

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CAMBIOS MICROBIOLOGICOS Y ENZIMATICOS EN
TANGERINAS IRRADIADAS CON Co 60

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A

SALVADOR VEGA Y LEON

37
1 9 7 5



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

CLAS. Tesis
ADD. 1975
FECHA
PROC. MT 311 347



GUINEA

EXAMEN PROFESIONAL

JURADO

Presidente: ; Q.F.B. Natalia Salcedo Olavarrieta.

Vocal: Q.F.B. Catalina Orozco Victoria.

Secretario: M. en C. Luis Cabrera Mosqueda.

1er. Suplente: Q.B.P. Alfredo Echegaray Alemán.

2o. Suplente: Q.F.B. Rosa Ma. Ramírez Gamma.

Esta tesis se realizó, gracias al patrocinio del Organismo Internacional de Energía Atómica, La Organización para la Agricultura y Alimentación (O.I.E.A. / F.A.O.) y el Centro de Estudios Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo el contrato de investigación No. 972/RB.

Agradezco al Centro de Estudios Nucleares de la UNAM la ayuda económica para la impresión de la presente tesis, así como al M. en C. Luis Cabrera Mosqueda su valiosa dirección y a la Q.F.B. Ma. Victoria Guasti de Fernández sus consejos y orientaciones.

A mi esposa LETICIA

A mis padres ISABEL Y SALVADOR

A mi suegra ELENA

RESUMEN

Uno de los métodos más modernos de conservación de los alimentos, es la irradiación con fuentes emisoras de radiación gamma.

Se irradiaron, naranjas variedad Tangerina, para determinar, sus posibles cambios físicos, químicos, organolépticos, bioquímicos y microbiológicos.

Se investigó el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias contaminantes, que al ingerirse, podrían causar algún daño al hombre.

| | |
|-------------------------|------|
| Resumen | IV |
| Lista de figuras | VIII |
| Lista de cuadros | IX |
| Lista de gráficas | X |
| Introducción | I |

Capítulo I.- Irradiación.

| | |
|---------------------------------------|---|
| 1.1 Historia | 2 |
| 1.2 La irradiación de alimentos | 3 |
| 1.3 Ventajas de la irradiación | 3 |
| 1.4 Aceptación y experiencia | 5 |
| 1.5 Fuente radiactiva | 6 |
| 1.6 Dosimetría | 7 |

Capítulo II.- Experimentación.

| | |
|-----------------------------------|---|
| 2.1 Selección y tratamiento | 8 |
| 2.2 Almacenamiento | 8 |
| 2.3 Días de análisis | 8 |
| 2.4 Determinaciones físicas | |
| 2.4.1 Madurez | 9 |
| 2.4.2 Pérdida de peso | 9 |

| | PAGINA |
|---|--------|
| 2.4.3 PH | 9 |
| 2.4.4 Textura | 9 |
| 2.4.5 Aceptabilidad por sabor | 9 |
| 2.5 Determinaciones químicas | |
| 2.5.1 Acidez total titulable..... | 9 |
| 2.5.2 Azúcares reductores totales..... | 9 |
| 2.5.3 Acido ascórbico y deshidroascórbico | 9 |
| 2.6 Determinaciones bioquímicas: | |
| 2.6.1 Actividad enzimática de la pectinmetilesterasa | 10 |
| 2.7 Determinaciones microbiológicas: | |
| 2.7.1 Hongos encontrados | 13 |
| 2.7.2 Descripción de los géneros encontrados | 16 |
| 2.7.3 Levaduras encontradas | 19 |
| 2.7.4 Géneros encontrados | 20 |
| 2.7.5 Bacterias encontradas | 21 |
| 2.7.6 Géneros encontrados | 23 |
| | |
| Capítulo III.- Resultados y Conclusiones. | |
| 3.1 Resultados | 24 |
| 3.2 Discusión | 25 |
| 3.3 Conclusiones | 26 |

| | |
|--------------------|-------|
| Bibliografía | 27-30 |
| Apéndice de: | |
| Figuras | 31-39 |
| Cuadros | 40-47 |
| Gráficas | 48-59 |

LISTA DE FIGURAS

PAGINA

| | | |
|----------|----------------------------------|----|
| Fig. # 1 | Género <i>Penicillium</i> | 33 |
| Fig. # 2 | Género <i>Aspergillus</i> | 34 |
| Fig. # 3 | Género <i>Rhizopus</i> | 35 |
| Fig. # 4 | Género <i>Mucor</i> | 36 |
| Fig. # 5 | Género <i>Fusarium</i> | 37 |
| Fig. # 6 | Género <i>Alternaria</i> | 38 |
| Fig. # 7 | Género <i>Nigrospora</i> | 39 |
| Fig. # 8 | Género <i>Paecilomyces</i> | 40 |
| Fig. # 9 | Género <i>Streptomyces</i> | 41 |

