

# Efecto de la adición de ácido ascórbico en la degradación de nitratos y nitritos en mortadela

Humberto, Ayala-Armijos<sup>1</sup>; Carlos, García González<sup>2</sup>; Raquel, Sánchez-Prado<sup>3</sup>; Yiceth Jirón-Velez<sup>4</sup>; Washington, Espinoza-Ramón<sup>5</sup>

## Resumen

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la adición de ácido ascórbico para reducir la concentración de nitritos y nitratos en mortadela. Se realizaron tres formulaciones de mortadela a las cuales se añadió tres concentraciones diferentes de ácido ascórbico (F1: 0,25 g/kg, F2: 0,50 g/kg y F3: 0,75 g/kg) y un testigo. Mediante espectrofotometría UV-Visible se cuantificó la concentración inicial y la final de nitratos y nitritos y la formación de color, y mediante voltametría se cuantificó el ácido ascórbico residual. El análisis de varianza indicó que si existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tres tratamientos. Se alcanzó reducción de nitratos del 30,78% en la F1, 50% en la F2 y 76% en la F3 y valores de nitrito formado de 0,41 mg/kg en la F1, 0,24 mg/kg en la F2 y 0,04 mg/kg en la F3, en la formación de nitritos. La F3 presentó el mayor porcentaje de reducción de nitratos y la menor cantidad de formación de nitritos. En conclusión la adición de ácido ascórbico a la mortadela reduce la concentración residual de nitratos al cabo de tres días, donde ya no se presentó reducción significativa de este conservante.

**Palabras Clave:** ácido ascórbico; espectrofotometría UV-Visible; mortadela; nitritos; nitratos; voltametría.

## Effect of addition of ascorbic acid in the degradation of nitrate and nitrite in mortadella

### Abstract

The aim of this research was to evaluate the effect of the addition of ascorbic acid to reduce the concentration of nitrites and nitrates in mortadella. Three formulations of mortadella were tested to which three different concentrations of ascorbic acid (0.25 g / kg, F2: 0.50 g / kg and 0.75 g / kg F1) were added. Through UV-visible spectrophotometry it was quantified the initial and final concentration of nitrates and nitrites and color formation, and the residual ascorbic acid was quantified by voltammetry. The analysis of variance indicated that there was significant difference ( $p < 0,05$ ) among the three treatments. Nitrate reduction of 30.78% in F1, F2 50% at 76% and the values of F3 and formed nitrite 0.41 mg / kg in F1 0.24 mg / kg was achieved in F2 and 0.04 mg / kg in F3, in the formation of nitrite. F3 showed the highest percentage reduction of nitrates and the least amount of formation of nitrite. In conclusion, the addition of ascorbic acid to mortadella reduces the residual nitrate concentration after three days, where no longer significant reduction of this preservative was presented.

**Keywords:** ascorbic acid; spectrophotometry UV-Visible; mortadella; nitrites; nitrates, voltammetry.

**Recibido:** 15 de marzo de 2016

**Aceptado:** 12 de julio de 2016

<sup>1</sup>Ingeniero en Alimentos. Máster en Procesamiento de Alimentos. Docente titular de la Universidad Técnica de Machala. [jayala@utmachala.edu.ec](mailto:jayala@utmachala.edu.ec)

<sup>2</sup>Bioquímico Farmacéutico. Máster en Química Farmacéutica. Docente titular de la Universidad Técnica de Machala. [cgarcia@utmachala.edu.ec](mailto:cgarcia@utmachala.edu.ec)

<sup>3</sup>Bioquímica Farmacéutica - Universidad Técnica de Machala. [raquelsanchezprado40@gmail.com](mailto:raquelsanchezprado40@gmail.com)

<sup>4</sup>Bioquímica Farmacéutica - Universidad Técnica de Machala. [yicenandajironv@gmail.com](mailto:yicenandajironv@gmail.com)

<sup>5</sup>Ingeniero químico. Docente de la Universidad Técnica de Machala. [wespinoza@utmachala.edu.ec](mailto:wespinoza@utmachala.edu.ec)

## I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en octubre de 2015, basada en estudios realizados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) declaró los embutidos como cancerígenos (OMS, 2014). El uso de conservantes químicos como nitratos y nitritos en la elaboración de productos cárnicos, es imprescindible, por su acción antimicrobiana y por la coloración rosada que forma en los embutidos. La utilización de estos compuestos aunque está justificada, hay que señalar que se ha descrito para estos aditivos una problemática de tipo toxicológico, que hace cuestionar su uso en este tipo de alimento (Jakszyn, 2006).

