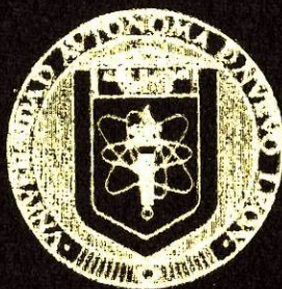


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA



IMPORTANCIA ACTUAL DEL BOTULISMO
EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

SEMINARIO (OPCION III-A)

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTA

JUAN MARTIN PEREZ DE LEON

MARIN, N. L.

DICIEMBRE DE 1987

T

QR201

.B7

24

C.1



1080062892

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA

IMPORTANCIA ACTUAL DEL BOTULISMO EN LA
INDUSTRIA ALIMENTARIA

SEMINARIO (OPCION III-A)


QUE PARA OBTENER EL TITULO DE INGENIERO
EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

P R E S E N T A:

JUAN MARTIN PEREZ DE LEON

MARIN, N.L.

DICIEMBRE DE 1987.

07657 

T
QR201
•B7
P4

040.614
FA 1
1987
C.5



DEDICATORIAS

A todas aquellas personas por quienes soy y para quienes soy....

A MI ABUELITA:

Sra. María de León G.

A MIS PADRES:

Sra. Ma. del Socorro de Leal

Sr. Víctor Leal

A MIS FAMILIARES.

A mis amigos, especialmente a los "Jumper's";

....pues en este mundo no existe nada sino tú, y tú no eres nada sino sueños.... (Mark Twain).

A G R A D E C I M I E N T O S

Deseo hacer patente mi profundo agradecimiento al ING. MANUEL TREVINO CANTU, cuya asesoría y dirección hicieron posible la pronta realización de este trabajo.

De igual manera agradezco profundamente a la Q.B.P. MYRNA S. GONZALEZ DE GONZALEZ y al ING. EZEQUIEL BERUMEN DE LOS SANTOS, sus consejos y orientaciones en la realización de este seminario.

Así mismo deseo agradecer a mis maestros y a mis compañeros el haber hecho de estos años de vida estudiantil un período de aprendizaje muy especial.

INDICE

	Pág.
1. INTRODUCCION.....	1
2. ASPECTOS TAXONOMICOS.....	3
3. ASPECTOS IMPORTANTES SOBRE LA TOXINA BOTULINICA.....	6
4. REQUERIMIENTOS PARA EL CRECIMIENTO DE <u>Clostridium bo</u> <u>tu linum</u> Y LA PRODUCCION DE TOXINA.....	8
4.1. Condiciones necesarias para que se presente un- brote de botulismo.....	8
4.2. Influencia de la temperatura.....	10
4.2.1. Refrigeración.....	10
4.2.2. Resistencia térmica.....	10
4.3. Influencia del potencial de óxido-reducción --- (Eh) y de la composición del espacio de cabeza.	13
4.4. Influencia del potencial hidrógeno (pH).....	14
4.5. Influencia de la actividad de agua (Aw).....	16
5. POTENCIALIDAD DE DAÑOS BOTULINICOS EN PRODUCTOS ALI- MENTICIOS NO ENLATADOS.....	17
5.1. Productos pesqueros.....	17
5.2. Alimentos no procesados.....	18
5.2.1. Hongos comestibles frescos.....	18
5.2.2. Papas cocidas.....	18
5.3. Productos cárnicos curados.....	19
5.3.1. Importancia.....	19
5.3.2. Teorías acerca del efecto inhibidor de - los nitritos.....	19

5.3.2.1. Reacción del óxido nítrico.....	19
5.3.2.2. Reacción del ácido nitroso.....	19
5.3.2.3. Factor Perigo.....	20
6. DIVERSAS ALTERNATIVAS PARA EVITAR EL BOTULISMO EN -- ALIMENTOS.....	21
6.1. Necesidad.....	21
6.2. Irradiación.....	21
6.3. Sorbatos.....	21
6.4. Hipofosfito de sodio.....	22
6.5. Acidificación por bacterias productoras de áci- do láctico.....	22
6.6. Alfatocoferol y ascorbatos.....	22
6.7. Otros.....	23
7. BIBLIOGRAFIA.....	25

INDICE DE TABLAS

Pág.

