

DETERMINACION DE NITRATOS Y NITRITOS EN ALIMENTOS

Luz Moraima Molina S.*

INTRODUCCION

Los nitratos pueden provenir de una fertilización excesiva de los suelos, que origina su acumulación, en los tejidos vegetales. Pero los nitratos pueden formarse también en el vegetal por putrefacción de materia orgánica nitrogenada y aun por bacterias nitrificantes que asimilan el nitrógeno atmosférico y se desarrollan en algunas leguminosas.

Estos nitratos pueden experimentar fácilmente una reducción a los peligrosos nitritos.

La toxicidad de los nitritos reside en dos aspectos:

- Su acción meta-hemoglobinizante y cianótica a la cual son especialmente sensibles los lactantes durante los 3 primeros meses.
- Su probable acción cancerígena, la cual puede efectuarse por dos diferentes mecanismos:
 - a) por vía exógena a través del medio ambiente que lo rodea. En la atmósfera es posible que las aminas libres reaccionen con óxidos de nitró-

* Pontificia Universidad Católica del Perú, Dpto. de Ciencias, Sección Química.

geno, especialmente donde una elevada concentración produce condiciones ácidas; en el humo del tabaco, en diferentes alimentos, bebidas que contienen nitrosaminas preformadas como: cereales, carnes, pescados y quesos (hasta 5ppb de dimetilnitrosamina).

- b) por vía endógena o "in vivo" la cual es más significativa y consiste en la formación posible de nitrosaminas en el tracto gastro-intestinal del hombre, al reaccionar precursores no cancerígenos como son los compuestos amino (aminas, aminoácidos, proteínas y amidas) con los nitritos, gases nitrosos o nitratos capaces de reducirse a nitritos.

Los nitratos y nitritos en alimentos eran determinados por el método colorimétrico con el 2,4-xilenol, el cual es muy engorroso, poco sensible y de poca reproducibilidad.

Debido a esto se ha modificado y se ha desarrollado el método cromatográfico (GLC) el cual es fácilmente reproducible, muy sensible y se basa en la extracción del producto de la reacción de nitrato presente en la muestra con el 2,4-xilenol. El nitrito de la muestra es oxidado, después de la destilación, a nitrato con permanganato de potasio y después se determina por GLC de la misma manera que el nitrato.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Aparatos

Cromatografo de gas HP-5890 Serie II

Columna HP5: temp. columna 150 °C

temp. inyector 250 °C

temp. detector 250 °C

Gas de arrastre: helio

2. Reactivos

(a) 2,4-Xilenol

(b) Solución de sulfato de plata.- Disolver 5,4 g de Ag_2SO_4 libre de nitrato en 100mL de H_2SO_4 (3:1).

(c) Solución estandar de nitrato de potasio.-

c.1 Solución patrón $1\text{mgNO}_3^-/\text{mL}$. Disolver 1.631 g de KNO_3 previamente secado a 100 °C por una hora en suficiente agua y aforar a 1 L.

c.2 Solución de trabajo $10\text{mgNO}_3^-/\text{mL}$.

Transferir 10mL de solución patrón a un frasco volumétrico de 1L, aforar con agua y mezclar.

(d) Solución estandar de nitrito

d.1 Solución patrón $1\text{mgNO}_2^-/\text{mL}$. Disolver 1.5 g de NaNO_2 previamente secado 1 hora a 110°C en suficiente agua y aforar a 1L.

d.2 Solución de trabajo $10\text{mgNO}_2^-/\text{mL}$. Transferir 10mL. de solución patrón a un frasco volumétrico de 1L, diluir con agua y mezclar.

(e) Ácido sulfámico 1%. Disolver 1g de ácido sulfámico en 100mL de agua.

(f) Solución de sulfato de cinc 20%. Disolver 35.6 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua y diluir a 100mL con agua.

