

23 300627
2ej



UNIVERSIDAD LA SALLE

**ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U.N.A.M.**

**ASPECTOS TOXICOLOGICOS DE LOS CONSERVADORES
(butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno y nítrito de sodio),
EMPLEADOS EN LA ELABORACION DE CARNES FRIAS.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A :

Marisol Mijas Puig

MEXICO, D.F.

1987



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

CONTENIDO	PAGINAS
1. Introducción	1
1.1 Objetivos	10
2. Antecedentes	11
3. Antioxidantes	15
3.1 Generalidades	15
3.2 Normas	17
3.3 Acción contra microorganismos	17
3.3.1 Criterios generales de actividad	20
3.3.1.a Influencia del pH	20
3.3.1.b Influencia de la temperatura	21
3.3.1.c Influencia de la actividad acuosa	21
3.3.1.d Presencia de lípidos	21
3.3.2 Ampliación del espectro	24
3.4. Toxicidad	25
3.4.1 Toxicidad aguda	25
3.4.2 Toxicidad crónica	25
3.5 Comportamiento fisiológico	26
3.6 Acción cancerígena	27
4. Nitritos	31
4.1 Generalidades	31
4.2 Acciones secundarias	32
4.3 Normas	34
4.4 Acción contra microorganismos	34
4.4.1 Criterios generales de actividad	34
4.4.2 Espectro de acción	34
4.5 Comportamiento fisiológico	36
4.6 Toxicidad	37
4.6.1 Toxicidad aguda	37
4.6.2 Toxicidad subcrónica	38
4.6.3 Toxicidad crónica	38
4.6.4 Acción teratógena	38

CONTENIDO	PAGINAS
5. Nitrosaminas	40
5.1 Generalidades	40
5.2 Definiciones	40
5.3 Formación de las nitrosaminas	41
5.4 Inhibición de las nitrosaminas	41
5.5 Formación e inhibición de nitrosaminas endógenas.	43
5.5.1 Principales lugares donde se forma el nitrato endógeno,	43
5.5.2 Formación de las nitrosaminas y bloqueo de estas en el cuerpo humano (nivel estómago)	45
5.5.3 Formación de las nitrosaminas y bloqueo de estas en el cuerpo humano (nivel intestino)	48
6. Conclusiones	51
7. Recomendaciones	53
8. Glosario'	54
9. Apéndice	56
Bibliografía	58

1. INTRODUCCION

La inspección veterinaria, procura que la carne que se contamina por microorganismos, procedentes de los animales vivos enfermos no lleguen al consumidor (110).

Para evitar la contaminación exógena de la carne, es preciso aplicar la higiene en los mataderos, almacenes, frigoríficos, y transporte (110).

Como medio de protección al consumidor, es necesario aplicar los procedimientos de conservación inmediata después del sacrificio.

La carne es uno de los alimentos perecederos, que experimenta continuamente modificaciones, que pueden ocasionar su completa descomposición (110).

La contaminación más importante de la carne es de origen externo, y se provoca durante el sacrificio de los animales, de su manipulación, y de los tratamientos a los que se somete (29).

La superficie externa del animal contiene, además de su flora natural, gran número de contaminaciones, que proceden del suelo, agua, piensos y estiércol (29).

En la conservación de la carne, es necesario, controlar la acción de las enzimas y microorganismos. Por consiguiente se aplican métodos de conservación, los

cuales tienen el fin de mantener la calidad en el sentido nutritivo y sensorial (48, 110).

Para conservar la carne y los productos cárnicos, se emplean métodos físicos y químicos, tales como: la refrigeración, congelación, deshidratación, liofilización, radiaciones ionizantes, curado, ahumado, salado, antibióticos y conservadores químicos (110).

Uno de los métodos que se usan actualmente, es la refrigeración con atmósferas que contienen CO y CO₂, los cuales sirven para evitar cambios enzimáticos y oxidación de pigmentos de la mioglobina (90, 110).

El CO₂ a bajas temperaturas es efectivo, contra los daños que causan los microorganismos psicrófilicos, ya que tienen la habilidad de penetrar en la membrana bacteriana (90, 112).

El CO se usa principalmente para aumentar el color rojo de la carne, puesto que al combinarse con la mioglobina, forma carboximioglobina (COMb), la cual da un pigmento rojo brillante (112).

Los procesos que se utilizan en la conservación de la carne, tales como la refrigeración, pasteurización y empaque, pretenden evitar la alteración de los alimentos por la acción microbiana de: Salmonella spp., Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Streptococcus faecalis, los cuales dan ori-

gen a intoxicaciones alimentarias, ya que crecen a la temperatura corporal, (tabla No. 1) (21, 72,73).

Con el fin de retardar el crecimiento potencial de los microorganismos, se utilizan bacteriostáticos, bactericidas, fungistáticos y fungicidas (76).

Un conservador se define como una "substancia capaz de inhibir el crecimiento de microorganismos e impedir la descomposición o alteración de los alimentos" (76)

Para carnes frescas de res y de pollo se pueden usar sustancias químicas tales como sorbato de potasio y cloruro de sodio, que se usan en soluciones de inmersión para inhibir microorganismos que originan intoxicaciones alimentarias (44, 45, 47, 53, 55, 57, 77).

Es necesario conocer las características del alimento, tal es el caso de la carne de pavo, en la cual se considera un factor importante, su descomposición lipídica, puesto que los lípidos del pavo, tienen más ácidos grasos poliinsaturados, (10.25%), que otras grasas animales (111).

En el curado de carnes frías, se utilizan varios aditivos, para el control de Clostridium botulinum, (81), los cuales son principalmente: nitritos y nitratos, ascorbato y eritorbato (40).

Se toma en consideración en el salado de la carne el efecto del colágeno, proteína que se encuentra en el tejido conjuntivo del músculo, el cual puede ofre

Tabla 1

Características de algunas intoxicaciones alimentarias

Microorganismo	Tiempo desde la ingestión hasta la aparición de síntomas. (horas)	HABITAT	Síntomas característicos
<u>Salmonella typhimurium</u>	8 a 72	Intestino de los animales	Dolor abdominal, diarrea, náuseas, fiebre y postración.
<u>Staphylococcus aureus</u>	1 a 6	Piel, mucosa nasal, heridas que se infectan en el hombre y en los animales.	Las anteriores más salivación y vómito con temperatura subnormal.
<u>Streptococcus faecalis</u>	2 a 18	Intestino de los animales.	Espasmos abdominales, diarrea sin fiebre y postración
<u>Clostridium perfringens</u> <u>Clostridium botulinum</u>	2 horas	Suelo y Mar	Dificultad en la deglución doble, apirexia, parálisis respiratoria y muerte

Fuente: Lawrie R. A., (63).

cer una expectativa en un futuro, para usarse en alimentos como conservador (14).

Los jamones secos, algunas veces se deshuesan para facilitar su rebanado. Sin embargo, ésto ocasiona la aparición de hongos en la incisión (47).

Algunos aditivos como el glutamato de sodio, sales de amonio fosfatadas, ácido fluracético, carragenina, aspartame, butilhidroxitolueno, compuestos bromados de aceites vegetales, colorantes, tricresil fosfato y nitrito de sodio, tienen acción psicotóxica, ésto es importante dentro de la toxicología de los aditivos en los alimentos, a los cuales el hombre está expuesto (32, 51, 106, 109).

Actualmente se utilizan los nitritos y nitratos, ácido sórbico, eritorbato, ácido ascórbico, fosfatos y antioxidantes con el fin de inhibir el crecimiento de microorganismos, (tabla 2) (76).

La cantidad límite en el uso de antioxidantes --- (0.02%), permite en los alimentos cárnicos, mayor tiempo de estabilidad en las grasas al evitar su rancidez (26, 49).

Cuando se utilizan, el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT) en concentraciones de 0.01%, cada uno, en carnes con posterior refrigeración a 4°C durante 14 días, se observan los siguientes resultados (71, 72):

TABLA 2

LISTA DE LOS CONSERVADORES QUE SE EMPLEAN EN LA INDUSTRIA DE CARNES

CLASE DE SUBSTANCIA	SUBSTANCIA	PROPOSITO	PRODUCTO	CANTIDAD PESO FINAL DEL PRODUCTO		REFERENCIA
				SOLO	COMBINADO	
ANTIOXIDANTES	BHA, BHT y PG	Retardar la rancidez	Salchichas Embutidos Carnes Secas	0.003	0.006	15,26,49 72.
				0.01	0.02	
				0.01	0.01	
AGENTES FUNGISTÁTICOS	Sorbato de Potasio.	Retardar el crecimiento de hongos	Dabutidos Secos	2.5% (en soluciones acuosas de -- inmersión)		15
AGENTES HIGROSCÓFICOS	TPFS, PFS, MFS, DFS	Detener el agua en productos cárnicos. Elevar el pH. Inhibir el crecimiento microbiano.	En todas las carnes curadas de res y demás productos cárnicos.	0.5%		15, 30
AGENTES DE CURADO	Nitrato de Potasio y sodio	Prolongar el efecto del nitrato.	Sales de Curado.	0.23%		15,93 92
	Nitrato de sodio y de potasio	Inhibe el crecimiento de microorganismos anaerobios. Fijar el color de la carne		0.83 (No mayor de 200 p.p.m.)		
ACCELERADORES DE CURADO.	Eritorbato Ascorbato	Acelerar y fijar el color conservándolo durante el almacenamiento.	En carnes de puerco y de res. En carnes de curado y molida.	0.06	0.723 - 1.33%	15

BHA: Butilhidroxianisol, BHT: Butilhidroxitolueno, PG: Propilgalato; TPFS: Tripolifosfato de sodio, PFS: Polifosfato de sodio, MFS: Monofosfato de sodio, DFS: Difosfato de sodio.

- 1) Se retarda la rancidez oxidativa
- 2) Se disminuye la cuenta bacteriana total a 10.7¹ u.f.c./ g.
- 3) Las pruebas sensoriales son de aceptación.

Cuando se adiciona BHA y BHT a carnes con posterior congelación (-18°C), se producen efectos indeseables en las propiedades sensoriales (72, 74).

Con el objeto de retardar la formación de peróxidos y carbonilos, en el proceso de irradiación y durante el almacenamiento, se usan cantidades de 0.025% de BHA y BHT más 0.5% de polifosfato de sodio (1).

También se usan el BHA y el BHT como bacteriostáticos y su mecanismo de acción puede ser a nivel celular (17).

