarios a la norma referida todavía no se emiten, encontrándose en la etapa de elaboración y discusión, dentro de los cuales figuran los aditivos alimentarios permitidos y sus niveles máximos de concentración. En todo caso y tal como lo establece la Disposición Complementaria Cuarta del reglamento, en tanto no se expida la norma pertinente, la fabricación de alimentos y bebidas se rige por las normas internacionales del Codex Alimentarius aplicables al producto, y en lo no previsto por éste, se aplicará lo establecido por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica <sup>(31)</sup>.

Actualmente la Comisión del Codex Alimentarius sólo autoriza el uso del Nitrito de sodio y/o potasio para los productos cárnicos elaborados (carne tipo “Corned Beef”, carne “Luncheon”, jamón curado cocido, espaldilla de cerdo curada cocida, carne picada curada cocida) <sup>(8)</sup>. En relación a los nitratos, por el año 1981, éstos eran añadidos juntos con los nitritos como aditivos en determinados productos cárnicos como el “Jamón curado cocido” y la “Espaldilla de cerdo curada cocida” en concentraciones de 500 ppm <sup>(33)</sup>; pero en el año 1988, se decidió suprimirlos debido a que en la mayoría de países ya no se utilizaba como constituyente de la salmuera y el Codex asumió que la falta de nitratos no constituiría un problema en tanto se controlase el nitrito añadido <sup>(34)</sup>. La preferencia del uso directo de nitrito en los productos cárnicos se debe también a que éste actúa más rápidamente, es más seguro, y sus reacciones se pueden medir mejor <sup>(27, 29)</sup>. Las normas del Codex para los productos cárnicos elaborados establecen que la dosis máxima añadida de sales de nitrito de sodio y/o potasio es de 200 ppm, expresada en nitrito sódico y la dosis máxima calculada sobre el contenido neto total del producto final es de 125 ppm de nitrito expresados en nitrito sódico <sup>(8)</sup>.

En el ámbito de la Unión Europea, el contenido de nitratos y nitritos en alimentos se halla regulado por la Directiva 2006/52/CE, relativa a los aditivos alimentarios distintos de los edulcorantes, la cual enmienda la directiva anterior 95/2/CE. La nueva directiva incluye los niveles máximos de adición de nitratos y nitritos en los alimentos lo cual no estaba considerado en la directiva anterior. La dosis máxima de Nitrito de potasio y Nitrito de sodio (E-249, E-250) que puede añadirse durante la fabricación de productos cárnicos es 150 mg/kg mientras que para el Nitrato de sodio y Nitrato de potasio (E-251, E-252) es de 300 mg/kg. Por otro lado el nivel máximo residual de Nitrito de sodio y potasio es de 100 mg/kg y el nivel máximo residual de Nitrato de sodio y potasio es de 250 mg/kg <sup>(35, 36)</sup>.

En USA el Code of Federal Regulations Title 21CFR172.175 y el Title 21CFR172.170 establecen el uso de Nitrito de sodio y Nitrato de sodio respectivamente como conservante y fijador del color en las carnes y sus productos cárnicos (incluidas las aves de corral y de caza silvestre) que se limite la cantidad de nitrito de sodio a no más de 200 ppm en el producto terminado y la cantidad de nitrato de sodio a no más de 500 ppm en el producto final <sup>(37, 38)</sup>.

## **2.5 INGESTIÓN DIARIA ADMISIBLE (IDA) DE NITRATOS Y NITRITOS**

La ingestión diaria admisible es una estimación efectuada por el JEFCA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios) de la cantidad de aditivo alimentario, expresada en relación con el peso corporal, que una persona puede ingerir diariamente durante toda la vida sin riesgo apreciable para su salud. Se le expresa en mg por kg de peso corporal y por día <sup>(21)</sup>.

El Comité Conjunto de Expertos de FAO/OMS asignó en su 44<sup>a</sup> reunión una IDA de 0 a 0.06 mg de nitrito por kg de peso corporal, expresada como ion de nitrito. Esta IDA se aplica a todas las fuentes de ingesta. El nitrito no debe emplearse como aditivo de los alimentos para lactantes menores de tres meses <sup>(1)</sup>. Asimismo el comité en esta reunión decidió mantener la IDA de nitrato establecida previamente de 0 a 3.7 mg/kg de peso corporal, expresada como ion de nitrato; como el nitrato puede convertirse en nitrito en cantidades importantes y los lactantes menores de 3 meses son más vulnerables a la toxicidad del nitrito que los adultos, la IDA de nitrato no se aplica a esos niños <sup>(1)</sup>.

El cálculo de la IDA de nitritos se basa en los estudios de toxicidad del nitrito con el fin de determinar la concentración sin efectos observados (NNOEA) ésta fue de 5.4 mg de ion nitrito/kg de peso corporal/día obtenido en estudios de toxicidad de 90 días en ratas en las que se observó hipertrofia de la zona glomerular suprarrenal y de 6,7 mg de ion nitrito/kg de peso corporal en un estudio de toxicidad de dos años en ratas, en las que se observaron efectos tóxicos en el corazón y en los pulmones y un factor de inocuidad de 100<sup>(1)</sup>.

Como la toxicidad del nitrato se produce por su conversión en nitrito y la posible formación endógena de compuestos N-nitrosos, entonces el comité examinó los estudios de toxicidad del nitrato en animales de laboratorio y los del nitrito junto con los datos de conversión de nitrato en nitrito para realizar el cálculo de la IDA de nitratos. Ésta se calcula a partir de la concentración sin efectos observados de 370 mg diarios de ion nitrato por kg de peso corporal en el estudio de toxicidad en ratas a largo plazo y un factor de inocuidad de 100 y sobre la base de la concentración sin efectos observados de 160 mg diarios por kg de peso corporal para las personas con una tasa de conversión del 5 % (mol/mol)<sup>(1)</sup>.

Los informes de la ingesta media de nitrato en la alimentación en varios países citan una cantidad de 31 a 409 mg diarios por persona. La ingesta alimentaria de nitrato de ciertas poblaciones asiáticas, de las vegetarianas y de las expuestas a altas concentraciones de nitrato en el agua potable (> 50 mg/l) suele ser de más de 220 mg diarios<sup>(1)</sup>. Mientras que en Europa, el comité científico para la alimentación estima que el consumo medio de nitrato varía de 52 a 156 mg por día, aportando las legumbres del 70 al 90% y en el caso del nitrito el aporte proveniente de los productos cárnicos es de 0.7 a 4.2 mg por día<sup>(19)</sup>. La reducción oral del nitrato segregado en la saliva por las bacterias de la boca contribuye también a la exposición total al nitrito, calculándose en 8.6 mg de nitrito a la ingesta diaria total de 11.2 mg procedentes de la dieta<sup>(1, 2, 19)</sup>.

Actualmente se realizan trabajos con el fin de evaluar el riesgo a la salud del consumidor por el consumo de estos conservadores, principalmente nitrito de sodio, mediante la estimación de la ingesta diaria potencial de nitrito en productos cárnicos de mayor consumo en niños y adolescentes concluyéndose que cuando la frecuencia de consumo es alta si constituye un riesgo para la salud<sup>(10, 39, 40)</sup>.



## 2.6 ASPECTOS SANITARIOS

### 2.6.1 TOXICOCINÉTICA DE LOS NITRATOS Y NITRITOS

#### **Absorción, distribución y eliminación:**

Todavía en el año 1994, no se tenía un conocimiento cabal del metabolismo tanto del nitrato como del nitrito, que permita disponer de un modelo farmacocinético completo, ya que no se ha estudiado a profundidad su metabolismo en el hombre y los resultados obtenidos de experimentos con animales no resultan fidedignos al ser extrapolados a los humanos. Hasta ese entonces lo que se sabía de su absorción, distribución, metabolismo y eliminación era lo siguiente <sup>(23)</sup>:

De los nitratos ingeridos, una fracción es absorbida mediante transporte activo en la parte superior del intestino delgado y otra puede ser biotransformada por la microflora en el conducto gastrointestinal. Los nitritos se absorben por difusión a través de la mucosa gástrica y la pared intestinal <sup>(23)</sup>.

El 25 % de los nitratos absorbidos es parcialmente reciclado a nivel de las glándulas salivares, las que concentran el ión nitrato a partir del plasma. El nitrato excretado en la saliva humana puede ser reducido a nitrito en la boca <sup>(23, 41)</sup>, su rango de conversión es de 5-7% para los individuos normales y 20% para los individuos con una alta tasa de conversión <sup>(1)</sup>. Entonces la reducción oral del nitrato constituye la principal fuente de nitrito para los seres humanos y la mayoría de especies que tienen un mecanismo secretor salival activo <sup>(41)</sup>.

La transformación de nitratos a nitritos se efectúa por la acción de una enzima, la nitrato reductasa, que está presente en las plantas (como parte integrante de su metabolismo) y en las bacterias, pero totalmente ausente en los tejidos animales. Estas bacterias están justamente presentes en la flora de la cavidad bucal, con pH comprendido entre 6 y 6,4; favorable a la reacción. Muchas especies de microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal tienen también actividad nitrato reductasa, pero esta reducción a nitritos sólo es posible cuando coexisten condiciones patológicas tales como aclorhidria gástrica o algunas enteritis graves que ocasionan el desarrollo de una flora nitrogenada muy activa, con el consiguiente incremento de las concentraciones de nitrito gástrico <sup>(23)</sup>.

Se ha reportado que ambos iones son completamente absorbidos en los 10 minutos

posteriores a la administración de 10 a 100 mg/kg a ratones. Similares resultados fueron obtenidos con la administración de nitratos a ratas <sup>(23)</sup>.

Los nitratos y nitritos son rápidamente distribuidos a través de los tejidos. Una rápida y homogénea distribución del nitrato fue observada en ratas entre 45 y 60 minutos después de ser administrado por sonda. No existen evidencias que demuestren que los nitratos o los nitritos se bioacumulen en algún tejido <sup>(23)</sup>.

Los nitratos no son directamente biotransformados a otros compuestos en humanos, mas bien ocurre alguna conversión metabólica del nitrato que aparece en la orina en forma de urea y amoníaco de aproximadamente 3% de la dosis ingerida <sup>(41)</sup>.

Los nitratos absorbidos son rápidamente excretados por los riñones, por ejemplo en un estudio con ratas, entre el 42 y 90% de nitratos administrados por sonda gástrica, se excretó en la orina dentro de las ocho horas de administración <sup>(23)</sup>. También en los seres humanos, el nitrato se excreta rápidamente en la orina en un porcentaje cercano al 65-70 %, después de la absorción y el equilibrio en los fluidos corporales. Ésta excreción será máxima alrededor de las 5 h después de su administración y completa luego de 18 horas, con un tiempo de vida media de eliminación de aproximadamente 5 horas <sup>(41)</sup>.

Recientemente en el año 2002 el comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios revisaron los nuevos trabajos sobre toxicocinética de nitritos y nitratos, realizados tanto en seres humanos como en animales de experimentación.

Uno de dichos estudios de toxicocinética de nitrito realizado en humanos voluntarios que recibieron dosis orales bajas y altas de nitrito de sodio en agua de bebida (0.06 y 0,12 mmol/mmol de hemoglobina respectivamente), demostró la rápida absorción gastrointestinal de nitrito de sodio, con concentraciones máximas de nitrito de sodio observadas 15 a 30 minutos después de la administración. El nitrito desapareció rápidamente del plasma, con un tiempo de vida media de eliminación de aproximadamente 30 minutos. La biodisponibilidad de nitrito de sodio es de 73-120 % después de la dosis oral alta y 70-110 % después de una dosis oral baja <sup>(42)</sup>.

Una dosis intravenosa de nitrito de sodio al 0.12 mmol/mmol de hemoglobina, que equivale a 290-380 mg por persona induce metahemoglobinemia, con porcentajes máximos de 8.4 – 12 % <sup>(6, 42)</sup>.

Para el caso del nitrato, los pocos nuevos estudios sobre la toxicocinética y el metabolismo de los nitratos en los animales que han surgido desde la cuadragésima cuarta reunión del comité mixto FAO/OMS de expertos en Aditivos Alimentarios, realizada en el año 1995, confirman que la rata no es una buena especie sustituta para los seres humanos, ya que no muestra el transporte salival de nitrato, por lo que limita la conversión del nitrato en nitrito <sup>(6)</sup>.

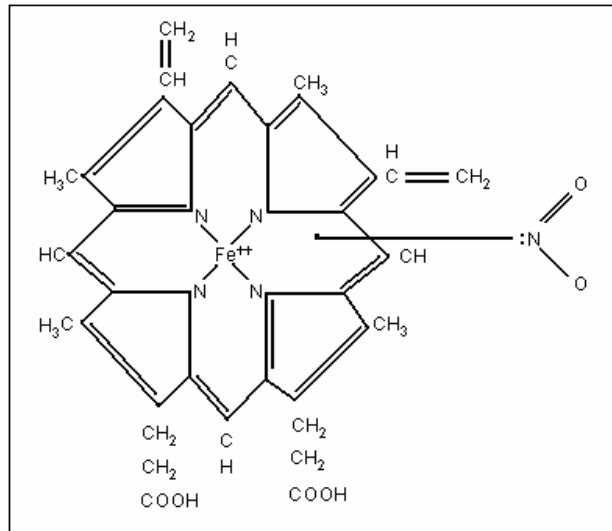
En un estudio de conversión del nitrato en nitrito en seres humanos, en el que se administró nitrato de sodio en el agua de bebida en una dosis única de 7,3 mg/kg de peso corporal, expresado como ion nitrato, no se vieron afectadas ni la presión sanguínea, ni la concentración de metahemoglobina, sin embargo la concentración de nitrito del jugo gástrico fue de aproximadamente seis veces más alta después de la administración de nitrato combinado con un tratamiento previo con omeprazol de 40 mg/día (que aumentó el pH gástrico) que después de ser administrado sólo (sin omeprazol). El nitrato fue absorbido rápidamente, la concentración en el plasma aumentó en los 10 minutos, y la vida media de nitrato en plasma fue de alrededor de 6,5 h. La concentración plasmática de nitritos no cambió después de la administración oral de nitratos <sup>(6, 41)</sup>.

Cerca del 70% de la dosis fue excretada en la orina luego de 10 h de su administración. La excreción salival acumulativa de nitrato de más de 24 horas, expresado como un porcentaje de la dosis de nitrato ingerido, fue de 28 % y alrededor del 8% del total de nitrato administrado oralmente se convierte en nitrito en la saliva <sup>(6, 41)</sup>.

## **2.6.2 TOXICODINÁMICA DE LOS NITRATOS Y NITRITOS**

Los estudios epidemiológicos y clínicos en el hombre han demostrado que la principal manifestación tóxica derivada de la ingestión de nitritos e indirectamente de nitratos, es la metahemoglobinemia <sup>(23, 41, 42)</sup>.

El nitrito absorbido reacciona con la hemoglobina ( $Hb^{2+}$ ) para formar metahemoglobina ( $Hb^{3+}$ ). La metahemoglobina (metaHb) es la hemoglobina cuyo átomo de hierro ha sido oxidado del estado ferroso al férrico, perdiendo la capacidad de fijar el oxígeno necesario para la respiración tisular <sup>(23)</sup>. (Figura 1).



**Figura 1: Acción de nitrito sobre la hemoglobina**

Existen varios mecanismos que contrarrestan la oxidación de la hemoglobina, de ellos el más importante es el enzimático, llevado a cabo por dos enzimas: la más importante, la NADH deshidrogenasa I metahemoglobina reductasa (diaforasa) o enzima de Kiese y la NADH deshidrogenasa II, la cual constituye un componente de importancia secundaria. Ambas enzimas requieren la formación de NADH en el ciclo glucolítico <sup>(23)</sup>.



El mecanismo de reducción no enzimático es realizado por sustancias normalmente presentes en la sangre, como el glutatión y el ácido ascórbico. Este mecanismo resulta importante cuando es excedida la capacidad del mecanismo enzimático <sup>(23)</sup>.

El proceso de formación y reducción de la metahemoglobina en los eritrocitos de los individuos sanos es de carácter continuo. Se puede considerar que el contenido medio de metahemoglobina en poblaciones sanas es inferior al 2 % de la concentración de hemoglobina total, pero se observan valores más elevados en los niños prematuros que en los nacidos a término y en los lactantes más que en los niños mayores y los adultos.

En general, los síntomas relacionados con esta enfermedad son similares a los asociados con una anemia funcional y la asfixia, pudiendo llegar a ocasionar la muerte. El signo clínico característico de la metahemoglobinemia es la cianosis que no mejora con el suministro de oxígeno, acompañado de un color achocolatado de la sangre <sup>(23)</sup>.

A partir de concentraciones de aproximadamente 10 % de metahemoglobina la cianosis pasa a ser perceptible, en tanto que a los niveles de 20-50 % ésta se presenta en forma manifiesta, acompañada de síntomas y signos hipóxicos, como debilidad, disnea de esfuerzo, cefalalgia, taquicardia y pérdida del conocimiento. Aunque no se conoce la concentración letal de metahemoglobina se sabe que puede ocurrir la muerte a niveles superiores al 50 %. El cuadro clínico puede ser agravado por el efecto vasodilatador causado a su vez por los nitritos <sup>(23)</sup>.

Cowly, en 1945, fue el primero en observar la relación entre los niveles elevados de metahemoglobinemia en lactantes y el consumo de aguas con concentraciones de nitratos de 388 y 619 mg/L, señalando la toxicidad de los mismos <sup>(23)</sup>.