TABLA

2-1	· Características de los tipos de <u>Clostridium botulinum</u>	5
4-1	Relación entre proteólisis, resistencia al calor y temperatura mínima de crecimiento de los tipos de <u>Clostridium botulinum</u> frecuentes en alimentos	12
4-2	Aw mínima para el crecimiento de <u>C. botulinum</u> en sustratos conteniendo NaCl.....	16
6-1	Influencia de la longitud de cadena del ester- parahidroxibenzoico sobre la inhibición de <u>C. -- botulinum</u> tipo A.....	24

1. INTRODUCCION

El botulismo es una enfermedad neuromparalizante y con --- gran frecuencia letal tanto para el hombre como para los anima les.

En la actualidad se reconocen tres tipos de botulismo:

- Botulismo relacionado a los alimentos, el cual se debe a la ingestión de la toxina producida por el microorganismo Clostridium botulinum, presente en alimentos contaminados.
- Botulismo infantil, asociado al crecimiento y producción de toxina del mismo microorganismo dentro de los intestinos del huésped, generalmente infantes de nueve meses de edad ó meno res.
- Botulismo por heridas, asociado a los tejidos dañados (3,7).

De los anteriores tipos, tan solo el botulismo relaciona do a los alimentos será objeto de estudio del presente trabajo.

A esta enfermedad se le ha reconocido como un gran enemi go de la salud pública desde hace más de mil años, y seguramen te ha estado ligada al hombre desde los primeros intentos de - éste por preservar sus alimentos; durante el siglo XVIII en -- Alemania, la enfermedad era asociada a cierto tipo de embuti-- dos ahumados. Debido a esta asociación Mueller en 1870 acuño el término "botulismo" de la palabra "botulus" tomada del la-- tín, que significa "embutido" (3).

Hoy en día, no obstante los grandes avances tecnológicos-

logrados en materia de preservación de alimentos, existe un -- gran temor en los países llamados en vías de desarrollo al microorganismo Clostridium botulinum, temor que ha propiciado un estancamiento en el desarrollo de la industria del enlatado, - en la cual no se ha visto aún ese gran despegue observado en años anteriores en los llamados países desarrollados.

Es precisamente en base a lo anterior que este trabajo se avoca a la tarea de caracterizar al microorganismo Clostri-- dium botulinum, sus requerimientos, los medios de prevención - de su crecimiento y algunas formas de proceso indispensables - para su destrucción, para ayudar así a conocer un poco más a-- cerca del botulismo y en ese sentido coadyuvar al desarrollo - de la industria alimenticia en nuestro país.

2. ASPECTOS TAXONOMICOS

La primera vez que se aisló el microorganismo causal del botulismo fué en el año de 1896 por Van Ermengem, aunque el primer nombre que se le dió fué el de Bacillus botulinus (12).

El microorganismo es un bacilo de recto a ligeramente curvo, grampositivo, con extremos redondeados, que se mueve por medio de flagelos peritriquiales. Produce esporas termorresistentes, que son ovales, subterminales y tienden a distender el bacilo (6).

En el año de 1923 el microorganismo recibió el nombre con el que se le conoce actualmente: Clostridium botulinum (12).

El C. botulinum es un microorganismo anaerobio estricto, el cual es fácilmente cultivable en medios anaerobios de rutina. En agar sangre todas las cepas excepto las del tipo G, son betahemolíticas (7).

Se reconocen en la actualidad siete diferentes tipos serológicos de toxina (si se ignora el hecho de que algunos investigadores subdividen el tipo C en C₁ y C₂) (3,4).

Los tipos A, B, E y F han causado la mayoría de los incidentes letales en humanos, mientras que los tipos C y D usualmente causan botulismo a animales y más frecuentemente a aves (3,4,12).

El tipo G, el cual es el más recientemente aislado, no se ha visto implicado en incidentes botulínicos humanos (3,4,12).

Los tipos A, B, E y F pueden así mismo ser divididos en dos grupos, basándose en sus características bioquímicas y fisiológicas. Así el grupo 1 se compone de los tipos proteolíticos A, B, y F y el grupo 2 incluye los tipos no proteolíticos, es decir B, E y F. (3,12).

Los miembros del grupo 1 tienen capacidad para atacar o desdoblar complejos proteínicos y su crecimiento se acompaña generalmente de producción de olores y sabores extraños, aunque no siempre sucede de esta manera (3,12). Su temperatura mínima de crecimiento es de 10°C (es decir 50°F) y son inhibidores en alimentos por pH menor de 4.6. Las cepas de estos tipos son las más resistentes al calor y crecerán y producirán toxina en alimentos que contengan 8-9% de NaCl en solución acuosa. Alimentos con A_w menor de 0.93 inhiben su crecimiento (3).