La acción que tienen los nitritos y nitratos al inhibir a *Clostridium botulinum* (bacteria causante del Botulismo), es un argumento poderoso acerca de la necesidad de utilizarlo sin tomar en cuenta la salud del consumidor. Un factor determinante en la incidencia de la toxicidad del nitrito es la concentración de nitratos, ya que estos últimos pueden reducirse a nitritos por la acción de bacterias nitrato-reductasas. De acuerdo a estudios efectuados por la OMS y otras instituciones de salud, se ha detectado que los nitratos, al reducirse a nitritos, puede provocar la enfermedad conocida como metahemoglobinemia (Cabrera et al., 2003) (Rodríguez et al., 2012).

Aunque la formación de metahemoglobina es un proceso reversible, si puede llegar a provocar la muerte, especialmente en los lactantes. Ésta es una población de alto riesgo por tener una acidez estomacal baja, lo que permite el crecimiento de ciertos tipos de bacterias en el estómago y los intestinos, facilitando la reducción de nitratos a nitritos.

Además los nitritos originan compuestos cancerígenos denominados nitrosaminas, al reaccionar con aminas secundarias o terciarias presentes en el embutido. Las cuales pueden surgir, en el producto cárnico, lo que se conoce como nitrosación exógena y en el organismo, de manera fundamental, en la saliva y el estómago, lo que se conoce como nitrosación endógena.

Las nitrosaminas pueden ser metabolizadas a fuertes agentes alquilantes (radicales libres). Dichos agentes tienen la capacidad de reaccionar con el ADN alterando la configuración de sus bases. Investigaciones realizadas por la OMS revelan que la acumulación de radicales libres en el organismo,

puede conducir al deterioro y muerte celular, envejecimiento, estrés oxidativo, y algunos tipos de cáncer.

Las nitrosaminas han probado favorecer el cáncer oral. La producción de nitrosaminas, y su metabolismo a nivel de la cavidad oral, se relaciona íntimamente con la absorción de nitratos presentes en la dieta. En la cavidad oral, los nitratos (NO<sup>-3</sup>) son transformados en nitritos (NO<sup>-2</sup>) por la acción de bacterias nitrato-reductasas, estos reaccionan con aminas y amidas para formar nitrosaminas. La carcinogenicidad de estos compuestos puede resultar de una exposición de corta duración, a una dosis elevada o a exposición crónica a dosis relativamente bajas.

En vista de la complejidad del problema, lo que interesa es restringir la presencia de nitrosaminas y sus posibles precursores, tanto como sea posible, en los alimentos. Esto no debería ir acompañado de una pérdida de protección frente al botulismo u otros atributos y, por ello, probablemente la mejor alternativa sea la utilización de inhibidores de la nitrosación, como el ácido ascórbico.

El consumo de alimentos con ácido ascórbico disminuye el riesgo de desarrollar algunos tipos de cánceres: gástrico, y colorrectal (Zamora, 2007), considerado como uno de los más potentes agentes antioxidantes del organismo. Es una vitamina hidrosoluble y esencial. Los antioxidantes de la dieta como el carotenos, vitamina E y vitamina C pueden inhibir la formación intragástrica de esos compuestos N-nitrosos, como también neutralizar o “barrer” radicales libres y de esta manera proteger contra el cáncer gástrico.

En consecuencia, podría estudiarse la posibilidad de reducir los niveles de nitratos y nitritos adicionados hasta niveles en que solo fuesen necesarios, para desempeñar sus funciones tecnológicas. Se recomienda utilizar ácido ascórbico en la formulación de las sales del curado.

La actuación frente a la formación de nitrosaminas en los alimentos se basa en el empleo de sustancias inhibitoras y bloqueantes de la nitrosación, tales como el ácido ascórbico o vitamina C y el  $\alpha$ -tocoferol o vitamina E.

También ha sido observado en productos cárnicos curados, por lo que se recomienda que las mezclas empleadas en el curado de estos productos presenten ascorbatos o eritrobatos en concentraciones de 550

ppm (Ventanas & Ruiz, 2004). Rywotycki observó el aumento de los niveles de nitrosaminas en jamones pasterizados como consecuencia del empleo de polifosfatos y nitrito sódico, los cuales se reducían considerablemente con el empleo de ascorbato sódico (Ventanas & Ruiz, 2004) (Rywotycki, 2002).