En los diferentes estudios reportados, más del 80 % de los casos estaban asociados al consumo de aguas contaminadas, con concentraciones superiores a 100 mg de nitrato por litro. En diversos casos además, se había utilizado agua de pozo que contenía elevadas concentraciones de nitrato (superiores a 90 mg/L) para reconstituir la leche en polvo para lactantes, donde el riesgo se incrementa ya que si el agua es sometida a ebullición se produce una concentración del nitrato presente. En otros casos, los niños habían sido alimentados con puré de espinaca o zumo de zanahoria. Algunos casos, no obstante, han estado vinculados con el consumo de agua que contenía menos de 50 mg/L de nitrato <sup>(23)</sup>.

Algunos factores tales como la coexistencia de enfermedades diarreicas agudas, la deficiencia enzimática de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, déficit nutricionales o la existencia de hemoglobinopatías, pueden elevar el riesgo de metahemoglobinemia o agravar la evolución de la enfermedad <sup>(13)</sup>.

Los lactantes menores de tres meses de edad constituyen el grupo más vulnerable, ya que en ellos coexisten determinados factores que influyen en esta susceptibilidad entre estos factores están <sup>(23)</sup>:

1. La menor acidez gástrica, lo que permite el desarrollo de microorganismos reductores de nitratos a nitritos.
2. La presencia de hemoglobina fetal, que es más susceptible a la conversión a metahemoglobina por acción de los nitritos.

3. El déficit relativo del sistema enzimático reductor de la metahemoglobina. (metahemoglobina reductasa).

4. Una ingestión de agua por peso corporal relativamente mayor que en el adulto.

Los adultos, al parecer, no se ven directamente perjudicados por la exposición a las concentraciones habitualmente existentes de nitratos y nitritos en el ambiente <sup>(23)</sup>.

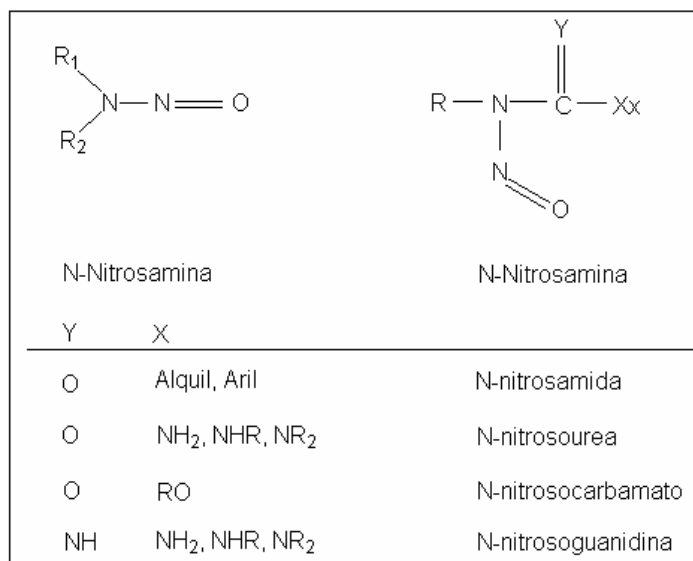
En las embarazadas los niveles de metahemoglobina en sangre oscilan entre 0,5 y 2,5 % de la hemoglobina total, hasta un máximo de 10,5 % en la trigésima semana, con una declinación posterior a valores normales antes del parto <sup>(23)</sup>.

Los riesgos para la salud no sólo están vinculados con la concentración ambiental de nitratos, sino también con la presencia o ausencia de condiciones favorables a su reducción a nitritos, y con factores inherentes al susceptible; por lo que no resulta posible formular una relación dosis-respuesta con respecto a la exposición a nitratos a través del agua o los alimentos <sup>(23)</sup>.

Lo anterior se ve respaldado por los diversos estudios que han sido evaluados por el Comité en su última reunión <sup>(6)</sup>. Algunos de estos estudios mostraron una asociación entre una elevada concentración de nitratos en el agua potable y metahemoglobinemia, y otros estudios indicaron que las infecciones gastrointestinales, la inflamación y la producción resultante de un exceso de óxido nítrico son los factores más importantes en la metahemoglobinemia infantil. También se han reportado algunos casos de metahemoglobinemia luego de la alta ingesta accidental de nitrito, la mayoría corresponden a incidentes de intoxicación pero no ofrecen datos para evaluar la seguridad de su empleo <sup>(41, 42)</sup>.

## **2.7 COMPUESTOS DE N-NITROSO.**

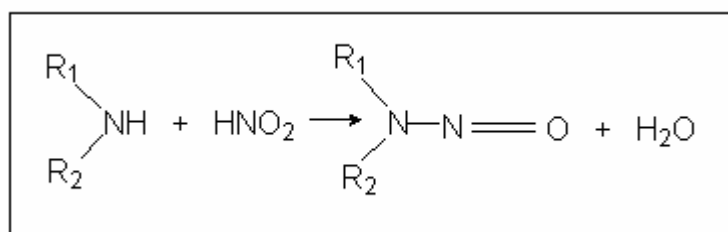
Los compuestos de N-nitroso se encuentran entre los tóxicos, mutágenos y cancerígenos químicos más peligrosos a los que el hombre está expuesto. Éstos se dividen en nitrosaminas y nitrosamidas. Los compuestos de N-nitroso se caracterizan por la presencia del grupo nitroso (N=O) unido al átomo de nitrógeno secundario y tienen la estructura general que se muestra en la figura 2 <sup>(23)</sup>.



**Figura 2: Estructura general de los compuestos de N-nitroso.**

La propiedad química más significativa de los compuestos de N-nitroso es la facilidad de su síntesis a partir de sus precursores. Estos precursores pueden ser <sup>(23, 43)</sup>:

- Sustratos nitrosables:** Como las amidas, aminas secundarias, aminas terciarias, aminas aromáticas, compuestos de amonio, carbamatos, cianamidas, guanidinas, hidracinas, hidroxilaminas, úreas.
- Agentes nitrosantes:** Como los óxidos de nitrógeno (NO, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> o N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), nitritos, nitrosaminas. El óxido nítrico (NO) parece ser un pobre agente nitrosante ya que es incapaz de abstraer un átomo de hidrógeno del grupo amino para generar un radical dialquilamonio que se combine con NO.



**Figura 3: Síntesis de los compuestos de N-Nitroso**

Los sustratos nitrosables reaccionan con facilidad con los agentes nitrosantes para formar compuestos N-Nitroso estables, como se muestra en la figura 3. La velocidad de la reacción de nitrosación depende en gran medida del pH y de la naturaleza de los precursores. Las nitrosamidas -como las N-alquilureas y los N-alquilcarbamatos- y las aminas secundarias de carácter básico débil son nitrosadas mucho más fácilmente que las N-alquilamidas y aminas secundarias fuertemente básicas como la dimetilamina. Estas últimas muestran un pH óptimo para la nitrosación de 3 a 3,4; mientras que para las amidas este es aún más ácido (aproximadamente pH de 1) <sup>(23)</sup>. La presencia de otras sustancias influye sobre la capacidad y velocidad de nitrosación; los iones tiocianato, haluros y el formaldehído aceleran la reacción, mientras que el ácido ascórbico, el gálico y los sulfitos muestran un efecto parcialmente inhibitor <sup>(23, 43)</sup>.

En general, la nitrosación puede ocurrir en condiciones ácidas, alcalinas o neutras dependiendo de los reactivos y los catalizadores presentes <sup>(43)</sup>.

Sin embargo, la nitrosación a partir de nitritos sólo ocurre en medio ácido, lo cual tiene particular relevancia para la formación de compuestos de N-nitroso en el estómago, pero se han indicado mecanismos que explican su formación en condiciones neutras e incluso alcalinas, particularmente a partir de dióxido de nitrógeno. Desde edades tempranas, a causa de la ingestión de nitritos y nitratos, puede ocurrir una formación sistemática de compuestos de N-nitroso en el estómago, aunque no necesariamente elevada. El pH ácido del estómago favorece la formación de las nitrosaminas, la cual depende también de la concentración de las aminas nitrosables y del cuadrado de la concentración de nitrito <sup>(23)</sup>.

La cantidad de compuestos de N-nitroso formados en el estómago puede ser superior para individuos que presentan aclorhidria, ya que se incrementa la presencia y actividad de la microflora bacteriana que a pH ácido no puede proliferar. Algunas bacterias son productoras de enzimas nitrato reductasas, capaces de reducir cantidades considerables del nitrato ingerido que no sufrió cambios en la boca y con ello provocar una biosíntesis de compuestos de N-nitroso significativamente mayor en el estómago.

Aun con el incremento del nitrito disponible, si el medio gástrico no es ácido, no tiene necesariamente que favorecerse la nitrosación; sin embargo, a pH neutro actúa un mecanismo diferente a la catálisis ácida. La catálisis bacteriana



puede ser provocada por bacterias desnitrificantes, como la *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria spp.*, *Alcaligenes faecalis* y *Bacillus licheniformis*, y no desnitrificantes, como la *E. coli*, capaces de incrementar la biosíntesis de los compuestos de N-nitroso en el estómago. Lo más importante es que el 30% de las cepas bacterianas del estómago aclorhídrico y el 90% de las del tracto urinario infestado, poseen enzimas nitrosantes <sup>(23)</sup>.

De esta forma, es comprensible que no sólo en el estómago tenga lugar la biosíntesis de los compuestos de N-nitroso. También ocurre en otras localizaciones infestadas por microorganismos, como el tracto urinario (Esquistosomiasis), el hígado, en el cual la infección con el parásito *Opisthorchis viverrini*, incrementa la formación de compuestos de N-nitroso, probablemente catalizada por macrófagos activos, y en la cavidad nasal, donde el virus Epstein-Barr parece jugar un papel importante <sup>(23)</sup>.

Dentro de los N-nitrosocompuestos las nitrosaminas constituyen el grupo más numeroso y más estudiado de sustancias <sup>(3)</sup>.

### 2.7.1 NITROSAMINAS

La exposición de humanos a las nitrosaminas puede ser de dos maneras <sup>(43)</sup>:

#### **a. Exposición externa o exógena:**

Es la exposición del individuo a las nitrosaminas presentes en el ambiente. Esto ocurre principalmente por dos vías:

- Por hábitos de vida:

El humo del cigarrillo, algunas drogas, alimentos ricos en aminas y otros compuestos nitrosables como los productos cárnicos, pescados, queso, cerveza figuran entre los más importantes, alimentos tratados con pesticidas, artículos fabricados de caucho y productos cosméticos.

- Por exposición ocupacional:

Industrias química, farmacéutica, minera, del caucho, del metal, cuero y pesquera, pesticidas, detergentes.

#### **b. Exposición interna o endógena:**

Es la exposición del individuo a un compuesto químico susceptible de sufrir nitrosación. Esto se presenta de dos maneras:

- Por adquisición del precursor:

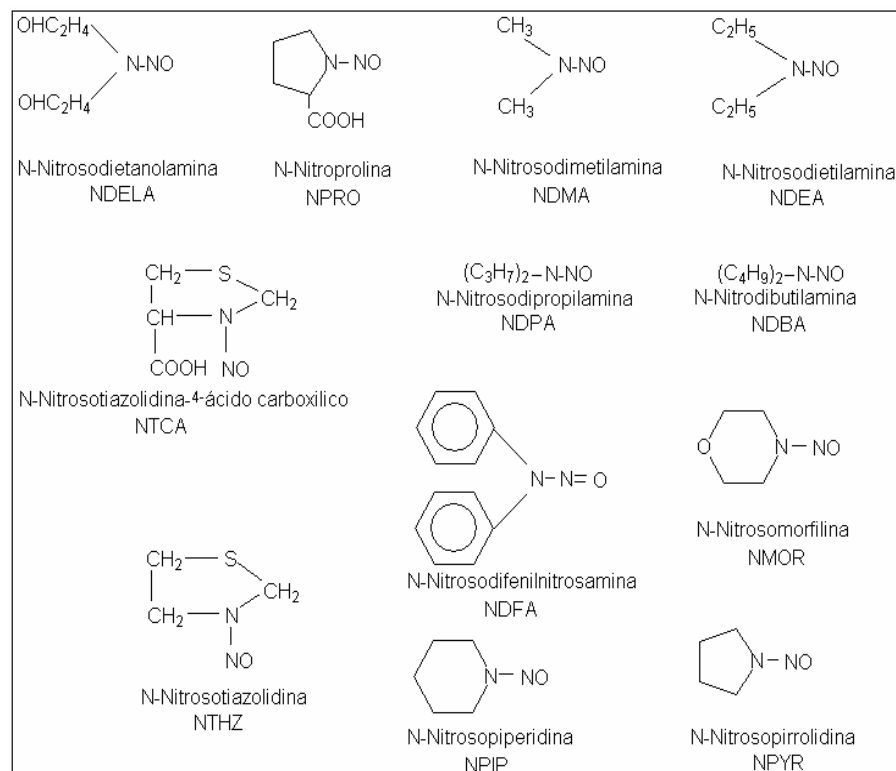
Ingestión, absorción cutánea o inhalación de nitrito, gases nitrosos (NO<sub>2</sub>) y compuestos amino nitrosables.

- Por formación del precursor:

Formación de nitrito a partir de nitrato presente en jugos gástricos o en la saliva.

La cantidad y variedad de compuestos nitrosables que ingresan al organismo es enorme, particularmente a través de los alimentos y medicamentos, por lo que la ingestión de nitrito juega un papel determinante en la extensión de la nitrosación. Sin embargo, a partir de la administración intragástrica de nitratos esta es sumamente baja <sup>(23)</sup>.

Es muy difícil decidir si la exposición por la formación endógena de los compuestos de N-nitroso tiene una mayor magnitud que la exposición a los compuestos formados previamente en diversos medios externos, pero se estima que al menos la exposición oral endógena a las nitrosaminas es no menos de diez veces superior a su exposición exógena <sup>(23)</sup>. Algunas Nitrosaminas Importantes se presentan en la figura 4.



**Figura 4: Ejemplos de nitrosaminas importantes.**

### 2.7.1.1 FORMACIÓN DE NITROSAMINAS EN LOS ALIMENTOS

La formación de nitrosaminas tiene lugar en un determinado grupo de alimentos, en especial los ricos en aminas y otros compuestos nitrosables. En condiciones de pH ácido el ión nitrito puede “protonarse” formando ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ). El anhídrido de este ácido,  $\text{N}_2\text{O}_3$ , que se encuentra en equilibrio con él, puede nitrosar una serie de compuestos, especialmente a las aminas secundarias ( $\text{R}_2\text{NH}$ ) y terciarias ( $\text{R}_3\text{N}$ ) <sup>(2, 3, 24)</sup>. En general el pH óptimo para la reacción se sitúa entre 2,5 y 3,5 <sup>(3)</sup>.

Los factores condicionantes que más influyen son la presencia y concentración de nitritos o nitratos y la participación de los óxidos de nitrógeno en procesos de elaboración y conservación, como es el secado con aire que ha sido calentado especialmente con llama directa, o en procesos de cocción con llama de gas, particularmente el freír o asar los alimentos. Estos factores frecuentemente aparecen combinados <sup>(1, 23)</sup>.

Como es de esperar, los productos curados con nitritos están entre los alimentos más susceptibles a la formación de compuestos de N-nitroso, encontrándose las concentraciones mayores en las carnes curadas que se han sometido a un calentamiento relativamente alto <sup>(2, 4, 23)</sup> (figura 5).

Los productos cárnicos y pesqueros contienen una gran variedad de aminas nitrosables que pueden reaccionar con el nitrito adicionado, dando lugar a la formación de compuestos de N-nitroso. De éstos los detectados más frecuentemente son las N-Nitrosodimetilamina (NDMA), N-Nitrosodietilamina (NDELA), N-Nitrosopirrolidina (NPYR) y N-nitrosotiazolidina (NTHZ) <sup>(23, 24)</sup>.

Carne	Nitrosamina	Concentración (pp millardo)
Embutidos ahumados	Dimetilnitrosamina	<6
	Dietilnitrosamina	<6
Salchichas Frankfurt	Dimetilnitrosamina	11-84
Salami	Dimetilnitrosamina	1-4
Bacón frito	Dimetilnitrosamina	1-40
	Nitrosoprolina	1-40

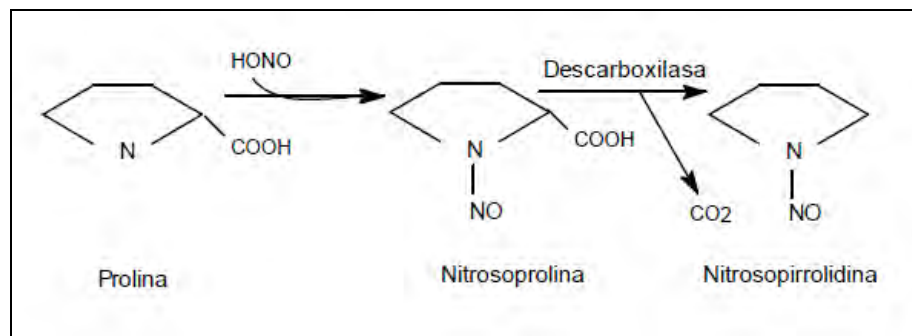
**Figura 5: Contenido de nitrosaminas en carnes curadas típicas**

Algunos mecanismos que probablemente originan la formación de estos compuestos de N-nitroso en los productos cárnicos curados son <sup>(23)</sup>:

a) NDMA: reacción del ion nitrito con la dimetilamina presente en la carne y la formada como consecuencia de la descarboxilación de la creatinina, introducción del grupo nitroso en la molécula de la sarcosina también presente y descarboxilación de la N-nitrososarcosina.

b) NPYR: nitrosación del aminoácido prolina presente y descarboxilación de la N-Nitrosoprolina (NPRO) sintetizada, para dar lugar a la NPYR al freír el producto (figura 6).

c) NTHZ: reacción del formaldehído producido durante el proceso de ahumado con la cisteína o cisteamina lo cual determina la formación de la tiazolidina o su ácido 4-carboxílico, los que son nitrosados por el nitrito y los óxidos de nitrógeno, particularmente al freír el producto.