Además se observa que el BHA, BHT y el nitrito de sodio cuando se administran por vía oral, a ratas (tabla 3), pueden ser tóxicos, protoplasmáticos, inespecíficos perjudiciales, tanto para el consumidor, como para los microorganismos contra los que se utilizan (58).

¹ u.f.c.: Unidades formadoras de colonias por gramo.

TABLA 3

CARACTERÍSTICAS TOXICOLÓGICAS DE LOS CONSERVADORES QUE MÁS SE USAN EN PRODUCTOS CÁRNICOS

CONSERVADOR	PROPOSITO	TOXICIDAD						ACCIONES SECUNDARIA	REFERENCIA
		AGUDA	SUBCRÓNICA	CRÓNICA	EFECTO	EFECTO	EFECTO		
Ácido sórbico y sus sales de potasio y sodio.	Se usa como agente fungistático en carnes curadas, y salsas que se conservan.	La DL50 del ácido sórbico en ratas es de 10 g/kg para el sorbato es de: 5.94g/kg por peso, vía de administración oral.	Muerte	3g/kg de ácido sórbico por peso de alimento. Vía de administración oral.	Aumento de peso en el tiempo de ratas.	Adición del 5% de ácido sórbico al alimento. Vía de administración oral.	En machos se acelera el crecimiento y mayor longevidad.	En dosis máximas induce aberraciones en los cromosomas.	14, 16, 18, 39, 41, 52, 38, 42
Sulfito de Sodio	Inhibe el crecimiento de bacterias. Estabiliza el color de la carne	Para el hombre adulto 1g/7g. Vía de administración oral.	Deseñeas Nauseas Diarreas	No se conoce		No se conoce	No se conoce	Previene reacciones de oscurecimiento. Alergias y Urticarias.	102, 109
Cloruro de Sodio	Reforzador de sabor en carnes frías. Se usa en salmueras por su efecto osmótico. Es el principal ingrediente del curado	En ratas hambrientas la DL50 es: 3.75 g/7g por peso corporal. Vía de administración oral.	Muerte	En ratas hambrientas, la DL50 es: 2.11 g/7g por peso corporal. Vía de administración oral.	Muerte	Adición de: 2.8 a 5.6% al alimento de las ratas; vía de administración oral.	Retraso del crecimiento en la adolescencia.	Con edulcorantes, la sal tiene efectos sinérgicos de reforzador de sabor. Hipertensión. Efecto antimicrobiano y sinérgico con el ácido disulfúrico.	27, 51, 63.
Butilhidroxianisol	Aceleran la rancidez y se usan como bacteriostáticos.	En: 2.5g a 5g/7g vía de administración oral	Muerte	No se conoce	No se conoce	Adición del 1% de BHA o BHT al alimento para ratas.	Hepatomegalia y aumento diario de ácido ascórbico.	-Actividad bacteriostática para bacterias Gram positivas y Gram negativas. -Actúa a nivel citoplasmático.	12, 46, 91.
Butilhidroxitolueno		En ratas: 1.6-3.20 g/7g vía de administración oral	Muerte	No se conoce	No se conoce			-actividad antimicrobiana, bacteriostático. -Alteraciones en la membrana y en las enzimas celulares.	84, 91.
Nitrito de Sodio	Fijar el color en carnes crudas. Disminuir la cuenta bacteriana.	2 gr. para el hombre adulto. Vía de administración oral.	Muerte	En ratas 1.4g lit. de agua vía de administración oral.	En animales aumenta la mio globina en la sangre y aparición de alteraciones en hígado, bazo y riñones	100 mg/kg Vía de administración oral.	Disminuye la concentración de hemoglobina en la sangre y acorta la vida.	Inhibición del crecimiento de <i>Clostridium botulinum</i> . Efecto teratógeno, mutagénico y cancerígeno.	63, 75

Tabla 4 Características toxicológicas de los conservadores que más se usan en productos cárnicos.

Conservador	Aplicaciones en productos cárnicos	Fuente de exposición	Efecto	Norma	Ref.
Cloro	En soluciones de inmersión para productos cárnicos con posterior refrigeración.	Al beber agua que <u>con</u> tenga más de 250p.p.m y en la ingestión de alimentos que <u>utili</u> cen cloro como aditivo directo o <u>indirec</u> to.	Mutaciones en células.	Cantidad máxi <u>ma</u> que se <u>per</u> mite: 250 p.p.m.	19 45
Humo	Tocino, jamón y embuti <u>dos</u> . Favorece propiedades sensoriales	En alimentos que <u>con</u> tengan 3-4 benzopireno.	Acción can <u>cer</u> ígena.	Cantidad máxi <u>ma</u> aceptable: 1g /kg de 3-4 benzopireno.	31

1.1 OBJETIVOS

1.1.1. OBJETIVOS INMEDIATOS

Por todo lo anterior, para informar los riesgos que ofrecen los conservadores que se usan en productos cárnicos. En el presente estudio se proponen los objetivos que se detallan a continuación:

- Valorar los riesgos y beneficios que ofrecen los antioxidantes y el nitrito de sodio, al usarse en carnes frías.
- Distinguir el tipo de enfermedades y el comportamiento fisiológico que ocasiona la ingestión de butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y nitrito de sodio (Na NO_2)
- Obtener, recopilar e interpretar la información sobre las nitrosaminas y de su inhibición por medio del ácido ascórbico.

2. ANTECEDENTES

El procesamiento de la carne, data desde tiempos antiguos, que probablemente empieza con la aparición del primer hombre primitivo (Australopithecus). De acuerdo a una evidencia arqueológica, desde hace dos millones de años, el hombre se dedicó a la pesca y a cazar animales para poderlos comer como alimentos frescos (25).

A los 600,000 años, con el hombre de Pekin (Sinantropus), aparece el descubrimiento del fuego, que le sirvió para protegerse del frío y para espantar a los animales (59, 24).

Simultáneamente a la aparición del hombre del Neardenthal, surge la era de los metales, permitiéndole al hombre poder cocinar sus alimentos (59).

Por último, el hombre Cro-Magnon, fué capaz de controlar y usar el fuego, no sólo para cocinar sus alimentos, sino como un medio de conservación puesto que logró prolongar y conservar la calidad de la carne (59, 76).

De cualquier manera, el procesado de la carne se originó antes de que naciera una civilización (59).

Los antiguos egipcios conservaron los productos cárnicos por salado y secado al sol. Los indígenas americanos, utilizaron la deshidratación. en la carne de

búfalo que era cortada en tiras, y también mezclaron los procesos de secado y semisecado de la carne triturada que junto con frutas secas y vegetales, se cubría después con una grasa capaz de fundirse, para luego unirse a este tipo de alimentos (59).

Homero menciona en la Odisea, que el ahumado y las técnicas de salazón se conocían desde tiempos inmemoriales (1000 años A. C.) los romanos fueron los primeros que utilizaron el hielo y la nieve como medios de conservación de alimentos (69).

Los efectos de intoxicación por Clostridium botulinum, se conocieron desde hace 1000 años, asociándose a los embutidos (105).

Muller, en 1870, lo llamó "Butulus" (latín), por su relación en embutidos. En 1879 Van Emegen, logró aislarlo, Bacillus Botulinum, además observó que sus esporas se destruyen por una hora a 80° C. En 1909 se identificó que el Clostridium botulinum está asociado con enterotoxinas, (105).

En Europa en los países del Mediterráneo, antes de la época de los Césares, se practicó el uso de los condimentos en embutidos (25).

A principio del siglo XIX, con el desarrollo de la tecnología se inició el proceso de enlatado, como una necesidad de conservar alimentos durante la Guerra Napoleónica (59).

Hacia el final del siglo XIX se introdujo como conservador el ácido fórmico, y al principio de nuestro siglo, el ácido benzóico y sus derivados (63).

Con los avances de la información científica y tecnológica se lograron métodos y técnicas para el curado y ahumado. El progreso de la química influyó sobre las técnicas de conservación, por ejemplo: en el vinagre y brea de la madera, existe un aceite que tiene las propiedades de conservar la carne, al cual se le conoce como "Cresota" (63).

Durante la Primera Guerra Mundial, evolucionó la técnica de congelación y se aplicó principalmente en carnes (63).

Con las exigencias de la Segunda Guerra Mundial, se obtuvo un desarrollo en el campo científico de la química y de la medicina, descubriéndose los antibióticos y antisépticos, los cuales se añadieron en pequeñas cantidades para la conservación de los alimentos.

También se utilizaron halógenos, como bactericidas, para conservar las características sensoriales de los alimentos, pero sin tomar en cuenta, los daños toxicológicos que podían ocasionar. Posteriormente se empleó el ácido sórbico (63).

3. ANTIOXIDANTES

3.1 GENERALIDADES

El uso práctico de los antioxidantes es prevenir la oxidación de los lípidos en los alimentos (78).

Se pueden utilizar antioxidantes de fuentes naturales (13), como la harina, desengrasada de las semillas de algodón (HDSA), cuando se elimina totalmente el gosispo. Esta harina, retarda la oxidación lipídica en carnes rescas que no contienen altas concentraciones de sal (78).

α -tocoferol, tiene una acción de penetración lenta en los alimentos grasos, lo cual le hace tener un efecto de antioxidante de mayor penetración (7, 34).

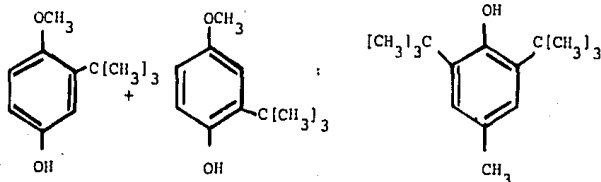
Los antioxidantes fenólicos, se usan para proteger las grasas en alimentos cárnicos de la rancidez oxidativa (18).

El butilhidroxianisol (BHA), se usa para prevenir la oxidación de lípidos y pigmentos, en las carnes frescas (18).

Las fórmulas del butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) son las siguientes (100)

Butilhidroxianisol (BHA) mez
cla de 2- y 3-t-butil-4 hi--
droxianisol.

Butilhidroxitolueno (BHT).
2, 6-di-t-butil-4-metilfenol.



Los antioxidantes tienen los siguientes efectos

(18):

- 1) El BHA muestra una pequeña desminución en el color de la carne.
- 2) Hay sinergismo en la combinación del butilhidroxianisol con el butilhidroxitolueno.
- 3) Durante el almacenamiento, el sabor se deteriora en muestras que contienen BHA.
- 4) El efecto de los conservadores dura cuatro semanas.