Por otra parte, los miembros del grupo dos son los más sensibles a la adición de calor y se inhiben en alimentos acuosos con 5-6% de NaCl. Tienen capacidad de crecer en alimentos con A_w de 0.96 o mayor y se inhiben con pH menor a 4.6. Su falta de actividad proteolítica (además de su capacidad para soportar temperaturas tan bajas como 3.3°C , (es decir 38°F) hace que su crecimiento no pueda ser detectado mediante malos olores o sabores (3,12).

Tabla 2.1 Características de los tipos de C. botulinum (12).

Serotipo	C A R A C T E R I S T I C A			
	Proteólisis	Psicrofilo	Resistencia al calor	Patógeno al humano
A, Algunos B Algunos F	+	-	+	+
C, D	-	-	-	-
E, G, algunos B, algunos F	-	+	-	+

+ Positivo
- Negativo

3. ASPECTOS IMPORTANTES SOBRE LA TOXINA BOTULINICA

Las toxinas botulínicas son proteínas que se producen en el interior de la célula vegetativa del microorganismo Clostridium botulinum en forma de protoxinas. Estas protoxinas son liberadas cuando la célula vegetativa se lisa y se activan a su máximo estado de toxicidad posible mediante la acción de enzimas proteolíticas (12,7).

El origen de las proteasas que activan las protoxinas liberadas varía según el tipo de microorganismo del cual se trate. De esta forma se tiene que los tipos proteolíticos de C. botulinum tienen la capacidad de activar su propia toxina. --- Cuando no es éste el caso (es decir con tipos no proteolíti---cos), la activación proviene de proteasas exógenas, tales como la tripsina producida en el sistema digestivo del individuo -- afectado (12).

La toxina del C. botulinum es absorbida ampliamente por el intestino delgado, aunque parte de ella puede ser totalmente desnaturalizada y destruida por enzimas proteolíticas en el intestino mismo, o bien es posible que solo las moléculas de menor peso molecular sean capaces de llegar a la circulación (7).

La intoxicación botulínica se asocia con alteraciones funcionales en el sistema nervioso periférico, suprimiendo la liberación presináptica de acetilcolina aunque la lenta recuperación de las fibras musculares intoxicadas sugiere una lesión mayor que una simple inhibición de la liberación de acetilcoli

na. La muerte ocurre por parálisis de los órganos respiratorios (7)

Por otra parte, es comunmente aceptado que la producción de toxinas esta íntimamente ligada al crecimiento y reproducción del C. botulinum, en ese sentido las circunstancias que permitan ó inhiban el crecimiento del microorganismo afectarán de igual manera la presencia o ausencia de toxina botulínica - (12).

4. REQUERIMIENTOS PARA EL CRECIMIENTO DE Clostridium botulinum Y LA PRODUCCION DE TOXINA EN ALIMENTOS

4.1. Condiciones necesarias para que se presente un brote de botulismo

Para que ocurra un brote de botulismo es necesario que ocurran las siguientes condiciones:

a) El alimento debe estar contaminado con el microorganismo C. botulinum, ya sea en forma de esporas o de células vegetativas provenientes del medio ambiente (3). Es importante mencionar que C. botulinum es saprófito del suelo por lo que será este medio la principal fuente de contaminación.

Tomando en consideración que el microorganismo C. botulinum se encuentra en casi todos los medios y alrededor de todo el mundo, ya sea en forma de esporas o de células vegetativas, lo más conveniente para el procesador de alimentos es pensar que el alimento no está exento de la contaminación por tal microorganismo (3).

b) El tratamiento de procesado debe ser inadecuado para inactivar las esporas del C. botulinum o bien el producto alimenticio debe ser recontaminado después del procesado (3).

Aún cuando las cepas de tipos B, E y F (no proteolíticas) son las más sensibles al calor se ha demostrado que sobreviven a procesos tales como: Ahumado, aún cuando la temperatura interna del producto exceda los 82.2°C (180°F); bajo dosificación de radiaciones ionizantes; así como otros métodos de semipreservación de alimentos. Si cualquier otra cepa del grupo 1 contamina el producto estos procesos se

rán aún menos efectivos (3).

- c) El alimento debe sustentar y favorecer el crecimiento y la producción de toxina de C. botulinum, cuando las temperaturas de almacenamiento exceden los 3.3°C (3).