**Figura 6: Formación de NPYR en productos cárnicos curados**

En el caso particular del tocino, el producto cárnico curado en el que más consistentemente se sintetizan nitrosaminas, sobre todo la NPYR (N-Nitrosopirrolidina), el contenido inicial de nitrito, que disminuye sustancialmente después del curado, no tiene tanta influencia en la extensión de la nitrosación como la acción de freír. Esto se explica por el hecho de que este producto se suele freír drásticamente hasta la eliminación del agua, la cual actúa como un inhibidor parcial de la nitrosación, y porque la porción grasa frita acumula gran parte de las nitrosaminas volátiles que no se eliminan con el vapor en la magnitud que desaparecen en otros productos cárnicos con menor proporción de grasa y que no suelen freírse tan drásticamente <sup>(2, 23)</sup>.

### 2.7.1.2 TOXICOCINÉTICA DE LAS NITROSAMINAS

#### Absorción, biotransformación y eliminación.

Las nitrosaminas se absorben a través de la piel, aunque con menor rapidez y en un porcentaje más bajo que por el tracto gastrointestinal (particularmente por el intestino) y muy poco a través del estómago. La vejiga también es muy permeable al paso de las nitrosaminas. Tras su absorción, las nitrosaminas se distribuyen por el torrente circulatorio. De la sangre desaparecen prácticamente a las ocho horas.

Los compuestos de N-nitroso no se bioacumulan. Las nitrosaminas sufren biotransformación en el organismo (figura 7) <sup>(23)</sup>.

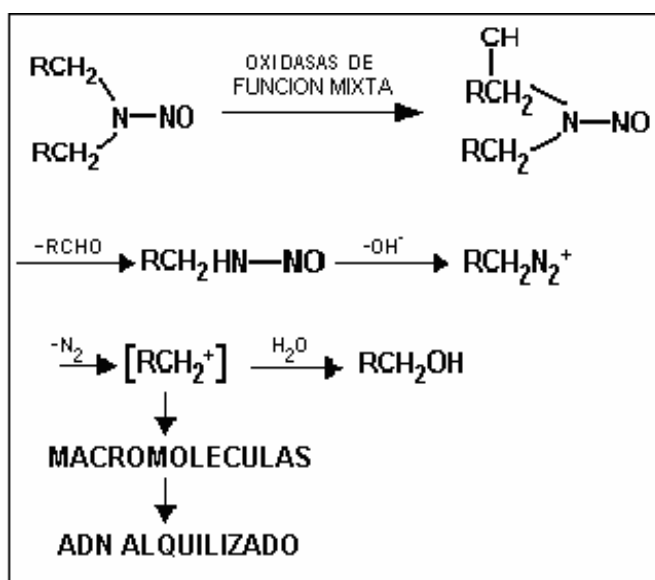


Figura 7. Metabolismo oxidativo de las nitrosaminas.

La activación metabólica de las nitrosaminas juega un papel determinante en sus efectos biológicos y para la salud. La principal vía para la activación metabólica es la acción de las enzimas microsomales hepáticas vinculadas a la acción del citocromo P-450 que determinan un metabolismo  $\delta$  oxidativo. Los productos de la  $\delta$  oxidación involucran una  $\alpha$  hidroxilación y al final son fundamentalmente: formaldehído, dióxido de carbono, alcoholes, nitrógeno y bases nitrogenadas del ADN alquiladas <sup>(23)</sup>.

Las nitrosaminas se excretan antes de las 24 horas, en forma de metabolitos y aductos, fundamentalmente por la orina, aunque se ha indicado su presencia en leche

humana y en las heces en pequeñísimas concentraciones. Los porcentajes de excreción de la mayoría de los compuestos de N-nitroso a través de la orina de por sí son muy bajos. Los nitrosoaminoácidos que se excretan prácticamente intactos y la NDELA (N-Nitrosodietanolamina) que se excreta casi en un 90 % como tal, constituyen excepciones <sup>(23)</sup>.

### 2.7.1.3 TOXICODINÁMICA DE LAS NITROSAMINAS

La toxicidad aguda de los compuestos de N-nitroso varía mucho de acuerdo al tipo de compuesto y a la susceptibilidad de la especie sobre la cual actúan. Dosis de sólo 0,1 mg/kg de peso corporal pueden provocar en el ganado vacuno efectos hepatotóxicos graves. En ratas la DL<sub>50</sub> para la NDMA (N-Nitrosodimetilamina) es de 27 a 41 mg/kg de peso corporal <sup>(23)</sup>. En el jugo gástrico de los animales de experimentación y en el de los humanos que han ingerido dietas que contienen aminas y nitrito se han encontrado dos nitrosaminas, la dietilnitrosamina (NDELA) y la dimetilnitrosamina (NDMA) <sup>(2)</sup>.

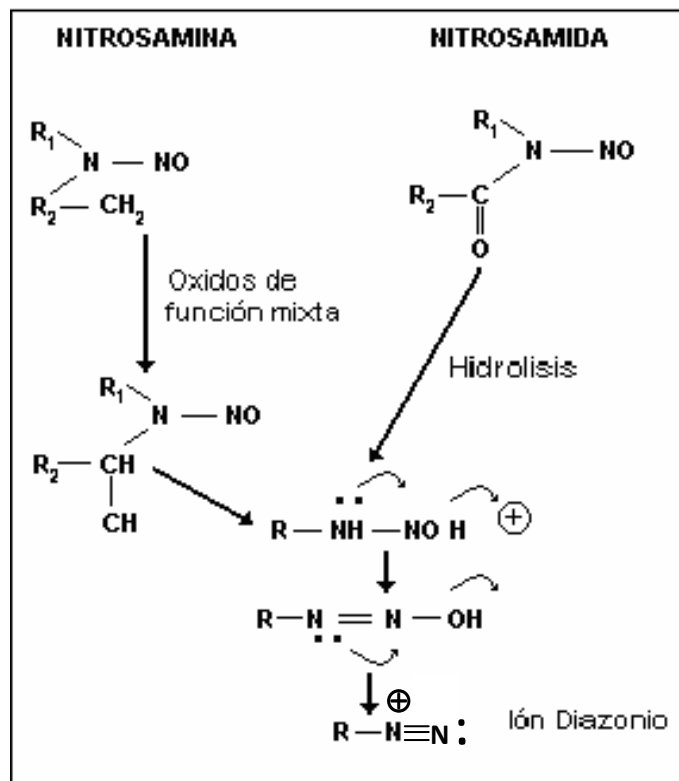
Los efectos agudos de la NDMA sobre el hígado se caracterizan por un incremento en la actividad de la enzima transaminasa glutámico pirúvica sérica, y por cambios microscópicos indicativos de necrosis centrolobular, que se acompañan con ascitis, proliferación de los conductos biliares y hemorragia del tracto gastrointestinal. Estos efectos se han observado mediante la administración de NDMA, o de nitrito, con dimetilamina o con aminopirina.

La NMOR (N-nitrosomorfilina) también es un hepatotóxico que se manifiesta por el incremento de la actividad de las transaminasas y necrosis grave, pero también produce alteraciones neurotóxicas al igual que la NPIP (N-nitrosopiperidina). La administración de ácido ascórbico disminuye la formación *in vivo* de NMOR y otras nitrosaminas y con ello la hepatotoxicidad inducida por ellas.

En el hombre, los efectos tóxicos de estas nitrosaminas se han manifestado como cirrosis y otros daños hepáticos en algunos trabajadores expuestos ocupacionalmente. Pero, a no ser por motivo de accidente, no es muy probable la intoxicación aguda debido a las relativamente altas dosis que se requieren.

En cuanto a la toxicidad crónica, se considera que el principal efecto es la

carcinogénesis, para la cual no se requieren dosis tan altas. De hecho constituye la preocupación central por la exposición a los compuestos de N-nitroso. Muchos autores consideran que estos compuestos son mutágenos y que ejercen sus efectos cancerígenos a través de la formación de iones diazonio electrofílicos, capaces de promover la alquilación del ADN (Figura 8) <sup>(23)</sup>.



**Figura 8. Formación de productos electrofílicos por la degradación de los compuestos de N-nitroso.**





Después del descubrimiento de las propiedades carcinogénicas de la NDMA, se ha demostrado que más de 200 compuestos de N-nitroso son cancerígenos en alrededor de 40 especies animales. El grado de susceptibilidad varía con la especie y se observa cierta especificidad en la localización de los tumores de acuerdo al compuesto de N-nitroso o sus precursores administrados. La literatura es extremadamente rica en trabajos que demuestran la carcinogenicidad de los compuestos de N-nitroso en animales de experimentación. No hay motivo para pensar que el hombre sea una excepción ya que la potencia cancerígena de estos compuestos es tan elevada que las dosis efectivas son bajas y cercanas a las que el hombre está habitualmente expuesto <sup>(23)</sup>.

Las nitrosaminas son muy organoespecíficas en sus acciones cancerígenas; por ejemplo, la dimetilnitrosamina es un cancerígeno hepático activo con cierta actividad renal y la bencilmetilnitrosamina es específica del esófago. Ésta órgano-especificidad se debe, al menos en parte al metabolismo del sitio específico (figura 10) <sup>(2, 23)</sup>.

Sitios de aparición de tumores debidos a compuestos N-nitrosos.	
Sitio	Compuesto
Piel	Metilnitrosourea
Nariz	Dietilnitrosamina
Seno nasal	Dimetilnitrosamina
Lengua	Nitrosohexametileneimina
Esófago	Nitrosoheptametileneimina
Estómago	Etilbutilnitrosamina
Duodeno	Metilnitrosourea
Colon	Cicasina
Pulmón	Dietilnitrosamina
Bronquios	Dietilnitrosamina
Hígado	Dimetilnitrosamina
Páncreas	Nitrosometiluretano
Riñón	Dimetilnitrosamina
Vejiga de la orina	Dibutilnitrosamina
Cerebro	Metilnitrosourea
Cuerda espinal	Nitrosotrimetilurea
Timo	Nitrosobutilurea
Gánglios linfáticos	Etilnitrosourea
Vasos sanguíneos	Nitrosomorfolina

**Figura 10: Lugar de aparición de tumores debido a compuestos N-nitrosos.**

Diversos factores dietéticos modulan la respuesta carcinogénica de los compuestos de N-nitroso. La deficiencia en zinc y vitamina A, y el consumo concomitante de alcohol incrementan los efectos <sup>(23)</sup>.

Por otro lado, los compuestos de N-nitroso pueden actuar transplacentariamente, y hasta dos generaciones después de la administración del cancerígeno pueden encontrarse incrementos significativos del desarrollo de tumores <sup>(23)</sup>.

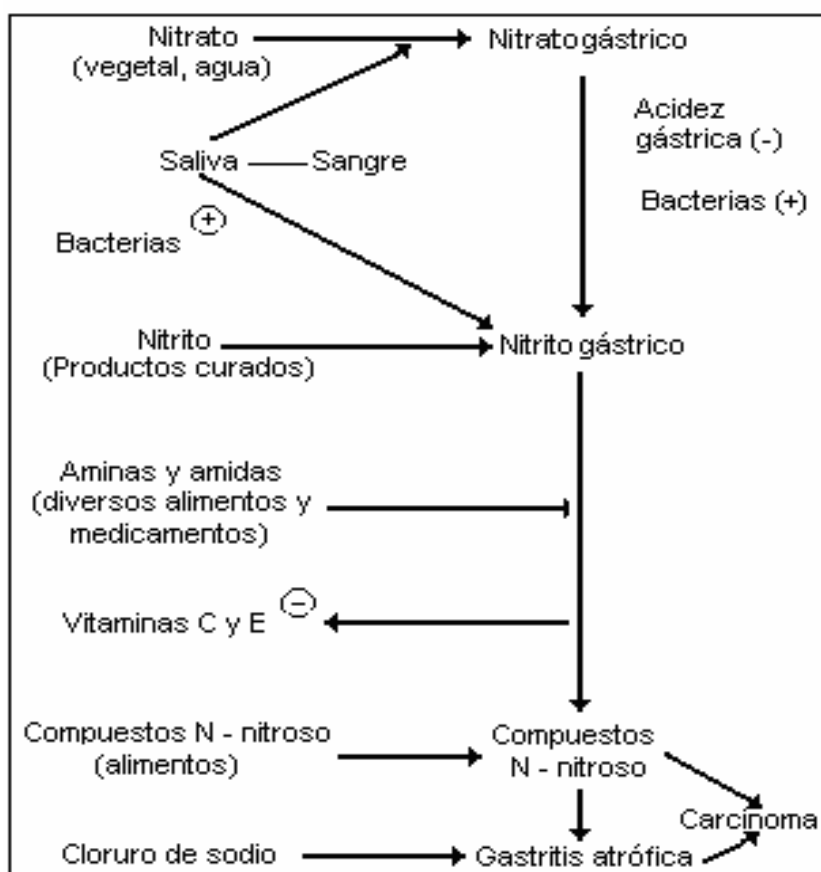
Todavía no se ha establecido rigurosamente una asociación causal entre el cáncer y la exposición a los compuestos de N-nitroso o sus precursores para el hombre, lo cual puede deberse a que metodológicamente es difícil separar el posible efecto de estos compuestos con el de otros factores causales <sup>(23)</sup>. Existen, sin embargo, muchas evidencias que apuntan hacia dicha asociación <sup>(6, 44, 45, 46)</sup>.

La formación endógena de compuestos de N-nitroso se vincula epidemiológicamente al cáncer del estómago y del tracto urinario <sup>(23)</sup>. La hipótesis etiológica del cáncer gástrico postulada por Correa en 1975 involucra la ingestión de nitratos y nitritos y la formación *in vivo* de los compuestos de N-nitroso. También incluye el consumo de sal como factor irritante de la mucosa gástrica y la acidez del estómago, mientras que la ingestión de inhibidores de la nitrosación, particularmente vitaminas antioxidantes, tiene un efecto protector (figura 11) <sup>(23)</sup>.

Un estudio epidemiológico realizado en 1985 por Risch en Canadá, confirma en parte esta hipótesis. El consumo de nitritos a través de los productos alimenticios curados mostró asociación causal, se confirmó el efecto protector de la vitamina C y la ingestión de nitratos reflejó un aumento del riesgo. Aunque no sean pruebas de asociación causal, las correlaciones positivas entre la ingestión de nitratos y la mortalidad por cáncer del estómago en muchos países, también apoyan esta hipótesis <sup>(23)</sup>.

El papel que juega la acidez del estómago, ya discutido, se corrobora en el hecho de que los pacientes de ciertas enfermedades como anemia perniciosa y gastritis atrófica, así como los sometidos a diferentes operaciones quirúrgicas como gastrectomía parcial, presentan aclorhidria estomacal, mayores niveles de compuestos de N-nitroso y de nitritos en el contenido gástrico y una mayor predisposición a enfermar de este tipo de cáncer <sup>(23)</sup>.

Con independencia de la influencia de la ingestión de nitrosaminas volátiles a través de los alimentos de ciertas regiones de China, se observan correlaciones positivas entre la biosíntesis de compuestos de N-nitroso y la mortalidad por cáncer del esófago. También se pudo observar en el esófago de este tipo de pacientes, un incremento en la metilación de la guanidina en la posición 6 que sugiere el resultado del mecanismo de acción sobre el ADN de los compuestos de N-nitroso<sup>(23)</sup>.



**Figura 11. Hipótesis etiológica del cáncer gástrico vinculada a los compuestos de N-nitroso.**

## 2.8 COMERCIALIZACIÓN DE EMBUTIDOS EN EL PAIS

En nuestro país, la producción de embutidos y derivados cárnicos ha mostrado un interesante dinamismo en los últimos años, especialmente de aquellos productos que integran en mayor medida la canasta familiar. Según estadísticas difundidas por el Ministerio de Agricultura (Minag), la jamonada y el hot dog son los embutidos de mayor producción en el Perú dentro del rubro de embutidos y carnes preparadas <sup>(47)</sup>, debido, tal vez, a sus menores precios respecto a las otras líneas de productos, y también por hábito de consumo. En el 2006 la producción de embutidos y carnes preparadas creció 14%, concentrándose básicamente en la elaboración de hot dog y jamonada, productos que representaron el 58.5% de la producción doméstica <sup>(48)</sup>. Mientras que en el año 2005, la industria nacional de embutidos produjo 12,920 toneladas de hot dog, volumen que significó un incremento de 1.4 por ciento con respecto a lo producido en 2004 <sup>(49)</sup>.