En la cocción de los filetes de carne de res, las propiedades sensoriales sufren cambios, en un tiempo de almacenamiento de 20 semanas, durante este período, se observan desgarres físicos, se rompe la estructura celular y existe una desnaturalización de las proteínas, ésto se debe al proceso de cocción y al almacenamiento en frío (1).

La combinación del butilhidroxianisol con el ter-butilhidroquinona (TBHQ), tiene efectos sinergistas. Todos los antioxidantes, protegen el pigmento de la mioglobina contra la acción del oxígeno. El BHA en forma individual ofrece mayor protección a los alimentos contra los cambios y tipos de oxidación (18).

En los microsomas de los tejidos del pavo y del pollo, la metahemoglobina se activa por la acción de la glucosa oxidasa, iniciándose la peroxidación en la membrana lipídica. Su actividad se inhibe con la presencia del (BHT) (37).

3.2 NORMAS

La cantidad máxima que se permite añadir de butilhidroxianisol y de butilhidroxitolueno en productos cárnicos es de 0.02% (15,26,57,92, 103).

3.3 ACCION CONTRA MICROORGANISMOS

Los antioxidantes BHA y BHT, tienen propiedades antimicrobianas a una concentración superior de 0.02% en base al peso de grasa (61).

El BHA tiene efectos en contra de la producción de aflatoxinas y también inhibe el crecimiento y espo-

rulación de Aspergillus spp. (61).

El butilhidroxianisol (BHA) a concentraciones de 5 mg por caja de petri, es selectivo para inhibir las aflatoxinas G₁ (61).

En la tabla 5, se puede observar la importancia y los beneficios del butilhidroxianisol (BHA) y del butilhidroxitolueno (BHT) los cuales, tienen una actividad antimicrobiana, contra bacterias, hongos, virus y protozoarios (9, 11, 43, 54).

Además, las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, se inhiben por la acción de los antioxidantes fenólicos. Las bacterias Gram-positivas son más sensibles frente a este tipo de compuestos (11).

Algunos antioxidantes actúan en la membrana citoplasmática de los microorganismos. El butilhidroxitolueno (BHT), causa un derrame del contenido intracelular en el microorganismo de Tetrahymena pyriformis (96) y el butilhidroxianisol (BHA), provoca un esparcimiento de la proteína intracelular del microorganismo Pseudomona fluorescens (22)

El mecanismo de inhibición microbiano se relaciona con la inactivación y destrucción de las enzimas celulares y del material genético (11).

El BHT reacciona con la envoltura viral que contiene los lípidos, causando la absorción y ruptura de las células huésped (9).

Tabla 5 PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DEL BUTILHIDROXIANISOL Y BUTILHIDROXITOLUENO

MICROORGANISMO	CONCENTRACION INHIBITORIA Y CONDICION	ANTIOXIDANTE	EFECTO DE ACCION INHIBITORIA U OTRA	REFERENCIA
<u>Salmonella tiphymurim</u>	150-400 p.p.m.	BHA	Bacteriostático	11,17,89
<u>Staphylococcus aureus</u>	200 p.p.m.	BHA	Bacteriostático e inhibe producción de enterotoxina	11,17
<u>Escherichia coli</u>	400 p.p.m. y a 37°C	BHA	Bacteriostático	11,17
<u>Clostridium perfringes</u>	200 p.p.m. 150 p.p.m a 37°C	BHA	Bacteriostático	11,54
<u>Pseudomona fluorescens</u>	400 p.p.m.	BHA	Bacteriostático	11,22
<u>Vibro parahemolyticus</u>	50 p.p.m.	BHA	Bacteriostático	11,54
<u>Aspergillus flavus</u>	0.005g a 0.002g/caja de petri 200 p.p.m a pH de 4 y 9	BHA	Inhibición de aflatoxina: B ₁ y B ₂ , G ₁ G ₂	2, 11,43
<u>Bacteriófagos</u>	30 μ M 100 μ M	BHT BHA	Inhibición para atacar células huésped	9, 11
<u>Tetrahymena pyrimorfis</u>	200 p.p.m.	BHA	Bacteriostático e Inhibición síntesis proteinica	11,96,97
BHA; Butilhidroxianisol;		BHT; Butilhidroxitolueno	μ M; Micromoles	

El BHA tiene una actividad en contra de los protozoarios, el cual inhibe la síntesis proteínica, la del DNA y del RNA mientras que el BHT altera la membrana celular (54).

3.3.1. CRITERIOS GENERALES DE ACTIVIDAD

La actividad antimicrobiana de los conservadores se afecta cuando influyen los factores físicos, tales como (12,103):

- pH
- Temperatura
- Actividad acuosa
- Presencia de lípidos en el sistema.

3.3.1.a. INFLUENCIA DEL pH

Los valores extremos del pH, ya sea básico o ácido, pueden aumentar la capacidad inhibitoria de los antioxidantes (11, 54, 63).

Para inhibir el crecimiento de Clostridium perfringes, se necesitan valores extremos de pH y a concentraciones de 100 p.p.m. de BHA (54); mientras que el crecimiento de Aspergillus flavus se inhibe a pH 4 y a pH 9, a una concentración de 200 p.p.m. de BHA (2, 63).

3.3.1.b INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Al disminuir la temperatura, se disminuye la distribución homogénea del BHA y BHT y la facilidad de penetración en las membranas celulares (12).

El Clostridium perfringens, se puede inhibir a temperaturas de $37 \pm 10^\circ \text{C}$ y con una concentración de 150 p.p.m. de BHA (11).

3.3.1.c. INFLUENCIA DE LA ACTIVIDAD ACUOSA

(A_a)

La actividad acuosa aumenta la velocidad de oxidación en alimentos que contengan ácidos grasos (63).

En la figura 1, se muestran diferentes zonas; las reacciones de oxidación se llevan a cabo en la zona 1, donde la actividad acuosa es de 0 a 0.25, mientras que el crecimiento de microorganismos presenta una actividad acuosa (A_a) que va de 0.6 a 1.0 (tabla 6) (63).

3.3.1.d. PRESENCIA DE LÍPIDOS

La presencia de lípidos puede inhibir la actividad antimicrobiana del BHA butilhidroxianisol BHA por las siguientes razones (11, 111).

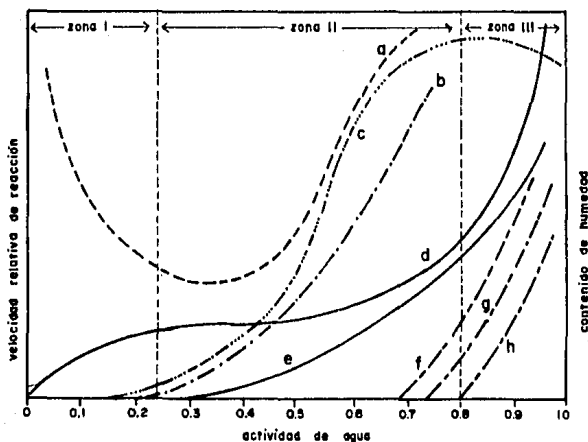
1.- El BHA tiene carácter no polar, que puede migrar y solubilizarse en cualquier lípido, de esta ma-

Tabla 6 VALORES LIMITE DE LA ACTIVIDAD DE AGUA PARA AL-
GUNOS MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN ALIMEN-
TOS.

MICROORGANISMO	VALORES LIMITE DE LA ACTIVI DAD DE AGUA
<u>Bacterias en general</u>	superior a 0.9
<u>Clostridium spp.</u>	0.98 - 0.95
<u>Pseudomona spp.</u>	0.96
<u>Escherichia coli</u>	0.96
<u>Lactobacilos</u>	0.95 - 0.91
<u>Salmonella spp.</u>	0.95
<u>Staphylococcus spp.</u>	0.88
<u>Especies halofílicas</u>	hasta 0.75
<u>Hongos en general</u>	superior hasta 0.75
<u>Alternaria spp.</u>	1.0
<u>Aspergillus niger</u>	0.90 - 0.87
<u>Aspergillus flavus</u>	0.75 - 0.60
<u>Mucor spp.</u>	0.93
<u>Penicillium spp.</u>	1.0 - 0.90.
<u>Xromyces spp.</u>	0.62 - 0.60
<u>Levaduras en general</u>	0.95 - 0.87
<u>Especies osmotolerantes</u>	Hasta 0.60

FIGURA 1

Cambios que ocurren en los alimentos en función de la actividad acuosa.



- a. Oxidación de lípidos
- b. Reacciones hidrolíticas
- c. Obscurecimiento no enzimático.
- d. Isoterma de contenido de humedad.
- e. Actividad enzimática.
- f. Crecimiento de hongos.
- g. Crecimiento de levaduras.
- h. Crecimiento de bacterias.

Fuente: Luck Erich (63).

nera se hace imposible su acción sobre microorganismos.

2.- Los lípidos insaturados son compuestos extremadamente reactivos, los cuales pasan por una autooxidación con subsecuente formación de un radical libre del lípido.

La actividad antimicrobiana de los antioxidantes se puede destruir, por las reacciones con las moléculas lipídicas; los antioxidantes son hidrofóbicos, y se les puede encontrar en la porción lipídica de los alimentos, que contienen más del 10.25% de lípidos, de esta manera son incapaces de actuar contra microorganismos (61).

3.3.2 AMPLIACION DEL ESPECTRO DE ACCION

Al emplear el sorbato de potasio u otro conservador con el butilhidroxianisol, los cuales tiene por separado, un espectro de acción distinta y así juntos pueden ampliar su acción inhibitoria en forma sinergista (11, 63).

"Sinergismo" significa que se necesita una concentración menos del combinado para inhibir los microorganismos, que con cada uno de los componentes por separado (11, 63).

En carnes cocidas y en pavo, se adiciona 100 p.p.m., (0.01%) de butilhidroxianisol (BHA) y 1000 p.p.m. (0.1%) de sorbato de potasio, para inhibir el crecimien

to de Salmonella tiphymurium (11, 68).

El BHT tiene efecto bacteriostático contra microorganismos como Bacillus spp a concentraciones de 200 p.p.m. en el laboratorio y de 10000 p.p.m. en alimentos (11, 17).

3.4. TOXICIDAD

3.4.1 TOXICIDAD AGUDA

El butilhidroxianisol (BHA), tiene una DL_{50} de 4.5 mg por kg de peso en el hombre, con la ventaja de que el cuerpo humano elimina el 80% de BHA en 24 horas (95). Por otro lado, la DL_{50} en ratas es de 2200 mg por kg de peso corporal (5).

El butilhidroxitolueno (BHT), tiene una DL_{50} en el hombre de 4 mg por kg de peso corporal, la desventaja para el BHT, es que se absorbe en pequeñas cantidades en el organismo (95).