Partiendo de las bases proporcionadas por los puntos 'a' y 'b' se asume que los productos crudos pueden estar contaminados por esporas de C. botulinum y que estas sobrevivirán al proceso de semipreservación. Es así que la condición 'c' es la más importante para la prevención de la aparición de brotes botulínicos en productos alimenticios que no reciben tratamiento de esterilización. El almacenamiento de productos terminados a temperaturas por debajo de los 3.3°C es probablemente el factor más importante en el control del crecimiento de C. botulinum en alimentos no esterilizados (3).

Las sales y otros preservativos son también esenciales en la prevención del crecimiento del C. botulinum en productos ahumados. Sin embargo estos afectan las características organolépticas del producto. Lo mismo ocurre con los pescados, productos cuya vida de anaquel se puede extender mediante dosis de radiación ionizante, atmósferas modificadas y otros procesos relacionados (3,15).

- d) En virtud de que el botulismo relacionado a los alimentos resulta de la ingestión de alimentos que contienen toxina botulínica preformada, el alimento debe ser aceptable para el consumidor y consumido sin previa cocción, o en su defec

to después de la adición insuficiente de calor como para --
inactivar la toxina botulínica (3,11).

4.2. Influencia de la Temperatura

4.2.1. Refrigeración.

La cepas proteolíticas del microorganismo C. botulinum no crecen bajo condiciones óptimas de refrigeración (menores de -5°C), en tanto que las cepas no proteolíticas si lo hacen. De esta manera es fácil percatarse de que el proceso de refrigera--
ción para la prevención del crecimiento del C. botulinum no es digno de confianza por sí solo (12,3).

Los tipos de C. botulinum que son más resistentes al ca--
lor (A, B y F) no pueden crecer en condiciones de refrigeración adecuada, en tanto que los tipos no resistentes al calor --
(B, E, F) si son capaces de crecer en tales circunstancias (12 3). Es en virtud de lo anterior que se puede evitar el creci--
miento de C. botulinum sin tratamiento de esterilización. Lo--
que se requiere simplemente es aplicar calor por un período --
apropiado de tiempo a 80-100°C, almacenamiento a condiciones -
adecuadas de refrigeración (32-45°F) ó (0-7.22°C) y un empaque
apropiado para prevenir la recontaminación (12).

4.2.2. Resistencia térmica.

Comparadas con otras esporas las del C. botulinum resul--
tan ser muy termorresistentes.

El tratamiento térmico necesario para su destrucción depende del alimento, del tipo y cepa de microorganismo, del medio, la edad, cantidad, etc.

Las bases de seguridad de cualquier alimento enlatado, con bajo contenido de acidez, radican en el proceso térmico utilizado, en el cual se deben destruir al menos 1×10^{12} esporas termorresistentes de C. botulinum. Esta es precisamente la base del concepto clásico llamado 12D y diseñado para dejar una o menos esporas presentes en latas que contengan 1×10^{12} esporas ó bien una espora o menos en 1×10^{12} latas que contengan cada una de ellas una espora (4,8).

Generalmente se recomiendan los siguientes tratamientos para destruir todas las esporas de C. botulinum presentes en alimentos (4):

Temperatura (°C)	Tiempo (mins)
100	360
105	120
110	36
115	12
120	4

Estas recomendaciones aseguran la destrucción total de esporas de C. botulinum y un margen de seguridad.

No obstante lo anterior existe una excepción a la regla de 12D, la cual ocurre al procesar productos cárnicos curados; a un pH de 7 se necesita un tiempo mínimo de 2.78 minutos ($F_0 = 2.78$) a 250°F ó (121.11°C) para así obtener el valor 12D (D se refie---

re al tiempo en minutos necesario para destruir el 90% de esporas), mientras que los productos cárnicos curados reciben un tratamiento de $F_0 = 0.05 - 0.6$ minutos, es decir un tiempo mucho menor que el recibido por el resto de los alimentos de baja acidez (8).

Lo anterior es debido a:

- 1) El efecto inhibitor del NaCl sobre el C. botulinum en presencia de calor.
- 2) La acción especialmente importante del bajo número de bacterias anaeróbicas (entre ellas el C. botulinum) presentes -- en la carne cruda (8).

Tabla 4.1. Relación entre proteólisis, resistencia al calor y temperatura mínima de crecimiento de los tipos de C. botulinum frecuentes en alimentos (12).