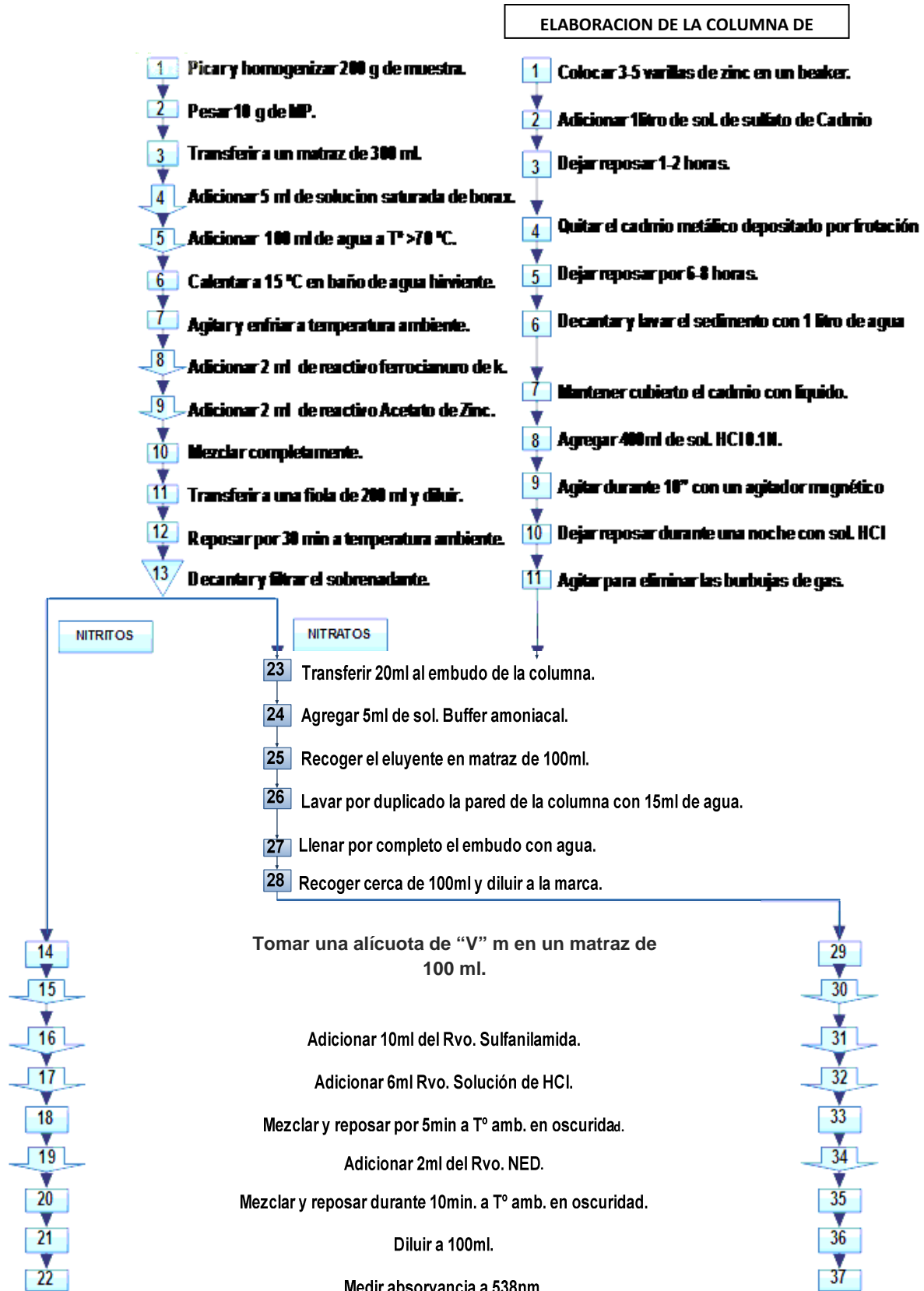
No obstante, el consumo per cápita de embutidos en el Perú, 1.5 kg. se mantiene por debajo de los niveles de la región, mientras que otros países como Chile consume 14 kg por persona; Colombia, compra 3 kg.; Ecuador gasta 4kg y Argentina consume 7 kg <sup>(48)</sup>. Las preferencias de los consumidores peruanos por productos embutidos también se han incrementado a lo largo de los últimos años, mostrando una mayor preferencia por el hot dog y la jamonada <sup>(48,49)</sup>, los cuales se han vuelto una costumbre no sólo en el desayuno, sino también en la cocina peruana, como sustituto de la carne, ya que la ama de casa se ingenia mil formas de economizar el gasto diario del hogar.

En un estudio del mercado de carne de res y productos lácteos en Lima Metropolitana realizado en el año 2002 en cuanto al consumo de embutidos en los estratos sociales, se observó que el hot dog se encuentra liderando con un 64.0%; luego la Jamonada con un 43.0% y el Jamón con 30.5% <sup>(50)</sup>.

# **PARTE EXPERIMENTAL**

# DIAGRAMA DE FLUJO EN LA DETERMINACIÓN DE NITRITOS Y NITRATOS.

Según la Normas ISO 2918:2006 e ISO 3091:2005



### **III.- MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 TOMA DE MUESTRA.**

Las muestras de hot dog fueron recolectadas de forma aleatoria de los kioscos y cafeterías de las 23 instituciones educativas estatales previamente seleccionadas, durante los meses de Setiembre hasta Noviembre del 2008. Se tomó un total de 23 muestras de hot dog listos para su consumo directo con un peso aproximado de 200 gramos (equivale a 5 panes con hot dog), luego los hot dogs se colocaron en frascos de vidrio limpios cerrados de forma hermética.

Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio de Toxicología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.M.S.M. en un cooler con refrigerante, para su posterior análisis según el diagrama de flujo de la determinación de nitratos y nitritos.

Paralelamente se realizó una encuesta de consumo semanal, a los alumnos de 5° y 6° grado de las 23 instituciones educativas estatales, con el fin de determinar el porcentaje y frecuencia de consumo de los hot dogs, escogiendo al azahar un salón de 5° grado y un salón de 6° grado, de los cuales se encuestaron a 17 alumnos por salón, es decir un total 34 alumnos por colegio.

#### **3.2.- MATERIALES Y EQUIPOS**

##### **Materiales:**

- Matraz o frasco Erlenmeyer de 250mL o 300 mL.
- Pipetas volumétricas de 5 mL, 10mL, 20mL y 25 mL de acuerdo a la alícuota del filtrado.
- Pipetas graduadas de 2 mL, 10 mL
- Papel filtro de 15cm de diámetro libre de nitratos y nitritos.
- Beaker 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL.
- Matraces volumétricos (aforados) de 100 mL, 200 mL, y 1000 mL.
- Matraz kitazato de 250 mL.

- Embudo de Buchner
- Probeta.
- Embudo estriado de tallo corto.
- Frascos reactivos.
- Tubos de ensayo.
- Mangueras.
- Soporte universal.
- Pinzas de bureta.
- Pinzas de mohr.
- Piseta.
- Espátula.
- Gradilla.

**Equipos:**

- Licuadora marca Óster.
- Baño María.
- Espectrofotómetro Spectronic 21 – G Bauch & Lomb con celdas de 1cm de longitud de trayectoria óptica.
- Balanza analítica marca OHAUS, modelo AP1105 con sensibilidad de 0,0001g.
- Potenciómetro (Medidor de pH).
- Equipo de vidrio para la reducción de nitratos.
- Bomba de vacío de alta presión, marca Arthur Preiffer, modelo MP1/62.
- Cocinilla eléctrica.



### 3.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE NITRITOS

Para la determinación cuantitativa de los nitritos se empleó el método de la Norma Técnica Peruana (NTP) ISO 2918:2006 <sup>(51)</sup> el cuál es un método de análisis recomendado por el Codex Alimentarius (NORMA ISO/DIS 2918).

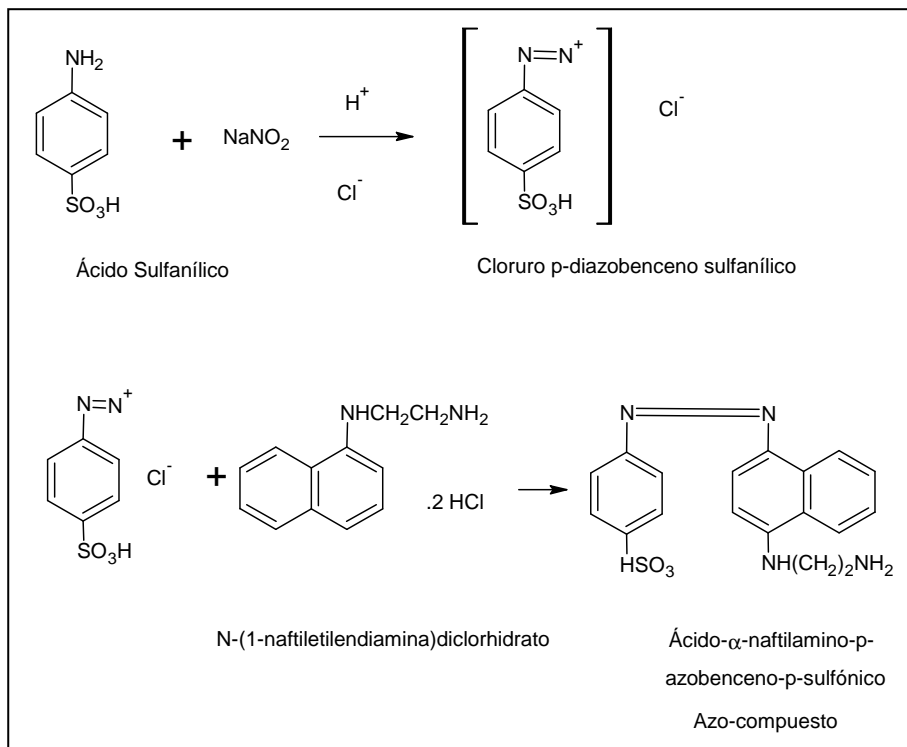
### 3.4 MÉTODO DE REFERENCIA NTP ISO 2918:2006

**Contenido de nitrito en carne y productos cárnicos:** Son los nitritos, determinados bajo las condiciones operativas aquí descritas y expresados como nitrito de sodio, generalmente en miligramos por kilogramo de muestra (partes por millón o ppm).

#### FUNDAMENTO:

La muestra homogeneizada se extrae en caliente con agua y bórax, se precipita las proteínas con ferrocianuro de zinc y se filtra. En presencia de nitrito, se desarrolla una coloración roja por adición de clorhidrato de sulfanilamida y clorhidrato de N-1 naftiletilendiamina (NED) al filtrado (reacción de Griess); luego se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 538 nm.

#### REACCIÓN QUÍMICA



## **REACTIVOS:**

Deben ser de calidad analítica. El agua usada debe ser agua destilada o por lo menos, agua de pureza equivalente, asimismo debe estar exenta de materiales en suspensión y materias orgánicas.

### **A. Soluciones para precipitación de proteínas.**

#### **Reactivo I**

Disolver 106 g de ferrocianuro de potasio trihidratado en agua y diluir a 1000 mL.

#### **Reactivo II**

Disolver 220 g de acetato de zinc dihidratado en agua, se agrega 30 mL de ácido acético glacial y diluir a 1000 mL.

### **B. Solución saturada de Bórax.**

Disolver 50 g de tetraborato disódico decahidratado en 1000 mL de agua tibia y enfriar a temperatura ambiente.

### **C. Solución estándar de nitrito de sodio.**

Disolver 1,000 g de nitrito de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) en agua y diluir a 100 mL a la marca en un matraz volumétrico. Pipetear 5 mL de la solución en un matraz volumétrico de 1000 mL. Diluir a la marca.

Preparar una serie de soluciones estándares a partir de esta solución, pipeteando 5 mL, 10 mL y 20 mL a un matraz volumétrico de 100 mL y diluir a la marca con agua. Estas soluciones estándares deben contener respectivamente, 2,5 ug; 5,0 ug y 10,0 ug de nitrito de sodio por mililitro.

Las soluciones estándares y la solución diluida del nitrito de sodio (0.05g/L) a partir de las cuales éstas son preparadas deben ser hechas el mismo día de uso.

## **D. Soluciones necesarias para el desarrollo del color.**

### **Solución I**

Pesar 2 g de sulfanilamida y agregar 800 mL de agua, calentar en baño de agua hasta disolución total. Enfriar, filtrar si es necesario y agregar, con agitación continua 100 mL de solución de ácido clorhídrico concentrado (Densidad  $_{20\text{ °C}} = 1,19\text{ g/mL}$ ). Diluir a 1000 mL con agua.

### **Solución II**

Disolver 0,25 g de N-1 naftiletilendiamina (NED) dihidroclorhídrica en agua. Diluir a 250 mL con agua.

### **Solución III**

Diluir 445 mL de solución de ácido clorhídrico concentrado (Densidad  $_{20\text{ °C}} = 1,19\text{ g/mL}$ ) a 1000 mL con agua.

Almacenar las soluciones en botellas de color ámbar y tapar bien. Se deberá mantener en refrigeración, por no más de una semana.

## **PROCEDIMIENTO:**

### **Preparación de la muestra para el ensayo.**

Homogeneizar la muestra pasándola como mínimo dos veces por la licuadora y mezclar bien la masa obtenida. Guardarla en un envase cerrado herméticamente y bajo refrigeración. Analizar la muestra de ensayo tan pronto como sea posible, pero siempre dentro de las 24 horas.

### **Porción de ensayo:**

Pesar 10 g de la muestra de ensayo con una aproximación de 0,001 g.

## **DESPROTEINIZACIÓN:**

- Transferir la porción de ensayo cuantitativamente a un matraz erlenmeyer de 300 mL y adicionar sucesivamente 5 mL de solución saturada de bórax y 100 mL de agua a una temperatura no menor a 70 °C.

- Calentar el matraz por 15 minutos en baño de agua hirviente y agitar repetidamente.
- Dejar enfriar el matraz y su contenido a temperatura ambiente y adicionar sucesivamente 2 mL del reactivo I y 2 mL del reactivo II. Mezclar completamente después de cada adición.
- Transferir el contenido a un matraz volumétrico de 200 mL, diluir a la marca con agua y mezclar. Dejar en reposo por 30 min. a temperatura ambiente.
- Decantar cuidadosamente el líquido sobrenadante y filtrar a través del papel de filtro a fin de obtener una solución clara.

Nota: Si se desea determinar el contenido de nitratos y nitritos en la muestra, puede usarse el filtrado desproteinizado para ambos.

**MEDIDA DE COLOR:**

- a) Transferir por medio de una pipeta una parte alícuota no mayor de 25 mL de filtrado anterior a un matraz volumétrico de 100 mL, registrar “v”. Agregar agua hasta obtener un volumen de 60 mL.
- b) Adicionar 10 mL de la solución I, seguida por 6 mL de la solución III mezclar y dejar la solución por 5 min. a temperatura ambiente en la oscuridad.
- c) Adicionar 2 mL de la solución II mezclar y dejar la solución de 3 a 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Diluir a la marca con agua.
- d) Medir la absorbancia de la solución en una celda de 1 cm. usando un espectrofotómetro a una longitud de 538 nm. aproximadamente, registrar “c”.

NOTA: Si la cantidad de nitrito de la solución excede de 10 µg/mL, repetir la operación descrita anteriormente en (medida de color), reduciendo la cantidad de filtrado pipeteado en (a). Se efectúa la determinación por duplicado, con la misma solución libre de proteínas.

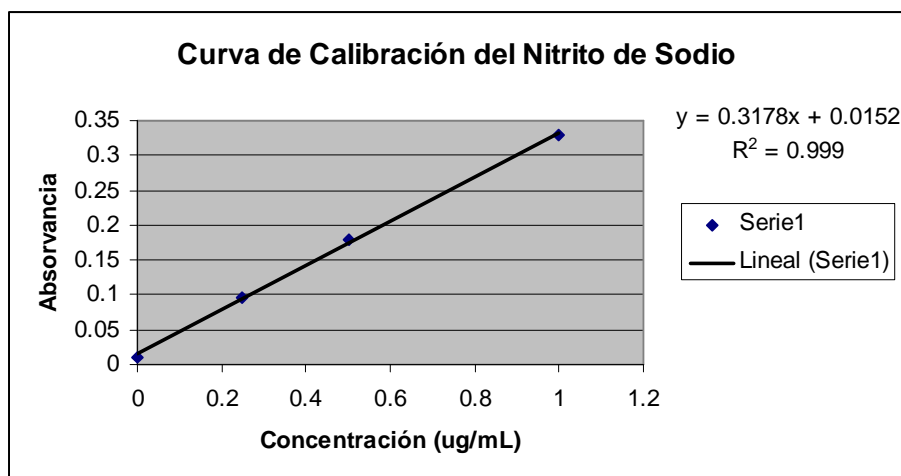
## CURVA DE CALIBRACIÓN:

- Pipetear en 4 matraces volumétricos de 100 mL, 10 mL de agua y 10 mL de cada una de las tres soluciones estándares de nitrito de sodio conteniendo respectivamente 2,5; 5,0 y 10,0 ug de nitrito por mL.
- Adicionar agua a cada matraz volumétrico para obtener un volumen de 60 mL aproximadamente y proceder como se describe anteriormente en la medida del color (b, c, d).

### Lectura de las Absorvancias de las soluciones estándares de Nitrito de sodio.

Solución estándar Nitrito de Sodio	Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorvancia
Blanco	0	0,011
Solución estándar 1	0,25	0,097
Solución estándar 2	0,5	0,179
Solución estándar 3	1,0	0,330

- Graficar la curva de calibración plotando las absorvancias medidas versus las concentraciones de la solución estándar, en microgramos por mililitro.
- Luego de hacer el cálculo de regresión lineal se tiene la siguiente gráfica de la curva de calibración:



## **EXPRESIÓN DE RESULTADOS**

### **Método de cálculo y fórmula**

Expresada como miligramos de nitrito de sodio por kilogramo usando la fórmula:

$$NaNO_2 = \frac{Cx20000}{MxV}$$

**M** = masa, en gramos, de la porción de ensayo.

**V** = volumen, en mililitros, de la porción alícuota del filtrado (véase a).

**C** = concentración de nitrito de sodio, en microgramos por mililitro, leída de la curva de calibración, que corresponde a la absorbancia de la solución preparada de la porción de ensayo (véase d).

