



Application Note AN-U-080

Nitrito y nitrato en productos cárnicos

Análisis rutinario robusto con cromatografía iónica

Los nitritos y las sales de nitrato se utilizan como conservantes para la carne y los productos cárnicos. Están etiquetados en los alimentos como E 249–E 252. Estas llamadas sales de curado previenen el crecimiento de bacterias, estabilizan el color de la carne y realzan su sabor. Las sales de nitrato (E 251, E 252) tienen una toxicidad baja. Sin embargo, la exposición a largo plazo es preocupante, ya que la parte inferior del intestino reduce el nitrato a nitrito, que es un precursor de las nitrosaminas (clasificadas como cancerígenas) [1]. El propio nitrito está clasificado como probablemente cancerígeno para el ser humano. Los MPL (niveles máximos permitidos) después del proceso de fabricación varían para el nitrito (E 249, E 250) entre 50 y 180 mg/kg [2], y para nitrato entre 150 y 300 mg/kg [3], dependiendo del

producto. La Comisión Europea limita los nitratos y las sales de nitritos en carne procesada a menos de 150 mg/kg [4].

Los métodos clásicos de HPLC-UV a menudo sufren picos asimétricos, baja reproducibilidad en los tiempos de retención y poca sensibilidad. Otros métodos analíticos, como los métodos de análisis discretos automatizados o espectrofotométricos, muestran interferencias en función de las diferentes matrices cárnicas, lo que dificulta este tipo de análisis para los laboratorios en los que es necesario analizar una amplia variedad de productos alimenticios y bebidas.

La cromatografía iónica con detección UV ofrece una método robusto y universal para el control de calidad de nitrito y nitrato en diferentes matrices cárnicas.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se investigaron diversos productos cárnicos como el codillo, la paleta, la morcilla negra y la chistorra. La misma preparación de muestras funcionó para todos los productos cárnicos analizados.

Las muestras fueron tratadas con Carrez precipitación para eliminar grasas y proteínas. La cantidad de Carrez reactivo se ajusta al contenido de grasas y proteínas del tipo de muestra. Por ejemplo, una muestra de

carne recién picada (5 g) se trató con Carrez soluciones (2,5 ml Carrez Yo + 2,5 mL Carrez II) y diluido a 100 mL con agua ultrapura (UPW). Después de la centrifugación (5000 rpm) y filtración (0,45 µm), 10 ml de la solución se diluyeron más con UPW a 50 ml (dilución de 5 veces). Para resultados consistentes, También se prepararon soluciones patrón con Carrez reactivos

PRÁCTICA

Las muestras (50 µL) se inyectaron en el sistema IC después de la ultrafiltración en línea. Dos columnas con diferentes propiedades (Metrosep A Supp 7 - 250/4.0 y Metrosep A Supp 5 - 50/4.0) se usaron en serie para evitar la coelución de nitrito con orgánicos componentes Los analitos se separaron por cromatografía de intercambio de aniones isocráticos con un eluyente carbonato/metanol (3,6 mmol/L

Na_2CO_3 + metanol al 15 %) y un caudal de 0,7 ml/min (**Mesa 1, Figuras 1–4**). Una temperatura de columna de 52 °C mejoró aún más la resolución del pico de nitrito. La supresión secuencial redujo el ruido de fondo para permitir una detección UV/VIS sensible (205 nm). La cuantificación se realizó en un rango de 0,02 a 2,00 mg/l para nitrito y de 0,05 a 5 mg/l para nitrato.

Tabla 1. Resumen de los parámetros del método IC.

Columnas	Metrosep A Supl 7 - 250/4.0 + Metrosep A Supl 5 - 50/4.0
eluyente	3,6 mmol/l Na_2CO_3 + 15% metanol
Caudal	0,7 ml/min
Temperatura	52 °C
Inyección	50 l
Detección	ultravioleta 205nm

Se calcularon las concentraciones de muestra para nitrato de sodio y nitrito de sodio. Para mantener el sistema limpio de cualquier contaminación orgánica, la ruta de flujo de la muestra se enjuagó con

metanol/UPW (1:1 v/v) después de cada análisis y el supresor se regeneró con una mezcla de ácido sulfúrico (500 mmol/L), ácido oxálico (100 mmol/L) y acetona (20% v/v).

RESULTADOS

Figuras 1–4 muestran cromatogramas ejemplares para diferentes muestras de carne analizadas. La concentración de nitrito varió de no detectable a 54 mg/kg y la concentración de nitrato estuvo entre 10 y 50 mg/kg. Durante estas pruebas, el nitrito excedió el límite crítico de 50 mg/kg en solo una muestra (paleta de cerdo), mientras que el nitrato siempre fue bien medido dentro del límite de concentración permitido [4]. Los estudios a largo plazo en los laboratorios de control de calidad de los fabricantes de carne han demostrado que este método IC es lo suficientemente

robusto y preciso para el análisis de rutina de nitrito y nitrato.