## II. DESARROLLO

### 1. Metodología

**Localización de la Investigación.** El presente trabajo de investigación, se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala, localizado en el km 5 ½ vía Pasaje.

Latitud 3°17' 07,19"

Longitud 79°54' 46,17"

**Tipo de investigación.** Por ser un estudio explicativo experimental, consecuentemente, consistió en realizar una explicación del comportamiento de las concentraciones de nitratos y nitritos al variar la concentración de ácido ascórbico en el embutido. El desarrollo del diseño experimental se fundamentó en los beneficios obtenidos al reducir la concentración de  $\text{NaNO}_3^-$  y  $\text{NaNO}_2^-$  en los productos cárnicos al variar la concentración de ácido ascórbico (vit C) a tres diferentes concentraciones (0,25, 0,5 y 0,75 g/kg) (Souvik, 2016).

**Diseño del experimento.** Para el desarrollo del experimento, se elaboró una muestra testigo de mortadela la cual contuvo los ingredientes estándar para este tipo de embutido (Carne de res sin tejido conjuntivo 64%; grasa de cerdo 15%; hielo triturado 19%; sal curante 2%; azúcar 0,2%; ajo en polvo 1g/Lb; condimentos para mortadela 1g/Lb; polifosfatos 1g/Lb; emulsificantes 1g/Lb) (FAO, 2000), y tres formulaciones de mortadela en la cual solo se varió la concentración de ácido ascórbico ( $F_1= 0,25$  g/kg;  $F_2= 0,5$  g/kg;  $F_3= 0,25$  g/kg). Ver Tabla 1.

Tabla 1. Diseño del experimento.

Tipo de muestra	Concentración de ácido ascórbico (g/kg)
Testigo	0,0
Formulación 1	0,25
Formulación 2	0,50
Formulación 3	0,75

### Métodos analíticos

**Determinación de Nitratos en Mortadela.** El método empleado para la determinación de nitratos fue diazotación mediante de espectrofotometría UV-Visible. (INEN - 785, 2012)

La cuantificación de los nitritos mediante espectrofotometría UV-visible, se la realizó previo tratamiento de la muestra: 10 g de muestra en 90 mL de agua desionizada, se licúa, se filtra y se coloca la emulsión obtenida en tubos de 10 mL. Posteriormente se añade el reactivo (ferrocianuro potásico al 15% y acetato de zinc al 30 %) y después de 5 minutos se realiza la lectura en el equipo a 410 nm. La formación de coloración marrón indica la presencia cualitativa de nitratos (Hach Company, 2005).

**Determinación de Nitritos en Mortadela.** El método empleado para la determinación de nitritos fue la reducción de cadmio método de espectrofotometría UV-Visible (INEN - 784, 2012).

La cuantificación de los nitratos, mediante espectrofotometría UV-visible, se la realizó previo tratamiento de la muestra: 10 g de muestra en 90 mL de agua desionizada, se licúa, se filtra y se coloca la emulsión obtenida en tubos de 10 mL. Posteriormente se añade el reactivo (ferrocianuro potásico al 10% y acetato de zinc al 22 %) y después de 5 minutos se realiza la lectura en el equipo a 410 nm. La coloración verde indica la presencia cualitativa de nitritos (Hach Company, 2005).

**Determinación del Color.** El método empleado para la determinación de color fue el método de espectrofotometría UV-Visible basados en la Normativa Técnica Ecuatoriana NTE INEN 784.

Se realizó el tratamiento previo a la muestra, de acuerdo a Hach Company (2005): se tritura y pesa 10 g de muestra, en 100 mL de agua desionizada, se coloca 1 mL de la solución sobrenadante en tubos de 10 mL y añade 9 mL de acetona, se deja reposar por 24 horas y mide las unidades de color a una absorbancia a 538 nm.

**Determinación de ácido ascórbico mediante Voltametría lineal.** Este método comprende un grupo técnicas electroquímicas que se basan en la respuesta corriente-potencial de un electrodo polarizable en la solución que se analiza.

En estas técnicas, se estudian los cambios de corriente, como una función del potencial aplicado a través de la celda electrolítica. El proceso involucra la electrólisis de una o más especies electroactivas, el cual

comprende: reacción de la especie electroactiva en el electrodo y mecanismo de transferencia de masa. Estos últimos pueden ser por migración (movimiento de especies por diferencia de carga), convección (movimiento de la materia por cambios físicos) y difusión (movimiento de las especies por gradiente de concentración). El equipo utilizado fue el Potenciostato Princeton Applied Research (Ortiz & Martínez, 2013). Ver Figura 1.