Tomar como resultado el promedio aritmético de las dos determinaciones, asegurarse que los requerimientos para repetibilidad sean satisfechos.

### **Repetibilidad:**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones llevadas a cabo simultáneamente en rápida sucesión por el mismo analista no debe ser mayor a 10 % del valor promedio.

### **3.5.-DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE NITRATOS.**

Para la determinación cuantitativa de los nitratos se empleó el método de la Norma Técnica Peruana ISO 3091:2005 <sup>(52)</sup>, el cuál es recomendado por el Codex Alimentarius (NORMA ISO/DIS 3091).

#### **MÉTODO DE REFERENCIA NTP ISO 3091:2005**

**Contenido de nitratos:** Son los nitratos, determinados bajo las condiciones operativas aquí descritas y expresadas como nitrato de potasio, generalmente en miligramos por kilogramo de muestra (partes por millón o ppm).

#### **FUNDAMENTO:**

En otra alícuota del filtrado desproteinizado, obtenido en la determinación de nitritos (véase ésta) se reducen con cadmio metálico, los nitratos a nitritos y se determina el total de nitritos.

#### **REACTIVOS:** (fuera de los descritos en nitritos)

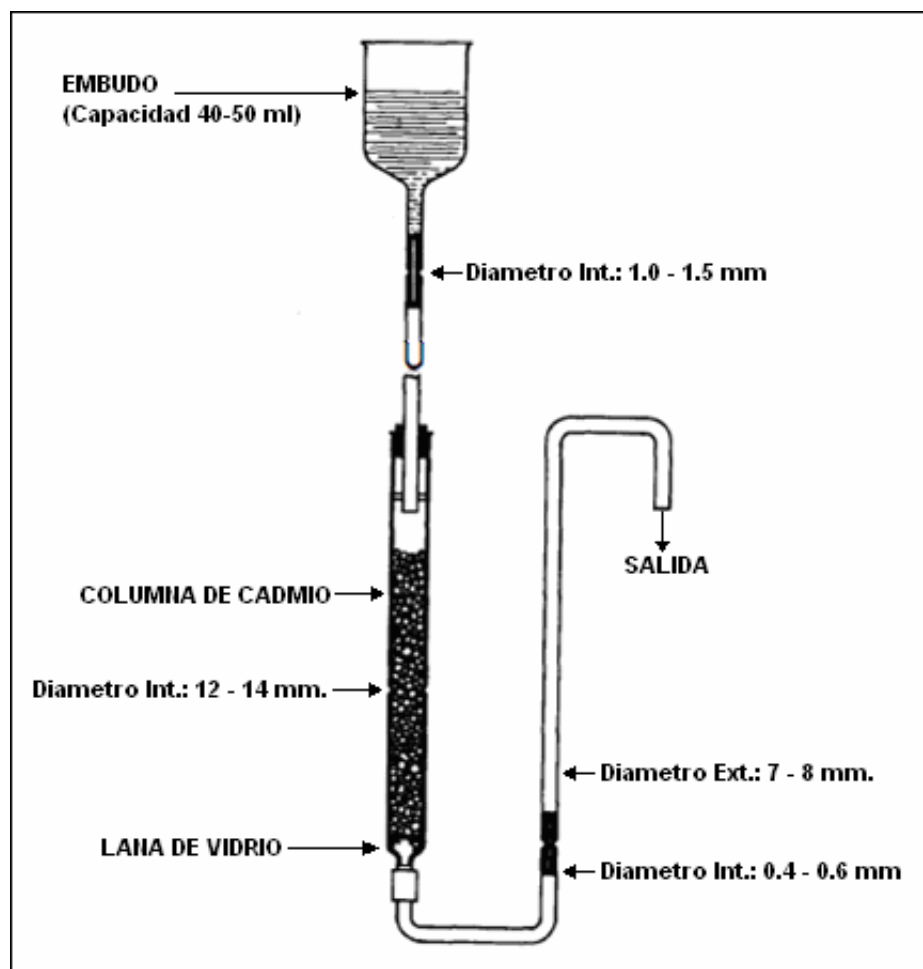
- Zinc metálico, de preferencia varillas de aproximadamente 15 cm. de longitud y 5-7 mm de diámetro.
- Sulfato de cadmio en solución aproximadamente 30g/L.  
Se disuelve 37g de sulfato de cadmio octohidratado en agua tibia y se diluye a 1 litro de agua.
- Ácido clorhídrico, aproximadamente 0,1N.  
Se disuelve en agua 8,5 mL de HCl concentrado ( $\rho_{20\text{ °C}} = 1,19\text{g/mL}$ ) y se diluye a 1000 mL con agua.
- Solución buffer amoniacal (pH= 9,6-9,7).  
Diluir 20mL de ácido clorhídrico concentrado en 500mL de agua. Luego mezclar, agregar 10g de EDTA y 55mL de hidróxido de amonio concentrado ( $\rho_{20\text{ °C}} = 0,88\text{g/mL}$ ). Diluir hasta 1000 mL con agua y verificar el pH.

- Solución estándar de nitrato de potasio.  
Disolver en un matraz volumétrico de 100 mL, 1,465 g de nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ) y diluir hasta la marca. Se miden 5 mL de esta solución en un matraz volumétrico de 1000 mL, diluir hasta la marca. Esta solución contiene 73,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de nitrato de potasio. Debe prepararse el mismo día de su utilización.

### **3.5.1.-PREPARACIÓN DE LA COLUMNA DE CADMIO.**

- Colocar de 3 a 5 varillas de zinc en la solución de sulfato de cadmio en un beaker de 1 litro, remover el depósito esponjoso de cadmio metálico obtenido de las varillas de zinc por 1 a 2 horas agitándolas en la solución o frotándolas entre ellas.
- Luego de un lapso de 6 a 8 horas, se decanta la solución y se lava el sedimento 2 veces con 1 litro de agua destilada cada vez, teniendo cuidado que el cadmio se halle continuamente cubierto por líquido.
- Transferir el cadmio depositado junto con 400mL de ácido clorhídrico 0,1 N a un mezclador de laboratorio, agitar durante 10 segundos.
- Volver el contenido del mezclador al beaker.
- Agitar de vez en cuando el depósito de cadmio con una varilla de vidrio.
- Luego dejarlo una noche cubierto por la solución de ácido clorhídrico, agitar una vez más para eliminar todas las burbujas de gas adheridas al cadmio.
- Decantar la solución y lavar la suspensión de cadmio 2 veces con un litro de agua por vez.
- Colocar un tapón de lana de vidrio en la parte inferior de la columna de vidrio, para soportar el cadmio metálico esponjoso (ver figura 12).
- Trasvasar el cadmio a la columna de vidrio y lavar con agua hasta que la altura de la columna de cadmio sea de 17cm.
- Vaciar periódicamente la columna durante su llenado, teniendo cuidado de no disminuir el nivel de líquido debajo de la parte superior de la capa de cadmio.
- Eliminar todas las burbujas de gas (se puede usar una varilla de vidrio).
- El líquido debe fluir a una velocidad que no exceda los 3 mL/min, la cual se controla con la ayuda de un cronómetro.





**Figura 12** Equipo de vidrio para la reducción de nitratos.

### **3.5.2.-PRE-TRATAMIENTO DE LA COLUMNA DE CADMIO**

Lavar la columna de cadmio, sucesivamente con 25mL de solución de ácido clorhídrico 0,1 N y agregar 50mL de agua y 25mL de solución amortiguadora amoniacal diluida (1:9). El nivel del líquido en el embudo no debe bajar de la parte superior del tubo capilar de entrada a la columna de cadmio.

### **3.5.3.-COMPROBACIÓN DE LA CAPACIDAD REDUCTORA DE LA COLUMNA DE CADMIO**

- Transferir 20mL de solución estándar de nitrato de potasio con una pipeta volumétrica, simultáneamente agregar 5mL de solución buffer amoniacal a la parte superior del embudo de la columna de cadmio. Recoger el eluyente en un matraz volumétrico de 100mL.

- Cuando el embudo esté casi vacío lavar las paredes con unos 15mL de agua. Repetir el tratamiento con otros 15mL de agua. Luego que esta última porción haya recorrido dentro de la columna llenar completamente el embudo con agua.
- Recoger cerca de 100mL del eluyente, retirar el matraz volumétrico de la columna. Diluir con agua hasta la marca y homogeneizar.
- Transferir con pipeta volumétrica 10mL del eluato a un matraz volumétrico de 100mL y proceder como se indica en b, c y d en la sección medida del color.
- Si la concentración de nitrito del eluyente que se determina con la curva de calibración, está por debajo de 0,9  $\mu\text{g}$  de nitrito de sodio por mililitro (es decir 90% del valor teórico), la columna de cadmio debe ser rechazada.

#### **3.5.4.-REDUCCIÓN DE NITRATOS A NITRITOS**

- Transferir con pipeta volumétrica de 20mL del filtrado desproteínizado (véase nitritos), al embudo de la parte superior de la columna y simultáneamente agregar 5mL de la solución buffer amoniacal.
- Recoger el eluyente de la columna en un matraz volumétrico de 100mL.
- Continuar como se indica en la comprobación de la capacidad reductora de la columna de cadmio.

#### **3.5.5.-MEDIDA DEL COLOR**

- a) Transferir con una pipeta volumétrica una alícuota del eluato no mayor de 25mL a un matraz volumétrico de 100mL, registrar “v”. Agregar agua hasta obtener un volumen de 60mL aproximadamente.
- b) Añadir 10mL de la solución I (véase nitritos) y 6mL de la solución III (véase nitritos), mezclar y reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
- c) Agregar 2mL de la solución II (véase nitritos), mezclar y dejar la solución de 3-5 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Diluir la mezcla con agua.
- d) Medir la absorbancia de la solución en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 538nm. Obtener del gráfico de calibración la cantidad de nitrito que corresponda, registrar “c”.

NOTA: Si la cantidad de nitrito de la solución excede de 10 µg/mL, repetir la operación descrita anteriormente en (medida de color), reduciendo la cantidad de filtrado pipeteado. Se efectúa la determinación por duplicado, con la misma solución libre de proteínas.

### 3.5.6.-EXPRESIÓN DE RESULTADOS.

Expresada como miligramos de nitrato de potasio por kilogramo usando la siguiente fórmula:

$$KNO_3 = 1,465 \left( \frac{Cx10000}{MxV} - NaNO_2 \right)$$

M: masa, en gramos, de la porción de ensayo.

V: volumen, en mililitros, de la porción alícuota del filtrado (véase “a”).

C: concentración, en microgramos por mililitros, de NaNO<sub>2</sub>, leída de la curva de calibración, que corresponde a la absorbancia de la solución preparada a partir de la porción de ensayo.

NaNO<sub>2</sub>: masa, en miligramos por kilogramos, de NaNO<sub>2</sub> contenido en la muestra y determinada de acuerdo a la NTP-ISO 2918:2006.

Tomar como resultado el promedio aritmético de las dos determinaciones, asegurarse que los requerimientos para repetibilidad sean satisfechos.

#### **Repetibilidad:**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones llevadas a cabo simultáneamente en rápida sucesión por el mismo analista no debe ser mayor a 10 % del valor promedio.

## VI.- RESULTADOS

El cuadro 1 describe, la lista de las 23 instituciones educativas estatales de nivel primario elegidas de forma aleatoria que se han incluido en el presente estudio; así como los valores encontrados de nitratos y nitritos en los hot dogs analizados para cada institución educativa. Los valores del promedio, la desviación estándar, la varianza, el valor mínimo y máximo de nitritos y nitratos presentes en los hot dogs se muestra a continuación en el cuadro 2; donde cabe destacar que las concentraciones de nitritos presentes en los hot dogs analizados varían en un rango de 122 ppm hasta 399 ppm, mientras que los valores de nitratos varían entre 482 ppm hasta 738 ppm; también se observa que el promedio de las concentraciones para el caso del nitrito es de 176,96 ppm y para el caso de nitrato es de 530,31 ppm.

Se realiza la prueba de hipótesis, comparando las concentraciones de nitritos y nitratos presentes en las muestras de hot dogs con los valores fijados por INDECOPI y el Codex Alimentarius, presentándose a continuación los siguientes casos:

### **A. Valores de nitratos presentes en los hot dogs analizados versus valores fijados por INDECOPI (500 ppm).**

Las hipótesis planteadas en el estudio para el caso A son:

A1.- Hipótesis nula ( $H_0$ ): En las instituciones educativas estatales las concentraciones de nitratos son menores al valor fijado por INDECOPI ( $\mu \leq 500$ ).

A2.- Hipótesis alterna ( $H_1$ ): En las instituciones educativas estatales las concentraciones de nitratos son mayores al valor fijado por INDECOPI ( $\mu > 500$ ).

Con los siguientes datos:

N: Tamaño de muestra de las instituciones educativas estatales = 23

$s^2$ : Varianza = 4618.04

s: Desviación estándar = 67.96

$\bar{x}$ : Promedio de los nitratos = 531.30

Nivel de confianza de 95%  $\alpha = 0.05$

Valor crítico t = 1.717

Se determina la estadística de prueba:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}} = 6.32$$

Como el valor de 6.32 pertenece a la zona de rechazo entonces se afirma que en las instituciones educativas estatales de Villa El Salvador las concentraciones de nitratos son mayores a 500 ppm. Con un 95% de confianza.

**B. Valores de nitritos presentes en los hot dogs analizados versus valores fijados por INDECOPI (200 ppm).**

Las hipótesis planteadas en el estudio para el caso B son:

B1.- Hipótesis nula ( $H_0$ ): En las instituciones educativas estatales las concentraciones de nitritos son menores al valor fijado por INDECOPI ( $\mu \leq 200$ ).

B2.- Hipótesis alterna ( $H_1$ ): En las instituciones educativas estatales las concentraciones de nitritos son mayores al valor fijado por INDECOPI ( $\mu > 200$ ).

Con los siguientes datos:

N: Tamaño de muestra de las instituciones educativas estatales = 23

$s^2$ : Varianza = 5797.77

s: Desviación estándar = 76.14

$\bar{x}$ : Promedio de los nitritos = 176.96

Nivel de confianza de 95%  $\alpha = 0.05$

Valor crítico t = 1.717

Se determina la estadística de prueba:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}} = -1.45$$

Como el valor de -1.45 pertenece a la zona de aceptación entonces se afirma que en las instituciones educativas estatales de Villa El Salvador las concentraciones de nitritos son menores o iguales a 200. Con un nivel de confianza de 95%.

**C. Valores de nitritos presentes en los hot dogs analizados versus valores fijados por el Codex Alimentarius (125 ppm).**

Las hipótesis planteadas en el estudio para el caso C son:

C1.-Hipótesis nula ( $H_0$ ): En las instituciones educativas estatales las concentraciones de nitritos son menores al valor fijado por el Codex Alimentarius ( $\mu \leq 125$ ).

C2.-Hipótesis alterna ( $H_1$ ): En las instituciones educativas estatales las concentraciones de nitritos son mayores al valor fijado por el Codex Alimentarius ( $\mu > 125$ ).

Con los siguientes datos:

N: Tamaño de muestra de las instituciones educativas estatales = 23

$s^2$ : Varianza = 5797.77

s: Desviación estándar = 76.14

$\bar{x}$ : Promedio de los nitritos = 176.96

Nivel de confianza de 95%  $\alpha = 0.05$

Valor crítico t = 1.717

Se determina la estadística de prueba:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}} = 3.27$$

Como el valor de 3.27 pertenece a la zona de rechazo entonces se afirma que en las instituciones educativas estatales de Villa El Salvador las concentraciones de nitritos son mayores a 125ppm. Con un nivel de confianza de 95%.

Por otro lado, la encuesta de consumo semanal reportó lo siguiente:

Del total de alumnos encuestados de quinto y sexto grado de educación primaria el 53.2 % pertenece a quinto grado y el 46.8 % a sexto grado (cuadro 3).

El cuadro 4 nos muestra que el 55,4 % de los alumnos sí consume hot dog en el colegio mientras que el 44,6 % no lo consume; sin embargo cuando se considera el consumo de hot dog por cada grado de estudio se observa que de los alumnos de quinto grado, el 29,8% sí consumen hot dog en el colegio y el 23,4 % no consumen hot dog en el colegio, mientras que para los alumnos de 6° grado de educación primaria, el 25,6% sí

consumen hot dog en el colegio y el 21,2 % no consumen hot dog en el colegio. (cuadro 4).

De las edades que conforman la mayor población de alumnos encuestados (10, 11 y 12 años); la edad con mayor preferencia de consumo es de 12 años con un 63%, luego siguen los niños de 10 años con un 54% y por último los niños de 11 años con un 52% (según el cuadro 5).

De las encuestas también se observa que el lugar de preferencia de consumo de hot dog en ambos grados son los kioscos con un 30.9% para quinto grado y un 21.7% para sexto grado, seguido del consumo en las puertas de las instituciones educativas con un 11.9% para quinto grado y 13.7% para sexto grado y por último el consumo se da en las cafeterías de las instituciones educativas con un 11% para quinto y 10.8% para sexto grado (cuadro 6).