Este método analítico universal también es adecuado para muestras de bebidas y vegetales. Se evaluó una amplia variedad de muestras de alimentos y bebidas, mostrando picos simétricos, alta reproducibilidad de los valores de concentración e interferencias insignificantes de los compuestos de la matriz. Los límites de cuantificación estuvieron muy por debajo de 5 mg/kg para el nitrito de sodio y el nitrato de sodio en todas las muestras analizadas.

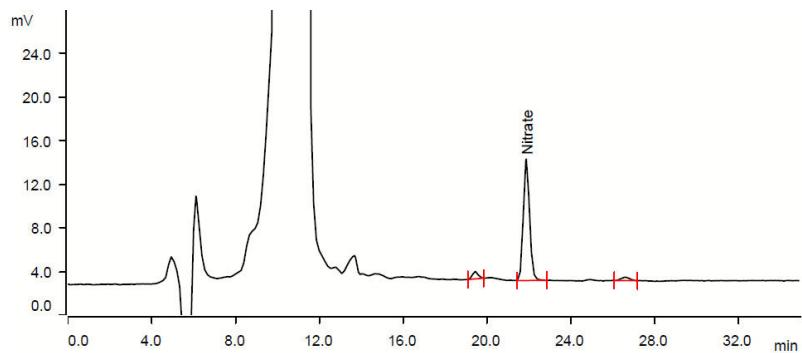


Figure 1. Cromatograma de una muestra de morcilla negra. Resultados: nitrito de sodio <1,0 mg/kg y nitrato de sodio 22,5 mg/kg.

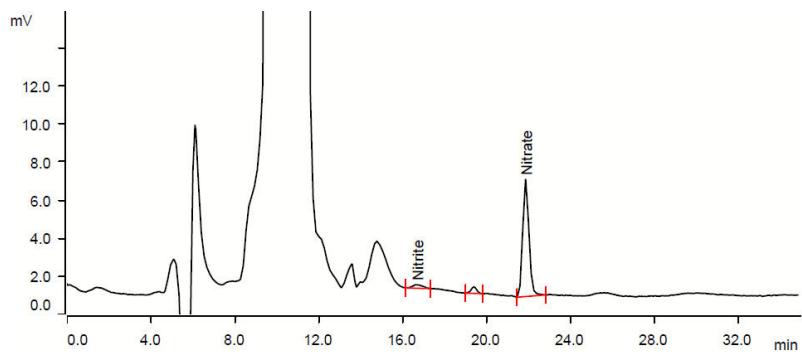


Figure 2. Cromatograma de una muestra de codillo de cerdo. Resultados: nitrito de sodio 1,5 mg/kg y nitrato de sodio 9,6 mg/kg.

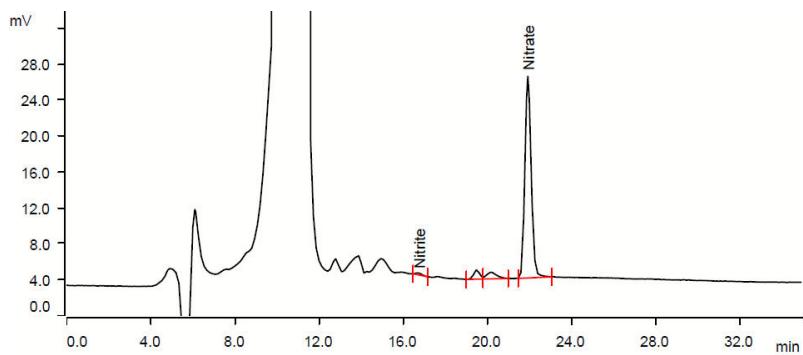


Figure 3. Cromatograma de una muestra de chorizo de Chistorra. Resultados: nitrito de sodio <1,3 mg/kg y nitrato de sodio 49,4 mg/kg.

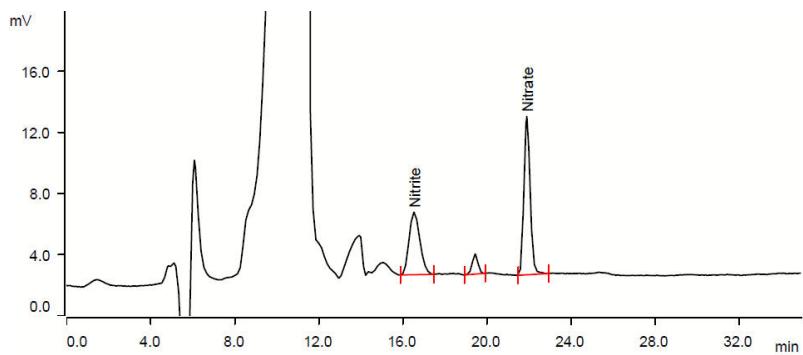


Figure 4. Cromatograma de una muestra de paleta de cerdo. Resultados: nitrito de sodio 53,7 mg/kg y nitrato de sodio 20,0 mg/kg.