Tipo	Proteólisis	Resistencia al calor	Temperatura mínima de crecimiento	
			°C	°F
A, algunos B, algunos F	+	+	10	50
E, algunos B, algunos F	-	-	3.3	38

+ Positivo
- Negativo

4.3. Influencia del potencial de óxido-reducción (Eh) y de la composición del espacio de cabeza

Comunmente se cree que debido a que el C. botulinum es un organismo anaeróbico, este será incapaz de crecer en alimentos expuestos al oxígeno o bien en alimentos que no posean un bajo potencial de oxidación-reducción. La realidad es que el Eh de alimentos expuestos al oxígeno es por lo común lo suficientemente bajo como para permitir el crecimiento de C. botulinum. Además, no obstante que el crecimiento máximo ocurre a valores de Eh de -350mV, el C. botulinum es capaz de crecer a valores de Eh tan altos como + 250mV (12).

El dióxido de carbono puede estimular o inhibir el crecimiento de C. botulinum, dependiendo de la concentración utilizada. Es aceptado por lo general que bajos niveles de dióxido de carbono o bicarbonato estimulan marcadamente la germinación de esporas. Se ha encontrado así mismo que las esporas de C. esporogenes y presumiblemente las de C. botulinum, germinan con lentitud en 100% de nitrógeno (1 atm) y rápidamente en 100% de dióxido de carbono (1 atm). Sin embargo, la germinación no ocurre a 10 ó 55 atmósferas de dióxido de carbono. Esta inhibición del crecimiento de C. botulinum por el dióxido de carbono hiperbárico no se debe a efectos de cambios en pH, sino que se supone es debido a la alteración de la membrana de la spora (12).

De todo lo anterior se puede concluir que el almacenamiento de alimentos con la utilización de dióxido de carbono atmosférico puede promover el crecimiento de C. botulinum, en ---

tanto que el almacenamiento bajo dióxido de carbono hiperbárico puede alargar la vida de anaquel sin crear condiciones de peligro (12).

4.4. Influencia del potencial de hidrógeno (pH)

Se ha sostenido por mucho tiempo que el botulismo no se desarrollará en alimentos que tengan una gran acidez, es decir alimentos que posean un pH de 5 o incluso más bajo. Diversas investigaciones han mostrado que no existe crecimiento alguno de C. botulinum a pH de 4.8 o menor. En base a lo anterior -- las actuales regulaciones internacionales parecen coincidir -- en que un alimento con pH de 4.6 o menor es completamente seguro y no necesita de tratamiento de esterilización (12,16).

No obstante lo anterior se debe tener especial precaución en alimentos con pH de 4.8 o inferior en virtud de la posibilidad de que ocurra un incremento del pH debido al crecimiento concomitante de levaduras y mohos, tal incremento de pH puede ser localizado o bien de todo el medio (12).

Es factible también que exista crecimiento de C. botulinum y su consecuente producción de toxina, en alimentos con pH menor de 4.6 y que contengan agregados de proteína precipitada. (12,16). Tales crecimiento y producción de toxina en alimentos de alta acidez y con medios ricos en proteínas no han sido completamente entendidos(16). Parece ser que el grado de anaerobiosis es muy importante, así como la capacidad buffer. Es decir, la proteína podría tener varias funciones: como agen

te reductor permitiendo a la célula superar un potencial redox limitante; como fuente de metabolitos esenciales para el crecimiento y la producción de toxinas; como un buffer, retardando la acidificación del interior de la célula (16).

En la actualidad se considera que el parámetro de la acidez titulable, el cuál da razón de la capacidad buffer de la proteína, puede ser más importante que el parámetro de pH para la definición de los límites de toxicidad (16).

Experimentos muy recientes muestran que acideces de 0.27% (como HCl) y 0.160% (como ácido cítrico) impiden el desarrollo postgerminativo de células de C. botulinum en un medio acidificado conteniendo aislado de soya lo suficiente como para -- restringir la producción de toxina por debajo de los niveles -- detectables mediante bioensayos con ratones (16).

No obstante lo anterior, continua siendo correcto el pensar que el microorganismo C. botulinum no crecerá a valores -- de pH menores de 4.8, a menos de que sucedan incrementos localizados de pH debidos al crecimiento concomitante de levaduras o de hongos o bien por agregados de proteína precipitada -- (12). Es factible que el botulismo no se haya convertido en -- un problema mayor en alimentos de alta acidez debido a que no es común que éstos contengan grandes cantidades de proteína -- precipitada (12).