Figura 1. Potenciostato marca Princeton Applied Research

El método establece la concentración desconocida del analito (Ácido ascórbico) en la muestra que es analizada, agregando una cantidad definida de una solución estándar de concentración conocida. Para ello se establece una relación entre el volumen de estándar agregado y la respuesta del análisis (corriente máxima).

## 2. Resultados y discusión

### Cuantificación Inicial de la Concentración de Nitratos y Nitritos en la Mortadela

Los nitratos son empleados como conservantes de productos cárnicos. Además de proporcionar color adecuado a la carne, los nitritos tienen otros efectos sobre los alimentos: retarda el proceso de oxidación de los lípidos, con la consecuente disminución del característico olor de enranciamiento, produce una mayor firmeza en la textura, y provee a los alimentos de un importante efecto antimicrobiano (especialmente frente a *Clostridium botulinum* y sus toxinas) (Usinger, et al., 2016; Caballero, et al., 2016). En la Figura 2 se muestra las concentraciones iniciales de nitritos y nitratos del testigo y las tres formulaciones estudiadas.

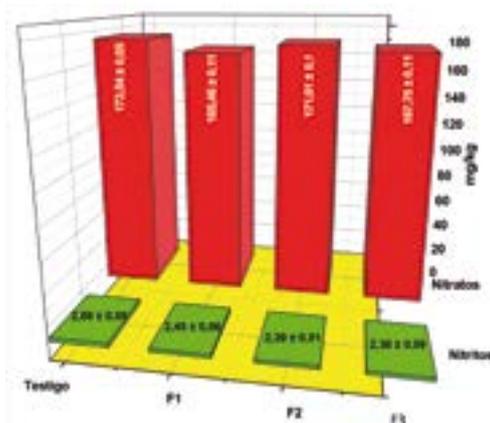


Figura 2. Concentraciones iniciales de nitratos y nitritos.

La Figura 2 indica las concentraciones iniciales de nitrato de sodio que se obtuvieron en el experimento, el testigo alcanzó la mayor concentración con 173,54 mg/kg, mientras que la F1 obtuvo 165,46 mg/kg. Además, existió una mínima degradación de los nitratos a nitritos, produciéndose 2,45 mg/kg de nitritos en la Formulación 1. (Ruíz & Jiménez, 2008; Ruíz & Jiménez, 2008)

### Cuantificación de la Concentración de Nitratos y Nitritos Después de Tres Días de Experimentación

Las normas del Codex Alimentarius para los productos cárnicos elaborados, establecen que la dosis máxima añadida de sales de nitrito de sodio y/o potasio es 175 ppm. Sin embargo, la cantidad precisa para un control efectivo del botulismo depende de cada tipo de producto en particular, siendo el nivel de nitrito residual presente en el producto determinante para impedir el crecimiento del *C. botulinum* (Dos Santos, 2010). En las Figuras 3 y 4 se muestran las concentraciones constantes a las cuales llegaron los nitritos y nitratos, de las tres formulaciones estudiadas.

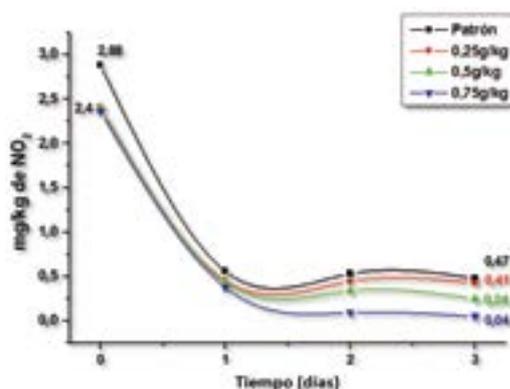


Figura 3. Concentración constante de nitritos

La Figura 3 indica las concentraciones constantes a las cuales llegaron los nitritos después de tres días de experimentación. Evidenciándose que el embutido que presentaba en su formulación 0,75 gr de ácido ascórbico degradó más a los nitritos, ya que éste inició con una concentración de 2,36 mg/kg y finalizó el día 3 con 0,04 mg/kg, en comparación al patrón (que no contiene ácido ascórbico), éste inició con una concentración de 2,88 mg/Kg y finalizó el día 3 con 0,47 mg/Kg. El ácido ascórbico y sus sales permiten una reducción en las cantidades de nitrito necesarias para el óptimo desarrollo del color. (Fatemeh, et al., 2016; Minh, et al., 2014; Chang, et al., 2016; Eric, et al., 2016)