La DL_{50} para el BHT en ratas es de 2450 mg por kg de peso corporal (5).

3.4.2 TOXICIDAD CRONICA

La toxicidad a largo plazo para el BHA y BHT, cuando se alimentan ratas con una dieta de manteca que contenga el 3% de éstos dos antioxidantes, se observa que hay un agrandamiento del hígado (hepatomegalia) y elevada producción diaria de ácido ascórbico (5).

3.5 COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO

El butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT), tienen actividades biológicas y bioquímicas en sistemas in vitro, esto se debe al carácter no polar y a la habilidad para reaccionar y enlazar membranas celulares y, de ésta manera logran alterar las propiedades físicas y funcionales de la célula (12, 50, 67).

A bajas concentraciones (0.01 mM), de la combinación de BHA/BHT, pueden estimular la respiración celular de los riñones, pero también son capaces de aumentar y reproducir éste efecto (6).

Las bajas concentraciones de BHA y de BHT, estabilizan la membrana de los eritrocitos (94, 95), mientras que en altas concentraciones, causa hemólisis en las ratas (12).

Los eritrocitos humanos son sensibles a la oxidación enzimática (95); este efecto se determina por la peroxidación lipídica y por el aumento de la permeabilidad del sodio y de la glucosa 6 - fosfato, a través de la membrana celular (33).

El BHT a bajas concentraciones (0,01 mM) tiene un efecto mayor que el BHA, en la respiración en los trasplantes renales. (figura 2, 3, y 4) . (12).

La combinación del butilhidroxianisol (BHA)

con el butilhidroxitolueno (BHT), se relaciona con la perturbación de la membrana de las células de los transplantes de los riñones, éste efecto se demuestra al medir la cantidad de proteína presente en el medio, puesto que el aumento de proteína en el medio se debe a la presencia de ambos compuestos, o cuando se encuentra el BHA en mayor concentración (figuras 2, 3 y 4) (12).

Por otro lado el BHT activa sistemas enzimáticos, observándose la aparición de hepatocitos gama glutamil transpeptidasa positivos en las áreas periportales de los lóbulos del hígado de rata (84).

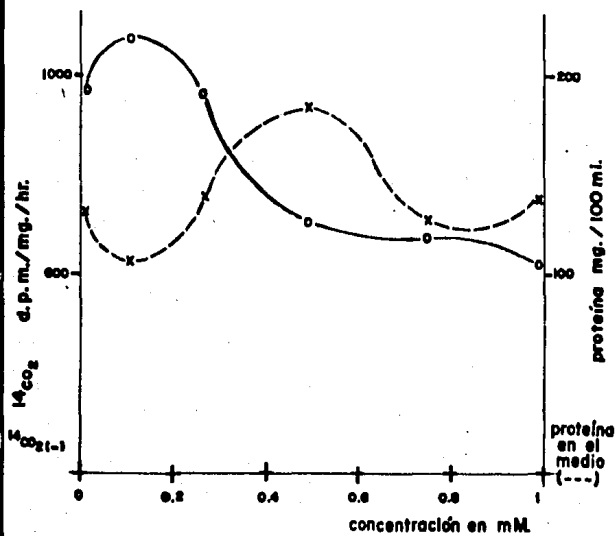
3.6 ACCION CANCERIGENA

La adición del butilhidroxianisol (BHA) en la dieta para ratas, producen efectos cancerígenos observándose lo siguiente (3, 46, 50):

- 1.- Inducción de papilomas y carcinomas en las células del antestómago en ratas.
- 2.- En el antestómago de hamsters machos, se muestra una disminución de la producción de la submucosa.

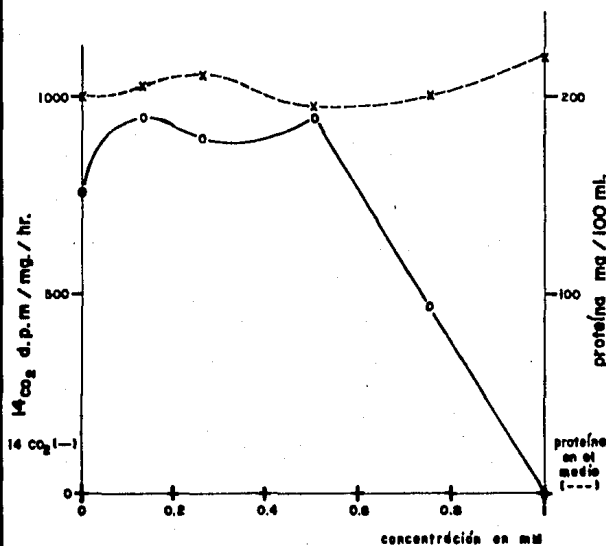
El cáncer del estómago y de las vías urinarias, parece ser que se debe al isómero del butilhidroxianisol (BHA) (3, 50).

FIGURA 2. Efecto del butilhidroxitolueno (BHT), sobre la respiración en un transplante de riñón de una rata y en un sustrato de ^{14}C glucosa.



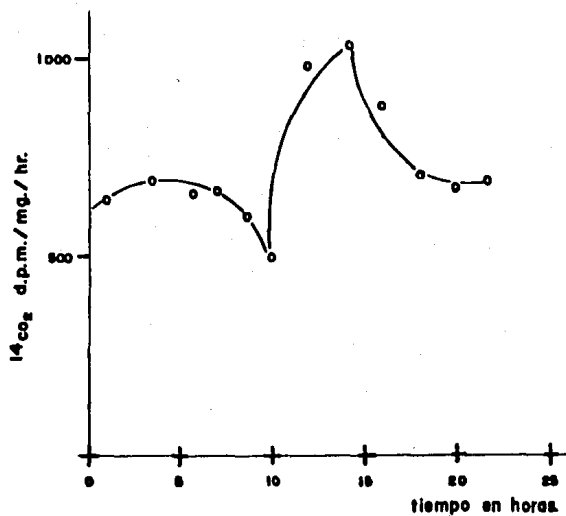
Fuente: Braunberg R. C., et al (12).

FIGURA 3 Efecto del butihidroxianisol (BHA), sobre la respiración en un transplante de riñón de una rata y en un sustrato de ^{14}C glucosa.



Fuente: Braunberg R. C., et al (12).

FIGURA 4 Gráfica control sobre la producción de $^{14}\text{CO}_2$ durante la respiración en un transplante de riñón de una rata, sobre un sustrato de ^{14}C glucosa.



Fuente: Braunberg R. C., et al (12).

4. NITRITOS

4.1. GENERALIDADES

La adición de los nitritos a la carne, impide el desarrollo de microorganismos patógenos, toxigénicos y la formación de enterotoxinas que causan enfermedades en el hombre (8, 113).

Los nitritos se asocian con el sabor de las carnes curadas, tales como: salchichas, jamón, carne de puerco y además sirven como ligeros antioxidantes, al prevenir malos olores (22, 52, 79, 94).

La contribución de los nitritos, dentro de las características del jamón curado, es desarrollar un color rosa, el cuál se considera deseable para los consumidores (30).

Parte del nitrito que se adiciona a las carnes, se oxida a óxido nitroso, otra parte se combina con las proteínas y otra reacciona con los grupos radicales sul₂hidrilo (SH^-), también se forma el anhídrido hiponitroso en pequeñas cantidades (23).

Entre los productos de reacción; de los nitritos con las proteínas, se forman las nitrosaminas, las cuales originan tumores in vitro (23, 113).

Con el fin de reducir el número de nitrosaminas,

se buscan alternativas en el uso de compuestos, capaces de substituir a los nitritos en las carnes curadas (30, 73, 99), tal es el caso del ácido sórbico (10, 42).

La pérdida de los nitritos es causa de (113):

- 1) Las transformaciones bioquímicas post-mortem.
- 2) Los aminoácidos de bajo peso molecular que incorporan el nitrito a su estructura molecular.

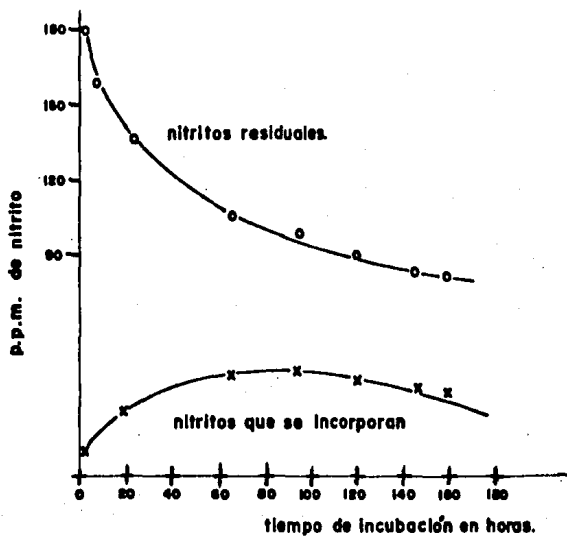
La concentración de los nitritos residuales disminuye, cuando reaccionan como las proteínas a un pH de 5.5, esto se debe al enlace químico del nitrógeno - con el nitrito, con el fin de aumentar la cadena de la proteína, (figura 5) (113).

La aplicación de los nitritos en carnes curadas es de importancia, cuando se consideran los posibles efectos nocivos de los productos por las reacciones con los nitritos. El suero de albúmina de bovino y la mio-sina, la mayor proteína no hemática del músculo (65), tiene la habilidad de enlazar apreciables cantidades de nitrito, y por consiguiente resulta una modificación de la proteína (113).

4. 2. ACCIONES SECUNDARIAS

Los nitritos reaccionan con la proteína del músculo, (mioglobina), para dar las características del color rojo a las carnes curadas (30, 35, 79).

FIGURA 5 Cantidad de nitritos residuales y de nitritos que se incorporan, al incubarse en suero de albúmina de bovino (10%) y de nitrito de sodio (200 p.p.m.) a un pH de 5.5 a 20°C.



Fuente: Wolford G., et al (113).

Durante el almacenamiento por congelación, el carácter textural de las emulsiones que contienen nitritos, no tienen grandes cambios en las diferencias que se pueden comparar por un aumento de rigidez por la proteína gel, que se forma al desmenuzar la carne en cámaras de aire (64, 65).

Los nitritos inhiben la oxidación en embutidos y forman una acumulación de productos finales de oxidación en carnes curadas, rojas y cocinadas (88).

4.3 NORMAS

El nitrito de sodio que se va a añadir a los alimentos no debe de contener impurezas (104).

La cantidad máxima de nitrito de sodio residual que se permite en productos cárnicos es de 156p.p.m. (66).