4.5. Influencia de la actividad del agua (A_w)

En comparación con los demás parámetros existe poca información acerca de la influencia de la A_w sobre el crecimiento del C. botulinum, debido principalmente a que los primeros investigadores enfocaban sus esfuerzos a la determinación de la influencia del contenido de humedad del alimentos sobre el crecimiento del C. botulinum (12).

No obstante lo anterior en la actualidad se conocen los valores mínimos de A_w para el crecimiento de los tipos de C. botulinum que afectan a alimentos más comunmente.

Estos valores son los representados en la siguiente tabla:

Tabla 4.2. A_w mínima para el crecimiento de C. botulinum en --
sustratos conteniendo NaCl (11,12).

Tipo de <u>C. botulinum</u>	A_w mínima	Equivalencia en concentración de NaCl
A y B	0.94	10%
E	0.97	5%
D, E y F	0.92	-

5. POTENCIALIDAD DE DAÑOS BOTULINICOS EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO ENLATADOS

5.1. Productos Pesqueros

Los pescados no procesados, frescos o congelados y los mariscos, casi no se han visto involucrados en problemas de botulismo, en virtud de la cocción a la cual se someten anteriormente a su consumo (3).

Cuando estos productos son procesados o tratados para aumentar su vida de anaquel o para preparar nuevos productos, la flora contaminante bacteriana es selectivamente inhibida o destruída por el tratamiento y por las condiciones bajo las cuales se almacena el producto (3).

En la evaluación de la seguridad de un proceso o producto es importante considerar los tipos de cepas de C. botulinum, así como la especie pesquera, las condiciones de empaque y las temperaturas utilizadas.

Si es posible asegurar un almacenamiento bajo condiciones óptimas de refrigeración, con temperatura inferior a 3.3°C, no habrá ningún riesgo de aparición de botulismo en alimentos -- pesqueros tratados mediante procesos como: ahumado; radiación-ionizante (radurización); atmósferas modificadas; o cualquier otro método de preservación (3).

5.2. Alimentos no procesados

5.2.1. Hongos comestibles frescos.

Es factible el crecimiento del C. botulinum en este tipo de alimentos empacados con envoltura plástica en virtud del rápido desarrollo de una atmósfera anaerobia debido a que los hongos vivos necesitan O_2 para la respiración y la barrera plástica restringe su suplemento del exterior (13).

Esto es fácilmente remediable con hoyos en el plástico que permitan un equilibrio en la concentración de O_2 de alrededor del 6%. Generalmente se hacen hoyos de 1/8 de pulgada, con lo cual se reducen las posibilidades de crecimiento de C. botulinum sin reducir las ventajas de este método de empaque (13).

5.2.2. Papas cocidas.

Este alimento se ha visto involucrado en varios incidentes de aparición de brotes botulínicos, en los cuales se les consumía en ensaladas que incluían papas que habían sido envueltas en papel aluminio, cocidas y mantenidas durante varios días a temperatura ambiente (13).

Actualmente se acepta que el almacenamiento a temperatura ambiente de papas cocidas es una práctica peligrosa; estas papas son consideradas productos perecederos y en ese sentido necesitan temperaturas de refrigeración (13).

5.3. Productos cárnicos curados

5.3.1. Importancia.

Los incidentes de botulismo en los cuales se involucran alimentos cárnicos curados no son comunes; sin embargo debido a que las formulaciones tienden a variar y los gustos y tendencias del consumidor obligan así a variar el nivel de sales utilizadas, particularmente el nitrito adicionado, es probable -- que se tengan problemas de botulismo en el futuro (6,11,15).

Se han hecho numerosos estudios acerca de los posibles -- riesgos de botulismo en carnes crudas, los cuales demuestran -- que éstos son seguros si son debidamente refrigerados, por lo cual los riesgos de botulismo se deberán principalmente a temperaturas de almacenamiento por arriba de 3.3°C (6,10).

5.3.2. Teorías acerca del efecto inhibitor de los nitritos.

Aunque se han propuesto varias teorías, no se sabe con -- exactitud el mecanismo específico mediante el cual actúan los nitritos para inhibir el crecimiento de C. botulinum (11).

Algunas de las teorías más aceptadas son:

5.3.2.1. Reacción del óxido nítrico.- Esta teoría sostiene que el óxido nítrico formado reacciona con un compuesto esencial que contiene Hierro dentro de la célula del C. botulinum y previene su crecimiento (2); paradójicamente un exceso de Hierro en el medio anula el efecto inhibitor de los nitritos (2).