CONCLUSIÓN

La preparación de la muestra descrita y el método cromatográfico funcionaron para todos los productos cárnicos probados. El método IC presentado con dos columnas de separación garantiza una resolución óptima de nitrito y el nitrato de los picos de matriz que interfieren y, por lo tanto, un análisis sensible para el control de calidad incluso en matrices complejas (LOQ <5 mg/kg para productos cárnicos). Este método ya está establecido en ciertos laboratorios de alimentos como un método estándar para el control de calidad, exhibiendo una alta precisión y reproducibilidad independiente de la matriz alimentaria.

La ultrafiltración en línea hace que este método sea aún más adecuado para análisis de rutina rápidos y

que ahorran tiempo porque la preparación de muestras es sencilla y no requiere cartuchos de preparación de muestras costosos como en algunos métodos tradicionales. Como cualquier matriz que interfiere se elimina mediante ultrafiltración en línea o se resuelve bien en la columna analítica, este método muestra un rendimiento analítico superior para determinar nitrito y nitrato en muestras de carne en comparación con la HPLC-UV clásica.

El nitrito y el nitrato se cuantifican directamente, lo que es una ventaja sobre los métodos tradicionales en los que se determina el parámetro de suma del nitrógeno total (p. ej., Método oficial AOAC 935.48 o 993.03).

REFERENCIAS

1. Wang, P. et al. (2002), Donantes de óxido nítrico: actividades químicas y aplicaciones biológicas, *Chemical Reviews* 102 (4): 1091–1134.
2. EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) (2017), Reevaluación del nitrito de potasio (E 249) y el nitrito de sodio (E 250) como aditivos alimentarios, *EFSA Journal* 15(6):4786.
3. EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) (2017), Reevaluación del nitrato de sodio (E 251) y el nitrato de potasio (E 252) como aditivos alimentarios, *EFSA Journal* 15(6):4787.
4. Comisión Europea (2011) Decisión n.º 1129/2011/CE, de 11 de noviembre de 2011, por la que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) n.º 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo por el que se establece una lista de la Unión de aditivos alimentarios. Fuera de J Eur Union L295 1-177.

Internal reference: AW IC ES6-0010-042020

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



930 Compact IC Flex Oven/SeS/Deg

El 930 Compact IC Flex Oven/SeS/Deg es un aparato inteligente Compact IC con **hornos para columnas, supresión secuencial y desgasificador** incorporado. Para la regeneración del supresor se puede emplear un 800 Dosino. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección. Ámbitos típicos de aplicación:

- Determinaciones de cationes o aniones sin supresión secuencial y detección de conductividad



947 Professional UV/VIS Detector Vario SW

El detector inteligente de una longitud de onda, el 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW, permite cuantificar las sustancias activas en el espectro ultravioleta o visible de forma segura y fiable. Se puede seleccionar una longitud de onda.



Metrosep A Supp 5 - 50/4,0

En menos de 6 minutos, la Metrosep A Supp 5 - 50/4,0 separa los siete aniones estándar. Incluso el fluoruro está separado del pico de inyección y puede integrarse sin problemas. La columna, basada en un polímero de alcohol polivinílico, se caracteriza, como todas las columnas de la familia A Supp 5, por un alto número de platos y, en consecuencia, una excelente eficacia de separación. La Metrosep A Supp 5 - 50/4,0 es la columna adecuada cuando se deben solucionar tareas de separación sencillas en poco tiempo y sin renunciar a límites de detección muy bajos.



Metrosep A Supp 7 - 250/4,0

Se sospecha que los subproductos del tratamiento del agua (subproductos de la desinfección) no solo pueden resultar nocivos para la salud, sino también ser cancerígenos. Por eso, los oxohalogenuros han sido objeto de muchos estudios y normas (p. ej. EPA 300.1 parte B, EPA 317.0, EPA 326.0). En particular, se trata del bromato que se forma en la ozonificación de agua potable a partir de bromuro. La Metrosep A Supp 7 - 250/4,0 es una columna de separación de alto rendimiento para la determinación paralela de aniones estándar, oxohalogenuros y ácido dicloroacético. Con esta columna es posible determinar estos iones hasta la gama de µg/L inferior de forma segura y precisa. La alta sensibilidad de detección se logra usando el polímero de alcohol polivinílico de 5 µm con el que pueden alcanzarse números de platos extremadamente elevados y con ellos excelentes propiedades de separación y detección. Además, es posible adaptar la separación a las exigencias específicas de la aplicación modificando la temperatura.



919 IC Autosampler plus

El 919 IC Autosampler plus satisface los requisitos de laboratorios con un número medio de muestras. Con él se pueden automatizar los diferentes instrumentos de cromatografía iónica de Metrohm.



800 Dosino

El 800 Dosino es un accionamiento con hardware de grabación/lectura para Unidades de dosificación inteligentes. Con cable fijo (150 cm).



807 Dosing Unit 2 mL

807 Dosing Unit con chip de datos integrado con cilindro de vidrio de 2 mL y protección contra la luz, montable en una botella de reactivo con rosca de vidrio ISO/DIN GL 45. Conexión de tubo de FEP, punta antidifusión.