4.4. ACCION CONTRA MICROORGANISMOS

4.4.1. CRITERIOS GENERALES DE ACTIVIDAD

La actividad del nitrito de sodio, aumenta al disminuir el pH; para inhibir a Staphylococcus aureus a pH de 5.5 se necesitan 80 p.p.m., de nitrito de sodio (NaNO_2) (63).

4.4.2. ESPECTRO DE ACCION

El nitrito de sodio, actúa solamente sobre las bacterias y no afecta el crecimiento de hongos y leva-

duras (20, 82).

La adición del nitrito de sodio, en alimentos de curado es de gran importancia, especialmente en la inhibición de Clostridium botulinum (40, 81, 94), y en la formación de pigmentos y nitrosaminas (112).

Los nitritos de sodio, tienen efectos sinérgicos con la sal común, puesto que disminuyen los valores de (20, 113):

- Actividad acuosa
- pH.
- Actividad y crecimiento microbiano.

El interés práctico de los nitritos, es evitar la producción de las toxinas del Clostridium botulinum (40, 69, 80).

La acción antimicrobiana de los nitritos 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 y de esta manera producen una inhibición (63,82).

Además, la acción del calor entre el nitrito y las sustancias que se encuentran en la carne, pueden tratarse de nitrosotioles y otros productos de reacción del nitrito compuestos azufrados y de Fe^{+2} . (63.69.80).

También se puede formar, por la acción del calor la S-nitrosocisteína, complejo de cisteína con Fe^{+2} y óxido nitroso, la cual puede tener efecto de inhibición

sobre el Clostridium botulinum (63).

4.5 COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO

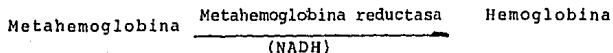
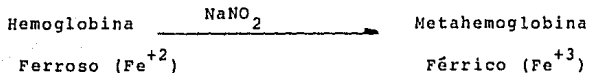
Los nitritos se absorben en el tracto gastro intestinal, disminuyen el tono del músculo liso, de ésta manera producen vasodilatación y descenso en la presión arterial. En dosis elevadas favorecen la formación de metahemoglobina y producen cianosis (63).

Las proteínas reaccionan con el nitrito en el estómago a bajos pH (113).

- 1) Toxicidad directa del nitrito.
- 2) Formación de compuestos N-nitroso, por la adición del nitrito con las aminas secundarias y terciarias, y amidas.

La acción del efecto toxicológico es la inducción de la metahemoglobina del ión ferroso a ión férrico; la adición de una dosis de 300 - 330 mg de nitrito por kg. de peso corporal; ocasiona la muerte a ratones en 30 min.: con una concentración de metahemoglobina el 75%, los síntomas progresivos son los siguientes: incoordinación motora, postración, coma y muerte (18).

MECANISMO DE ACCION:



El mecanismo de acción muestra la formación de la metahemoglobina por nitrito de sodio y la reacción reversible, por la presencia de la nicotinamida-adenin-dinucleótido, (NADH) (98).

Los nitritos tienen efectos tóxicos para los niños, por las siguientes razones (98).

- 1) La hemoglobina fetal se oxida más rápido a metahemoglobina, puesto que al nacer los niños son deficientes de NADH en la sangre.
- 2) En la parte superior del tracto intestinal de los niños, existen bacterias reductoras - que transforman los nitratos en nitritos.

4.6 TOXICIDAD

4.6.1. TOXICIDAD AGUDA

La DL_{50} del nitrito de sodio para el hombre, es 32 mg /kg. de peso, lo que corresponde a 2 g por individuo adulto. El nitrito de sodio produce intoxicaciones, cuando se usa solo, por ésta razón, se tiene que

emplear en combinación con la sal común (63).

4.6.2 TOXICIDAD SUBCRONICA

Dosis de 1.4g de nitrito de sodio por litro de agua en los animales de experimentación, durante 200 - días, aumenta la metahemoglobina en la sangre y aparecen alteraciones en el hígado, bazo, riñones y en el miocardio (63).

4.6.3 TOXICIDAD CRONICA

La alimentación de las ratas con 100 mg, de nitrito de sodio por kg., de peso, durante tres generaciones, disminuye la concentración de hemoglobina en la sangre y acorta la vida (75, 85, 87, 107).

Durante la exposición crónica, las dosis altas de nitrito de sodio, son capaces de alterar la actividad locomotora, en los ratones adultos, observándose lesiones en el sistema nervioso central (107, 111).

4.6.4 ACCION TERATOGENA

Cuando se usan dosis de 0.05% ó 43 mg por kg., de nitrito de sodio por peso corporal, en los alimentos para las ratas embarazadas, no se observan efectos nocivos en la mortalidad, fertilidad y ganancia de peso (113).

El nitrito de sodio no tiene efectos sobre el sistema reproductor en las ratas progenitoras, sin

embargo, se observan efectos en el primer desarrollo postnatal de los hijos con subsecuente mortalidad, la cual es causada por la reducción del peso corporal y por un retardo en el desarrollo del líquido amniótico (113).

No se observan efectos nocivos en el desarrollo del postdestete, pero se encuentran las siguientes postulaciones para el nitrito de sodio (28, 107, 113):

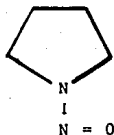
- 1) Causa mutagénesis transplacentaria, sin efectos sobre los cromosomas fetales.
- 2) El nitrito de sodio es capaz de aumentar la teratogenicidad de la etilentiourea.
- 3) Las ratas durante el embarazo adquieren anemia maternal y la mortalidad de los hijos es alta.

5. NITROSAMINAS

5.1. GENERALIDADES

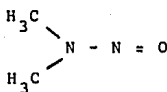
Las cantidades de nitrito iniciales y no las residuales, son las causantes de la formación de nitrosaminas (34, 101).

Entre las nitrosaminas más importantes están las siguientes. (34, 94) :



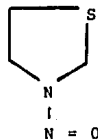
NPIR

(N-nitrosopiperidina)



NDMA

(N-nitrosodimetilamina)



NTHZ

(N-nitrosotiazolidina)

5.2. DEFINICION

Las nitrosaminas se definen como compuestos del tipo $N - N = O$, y se dividen en dos clases (83) :

Nitrosaminas.

Nitrosamidas.

Estas dos clases difieren, en cuanto a su estabilidad, mecanismo de acción y grado de carcinogenicidad (83).

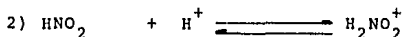
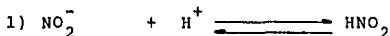
La carcinogenicidad de las nitrosaminas se comprue-

ba en muchas especies de animales como: hamster, peces, cobayos y perros (36, 83).

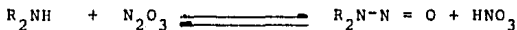
5.3. FORMACION DE LAS NITROSAMINAS

Las nitrosaminas son compuestos carcinógenos que se forman por la interacción de aminas secundarias, terciarias y amidas (las substancias nitrosables) y el anhídrido nitroso (N_2O_3), (el agente nitrosante) (83,85)

Las siguientes reacciones muestran como el anhídrido nitroso se forma a partir de los nitritos en soluciones acuosas ácidas (6, 86, 87).



El anhídrido nitroso reacciona con el par de electrones libres, en aminas secundarias, sin protonar y forma nitrosaminas (6, 86, 87).



El pH óptimo para nitrosificar las aminas secundarias está entre 2.5 y 3.5 (87).

5.4 INHIBICION DE LAS NITROSAMINAS

La reducción de las nitrosaminas, se lleva a cabo con el uso de antioxidantes, tales como: el α -toco--

ferol y el ácido ascórbico. El α -tocoferol, es una grasa soluble; para la producción de nitrosaminas se usa en concentraciones de 0.05%, (500 p.p.m.) (108).

Para inhibir la producción de nitrosaminas en un alimento, como el tocino, se necesita un bloqueador, y las características que debe de tener, son las siguientes (108):

- Lipofílicos.
- No volátil en vapor.
- Estabilidad al calor por arriba de 174°C, (máxima temperatura de fritura).

El α -tocoferol, como inhibidor de nitrosaminas, requiere simultáneamente de la aplicación de un agente emulsificante para favorecer su dispersión en salmuerras de curado (34).

Las nitrosaminas son estables y por consiguiente, difíciles de destruir (100), sin embargo la vitamina C, (ácido ascórbico), puede inhibir su formación dentro del organismo humano, (figuras 6, 7, 8, y 9) (84).

Además la vitamina C, tiene una acción secuestrante para radicales libres genotóxicos (figura 8 y 9) (70, 83).

Estudios recientes in vitro, confirman que la Vitamina C, no tiene efectos mutagénicos en la células de los mamíferos bajo condiciones fisiológicas (4).

El ácido ascórbico reduce el anhídrido nitroso

a óxido nitroso, la reacción es la siguiente (6).



5.5. FORMACION E INHIBICION DE NITROSAMINAS ENDOGENAS

Las nitrosaminas endógenas se forman en el sistema digestivo, principalmente en el estómago a un pH de 2.5 (83).

La fuente principal de los nitritos, son los nitratos; cuando se ingieren alimentos que contengan nitratos, los microorganismos orales que se encuentran en la saliva humana, los transforman a nitritos, que pasan por el tubo digestivo hasta el estómago donde pueden actuar como agentes nitrosantes, (figuras 6 y 7), después se absorbe y se incorpora a la sangre através de la circulación (83, 86).

En el intestino humano, los microorganismos, pueden formar nitrito a partir de compuestos que contengan nitrógeno, (figura 7) (83).

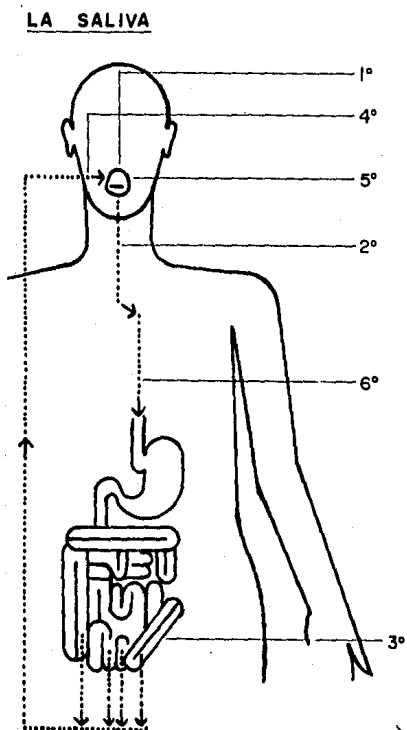
5.5.1 PRINCIPALES LUGARES DONDE SE FORMA EL NITRATO ENDOGENO

LA SALIVA (figura 6) (83).