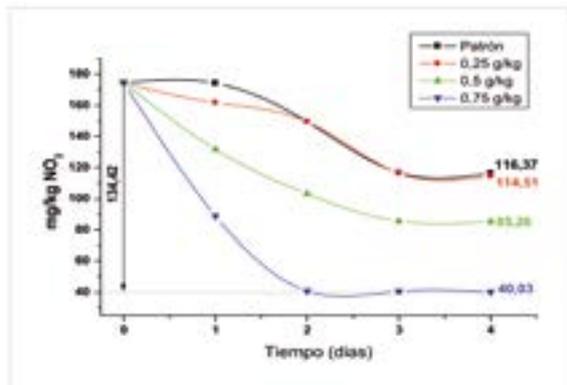


Figura 4. Reducción de la concentración nitratos hasta concentración constante.

La Figura 4 indica que el experimento, después de tres días llegó a concentraciones constantes de nitratos, alcanzando el patrón 116,37 mg/kg y la F3 40,03 mg/kg. Cuando se utiliza el nitrato como conservante este es reducido hasta óxido nitroso (NO), debido a la acción reductora que poseen las bacterias nitrato-reductasas presentes en la carne. El ácido ascórbico acelera ésta transformación (Díaz, 2002).

No se evidencia diferencia significativa en la concentración de nitrato entre el 3er y 4to día de experimentación. Los valores presentes en la Tabla 2 indican que las concentraciones de nitratos analizadas entre el día 3 y 4 no presentan diferencia significativa ( $p \geq 0,05$ ), entre la variable antes mencionada.

Tabla 2. ANOVA de una vía del experimento

Fuente	Día	Media NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Varianza	Significancia
Testigo	3	31,31	0,01	F = 0,73
	4	31,28	0,44	<b>p = 0,43</b>
Formulación 1	3	30,75	0,41	F = 2,84
	4	30,79	0,01	<b>p = 0,16</b>
Formulación 2	3	30,75	0,41	F = 7,51
	4	30,78	0,01	<b>p = 0,05</b>
Formulación 3	3	14,10	0,30	F = 2,16
	4	10,78	0,58	<b>p = 0,21</b>

### Determinación del Porcentaje de Acidez

La acidificación es un fenómeno importante en los embutidos, ya que contribuye al enrojecimiento del producto final (Jiménez & Carballo, 1989). En la Figura 5 se muestran los porcentajes de acidez alcanzados en el experimento.

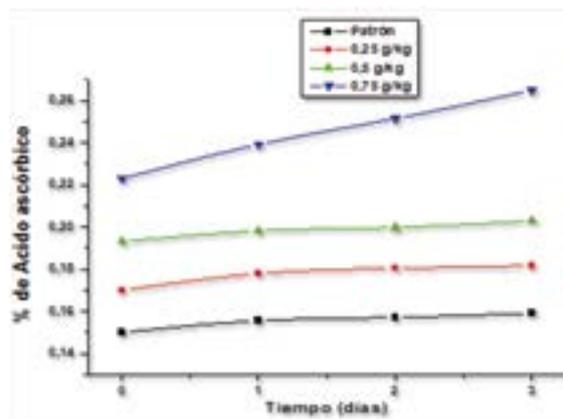


Figura 4. Reducción de la concentración nitratos hasta concentración constante.

La Figura 5 indica el % de acidez en cada una de las formulaciones durante tres días de experimentación, observándose que existió una acidez de 0,265 % que corresponde a la formulación 3 del día 3 y el porcentaje menor fue de 0,1536% que corresponde al patrón del día 0. Se evidenció que el porcentaje de acidez aumentó al transcurrir los días. Además de las bacterias que contribuyeron al enrojecimiento, se desarrolla otro importante grupo de gérmenes (bacterias acidolácticas, debido a que se degrada el glucógeno presente en la carne dando lugar a la formación de ácido láctico), acidificándose de este modo el producto final.

### Determinación del pH

La disminución de la concentración de iones hidrógenos en un embutido indica que este alimentos se está acidificando (Mansilla, 2014). En la Figura 6 se muestra los valores de pH y acidez respectivamente.