De los alumnos de quinto grado que consumen hot dog en la institución educativa; el 34.1% consume una vez por semana, el 10.5% consume dos veces por semana y el 9.2% consume tres veces por semana, mientras que los alumnos de sexto grado que consumen hot dog, el 34.1 % consume una vez por semana, el 6.9% consume dos veces por semana y el 5.3% consume tres veces por semana en base al cuadro 7.

**Cuadro N° 1: Concentraciones de nitritos y nitratos en los hot dogs de las 23 instituciones educativas estatales de Villa El Salvador.**

NOMBRE DEL CENTRO EDUCATIVO	NIVEL	DIRECCIÓN	NITRITOS (*) (ppm)	NITRATOS (**) (ppm)
JORGE BASADRE	Primaria	Av. MICAELA BASTIDAS, SECTOR 2 GRUPO 23 S/N	145	539
PERÚ EE UU	Primaria	Av. MICAELA BASTIDAS, SECTOR 1 GRUPO 24 S/N	396	733
REPÚBLICA DE FRANCIA	Primaria	Av. MICAELA BASTIDAS, SECTOR 3 GRUPO 24-A S/N	139	500
REPÚBLICA DE NICARAGUA	Primaria	Av. MICAELA BASTIDAS, SECTOR 3 GRUPO 26 S/N	156	543
SAN MARTIN DE PORRES	Primaria	Av. REVOLUCION, SECTOR 1 GRUPO 10 MZ A S/N	146	542
MANUEL GONZALES PRADA	Primaria	Av. LOS ALAMOS, SECTOR 3 GRUPO 17 S/N	192	505
REPÚBLICA DE BOLIVIA	Primaria	Av. LOS ALAMOS, SECTOR 1 GR 13 S/N	139	496
ROSA DE AMÉRICA	Primaria	Av. REVOLUCION, SECTOR 1 GRUPO 14 S/N	139	505
VILLA EL SALVADOR	Primaria	Av. LOS ALAMOS, SECTOR 2 GRUPO 15 S/N	399	738
FÉ Y ALEGRÍA	Primaria	Av. REVOLUCION, SECTOR 3 GR 15 S/N	125	483
JUAN VELASCO ALVARADO	Primaria	Av. CENTRAL Y TALARA, SECTOR 3 GRUPO 11 S/N	218	503
FRANCISCO BOLOGNESI	Primaria	Av. JORGE CHAVEZ, SECTOR 2 GRUPO 10	217	504
REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DE ALEMANIA	Primaria	Av. MARIA ELENA MOYANO, SECTOR 6 GRUPO 7-A S/N	122	482
DANIEL ALCIDES CARRIÓN	Primaria	Av. CONSTRUCCION CIVIL RUTA D SECTOR 6 GRUPO 11 MZ O	199	502
PACHACÚTEC	Primaria	Av. LAS AMERICAS, SECTOR 3 GRUPO 14 S/N	139	506
PRÍNCIPE DE ASTURIAS	Primaria	Av. CESAR VALLEJO, RUTA C SECTOR 6 GRUPO 5-A S/N	125	483
PERUANO SUIZO	Primaria	I ETAPA MZ S LOTE 1 S/N	145	539
JOSE CARLOS MARIATEGUI	Primaria	Av. EL SOL, SECTOR 1GR 6	157	541
REPÚBLICA DEL PERÚ	Primaria	Av. JOSE CARLOS MARIATEGUI, SECTOR 7 GRUPO 1-A S/N	123	486
HÉROE DEL ALTO CENEP	Primaria	Av. LOS ALAMOS, SECTOR 1 GRUPO 11 S/N	139	500
PERUANO JAPONÉS	Primaria	Av. 200 MILLAS S/N	220	505
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO	Primaria	VIRGEN DE COCHARCAS, SECTOR 5 MZ N S/N	145	543
FORJADORES DEL PERÚ	Primaria	PARCELA 1 PARQUE INDUSTRIAL S/N	145	542
N = 23				

FUENTE: Padrón de Instituciones y Programas Educativos del Ministerio de Educación y Censo Escolar 2008<sup>(53,54)</sup>.

\*expresado como miligramos de nitrito de sodio por kilogramo de muestra.

\*\* expresado como miligramos de nitrato de potasio por kilogramo de muestra.



Figura 13: Concentraciones de nitritos en los hot dogs de las 23 instituciones educativas estatales de Villa El Salvador

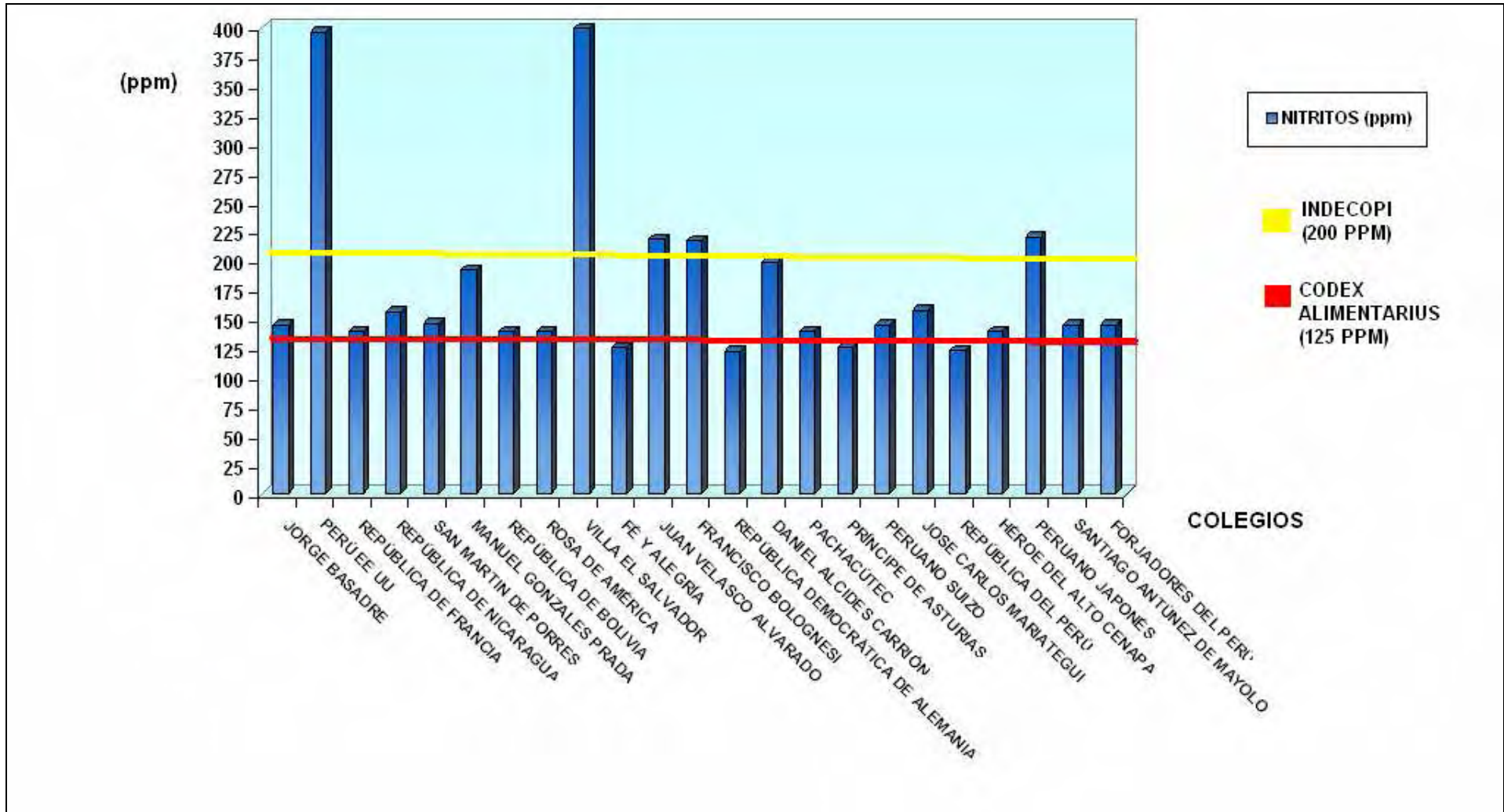
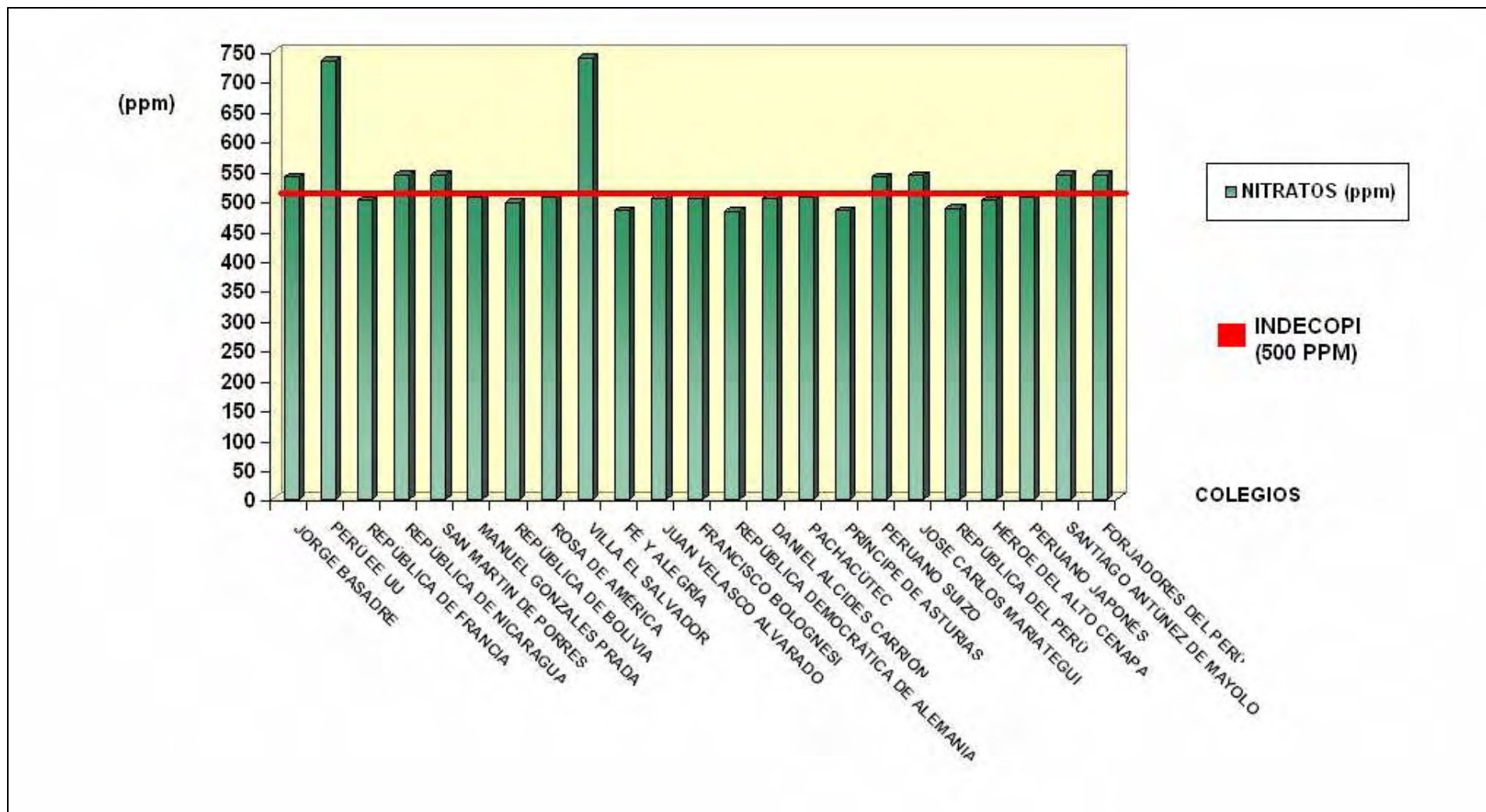


Figura 14: Concentraciones de nitratos en los hot dogs de las 23 instituciones educativas estatales de Villa El Salvador



En referencia al Codex Alimentarius: En el año 1988 la comisión del Codex decidió suprimir la adición de nitratos actualmente en vías de desuso.

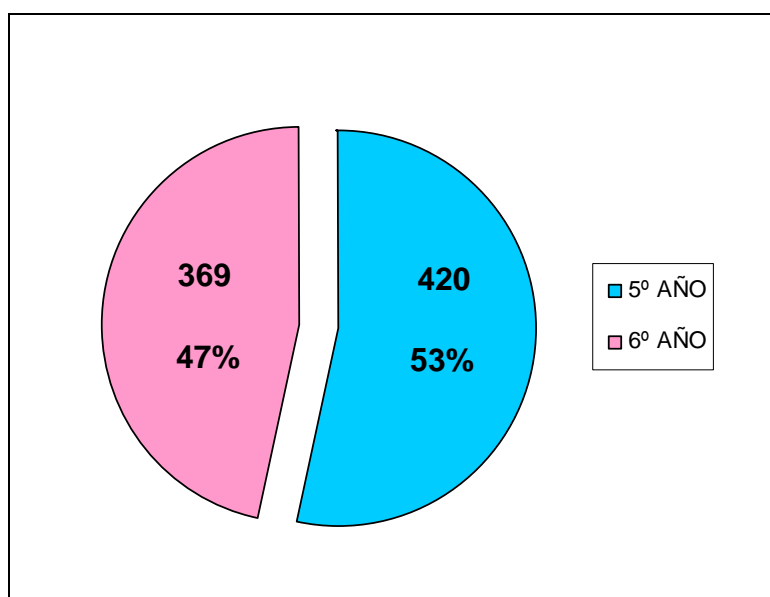
**Cuadro N° 2: Medias estadísticas descriptivas de las concentraciones de nitritos y nitratos (mg/kg o ppm) en los hot dogs tomados en las 23 instituciones educativas estatales de Villa El Salvador**

<b>ADITIVOS</b>	<b>Número de muestras</b>	<b>Media Aritmética</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Varianza</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>NITRITOS</b>	23	176,9565 ppm	76,14309	5797,771	122,00 ppm	399,00 ppm
<b>NITRATOS</b>	23	531,3043 ppm	67,95616	4618,040	482,00 ppm	738,00 ppm
<b>TOTAL</b>	23					

**Cuadro N° 3: Distribución de los alumnos encuestados según el grado de estudio**

<b>GRADO DE ESTUDIO</b>	<b>ALUMNOS ENCUESTADOS</b>	<b>PORCENTAJE</b>
5° GRADO	420	53.2
6° GRADO	369	46.8
TOTAL	789	100,0

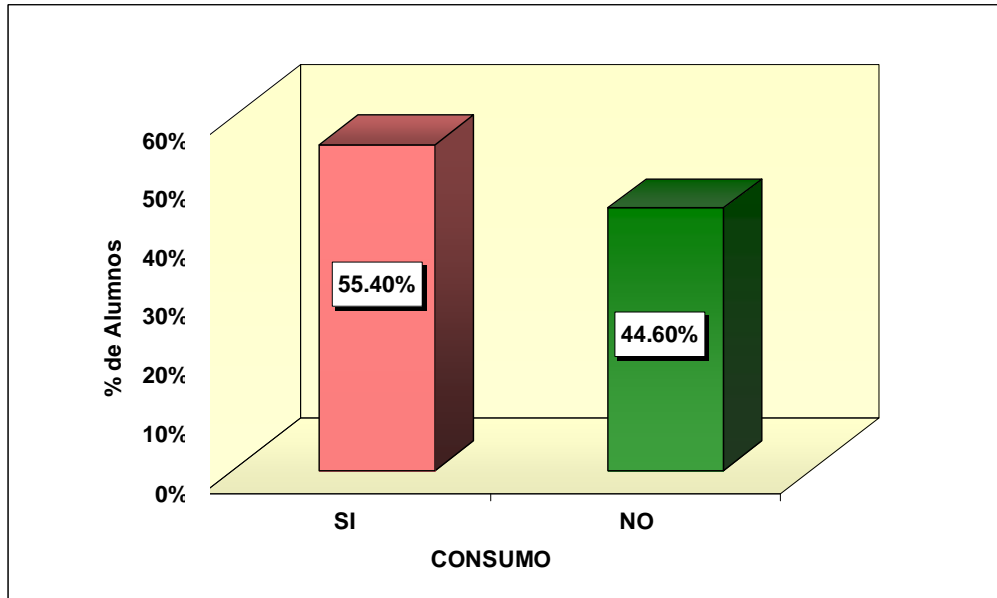
**Figura 15: Distribución y porcentaje de los alumnos encuestados según el grado de estudio**