- 1° Aporte de nitrato con la comida.
- 2° Transporte del nitrato al tracto gastrointestinal.
- 3° Absorción del nitrato hacia la sangre.
- 4° Excreción de nitrato hacia la cavidad bucal,

FIGURA 6

Principales lugares donde se forma el nitrito endógeno.



Fuente: Roche (83).

junto con la saliva.

- 5° Conversión del nitrato en nitrito a nivel de la cavidad bucal.
- 6° Transporte del nitrito al estómago.

EL INTESTINO, (figura 7) (83).

- 1° Aporte de compuestos nitrogenados con los alimentos.
- 2° Transporte al intestino.
- 3° Compuestos de nitrógeno, que proceden del metabolismo intermediario (hígado)
- 4° Formación de nitrito y nitrato por microorganismos a partir de compuestos nitrogenados.

5.5.2. FORMACION DE LAS NITROSAMINAS Y BLOQUEO DE ESTAS EN EL CUERPO HUMANO

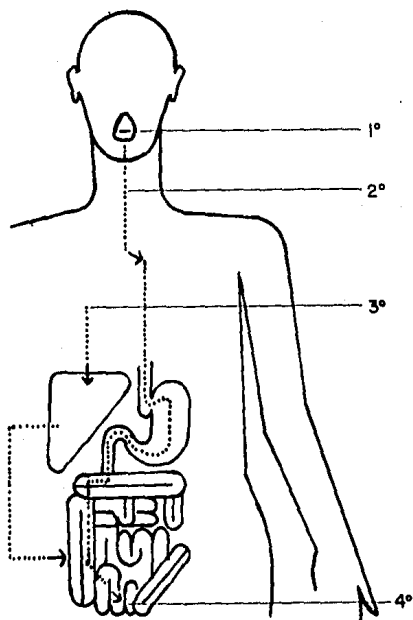
NIVEL ESTOMAGO .

- 1° FORMACION DE NITROSAMINAS, (figura 8) (83).
 - 1.1 La saliva que contiene el nitrito, entra en el estómago y actúa allí, como agente nitrosante.
 - 1.2 Aminas que se ingieren en la comida actúan en el estómago, como sustancias nitrosables.
 - 1.3 Formación de nitrosaminas a partir de nitrito y aminas.
- 2° BLOQUEO DE LA FORMACION DE NITROSAMINAS MEDIANTE VITAMINA C, (figura 8) (83).

FIGURA 7

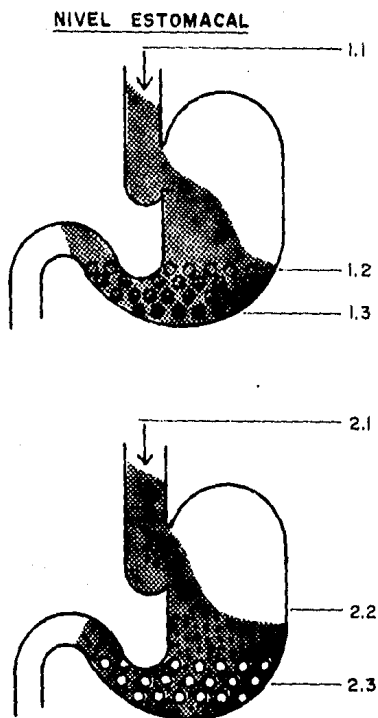
Principales lugares donde se forma el nitrito endógeno.

EL INTESTINO



Fuente: Roche (83).

FIGURA 8 . Formación de nitrosaminas y bloqueo de estas en el cuerpo humano



Fuente: Roche (83).

- 2.1 La saliva que contiene nitrito, y la vitamina C que se ingiere entre en el estómago
- 2.2 Aminas que se ingieren en la comida actúan en el estómago como sustancias nitrosables.
- 2.3 La vitamina C bloquea la formación de nitrosaminas, porque la reacción vitamina C - nitrito es más rápida que la reacción amina - nitrito. Este efecto de bloqueo se logra con 50mg. de vitamina C, presente en cada comida.

5.5.3 FORMACION DE LAS NITROSAMINAS Y BLOQUEO DE ESTAS EN EL

CUERPO HUMANO

NIVEL INTESTINO

FORMACION DE LAS NITROSAMINAS, (figura 9) (83).

- 1.1 Compuestos nitrogenados, que proceden de los alimentos y del metabolismo intermedio, (hígado), entran en el intestino.
- 1.2 Formación de nitrito y nitrato por los microorganismos intestinales.
- 1.3 Aminas que se ingieren en la comida, actúan en el intestino como sustancias nitrosables.
- 1.4 Formación de nitrosaminas a partir de nitrito y aminas.

BLOQUEO DE LA FORMACION DE NITROSAMINAS MEDIANTE VITAMINA C

(figura 9) (83).

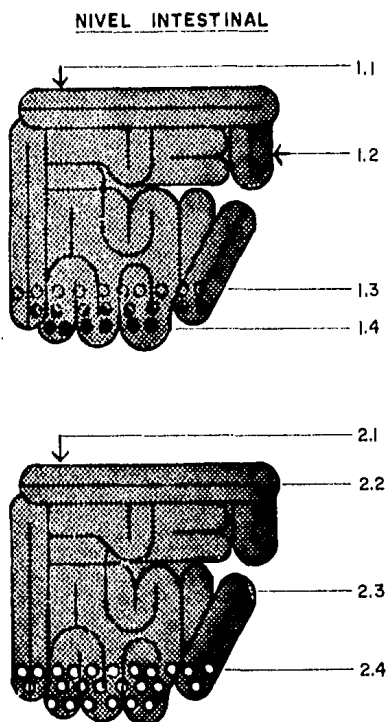
- 2.1 Entrada de vitamina C en el estómago.
- 2.2 Formación de nitrito a partir de nitrato por microorganismos intestinales.
- 2.3 Las aminas que se ingieren con la comida -

actuán en el intestino como sustancias nitrosables. La vitamina C, bloquea la formación de nitrosaminas, porque la reacción de vitamina C-nitrito es más rápida que la reacción amina - nitrito.

2.4 Bloqueo en la parte inferior del intestino.

FIGURA 9

Formación de nitrosaminas y bloqueo de estas en el cuerpo humano



Fuente: Roche (83).

6. CONCLUSIONES

1) El butilhidroxianisol (BHA) inhibe la producción de aflatoxinas a niveles de 5mg/caja de petri.

2) A concentraciones superiores de 0.02%, el butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT), actúan en las membranas celulares de los microorganismos y de los organismos superiores.

3) El butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT), modifican las funciones fisiológicas del oxígeno en las células del riñón, neumocitos y eritrocitos.

4) El BHA, disminuye la actividad respiratoria en el trasplante de riñón.

5) La principal vía de absorción de los nitritos es la intragástrica.

6) Son más los beneficios que se obtienen al usar antioxidantes como el BHA y BHT, que los riesgos que producen cuando se consumen en pequeñas cantidades.

7) Los nitritos son sustancias tóxicas, teratogénicas y cancerígenas. Además son capaces de atravesar membranas placentaria y cerebral.

8) Los nitritos reaccionan en el estómago a pH de 2.5 para formar nitrosaminas, las cuales dan origen a tumores (in-vitro).

9) La velocidad de reacción del ácido ascórbico con el nitrito de sodio es más rápida e impide la formación de nitrosaminas en el estómago y en el intestino.

7. RECOMENDACIONES.

A niveles superiores de Aa de 0.45 en adelante, las grasas sufren reacciones de oxidación lipídicas (Figura 1) y son estables en la monocapa a niveles de 0.23. Por otro lado, la vida útil de las grasas se disminuye en función del grado de saturación de la temperatura de almacenamiento y de la cantidad de humedad, por lo tanto, los antioxidantes se deben utilizar antes de que ocurra una oxidación de lípidos, con el fin de aumentar o prolongar la vida de anaquel del producto.

Como los antioxidantes se utilizan en pequeñas -- cantidades, la disponibilidad de su uso y los costos como materia prima, se minimizan por los beneficios que se obtienen al prolongar el tiempo de vida de anaquel.

Muchos de los alimentos que se consumen pueden inducir ciertos tipos de cáncer. La caracterización y optimización del sistema inmune pueden representar una importante estrategia para minimizar los riesgos cancerígenos; lo que sí se sabe, es que algunos nutrientes y compuestos químicos, cuando se consumen en exceso son tóxicos, por consiguiente es mejor consumir una dieta bien balanceada de Vitamina C, con 50 mg de consumo diario.

8. GLOSARIO

Absorción	Proceso mediante el cual una sustancia pasa a través del tubo digestivo, para que después se transporte a otras partes del cuerpo.
Aflatoxina	Substancia que produce el <u>Aspergillus flavus</u> ; tiene efectos cancerígenos a largo plazo.
Bactericida	Substancia capaz de matar bacterias.
Bacteriostático	Substancia que inhibe el crecimiento de bacterias.
Cromosoma	Estructura en forma de cadena que contiene el material hereditario.
Cromátida	Cada una de las cadenas individuales que resultan de la duplicación de los cromosomas.
Eritrocitos	Glóbulos rojos.
Fungicida	Substancia capaz de matar hongos.
Fungistático	Substancia que inhibe el crecimiento de hongos.
Hidrogeniones	Átomos de hidrógeno con carga eléctrica positiva.
Metabolismo	Transformaciones bioquímicas que realizan los seres en el proceso

	de asimilación y desasimilación.
Mutación	Variación en la secuencia estructural del ácido deoxirribonucleico (ADN).
Neumocito	Célula del pulmón.
Pirexia	Fiebre.
Presión osmótica	Presión adicional, con respecto a la presión que tiene el disolvente en un sistema.
Protoplasmáticas	Substancias que actúan sobre el protoplasma.
Neurotóxicos	Substancias que actúan en la membrana del cerebro.
Tóxico	Substancia que altera las funciones del organismo en forma definitiva o transitoria.
Transplacentaria	Substancia capaz de pasar la placenta.