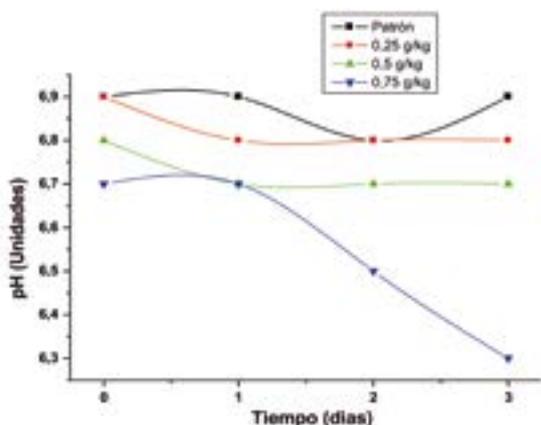


Figura 6. Comportamiento del pH durante el tiempo de experimentación

La Figura 6 indica el pH en el patrón y las tres formulaciones, durante los tres días de experimentación, observándose que el pH mayor obtenido fue de 6,9 que correspondió al patrón del día 3 y en el menor de los casos un pH de 5,6 a la formulación 3 del día 3.

### Determinación del Color

El problema práctico al que se enfrenta esta parte de la óptica es especificar los colores, es decir, que dado un color, se le pueda asignar una denominación inequívoca que dé las bases para reproducirlo con exactitud, o bien que dada una fuente de luz (primaria transmitida o reflejada por un cuerpo), se disponga de los métodos científicos para determinar su color una vez establecida la norma de especificación (Yong, 2008). En la Figura 7 se muestra los valores de las unidades de color determinados mediante espectrofotometría UV-Visible, en el patrón y las tres formulaciones.

La Figura 7 indica la formación de una gran variedad de colores en el patrón (muestra sin ácido ascórbico), mientras que en las tres formulaciones donde se incorporó el ácido ascórbico existió menos formación de colores y el color predominante en el experimento fue el rosado, alcanzando mayor intensidad en la formulación 3 (741 unidades).

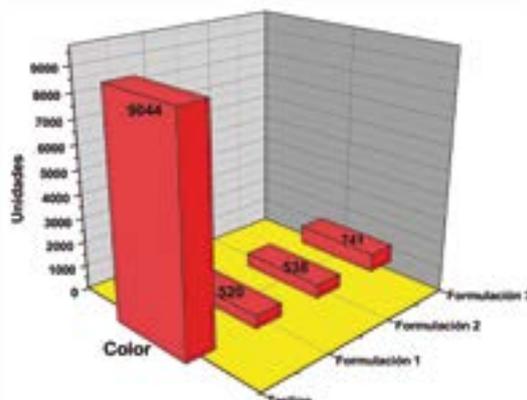


Figura 7. Medición de color en la mortadela.

### Determinación del Color

La Figura 7 indica la formación de una gran variedad de colores en el patrón (muestra sin ácido ascórbico), mientras que en las tres formulaciones donde se incorporó el ácido ascórbico existió menos formación de colores y el color predominante en el experimento fue el rosado, alcanzando mayor intensidad en la formulación 3 (741 unidades).

### Cuantificación del Ácido Ascórbico Residual en el Experimento

Las reacciones de nitrosación pueden verse afectadas por diversos agentes, como ciertos aniones y ácidos débiles, fenoles,  $\alpha$ -tocoferol propilgalato, piperacina, sin lugar a dudas el más estudiado y utilizado en la elaboración de alimentos es el ácido ascórbico, que se comporta como un potente inhibidor de la nitrosación (Ordoñez, et al., 2008). En la Figura 8 se muestra la concentración de ácido ascórbico residual.

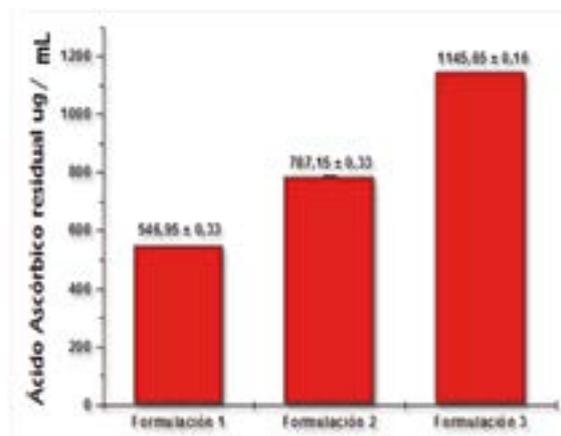


Figura 8. Concentración residual de ácido ascórbico.