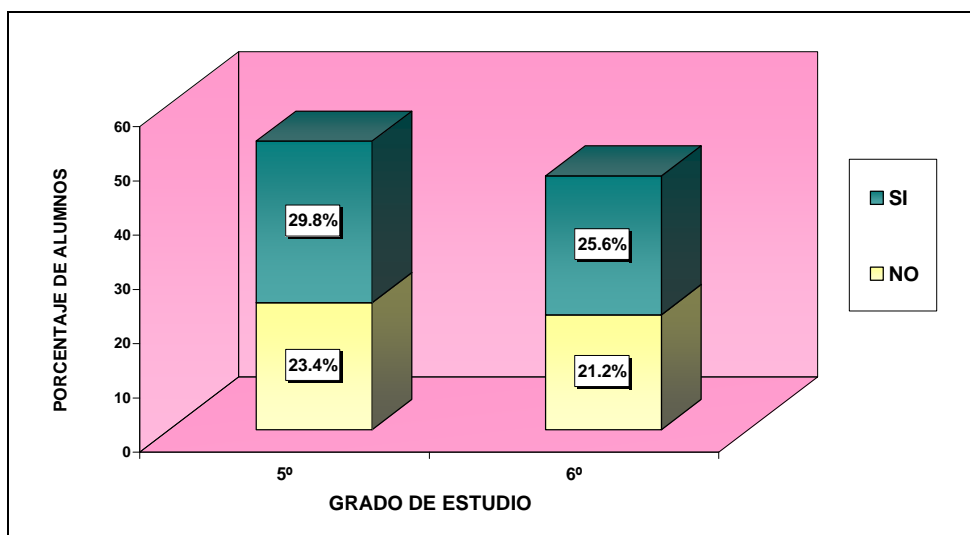
**Cuadro N° 4: Resultado estadístico del consumo de los hot dogs en las instituciones educativas estatales según el grado de estudio.**

			GRADO DE ESTUDIO		TOTAL
			5º	6º	
¿Consumes usted hot dog en el colegio?	NO	Cantidad	185	167	352
		% del Total	23,4	21,2	44,6
	SI	Cantidad	235	202	437
		% del Total	29,8	25,6	55,4
TOTAL		Cantidad	420	369	789
		% del Total	53,2	46,8	100,0

**Figura 16: Porcentaje del consumo de hot hogs en las instituciones educativas estatales.**



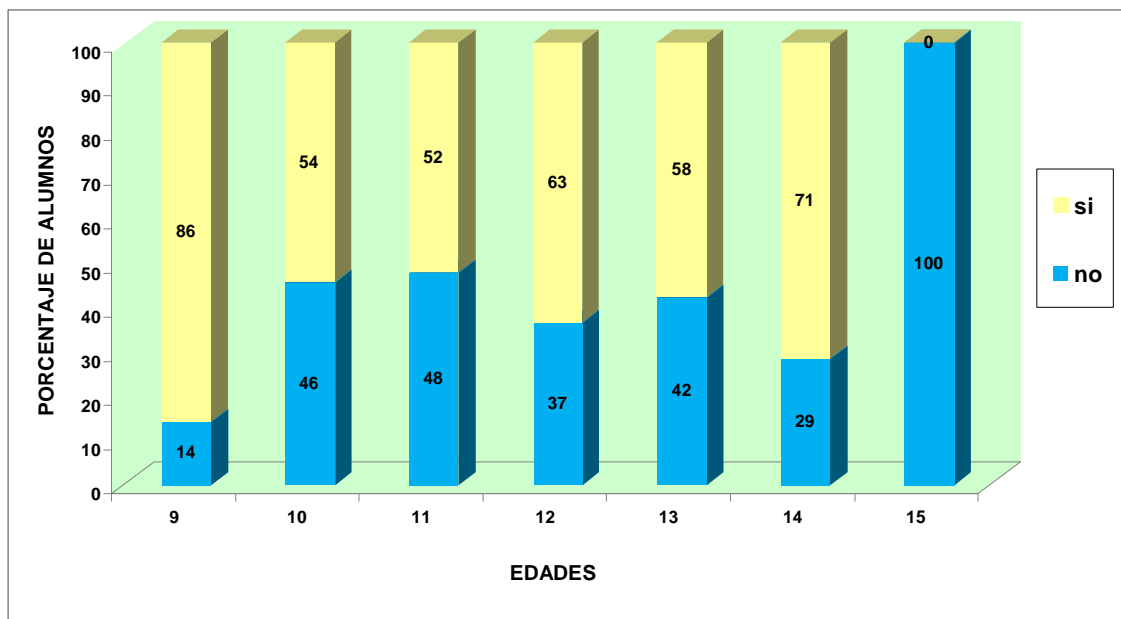
**Figura 17: Porcentaje del consumo de los hot dogs en las instituciones educativas estatales según el grado de estudio**



**Cuadro N° 5: Resultado estadístico del consumo de los hot dogs en las instituciones educativas estatales según la edad**

			¿Consumen hot dog en el colegio?		Cantidad Total de cada edad	Porcentaje del Total de alumnos encuestados
			NO	SI		
<b>Edad</b>	9	Cantidad	1	6	7	0,9
		% de 9 años	14	86		
	10	Cantidad	110	130	240	30,4
		% de 10 años	46	54		
	11	Cantidad	172	186	358	45,4
		% de 11 años	48	52		
	12	Cantidad	55	95	150	19,0
		% de 12 años	37	63		
	13	Cantidad	11	15	26	3,3
		% de 13 años	42	58		
	14	Cantidad	2	5	7	0,9
		% de 14 años	29	71		
	15	Cantidad	1	0	1	0,1
		% de 15 años	100	0		
Total de alumnos encuestados					789	100 %

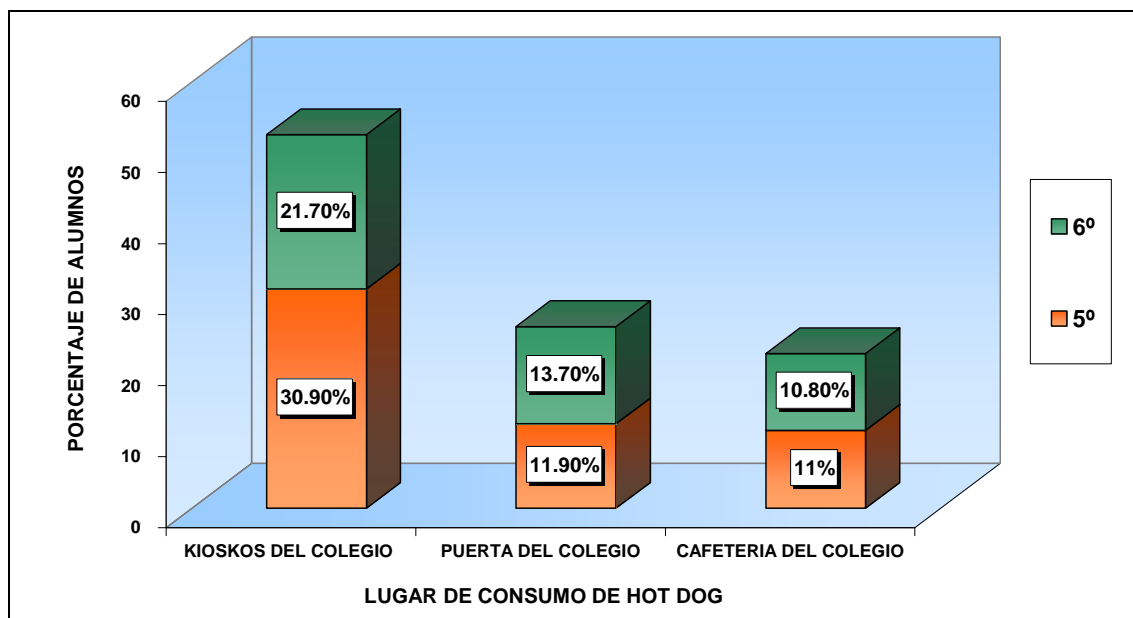
**Figura 18: Porcentaje de consumo de los hot dogs en las instituciones educativas estatales según la edad**



**Cuadro N° 6: Resultado estadístico del lugar de consumo de los hot dogs según el grado de estudio.**

			Grado de estudios		Total
			5°	6°	
¿Dónde consume hot dog?	En los puestos de venta del colegio (kioscos)	Cantidad	135	95	230
		% del total	30.9	21.7	29,2
	En la puerta del colegio	Cantidad	52	60	112
		% del total	11.9	13.7	25.6
	En la cafetería del colegio	Cantidad	48	47	95
		% del total	11	10.8	21.8
Total		Cantidad	235	202	437
		% del total	53,8	46,2	100,0

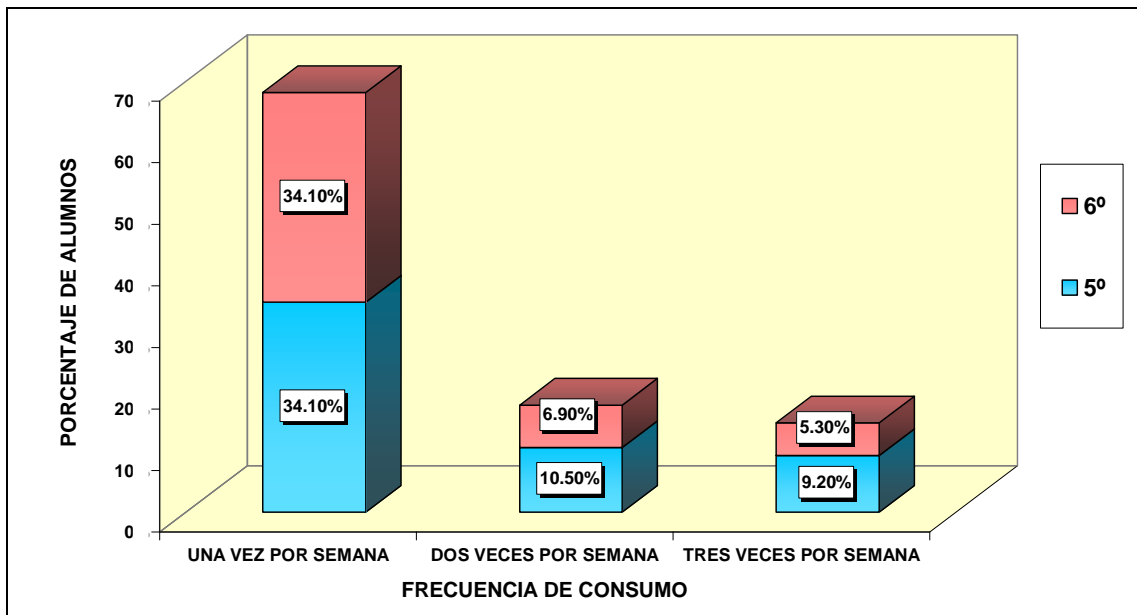
**Figura 19: Porcentaje del lugar de consumo de los hot dogs según el grado de estudio**



**Cuadro N° 7: Resultado estadístico de la frecuencia de consumo de los hot dogs según el grado de estudio.**

			Grado de estudio		Total
			5°	6°	
¿Cuántas veces por semana consume hot dog en el colegio?	Una vez por semana	Cantidad	149	149	298
		% del total	34,1	34,1	68,2
	Dos veces por semana	Cantidad	46	30	76
		% del total	10,5	6,9	17,4
	Tres veces por semana	Cantidad	40	23	63
		% del total	9,2	5,3	14,4
Total		Cantidad	235	202	437
		% del total	53,8	46,2	100,0

**Figura 20: Porcentaje de la frecuencia de consumo de los hot dogs según el grado de estudio**





## V.- DISCUSIÓN

Para la realización de este trabajo, se escogió el distrito de Villa El Salvador, debido a que pertenece a uno de los grandes conos de Lima Metropolitana; además existe por lo general un bajo control sanitario por parte de los municipios y porque tiene una mayor cantidad de instituciones educativas estatales donde se expenden panes con hot dog en los kioscos, comedores y cafeterías. La cantidad de instituciones educativas estatales que se han incluido en el estudio (23 instituciones educativas estatales) representa un poco más del 50% del total de instituciones educativas estatales (45 instituciones educativas estatales) con que cuenta este distrito; lo que ha permitido un mejor desarrollo de la toma de muestras para el presente trabajo.

El Codex Alimentarius establece que la dosis máxima de nitrito residual en productos cárnicos elaborados es de 125 ppm<sup>(8)</sup>, en base a esto se puede afirmar que el 83 % de las instituciones educativas estatales con excepción de 4 de ellos (Fe y Alegría, República Democrática de Alemania, Príncipe de Asturias y República del Perú) superaron el valor fijado; mientras que INDECOPI limita la cantidad residual a no más de 200 ppm de nitrito de sodio en el producto final, por lo que se puede afirmar que del total de instituciones educativas estatales, 3 de éstos (Juan Velasco Alvarado, Francisco Bolognesi y Peruano Japonés) mostraron valores mayores de 200 ppm mientras que las instituciones educativas estatales Perú-EE.UU. y Villa El Salvador, mostraron valores cercanos a 400 ppm, es decir el doble de lo fijado por INDECOPI (cuadro 1).

Las cantidades elevadas de nitritos halladas en las muestras, en relación a lo establecido por el Codex Alimentarius como por INDECOPI nos indican que no ha habido la correcta aplicación de las Buenas Prácticas de Fabricación en su elaboración, teniendo en cuenta que cuando se emplea el nitrito en el proceso de curado, se deben ajustar algunos parámetros del proceso tecnológico como el tiempo y la temperatura de cocción, el tipo de tratamiento térmico, la calidad de la materia prima entre otros, ya que la inestabilidad de dichos parámetros, es decir, la no

estandarización del proceso podría ser la causa de valores oscilantes de nitrito residual en el producto final <sup>(26)</sup>.

Por otro lado INDECOPI establece que la cantidad de nitrato presente en el producto cárnico terminado debe ser no más de 500 ppm <sup>(7)</sup>. En nuestro estudio, el 70 % de las instituciones educativas estatales con excepción de 7 instituciones educativas estatales (República de Francia, República de Bolivia, Fe y Alegría, República Democrática de Alemania, Príncipe de Asturias y República del Perú, Héroes del Alto Cenepa) mostraron valores mayores a 500 ppm (cuadro 1).

Por su parte el Codex Alimentarius no autoriza la adición de nitratos durante el proceso de elaboración de los productos cárnicos (ver Aspectos Legales) y la presencia de nitratos en las muestras nos indican que no se está cumpliendo con las disposiciones internacionales <sup>(34, 8)</sup>.

Las elevadas concentraciones de nitratos en las muestras, pueden deberse a diferentes factores como la utilización de agua potable en el preparado de dichos embutidos, debido a que el agua potable es una de las fuentes importantes de aporte de nitratos <sup>(23)</sup>, así como también se sabe que durante el proceso de elaboración de estos embutidos, parte de los nitritos pueden oxidarse a nitratos (de 1 al 10%) incrementándose su valor en el producto final <sup>(23, 26)</sup>.

Del cuadro 2 se observó que el promedio de las concentraciones de nitritos fue de 177 ppm (rango 122 – 399 ppm) y de nitratos fue de 531 ppm (rango 482 – 738 ppm), estos resultados nos mostraron que el promedio de las concentraciones de nitritos no excedieron el máximo valor fijado por INDECOPI (200 ppm) pero sí excedieron el valor dado por el Codex Alimentarius (125 ppm), y esto es debido a que el Codex es mucho más estricto en establecer sus límites, priorizando la protección de la salud de los consumidores. Por otro lado el promedio de las concentraciones de nitratos también excedieron el valor fijado por INDECOPI (500 ppm).

Sin embargo nuestros resultados fueron mucho más altos que los reportados por algunos países de Latinoamérica como Argentina (Majul 2004) donde el promedio de las concentraciones de nitritos en salchichas fue de 0,143 mg/kg y ninguna de las

muestras analizadas superó el valor fijado por el Codex <sup>(39)</sup>. En Brasil <sup>(55)</sup>, donde se evaluaron las concentraciones de nitritos y nitratos en embutidos y corned beef envasado, se encontraron niveles aceptables de nitritos en las muestras y sólo un 24 % de éstas debía ser rechazada por los altos niveles de nitratos. Además el rango de las concentraciones de nitritos (5,2 ppm – 23,6 ppm) y nitratos (72,52 ppm – 252,07 ppm) presentes en aquellas muestras es menor en comparación a los rangos de nuestros resultados (cuadro 2), los cuales son similares a los valores reportados por Delgado y Málaga (1986), quien realizó la determinación de nitritos, nitratos y nitrosaminas en embutidos y carnes curadas obtenidas de los mercados y fábricas de Lima Metropolitana reportando que los valores de nitritos variaban desde 3 a 342 mg/kg mientras que los nitratos fueron de 0 hasta 796 mg/kg <sup>(9)</sup>.

Además si comparamos nuestro resultado del porcentaje de muestras con exceso de nitrito (83 % según el Codex) con los resultados de Delgado y Málaga (1986) que encontraron sólo un 6 % del total de muestras analizadas es decir, dos muestras de hot dogs con exceso de nitrito (uno con 184 mg/kg y otro con 342 mg/kg), podemos afirmar que con el transcurso de los años existe un menor cumplimiento de las normas nacionales e internacionales por parte de los fabricantes nacionales de embutidos, a diferencia de lo que ocurre en los países extranjeros.

Los resultados de las pruebas de hipótesis nos indicaron, que se acepta la hipótesis planteada en el proyecto de tesis, que afirma que las concentraciones de nitritos y nitratos presentes en los hot dogs que se expenden en las 23 instituciones educativas estatales superan los límites máximos establecidos por el Codex Alimentarius (valores de nitritos mayores a 125 ppm) e INDECOPI (valores de nitratos mayores a 500 ppm). Sin embargo en uno de los casos presentados en los resultados (caso B), donde se compara los valores de nitritos presentes en los hot dogs analizados versus valores fijados por INDECOPI; la estadística de prueba determina que las concentraciones de los nitritos son menores al máximo valor establecido por INDECOPI (200 ppm), pero al ser la comisión del Codex Alimentarius, un organismo considerado como punto de referencia internacional en el tema de normas alimentarias, es que consideraremos su valor fijado (125 ppm) sobre el valor fijado por INDECOPI (200 ppm) para evaluar si existe una elevada concentración de nitritos en las muestra de hot dogs.