9. APENDICE

Abreviaturas que se utilizan en esta investigación:

A _{ac}	Actividad acuosa
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
BHA/BHT	Mezcla de butilhidroxianisol y butilhidroxitolueno.
BHA/TBHQ	Mezcla de butilhidroxianisol y terbutilhidroquinona.
¹⁴ C	Isótopo del átomo de carbono.
DL ₅₀	Dosis letal media
d.p.m.	Desintegración por minuto
FMS	Fosfato monosódico
g.	Gramo
g/kg	Gramo por kilogramo
HDSA	Harina desengrasada de la semilla de algodón.
Hr.	Hora
IDA	Ingestión diaria aceptable
Kg	Kilogramo
mg	Miligramo
min.	Minuto
μM	Unidad de concentración en micromoles.
mM	Unidad de concentración en milimol
NADH	Nicotinamida-adenin-dinucleótido
NDMA	N- nitrosodimetilamina

NPIR	N-nitrosopirrolidina
NTHZ	N-nitrosotiazolidina
PFS	Pirofosfato de sodio
pH	- log [H ⁺]
p.p.m.	Partes por millón
TBHQ	Terbutilhidroquinona
TPFS	Tripolifosfato de sodio
u.f.c./g	Unidades formadoras de colonias por gramo

BIBLIOGRAFIA

- 1) Abdel- Fattah L.E., El- Zeany B.A., Hassan I.M. (1979). Loss of unsaturated acids during cold storage of irradiated buffalo meat. *Revista Italiana Delle Sostanze Grasse* 56 (10): 388-91.
- 2) Ahmad S. (1979). Inhibition of mold growth by butylated hydroxyanisole, M.S. Thesis, Washington State Univ., Pullman.
- 3) Altman H.Y., Walter P.W. Matthiasch G. (1985). Induction of lesions in the forestomach of rats by 3-tert-butyl-4-hydroxyanisol (BHA). *Food Chem. Toxicology*. 35(1):1-11.
- 4) Amacher D.F. et al. (1981). Ascorbate is not detectably mutagenic in the L5178 YTK+/- cell mutation assay. *Cancer Lett* 14:151-158.
- 5) Anthony T.Tu. Survéy Contemporary Toxicology. John Willey & Sons. 1 st. edición (1980).
- 6) ATAM. Toxicología de alimentos. Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. México (1985).
- 7) Bartow L. (1977). Lack of effect of dietary ascorbic acid on stability of carcass fat and meat of broilers. *British Poultry Science* 18 (5): 535-555.
- 8) Bayne H.G. and Michener H.D. (1975). Growth of Staphylococcus and Salmonella on frankfurters with and without sodium nitrite. *Appl. Microbiol.* 30: 844-849.
- 9) Beggs W.K., et al. (1978). Synergistic action of Amphotericin B and antioxidants against certain opportunistic yeast pathogens. *Antimicrob. Agents, Chemother* 13:266.
- 10) Blocher J.C., Busta F.F. and Sofos J.N., (1982). Influence of potassium sorbate and pH on ten strains of type A and type B of Clostridium botulinum. *J. Food Sci.* 47:2028-2032.
- 11) Branen A.L., Davidson P.M., (1980). Antimicrobial properties of phenolic antioxidants and lipids. *Food Technol. May.* :42-53
- 12) Braunberg R.C., Gant O.O. and Friedman L. (1982). Toxicological evaluation of compounds found in food using rat renal explants. *Food Chem. Toxicol.* 20:541-546.
- 13) Castro S.R., Pratt D.E. (1986). Compuestos polifenólicos de la semilla de Chia como antioxidantes naturales. *Tecnol. Aliment. Méx.* 21: 3,4.

ESTA TESTS NO

- 14) Cioletti L. J., Gilliland S.E., and Henrickson R.L., (1982) Formic acid and potassium sorbate as preservatives for short term storage of bovine hides. *J. Food Sci.* 47: 1793-1796.
- 15) Code of Federal regulation. Title 9 Food and Drugs. Washington U.S. Government printing office. (1985).
- 16) Cunningham F.E., (1979). Shelf-life and quality characteristics of poultry parts dipped in potassium sorbate. *J. Food Sci.* 44: 863-865.
- 17) Chang H.C. and Branen A.L. (1975). Antimicrobial effects of butylated hydroxyanisol (BHA). *J. Food Sci.* 40: 349
- 18) Chastain M.F. et al (1982). Antioxidants in restructures beef/pork. *J. Food Sci.* 47: 1779-1784.
- 19) Cheng-I. W. , Cook D.L. and Kirk J.R. (1985). Use of Chlorine compounds in the food industry. *Food Technol.* 3(1): 107-115.
- 20) Christiansen L.N., Tompkin R.B., Shaparis A.B., Johnston R.W. (1975). Effect of sodium nitrite and nitrate on Clostridium botulinum growth and toxin production in a summer style sausage. *J. Food Sci.* 40: 488-490.
- 21) D' Aust J. Y., and Scotland P. (1982). Sampling methods for detection of Salmonella in raw chicken carcass. *J. Food Sci.* 47: 1643-1644.
- 22) Davidson P.M. and Branen A.L. (1979). Antimicrobial activity of butylated hydroxyanisol (BHA), tertiary butylhydroquinone and potassium sorbate against Staphylococcus and Salmonella tiphymurium. Presented at 39 th Ann. Meat.
- 23) Emi- Miwa M., Okitani A. and Fujimake M. (1976). Fate of Nitrite added to whole meat, meat fractions and model system *Agric. Biol. Chem.* 40:1387-1392.
- 24) Expert panel of the Institute of Food Technologist (1975). N.N. Natural occurring toxicants in food. *J. Food Sci.* 40: 215-216
- 25) FAO/WHO (1974). Historical aspects. Guide lines for developing an effective national food control system. FAO Nutrition Meettings Report Series No. 53 Wld. Hlth. Org.tech. Rep. Ser. No. 539.
- 26) Federal Register (1979). Substances for use in meat and poultry products. United States of America, Load Safety & Quality Service. 44, (151, Aug 3): 45606-45607.

- 27) Firstenberg- Eden R. and Rowley D.B. (1981). Inhibition of Moraxella- Acinetobacter cells by sodium phosphates and sodium chlorine. J. Food Sci. 46: 579-582.
- 28) Flam W.G. (1975). Test system for assessing mutagenic potential of chemical substances. J. Assoc. off Anal. Chem 58: 668-671.
- 29) Frazier W.C. Microbiología de los alimentos. 2a. edición. Editorial Acribia. España (1981).
- 30) Frohlich D.A., Gullet E.A. and Osborne W.R. (1983). Effect of nitrite and salt of the color, flavor and overall acceptability of ham. J. food Sci. 48: 152-155.
- 31) Gilbert J. and Knowles M.E. (1975). The chemistry of smoked foods: A review. J. Food Technol. 10: 245-248.
- 32) Ginocchio A.W., Fisher N., Hutchinson J.B., Berry R. and Hardy J. (1983). Long term toxicity and carcinogenicity studies of cake made from chlorinated flour. Food Chem. Toxicol. 21(4): 435.
- 33) Girotti A.W. & Thomas J.F., (1984). Damaging effect of oxygen radicals on resealed erythrocyte. J. Biol. Chem. 257(3): 1744-1752.
- 34) Gray J.I., Reddy S.K. and Price J.F. (1982). Inhibition of N-nitrosamines in bacon. Food Technol. 39: 45-54.
- 35) Greenberg R.A. (1973). Ascorbate and nitrosamines formation in cured meats. Proc. Int. Symp. Nitrite Meat Prod. Zeist s. 179.
- 36) Hanck A. Vitamin C. New Clinical Application in Immunology Lipid Metabolism and Cancer. 1 st. edition. Hans Huber publishers . Viena (1982).
- 37) Harel S., Kanner J. (1985). Muscle membranal lipid peroxidation initiated by H_2O_2 actived metamyoglobin. Journal of agriculture and food chemistry. 33 (6): 1188-1192.
- 38) Hargreaves L.L. , Wood J.M. and Jarvis B., (1972). The antimicrobial effect of phosphates with particular references to food products the British Food Manufacturing Industries. Research association scientific technical surveys. No. 76 Leatherhead; B.F.N.I.R.A.

- 39) Hasegawa N.N., Nishi Y., Ohkawa Y. and Inui N. (1984). Effects of sorbic acid and its salt on chromosome aberrations sister chromatid exchanges and gene mutations in culture chinese hamsters cells. Food Chem. Toxicol. 22(7): 501-507.
- 40) Hauschild A.W., (1982). Assesment of botulism hazards from cured meat products. Food Technol.. 59-104.
- 41) Hendy R.J., et al., (1976). Long-term toxicity studies of Sorbic acid in mice. Food Cosmet. toxicol. 14: 381-386.
- 42) Huthanen C.N. and Feinberg J. (1980). Sorbic acid inhibition of Clostridium botulinum in nitrate-free poultry frankfurter J. Food Sci. 45: 453-457.
- 43) Hung D. Y. et al. (1977). Effect of butylated hydroxyanisol (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) on growth, and aflatoxin production of Aspergillus flavus J. Food Safety 1:39.
- 44) Islam M.N. and Islam N.B. (1979). Extension of poultry shelf life by polyhexamethylenbiguanidine hydrochloride . J. Food Protect. 42(5): 416-419.
- 45) Islam M.N. , Rodney J.H.. Geiser G. (1978). Development of antimicrobial agents for the extension of poultry shelf-life Poultry Sci. 57: 1226-1271.
- 46) Ito N. and Fukushima S.,(1985). Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT and other antioxidants. CR. CRIT. Rev. Toxicol. 15(2); 109-150.
- 47) Izumi K., and Cassens R.G. (1982). Reaction of nitrite and Cytochrome_c in the presence or absence of ascorbate.J. Food Sci. 47: 1419-1422.
- 48) Jamieson W. (1980). Use of hypobaric condition for refrigerated storage of meats, fruits and vegetables. Food Technol. 10: 64-70.
- 49) Kaaber L. and Sandberg K. (1979) . Survey of Ancillary substances and additives used in the meat industry. Ninf. informasion No. 25-29.
- 50) Kahl R. (1984). Synthetic antioxidants biochemical actions and interference with radiation toxic compounds chemical mutagens and chemical carcinogens. Toxicology 33 (3,4):185-193.