5.3.2.2. Reacción del ácido nitroso.- Esta teoría sostiene que

el efecto inhibitor es debido a la presencia de ácido nitroso-indisociado cuya concentración aumenta a pH reducido (10).

Así se explicaría la mejor eficacia del nitrito a pH de 6 que a pH de 7.5 (10).

5.3.2.3. Factor Perigo.- El factor Perigo es un inhibidor bacteriano que se forma cuando los nitritos son calentados en cierto medio de cultivo bacteriológico. Es formado por la reacción del nitrito con Sulfhidrilos y Hierro. El efecto inhibitor puede ser debido a la mezcla de varios complejos sulfhidrilos, incluyendo nitroso cisteína, sal de Roussins y el complejo Cisteína-NO-Fe (Perigo, citado en 1).

Sin embargo, recientes observaciones indican que el inhibidor en carnes curadas es diferente al factor Perigo. Este último se forma a temperaturas de 105°C (221°F) ó mayores, las cuales no son utilizadas en productos cárnicos curados.

Algunos resultados indican que el inhibidor en productos cárnicos curados es(son) un(os) agente(s) cuya producción no requiere la participación de grupos Sulfhídricos. Contrastando con lo anterior, el factor Perigo no se forma en un medio de cultivo a menos que se encuentren presentes grupos Sulfhidrilos y Hierro (1).

6. DIVERSAS ALTERNATIVAS PARA EVITAR EL BOTULISMO EN ALIMENTOS

6.1. Necesidad

A lo largo de muchos años se han venido utilizando los nitritos y nitratos (en dosis de 120 mg/kg) como los compuestos-químicos principales para evitar el botulismo en una gran variedad de alimentos (6,8,11,15).

Sin embargo, en virtud de que estos compuestos pueden -- contribuir, vía nitrosación, a la creación de compuestos N-nitrosos, principalmente nitrosaminas (las cuales en determina-- das cantidades son agentes carcinógenos), es de primordial importancia la búsqueda e investigación en torno a posibles al-- ternativas para evitar el botulismo en alimentos (5,9,11,15).

Es así que las más recientes investigaciones han arrojado datos muy útiles en relación al posible uso de ciertas opcio-- nes, algunas de las cuales son:

6.2. Irradiación

Con o sin la reducción de la concentración de nitritos - este método puede proveer excelente actividad antibotulínica- en tocino, mediante la utilización de dosis de 1-1.5 Mrad(15).

6.3. Sorbatos

De los agentes químicos tan solo se ha utilizado en gran- escala en varios tipos de alimentos una combinación de sorbato

de potasio a 2,600 mg/kg más la reducción de la concentración de nitrito de sodio (40-80 mg/kg). Esta opción es equivalente a la aplicación convencional de nitritos como medio de prevención e inhibición de la actividad botulínica en salchichas alemanas y tocino (11,15).

6.4. Hipofosfito de sodio

Se puede usar comercialmente en tocino para lograr la equivalencia a la acción de los nitritos de dos maneras:

- Solo, a dosis de 3,000 mg/kg
- O bien, 3,000 a 1,000 mg/kg y bajar la concentración de nitrito de sodio (40 mg/kg) (15).

6.5. Acidificación por bacterias productoras de ácido láctico

Es una alternativa nueva el usar bacterias productoras de ácido láctico en combinación con carbohidratos fermentables para que mediante el uso de incrementos de la temperatura se permita la acidificación fermentativa del producto alimenticio, lo cual redundaría en la prevención del crecimiento del C. botulinum, en virtud del aumento de acidez que esto representaría.

Este procedimiento es tan efectivo como el uso de nitritos en forma convencional. (15).

6.6. Alfatocoferol y Ascorbatos

Se ha demostrado claramente que el Alfatocoferol es un --

agente muy efectivo en la inhibición de la formación de N-nitrosaminas (5,15).

Este compuesto se puede aplicar en cualquier método de curado de carnes sin alterar los procedimientos (5).

Así mismo, el alfatocoferol no interfiere con la actividad antibotulínica de los nitritos en virtud de lo cual se les puede usar en conjunción y obtener así todas las ventajas proporcionadas por la adición de nitritos sin el peligro de creación de nitrosaminas (5,15).

Por otra parte la formación de nitrosothiazolidina en tocino puede ser considerablemente reducida al usar ascorbato de sodio (550 ppm), añadido por aspersion, en el humo líquido, o alguna otra forma (9,14,15).