Del cuadro 3 se observó, que la población de alumnos encuestados tanto para quinto (53,2 %) como para sexto (46,8%) grado se ha distribuido de forma casi equivalente. El cuadro 4 nos indicó que existe una mayor preferencia por el consumo de hot dog los niños de quinto y sexto grado (55,4 %) pero no es tan marcada frente a los que no consumen hot dog (44,6 %); además existe una poca diferencia entre el porcentaje de los alumnos de quinto y sexto que consumen hot dog (4,2 %). La mayor preferencia por el consumo de hot dogs se debe principalmente a la fuerte influencia que ejerce la publicidad sobre la alimentación, que los induce a comer diversos productos sin tener en cuenta su valor nutricional, esto se respalda en base a un reciente estudio realizado en el año 2008 por ASPEC (Asociación Peruana de Consumidores y Usuarios) entre 100 niños de 6 a 10 años de edad de diversas instituciones educativas estatales de Lima con el objetivo de evaluar la preferencia de consumo de comida saludable y no saludable “chatarra”, encontrando que un 81 % de los niños, prefería la comida chatarra <sup>(11)</sup>.

Luego de revisar el cuadro 5 que trata del consumo de hot dogs por edades se observó que del total de alumnos encuestados de quinto y sexto grado de educación primaria, las edades de 9, 13, 14 y 15 años representan independientemente poblaciones muy pequeñas de alumnos encuestados (menores del 4 %) por lo que no se puede estimar de forma real el porcentaje de consumo en estas edades, sin embargo es importante mencionar que del total de alumnos de 9 años encuestados, el 86 % respondió que sí consume hot dog representando un alto porcentaje para esta edad, donde los niños son más susceptibles de recepcionar los mensajes publicitarios, también se observa que son los niños de 12 años los que mayormente consumen hot dog (63%) pero al parecer, no se verían directamente perjudicados por la exposición a las concentraciones habitualmente existentes de nitratos y nitritos en los alimentos, por que tienen en su organismo un sistema enzimático ya desarrollado, a diferencia de los lactantes menores de tres meses de edad que constituyen el grupo más vulnerable a desarrollar metahemoglobinemia <sup>(23, 1)</sup>, sin embargo es importante mencionar que la presencia de enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal en estos niños, con el consiguiente aumento de las bacterias nitrato reductoras puede conllevar a la presencia de elevadas cantidades de nitrito produciéndose una

toxicidad aguda y con el tiempo se pueden formar con las aminos nitrosables de los alimentos ingeridos, sustancias cancerígenas como las nitrosaminas <sup>(23, 41, 42)</sup>.

Del cuadro 6 pudimos observar que el consumo de hot dogs en las instituciones educativas estatales, se da con mayor frecuencia en los kioscos ubicados dentro de las instituciones educativas estatales, por tener éstos una alta concurrencia de la población estudiantil y la frecuencia de consumo de hot dogs por los alumnos de quinto y sexto grado (cuadro 7) es principalmente de una vez a la semana con lo que se disminuye la frecuencia de exposición a estos conservadores.

## VI.- CONCLUSIONES

- La concentración promedio de nitritos (177 ppm) en los hot dogs sobrepasan el valor fijado por el Codex Alimentarius (125 ppm), pero no supera el valor fijado por INDECOPI (200 ppm).
- La concentración promedio de nitratos en los hot dogs que corresponde a 531 ppm supera el límite máximo establecido por INDECOPI (500 ppm).
- El porcentaje de consumo de hot dogs en estudiantes de quinto y sexto grado de educación primaria de las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador es elevado (55,4%), principalmente en niños de 12 años.
- La frecuencia de consumo de hot dogs en estudiantes de quinto y sexto grado de educación primaria de las 23 instituciones educativas estatales del distrito de Villa El Salvador, se da mayormente una vez por semana en los kioscos de dichas instituciones.

## VII.- RECOMENDACIONES

- Tanto las empresas que fabrican estos embutidos y en especial los que lo consumen deben evaluar la relación riesgo/beneficio que trae el consumo de estos conservadores;
- Se debe seguir las Buenas Prácticas de Fabricación cuando se usan nitratos y nitritos como aditivos alimentarios con el fin de garantizar el uso de una mínima cantidad de esas sustancias para lograr su finalidad funcional y de esa manera reducir la exposición a esos compuestos.
- Se recomienda utilizar el ácido ascórbico (E – 330) y sus derivados, y los tocoferoles (E – 306 y siguientes) como aditivos que bloqueen el mecanismo químico de formación de nitrosaminas.
- Las autoridades sanitarias correspondientes, deben de brindar información a la población sobre los valores permitidos de nitratos y nitritos en ciertos alimentos, ello debe darse mediante la indicación en las etiquetas.
- Los municipios deben realizar controles del uso excesivo de nitratos y nitritos en todos los tipos de embutidos a fin de prevenir brotes tóxicos de metahemoglobinemia y el riesgo de formación de compuestos cancerígenos como las nitrosaminas.
- Se recomienda realizar estudios de consumo de hot dogs en edades menores de 9 años debido a que estas edades son más susceptibles de recepcionar los mensajes publicitarios que los inducen a comer alimentos poco saludables.

## VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. 1995. Evaluation of certain Food Additives and Contaminants. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series; 859. Geneva: WHO. P 36-43.
2. Takayuki L. Introducción a la Toxicología de los alimentos. España: Editorial Acribia S.A; 1996. p. 187-193.
3. Vargas del Río L, Taborda G. Nitrosaminas en Productos Cárnicos: Formación e Impacto. Biosalud. 2006 Dic 5:101-131.
4. Lindner E. Toxicología de los alimentos. España: Editorial Acribia S.A; 1996. p. 175-184.
5. López L, Celedonio M. Efecto cancerígeno de las Nitrosaminas presentes en el embutido chicharrón de prensa. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos 1996. Lima Perú.
6. World Health Organization. 2002. Evaluation of certain Food Additives and Contaminants. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series; 913. Geneva: WHO. P 20-32.
7. NTP 201.048-1. 1999. Carne y productos cárnicos. Aditivos Alimentarios Parte 1: Definición, clasificación y requisitos. 1<sup>da</sup> edición.
8. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) Y Organización Mundial de la Salud (OMS). Codex Alimentarius. 1994. Volumen 10. Carne y productos cárnicos incluidos los bouillons y consomés. pp. 1-235.
9. Delgado G, Málaga D. Investigación químico – Toxicológico de nitritos, nitratos y nitrosaminas en embutidos y carnes curadas. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos 1986. Lima Perú.
10. Reinik M, Tamme T, Roasto M, Juhkam, Jurtsenko S. Nitrites, nitrates and N-nitrosoamines in Estonian cured meat products: Intake by Estonian children and adolescents. Food Additives and Contaminants. 2005 Nov; 22(11):1098-1105.
11. Asociación Peruana de Consumidores y Usuarios. Publicidad de Alimentos para Niños y su Influencia en la Obesidad Infantil. 2008; [Citado 12 de Setiembre 2009]. Disponible en: [ww.aspec.org.pe/documentos/salud/inv\\_obesidad.pdf](http://ww.aspec.org.pe/documentos/salud/inv_obesidad.pdf)



12. El Código Alimentario Español y su Desarrollo Normativo, Reglamentación Técnico Sanitaria: Normas Generales de Calidad. Volumen N° 2; Carnes y Derivados capítulo X. Ministerio de Sanidad y Consumo.
13. Astiasarán I, Martínez A. Carnes y Derivados. En: Alimentos Composición y Propiedades. España: Mc Graw Hill Interamericana; 2000. p. 11-28.
14. Larrañaga J, Carballo F, Rodríguez M, Fernández J. Control e Higiene de los Alimentos: Mc Graw Hill Interamericana de España; 1999. P.182-184.
15. NTP 201.007. 1999. Carne y productos cárnicos. Embutidos: Definición, Clasificación y requisitos. 2<sup>da</sup> edición.
16. NTP 201.006. 1999. Carne y productos cárnicos. Embutidos con tratamiento térmico después de embutir o entoldar. Definición, Clasificación y Requisitos. 2<sup>da</sup> edición.
17. Bejarano E, Bravo M, Tabla de Composición de Alimentos Industrializados. Ministerio de Salud. INS Centro Nacional de Alimentación y Nutrición; 1993. p. 18-21
18. Glass C, Berlijn D. Elaboración de productos cárnicos. Industrias rurales. Editorial Trillas México; 1984. p 41-75.
19. Durand P. Definiciones, Reglamentación y Clasificación de los productos de charcutería y salazón. En: Tecnología de los productos de charcutería y salazones. España: Editorial Acirbia; 2002 p. 28-29; 135-136; 98-101; 487-493.
20. Astiasarán I, Laceras B, Ariño A, Martínez A. Aditivos Alimentarios: Aspectos Legislativos. En: Alimentos y Nutrición en la Práctica Sanitaria. España: Díaz de Santos; 2003. p. 121-47
21. FAO/OMS, Codex Alimentarius. CODEX STAN 192 - 1995. Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios. [página principal de Internet]. [citado 10 de Mayo 2008]; [aprox. 271p]. Disponible en:  
[http://www.codexalimentarius.net/web/index\\_es.jsp](http://www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp)
22. Organización Panamericana de la Salud. Criterios de Salud Ambiental 5. Nitratos, Nitritos y compuestos de N- nitroso. Publicación científica N° 394; 1980. p. 10 – 70.
23. García M. O, García M, Cañas R. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. División de Salud y Ambiente, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Nitratos, Nitritos y Compuestos de N-Nitroso. Serie Vigilancia 13.1994.

24. Badui S; Diccionario de Tecnología de los alimentos, 1<sup>era</sup> edición, editorial Alhambra, México 1996.p.182-185.
25. Adrian J. Polus J. Poiffait A. Análisis Nutricional de los Alimentos. España: Editorial Acribia. 2000 p. 148 - 152.
26. Vargas del Río L, Taborda G. Evolución bioquímica de salchichas tipo Frankfurt antes de su consumo. Revista Universidad de Caldas. 2005 Dic: 133 – 144.
27. Cheftel J, Cheftel H. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los alimentos. España: Editorial Acribia. 1999 p. 76-87.
28. Coultate T. Manual de química y Bioquímica de los Alimentos p 249-53.
29. Wirth F. Tecnología de los Embutidos Escaldados. Editorial Acribia. España 1992. p. 127-148.
30. Luck E. Conservación química de los alimentos. Sustancias, acciones, métodos. Editorial Acribia. 1977. p.84-92.
31. Instituto Nacional de Protección del Medio Ambiente para la Salud. INAPMAS: Derecho y Salud Ambiental.1999. 1<sup>era</sup> edición. p. 44-69.
32. Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de los Alimentos y Bebidas (Decreto Supremo N° 007 – 98 – SA. Lima: [página web de un sitio web]. [actualizado 25 de Setiembre de 1998; citado 12 de Abril 2008]; [aprox. 47 p]. Disponible en:  
[http://www.digesa.sld.pe/normas\\_legales/normas\\_alimentos.asp](http://www.digesa.sld.pe/normas_legales/normas_alimentos.asp)
33. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) Y Organización Mundial de la Salud (OMS). Codex Alimentarius. Volumen IV. Normas del Codex para productos cárnicos elaborados de reses y aves y para “Bouillons” y Consomé. 1982. 1<sup>era</sup> edición. pp. 1-35.
34. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) Y Organización Mundial de la Salud (OMS). Comisión del Codex Alimentarius. Informe del decimotercero periodo de sesiones del comité del Codex sobre productos cárnicos elaborados. Copenhague. 1988. pp. 1-50.
35. Directiva 2006/52/CE del Parlamento Europeo y del Consejo). [página web de un sitio web]. [actualizado 26 Julio de 2006; citado 20 de Setiembre 2009]; [aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:204:0010:0022:ES:PDF>

36. Madrid A, Madrid J. Los aditivos en los alimentos según la Unión Europea y la Legislación Española. España: A. Madrid Vicente, Ediciones; 2000. p. 13-41.
37. Food and Drug Administration. 2004. Code of Federal Regulations. Food Additives permitted for direct addition to food for human consumption. Sodium Nitrate. Title 21, Volume 3. 21 CFR172.170. [actualizado 04-01-2009; citado 20 de Abril 2009]. Disponible en:  
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.170&SearchTerm=nitrite>
38. Food and Drug Administration. 2004. Code of Federal Regulations. Food Additives permitted for direct addition to food for human consumption. Sodium Nitrite. Title 21, Volume 3. 21 CFR172.175. [actualizado 04-01-2009; citado 20 de Abril 2009] Disponible en:  
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.175&SearchTerm=nitrite>
39. Majul E, Morón M, Ramón A. Estimación de la ingesta diaria potencial de nitritos en productos cárnicos de mayor consumo en adolescentes. Revista de Salud pública y Nutrición. 2004 Sep 5(3).
40. Ruiz J, Isaac M, Prometa M, García M. Caracterización del riesgo de nitrito de sodio mediante la estimación diaria máxima teórica y la ingestión diaria efectiva por estudiantes del municipio de Santiago de Cuba. Reporte Técnico de Vigilancia 2007 Ener-Feb 12(1).
41. World Health Organization. 2002. NITRATE (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). Who food additives series, N° 50. [actualizado 13-06-2002; citado 28 de Marzo 2008]. Disponible en:  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je06.htm#1.0>
42. World Health Organization. 2002. NITRITE (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). Who food additives series, N° 50. [actualizado 13 de Junio de 2002; citado 28 de Marzo 2008]. Disponible en:  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je05.htm#1.0>
43. Gamboa N. Breve Revisión sobre Nitrosaminas y Aminas Nitrosables en la Atmósfera. Boletín de la Sociedad Química del Perú. 1995. pp. 21-37.

44. Dietrich M, Blok G, Pogoda J, Buffler P, Hecht S, Preston-Martin S. A review: dietary and endogenously formed N-nitroso compounds and risk of childhood brain tumors. *Cancer Causes and Control*. 2005 Aug; 16(6):619-35.
45. Huncharek M, Kupelnick B. A meta-analysis of maternal cured meat consumption during pregnancy and the risk of childhood brain tumors. *Neuroepidemiology*. 2004 Jan-Apr; 23(1-2):78-84.
46. Peters J, Preston-Martin S, London S, Bowman J, Buckley J, Thomas D. Processed meats and risk of childhood leukemia (California, USA). *Cancer Causes and Control*. 1994 Mar; 5(2):195-202.
47. Ministerio de Agricultura (Minag). Volumen de producción de principales productos agroindustriales. *Dinámica Agropecuaria: 1997-2007*. [citado 9 de Octubre 2009]. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/estadisticas/dinamica-agropecuaria.html>
48. Alimentos y Bebidas. *Revista de la Industria Alimentaria del Perú y del Mundo*. Año V. Edición N° 36. [citado 12 de Setiembre 2009]; [aprox. 14 p.] Disponible en: <http://www.alimentos.com.pe/indice.php?ir=37>
49. Diario Oficial "El Peruano". Sección: Economía. Lima-Perú. [página web de un sitio web]. [actualizado 21 de Febrero 2006; citado 12 de Setiembre 2009]. Disponible en: <http://www.elperuano.com.pe/edc/2006/02/21/eco4.asp>.
50. Quispe M; Estudio del mercado de carne de res y productos lácteos en Lima Metropolitana y Huancayo. Proyecto Zac Canipaco 2002. Lima Perú. [citado 12 de Setiembre 2009]. Disponible en: <http://www.infolactea.com/descargas/biblioteca/4.pdf>.
51. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI): Catálogo de Normas Técnicas Peruanas sobre Carne y Productos Cárnicos. Determinación del contenido de nitritos. Método de referencia. 2. ed. 2006.
52. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI): Catálogo de Normas Técnicas Peruanas sobre Carne y Productos Cárnicos. Determinación del contenido de nitratos. Método de referencia. 2a. ed. 2005.
53. Ministerio de Educación. Padrón de Instituciones educativas públicas 2008. Lima-Perú. [base de datos en Internet]. [citado 1 de Noviembre 2009]. Disponible

en:[http://escale.minedu.gob.pe/escale/consulta/buscar/listar\\_centros.do?metodo=lista](http://escale.minedu.gob.pe/escale/consulta/buscar/listar_centros.do?metodo=lista)  
f

54. Portal de la Municipalidad de VILLA EL SALVADOR [actualizado 10 Setiembre de 2001; citado 1 de Noviembre 2009]. Disponible en:  
[http://www.munives.gob.pe/Ves\\_Educa.htm](http://www.munives.gob.pe/Ves_Educa.htm)
55. Pandero C, Galvao J, Oliveira G, Lucas A. Determinação de nitratos e nitritos em conservas de carne comercializadas em Manaus-AM. Revista da Universidade do Amazonas. Série Ciências Agrárias, Manaus-AM. 1992; 1(2): 39-47.

# ANEXOS

## ANEXO 1: FORMATO DE LA ENCUESTA

**NOMBRE DEL COLEGIO:** .....

**GRADO:** .....

### I. DATOS GENERALES:

A. Edad: .....

B. Sexo: .....

SI

NO

### II. DATOS ESPECIFICOS:

A. Consume usted hot dog en el colegio.

a) En los puestos de venta del colegio.

b) En la puerta del colegio.

c) En la cafetería del colegio.

B. Cuantas veces consume hot dog por semana en el colegio.

i. Una vez por semana.

ii. Dos veces por semana.

iii. Tres veces por semana