- 51) Katz A.C. and Freudenthal R.I., (1984). A 6 month dietary toxicity study of acidic sodium aluminium phosphates in Beagles dogs. *Food Chem. Toxicol.* 22(1): 7-9
- 52) Kemp J.D. and Langlois B.E., (1979). Quality of boneless dry cured ham produced with or without nitrite netting or potassium sorbate. *J. Food Sci.* 44; 914-915.
- 53) Kidney A. J. The use of sulphite in meat precessing. 1 st. edition. Chem. Ind. London (1974).
- 54) Klindworth K., Davidson P.M. and Branen A.L.(1979). Inhibition of Clostridium perfringes by butylated hydroxyanisol. *J. Food Sci.* 44: 564.
- 55) Konadich N. and Monges J. (1985). Effect of chemical dips unchilled fresh beef inoculated with E. coli, S. aureus, S. faecalis and Cl. perfringes and store at 30°C and 20°C. *Meat Science* 12: 17-30.
- 56) Lamikanra O., (1982). Sulphite induced oxidation and browning of linolenic acid. *J. Food Sci.* 47: 2035-2037.
- 57) La Rocco K.A. and Marin S.E., (1981). Effect of potassium sorbate alone and in combination with sodium chloride on the growth of Salmonella tiphymurium (7136). *J. Food Sci.* 46:568
- 58) Lawrie R.A., Ciencia de la Carne. 2 a. edición. Editorial Acribia. España (1977).
- 59) Leopold A.c. and Ardey W. (1972). Substances in plants and the food habits of early man. *Science* 176: 512- 516.
- 60) Leslie S.W. and Acosta S.C., (1978). Cytotoxicity of butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisol in cultured in heart cells. *Toxicology* 10: 281-293.
- 61) Lin C.C. and Fung D.Y.(1983) Effect of BHA, BHT, TBHQ and PG on growth and toxigenesis of selected Aspergillus *J. Food Sci.* 48: 576- 580.
- 62) Litton Bionetics. (1974). Inc. Mutagenic evaluation of compound FDA 73-74, potassium sorbate PB 245-434. Springfield national technical information service U.S. Department of commerce.
- 63) Luck E., Conservación química de los alimentos. 1 a. edición Editorial Acribia. España (1981).
- 64) Mawson R.F. Miller B.F. and Schmidt G.R. (1983) Studies on

- pasteurized and commercially sterilized poultry meat bologna. Effects of shopping conditions and type of meat J. Food Sci. 48: 317-321.
- 65) Mawson R.F., Miller B.F. and Schmidt G.R. (1983). Studies on pasteurized and commercially sterilized poultry meat bologna. Effects of nitrite addition and vacuum cutting. J. Food Sci. 48: 322-324.
- 66) Meester J. (1973). Nitrate and nitrite allowance in meat products. Proc. Int. Symp. Nitrite meat. Prod Zeist s. 265-68
- 67) Metacalfe S.M. (1971). Cell culture as a test system for toxicity. J. Biol. Chem 193: 265-270.
- 68) Mora M.N. and Branen A.L. (1982). Antimicrobial activity of butylated hydroxyanisol and potassium sorbate against natural microflora in raw turkey meat and Salmonella tiphymurium in cooked turkey meat. Journal of Food Protection 45 (11): 1039.
- 69) Moran D.M., Tannenbaum S.R. and Archer M.C. (1975). Inhibition of Clostridium perfringes formed by heating sodium nitrite in a chemically defined medium. Appl. Microbiol. 30: 838-843.
- 70) Nilmer J.A. (1986). Dietary antioxidants and cancer. ASDC J. Dent Child, 53(2): 140-3.
- 71) Olson W.M. Standelman W.J. (1981). Antioxidant control of rancidity development in ground turkey meat. Poultry Sci. 59 (12): 2733-2737.
- 72) Olson V.A. Swaminathan B., Pratt D.E. and Standelman W. J., (1981). Effect of five cycle rapid freeze-thaw treatment in conjunction with various chemicals for the reduction of Salmonella tiphymurium. Poultry Science 60: 1822-1826.
- 73) Pierson M.D. and Reddy N.R., (1982), Inhibition of Clostridium botulinum by antioxidants and related compounds in comminuted pork. J. Food Sci. 47: 1926-1929.
- 74) Pikul J., Niewiorowicz A., Kijowski J., (1983), Influence of antioxidants on stability of mechanically deboned, frozen poultry meat. Fleischwirtschaft 63 (5): 960-964.
- 75) Preussman R., (1973). Toxicity of nitrite and N-nitroso compounds. Proc. Int. Symp. Nitrite Meat Prod Zeist s. 217-226.

- 76) Price J.F. and Schwegert B.S., Ciencia de la carne y de los productos cárnicos. 2 a. edición. Editorial Acribiá. España. (1977).
- 77) Reynolds A.E., (1975) The mode of action of acetic on bacteria. Diss. Abstr. B. 35: 4935-4936.
- 78) Rhee H.S. (1983). Retardation by glandess cottonseed flour lipid oxidation and decoloration in raw ground beef containing salt. J. Food Sci. 48:351-352.
- 79) Rice K.M. (1982). Inhibition of Salmonella by sodium nitrite and potassium in frankfurter. J. Food Sci. 47:1615-1617.
- 80) Riha W.E. and Solberg M. (1975). Clostridium perfringens. Inhibition by sodium nitrite as a function of pH, inoculum size and heat. J. Food Sci. 40: 439-442.
- 81) Roberts T.A., (1974). Inhibition of spores Clostridium spp. by sodium nitrite. J. Appl. Bacteriol. 37: 261-264.
- 82) Roberts T.A., (1975). The microbiological role of nitrite and nitrate. J. Sci. Food Agric. 26: 1755-1760.
- 83) Roche. Servicio de Información. División de vitaminas y productos químicos. Vitamina C e inhibición de nitrosaminas. s. 1 - 24. México (1985).
- 84) Sawada M. and Tsukada H. (1983). Elevation of gamma glutamyl transpeptidase activity in rat liver induced by feeding of butylated hydroxytoluene. Gann 74 (6): 806-809.
- 85) Scalan R.A., (1975). N-nitrosamines in foods. Crit. Rev. Food Technol. 5: 357-402.
- 86) Scalan R.A., (1983). Formation and occurrence of nitrosamines in foods. Cancer Res. 43: 2435-2437.
- 87) Sen N.O., Smith D.C., Madie C.A. and Grice H.C. (1975). Failure to induce tumors in Guinea pigs after concurrent administration of nitrite and diethylamine. Food Cosmet. Toxicol. 13: 423-425.
- 88) Senanayake N. and Jeyarathan (1981). Toxic polyneuropathy due to gingill oil contaminated with tricresyl phosphate affecting adolescent girls in Sri-Lanka. Lancet 1(8211):88-89
- 89) Shelf L.A., Liang P. (1982). Antibacterial effects of butylated hydroxyanisole (BHA) against Bacillus species. J. Food Sci. 47(3): 796-799.

- 90) Silliker J.H., and Wolfe S.K., (1980), Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meat. *Food Technol.* 12: 60-63.
- 91) Singer M. and Wan J. 1977. Interaction of butylated hydroxytoluene (BHT) with phospholipid bilayer membranes: Effect on ^{22}Na permeability and membrane fluidity. *Biochem. Pharmacol.* 26: 2259.
- 92) Sodo I., (1973). Synergist toxicity of official permissible preservatives food additives, *Food cosmetic. Toxicol* 8: 369-80.
- 93) Sofos J. N., and Busta F. F., (1980). Alternative to the use of nitrite as an antibotulinal agent. *Food Technol.* 12:244-251.
- 94) Snipes W., Person S., Keath A., and Cupp J., (1975). Butylated hydroxytoluene inactives lipid containing versus. *Science N. Y.*, 188: 64-66.
- 95) Surak J. G., (1980). Butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT), interaction with human erythrocytes. (abstract) *Fedn. Proc. Am. Socs. Exp. Biol.*, 39: 442-448.
- 96) Surak, J. G., Bradley, R.L., Branen A. L., and Shrago E., (1976). Effects of butylated hydroxyanisole on Tetrahymena pyriformis. *Food Cosmetol Toxicol* 14: 277.
- 97) Surak J. G., Bradley R. L., Branen J. R., Riblein W. E., and Shargo E., (1976b) Effects of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on Tetrahymena pyriformis *Food Cosmet. Toxicol.* 14: 541.
- 98) Swann P. F., (1975). The toxicology of nitrite, nitrate and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food. Agric.* 26: 1761-1770.
- 99) Tanaka N., (1982). Effect of dl-1-Tocopherol on antibotulinal effectiveness of sodium nitrate in bacon. *J. Food Sci.* 47:1797-1799.
- 100) Taylor R. J.: Food additives. 1st Edition. Wiley International New York (1980).
- 101) Thomas P., Fugmann R., Aranyl C., Barbera P., Gibbons R., and Fenners J., (1985) Effect of dimethylnitrosamine on host resistance and immunity, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 77:219-229.
- 102) Tracor-jitco Inc. Scientific Literature Reviews on generally recognized as safe (GRAS) Food ingredients-Formic acid and derivatives. PB-228 558. Springfield: National technical information service, US Department of Commerce (1974).

- 103) Trelease R. D., Tompkin R. B. (1976). Retardation of oxidation and microbial growth in foods. Seift & Co., United States, Patent 3 955 005.
- 104) Usher C. D., Telling F. M. (1975). Analysis of nitrate and nitrite in food stuffs. A critical review. J. Sci. Fd. Agric. 26: 1793-1805.
- 105) Valle-Vega P. Introducción. Memorias del curso de procesamien to técnico de alimentos. México (1986).
- 106) Vartianen T. and Gynther J., (1984). Fluoroacetic acid in guar gum. Food Chem. Toxic. 22 (4): 307-308.
- 107) Vorhees C.V., Butcher R.E., and Wootten V., (1984). Development toxicity and psychotoxicity of sodium nitrate in rats. Food Chem. Toxicol. 22 (1): 1-6.
- 108) Wagner D.A. and Tannenbaum S. R., (1985). In vivo formation of N-nitroso compounds. Food Technol. 39 (1): 89-90.
- 109) Walker R. and Mendoza-García M. A., (1983). Metabolism of 3-deoxy-4-sulphohexosulose, in reaction product of sulphite in foods, by rat and mouse. Food Chem. Toxicol. 21 (3): 291-297.
- 110) Weinling H. Teoría práctica de la carne. 2a. Edición. Editorial Acribia. España (1981).
- 111) Wesley R. L., and Sebranek J. G., (1982). Effect of sodium nitrite concentration sodium erythorbate and storage time on the quality of franks manufactured from mechanically deboned turkey. J. Food Sci. 47: 1626-1630.
- 112) Wolfe S.D., (1980). Use CO₂ and CO₂ enriched atmosphere for meats, fish and product. Food Technol. 10: 55-57.
- 113) Woolford G., and Sebranek J. G., (1976). The fate of nitrate reaction with protein. J. Food Sci. 41: 558-588.
- 114) Yokoseki M., (1975). Water relation of microorganism. Shokihin Eiseigaku Zasshi 16: 145-152.