3. Extracción

Pesar 20 g de muestra (queso, jamón,), transferir cuantitativamente para homogenizar y agregar 100mL de agua caliente (60°C) y 10mL de NaOH 2N. Mezclar bien, hasta que la muestra este suspendida. Transferir la solución a un frasco volumétrico de 200mL. Agregar 30mL de sulfato de cinc con agitación completa. Guardar la mezcla a 50°C , agitando ocasionalmente. Después de 10min, enfriar la mezcla a temperatura ambiente, diluir a volumen con agua, y filtrar, coleccionando el filtrado en un erlenmeyer de 200 mL.

4. Separacion de nitrato y nitrito

4.1 Nitrato: pipetear 50 mL del filtrado en un erlenmeyer de 100 mL y agregar 5 mL de amoniaco al 25%. Concentrar a 5 ó 10 mL en una plancha. Enfriar a temperatura ambiente en un baño de agua fria, filtrar a traves de un papel filtro acanalado y lavar con 5 mL de agua.

Llevar a sequedad en baño de agua o estufa a una temperatura $<100^\circ\text{C}$. Enfriar y agregar 5 mL de agua, añadir 1 mL de ac. sulfámico al 1%, mezclar y permitir que esté en reposo por 30 min.

4.2 Nitrito: pipetear 50 mL del filtrado a un erlenmeyer de 100 mL y agregar 50 mL de agua. Ajustar el pH a 5 con H_2SO_4 1N, agregar 1 ó 2 gotas de aceite de silicona y conectarlo a un aparato de destilacion. Destilar rápidamente, coleccionar 80mL en un frasco erlenmeyer de 100 mL el

cual contiene 20 mL de agua y agregar 1mL NaOH 1N. Parar la destilación cerca a los 100 mL.

Concentrar a 5-10 mL en una plancha y entonces evaporar en baño de agua o secarlo en estufa a < 100 °C.

Agregar 3mL de agua, 1 mL de KMnO_4 y 2 mL de H_2SO_4 al 75%. Mantener la temperatura a 60 °C por 2min., titular con ácido oxálico 0.1 N, hasta que desaparezca el color del KMnO_4 remanente y entonces enfriar a temperatura ambiente.

5. Formación del Derivado del 2,4-Xilenol con el nitrato y nitrito

Agregar 0.01 mL 2,4-xilenol y 5mL de solución de sulfato de plata a cada solución de nitrito y nitrato, mientras están en baño de hielo. Tapar y dejar en reposo durante 10min a 25 °C; entonces agregar 100mL de solución saturada de Na_2SO_4 , y transferirlo a un embudo de separación. Agregar 10mL de n-hexano y agitar vigorosamente 2-3 min.

Dejar en reposo 15min y separa la fase de n-hexano. Agregar 50 mL de Na_2SO_4 saturado y agitar 5min. Dejar en reposo hasta que la solución sea clara y separar la fase de n-hexano, agregar 10g de Na_2SO_4 anh., decantar en tubo de 10 mL y concentrar a 1mL bajo vacío.

6. Cromatografía Gaseosa

Injectar 5 μL de la solución derivatizada de nitrato al cromatografo. Determinar nitratos por comparación de estándares preparados como sigue: Preparar 6 soluciones de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 mg de NO_3^- pipeteando 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mL de la solución de trabajo de 10mg NO_3^- dentro de un frasco erlenmeyer de 100 mL agregando 2,4-xilenol y proceder como en paso 5.

7. Cálculos

$$\text{NO}_3^- \text{ ppm} = \text{mg NO}_3^- \text{ encontrado} \times \text{factor de dilución/g muestra}$$

$$\text{NO}_2^- \text{ ppm} = \text{mg NO}_3^- \text{ encontrado} \times \text{factor de dilución} \times 0.7420/\text{g muestra}$$

donde 0.7420 es el factor de conversión de nitrato a nitrito y el factor de dilución es igual a 0.20.

BIBLIOGRAFIA

1. Schmidt-Hebbel, H (1986) **Tóxicos Químicos en Alimentos**. Ed. Universitaria, Chile. 51-57.
2. Toyoda, M; Susuki, H; Ito, Y; Iwaida, M. (1978) *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **61** (3), 508-511.