6.7. Otros

Algunos otros agentes químicos se han venido estudiando en los últimos años, como los esteres y algunos antioxidantes, encontrándose que podrían llegar a sustituir a los nitritos en cuanto a acción antibotulínica se refiere. Así, se tiene que la efectividad antibotulínica de los parabenos (ester parahidroxibenzoico) es muy variable, incrementándose al aumentar la longitud de la cadena del éster de 1 a 11. Así, el ester undecil tiene la misma solubilidad en medio acuoso pero es aproximadamente 3,000 veces más inhibidor (12).

Sin embargo, se ha observado que el factor crítico a considerar no lo es la solubilidad en medio acuoso sino que pro

bablemente lo es el coeficiente de partición. Es por ello -- quizás, que el efecto de inhibición decrece al aumentar la longitud de la cadena de éster en medio oleoso (12).

En virtud de lo anterior, y ya que la mayoría de los estudios se han realizado en medios acuosos, no es posible extrapolar los resultados a alimentos que contengan aceite o grasa -- (12).

No obstante la aceptación de los productos tratados con estas alternativas, quedan aún por investigar algunos aspectos toxicológicos. Se necesita así mismo, mayor información acerca de los efectos del pH, Aw, y otras variables sobre la eficiencia de estas opciones tendientes a sustituir el uso de nitritos, o al menos reducirlo (15).

Tabla 6.1. Influencia de la longitud de cadena del éster parahidroxibenzoico sobre la inhibición de C. botulinum tipo A (12).

Longitud	Concentración mínima inhibitoria ($\mu\text{g/ml}$)	Solubilidad (g/100 ml H_2O a 25°C)
0	1,000	0.492
1 Metil	1,000	0.250
2	400	0.075
3 Propil	400	0.050
7 Heptil	10	0.138
9	1.3	0.128
11 Undecil	0.3	0.237
12	0.4	0.110
16	10	0.038
18	20	0.033

7. BIBLIOGRAFIA

1. Cassens Lee, S.H. Factors affecting inhibition of Clostridium botulinum. Journal of Food Science; 1978, 43:1371.
2. Cassens R.G., Graser M.L., I to T., Lee M. Reactions of -- nitrite in meat. Food Technology. Julio 1979. 46-57.
3. Eklund M.W. Significance of Clostridium botulinum in fishery products preserved short of sterilization. Food Technology. Diciembre 1982. 107-112.
4. Frazier W.C. y Westhoff D.C. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia, S.A.
5. Gray J.I., Reddy S.K., Price J.F., Mandagere A. y Wilkens, W.F. Inhibition of N-nitrosamines in bacon. Food Technology. Junio 1982. 39-45.
6. Hauschild A.H.W. Assessment of botulism hazards from cured meat products. Food Technology. Diciembre 1982. 95-104.
7. Joklik K. Wolfgang; Willet Hilda P.; Amos D. Bernard. Zinsser microbiología. Editorial Médica Panamericana, S.A. Argentina. 17a. edición. 1983. 798-806.

8. Lechowich R.Y.; Brown W.L.; Deibely R.H.; Somers I.I. The role of nitrite in the production of canned. Cured meat - products. Food Technology. Mayo 1978. 45.
9. Pensabene John W.; Fiddler Walter. Formation and inhibi---tion of N-nitrosothiazolidine in bacon. Food Technology. Enero 1985. 91-94.
10. Price J.F. y Shwigert B.S. Ciencia de la carne y los productos cárnicos. Editorial Acribia. España. 254.
11. Sofos J.N.; Busta F.F.; Allen C.E. Botulism control by nitrite and sorbate in cured meats: A review. Journal of --Foods Protection. Septiembre 1979. Vol. 42; No. 9; 739-770.
12. Sperber William H. Requirements of Clostridium botulinum - for growth and toxin production. Food Technology. Diciembre 1982. 89-94.
13. Sugiyama H. Botulism hazards from nonprocessed foods. Food Technology. Diciembre 1982. 113-115.
14. Tompkin R.B.; Christiansen L.N.; Shaparis A.B. Antibotulinal role of isoascorbate in cured meat. Journal of Food - Science; 1978. 1147.

15. Widdus R. y Busta F.F. Antibotulinal alternatives to the current use of nitrite in foods. Food technology. Diciembre 1982.

16. Young-Perking Kathleen E. y Merson Larry. Clostridium botulinum spore germination, outgrowth, and toxin production below pH 4.6; Interactions between pH, total acidity, and buffering capacity. Journal of Food Science. 1987. Vol. - 52. No. 4. 1084-1088.