La Figura 8 da cuenta que el residual de ácido ascórbico presente en la Formulación 1 (0,25 g de ácido ascórbico/kg) fue de 546,95 µg/mL, para la Formulación 2 (0,5 g de ácido ascórbico/kg) se obtuvo un residual de 787,15 µg/mL y para la Formulación 3 (0,75 g de ácido ascórbico/kg) su residual fue de 1145,65 µg/mL.

### III. CONCLUSIONES

Mediante espectrofotometría UV-visible se analizaron cuatro diferentes formulaciones, obteniéndose concentraciones finales de nitratos, en el caso de la muestra patrón fue de 116,37 mg/kg, esto representa una reducción aproximada del 33 %, mientras que para la formulación 3 se obtuvo 30,05 mg/Kg, esto representa una reducción del 75 %. Con esto puede concluirse que la adición de ácido ascórbico en la mortadela favorece a la reducción de los niveles residuales de nitratos y nitritos, limitando así el potencial de formación de nitrosaminas cancerígenas. (Ibañez, et al., 2003; Butler, 2015)

Al reducir las concentraciones de nitratos y nitritos en un 75% en la mortadela, se bloquea el mecanismo químico para la formación de nitrosaminas, en la F3 (0,75 g/kg) el ácido ascórbico se disminuyó en 99,84%, lo cual indica que casi en su totalidad reaccionó con el nitrato, debido a su alto poder reductor y gran efectividad como aceleradores de la oxidación de los nitratos y nitritos y se transformó en dihidroascorbato (Honikel, 2008; Redondo, et al., 2013).

El pH disminuyó al transcurrir los días de experimentación, observándose un pH de 6,9 en la muestra patrón en el día 3 y Ph 5,6 correspondiente a la formulación 3 en el día 3. El pH desciende con el aumento de la acidez y de la concentración de ácido ascórbico, contribuyendo a la formación del color, olor y sabor característicos del producto, a pH menores a 5,5 se bloquea la reducción de nitratos a nitritos y la coloración es nula. (Holmgaard, et al., 2013)

La F3 presentó el mayor % de reducción de nitratos y la menor cantidad de formación de nitritos. En conclusión la adición de ácido ascórbico a la mortadela reduce la concentración residual de nitratos al cabo de tres días, donde ya no se presentó reducción significativa ( $p > 0,05$ ) de este conservante.

El análisis del colorimetría en la muestra patrón (muestra sin ácido ascórbico), presentó una gran variedad de colores mientras que en las tres formulaciones donde se incorporó el ácido ascórbico existió menos formación de colores y el color predominante y de mayor intensidad

fue el rosado.

### IV. REFERENCIAS

- Butler, A. (2015). Nitrites and nitrates in the human diet: Carcinogens or beneficial hypotensive agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 167, 105-107.
- Caballero, B., Fingla, P., & Toldra, F. (2016). Nitrites and Nitrates. *Encyclopedia of Food and Health*.
- Cabrera, E., Hernández, L., Gómez, H., & Cañizares, M. (2003). Determinación de nitratos y nitritos en Agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 47(1), 88-93.
- Calderón, D., Villegas, M., Rodríguez, R., Hernández, E., & Santamaría, D. (2005). Nuevo método de cromatografía de líquidos para medición de nitritos y nitratos en cerebro de rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 36(2), 10-15.
- Chang, S., Ismail, A., & Daud, D. (2016). Ascorbic Acid: Properties, Determination and Uses. *Encyclopedia of Food and Health*, 275-284.
- Díaz, O. (Enero de 2002). Efecto de la adición de proteasas en el proceso madurativo de los embutidos crudos curados. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos.
- Dos Santos, M. (2010). Cuantificación espectrofotométrica de nitritos en embutidos de carne producidos en Angola. *Revista Cubana de Química*, 22(3), 99-102.
- Eric, P., Viv, B., Sorn, N., Hopkins, D., Tim, P., & Jacobs, J. (2016). Muscle antioxidant (vitamin E) and major fatty acid groups, lipid oxidation and retail colour of meat from lambs fed a roughage based diet with flaxseed or algae. *Meat Science*, 111, 154-160.
- FAO. (2000). Procesamiento de carnes. *PRODAR-IICAc*.
- Fatemeh, R., Fariba, Z., Ebrahim, H., Homa, B., & Sobhan, S. (2016). Oxidation phenomena and color properties of grape pomace on nitrite-reduced meat emulsion systems. *Meat Science*, 121, 350-358.
- Hach Company. (2005). Determinación de Nitritos, Nitratos y Color. Manual del Espectrofotómetro UV-Visible.
- Holmgaard, K., Lindahl, G., Karlsson, A., Lloret, E., Gou, P., Arnau, J., & Orlien, V. (2013). The effect of high pressure and residual oxygen on the color stability of

- minced cured restructured ham at different levels of drying, pH, and NaCl. *Meat Science*, 95(2), 433-443.
- Honikel, K.-O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78, 68-76.
- Ibáñez, F. C., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). *Aditivos Alimentarios*. Universidad Pública de Navarra-Área de Nutrición y Bromatología, 7.
- INEN - 784. (2012). *Productos carnicos: Determinación de nitratos*. Norma Técnica Ecuatoriana INEN 785.
- Jakszyn, P. (2006). *Nitrosaminas y riesgo de cáncer gástrico*. Tesis de doctorado. Universidad de Pompeu Fabra. Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud.
- Jiménez, F., & Carballo, J. (1989). *Principios básicos en la elaboración de embutidos*. Madrid: Rivadcneyra, S. A.
- Mansilla, G. (2014). *Potencial de hidrogeniones pH*. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 40(40), 2076-2082.
- Minh, H., Bekhit, A. E.-D., & Carne, A. (2014). Effects of L- and iso-ascorbic acid on meat protein hydrolyzing activity of four commercial plant and three microbial protease preparations. *Food Chemistry*, 149, 1-9.
- OMS. (2014). *La OMS declara cancerígena la carne procesada*. Ginebra, Suiza.
- Ordoñez, J., Anadón, A., Arboix, M., Centrich, F., Juárez, M., Palou, A., Suárez, L., Blanch, A., Marín, M. (2008). *Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición sobre una cuestión planteada por la Dirección Ejecutiva de la AESAN en relación con el riesgo de la posible presencia de N-Nitrosaminas en productos cárnicos crudos*. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 8, 9-40.
- Ortiz, R., & Martínez, Y. (2013). *Voltimetría*. Mérida: Universidad de los Andes-Laboratorio de Análisis Instrumental.
- Redondo, S. M., Valenzuela, M. C., Cassada, D., Snow, D., Juneja, V., Burson, D., & Thipparreddi, H. (2013). Effect of meat ingredients (sodium nitrite and erythorbate) and processing (vacuum storage and packaging atmosphere) on germination and outgrowth of *Clostridium perfringens* spores in ham during abusive cooling. *Food Microbiology*, 35(2), 108-115.
- Rodríguez, S., Gauna, L., Martínez, G., Acevedo, H., & Romero, C. (2012). Relación del nitrato sobre la contaminación bacteriana del agua. *Terra Latinoamericana*, 30(2), 111- 119.
- Ruiz, C., & Jiménez, F. (2008). Aplicación del análisis de inyección de flujo (FIA) a la determinación de nitratos y nitritos en productos cárnicos. *Eurocarne*, 18(171), 51-58.
- Ruiz, C., & Jimenez, F. (2008). Review: Determination of preservatives in meat products by flow injection analysis (FIA). *Food Additives and Contaminants: Part A*, 25(10), 1167 - 1178.
- Rywotycki, R. (2002). The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. *Revista Meat Sci.*, 60(4), 335-339.
- Souvik, C. R. (2016). Sequential experimental design based generalised ANOVA. *Journal of Computational Physics*, 317, 15-32.
- Usinger, E., Larson, E., Niebuhr, S., Fedler, C., Prusa, K., Dickson, J., Rodrigo, T., Sebranek, J. (2016). Can supplemental nitrate in cured meats be used as a means of increasing residual and dietary nitrate and subsequent potential for physiological nitric oxide without affecting product properties. *Meat Science*, 121, 324-332.
- Ventanas, S., & Ruiz, J. (Octubre de 2004). Nitratos, nitritos y nitrosaminas en productos cárnicos (II). Estrategias de actuación y métodos de análisis de nitrosaminas. *Revista Eurocarne*, 14(130), 37-49.
- Yong, K. L. (2008). Influence of filler on the difference between the transmitted and reflected colors of experimental resin composites. *Dental Materials*, 49(254), 1243-1247.
- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición*, 34(1), 17-26.