LISTA DE CUADROS

PAGINA

| | | |
|-------------|---|----|
| Cuadro I | PME. en tangerina, 2 días después de la irradiación | 42 |
| Cuadro II | PME. en tangerinas, 5 días después de la irradiación | 43 |
| Cuadro III | PME. en tangerinas, 9 días después de la irradiación | 44 |
| Cuadro IV | PME. en tangerinas, 14 días después de la irradiación | 45 |
| Cuadro V | PME. en tangerinas, 19 días después de la irradiación | 46 |
| Cuadro VI | PME. en tangerinas, 24 días después de la irradiación | 47 |
| Cuadro VII | Aceptabilidad por sabor | 48 |
| Cuadro VIII | Madurez | 49 |

| | | |
|--------|---|----|
| I.- | PME. en tangerinas, 2 días después de la irradiación | 50 |
| II.- | Actividad de la PME. en tangerinas, 2 días después de la irradiación | 51 |
| III.- | PME. en tangerinas, 5 días después de la irradiación | 52 |
| IV.- | Actividad de la PME. en tangerinas, 5 días después de la irradiación | 53 |
| V.- | PME. en tangerinas, 9 días después de la irradiación | 54 |
| VI.- | Actividad de la PME. en tangerinas, 9 días después de la irradiación | 55 |
| VII.- | PME. en tangerinas, 14 días después de la irradiación | 56 |
| VIII.- | Actividad de la PME. en tangerinas, 14 días después de la irradiación | 57 |
| IX.- | PME. en tangerinas, 19 días después de la irradiación | 58 |
| X.- | Actividad de la PME. en tangerinas, 19 días después de la irradiación | 59 |
| XI.- | PME. en tangerinas, 24 días después de la irradiación | 60 |
| XII.- | Actividad de la PME. en tangerinas, 24 días después de la irradiación | 61 |

INTRODUCCION

En el Centro de Estudios Nucleares de la UNAM, se han estado exponiendo frutas tropicales y hortalizas, a niveles variables de irradiación, con el fin de preservarlas y aumentarles el período de vida útil.

Los antecedentes de experimentación, en la preservación de frutas tropicales de producción mexicana han sido: Fresas: variedad Solana y Tioga, mangos variedad Nativo Corriente y Manila, papayas Amarilla, jitomate Bola, piñas Cayena, manzanas Delicia, plátano Dominico, durazno Amarillo, melón Chino, naranjas variedades Valencia y Tangerina; a diferentes dosis de irradiación, comparadas con un control no irradiado y haciendo al mismo tiempo determinaciones físicas químicas, organolépticas, bioquímicas y microbiológicas.

Este trabajo de investigación, se refiere al estudio experimental de las naranjas variedad Tangerina, que se cosecharon en Tlapacoyan Edo. de Veracruz a 320 km. del D.F.

En 1972, según Datos de la Comisión Nacional de Fruticultura, la cosecha de tangerinas, fue aproximadamente de 1,500,000 toneladas. El consumo de dichas frutas se hace durante los meses de noviembre a febrero y tomando en cuenta su volumen comercial, se consideró conveniente hacer este trabajo para investigar, los posibles cambios o efectos que les puedan producir al irradiarlas, con rayos gamma.

CAPITULO I

1.1 Historia

La necesidad del hombre, de alimentarse en forma regular y periódica, lo ha llevado a buscar su alimento, y más aun a almacenarlo para tenerlo siempre a la mano.

Los alimentos que el hombre ha consumido ya sean de origen animal o vegetal deben de ingerirse con el menor intervalo posible de tiempo, desde el sacrificio o cosecha del alimento, pues la ausencia de vida, produce descomposición y pérdida de sustancias nutritivas.

El almacenar comida, no es del todo provechoso, pues muchos alimentos se descomponen y se hacen putrefactos. Es así como el hombre en su búsqueda, ha creado métodos de conservación de alimentos; medios por los cuales, ha aumentado el período comestible de los mismos.

Entre los métodos experimentados tenemos: El secado, salado, ahumado, almacenaje en lugares fríos y secos, la fermentación, encurtiéndolos, haciendo concentrados azucarados, envasándolos y refrigerándolos. (28) También la preservación con productos químicos, de los cuales los más usados son: la sal, los ácidos, azúcares, especias, anhídrido sulfuroso, alcohol, fumigantes, benzoatos, propionatos, nitritos, gases inertes, estabilizadores, antioxidantes, antibióticos, etc. y la conservación con agentes físicos como vacío, calor, presión, recubrimiento con parafina, con silicato de sodio grasas y aceites, material de empaque, filtración y pulverización (4).

El método más moderno y de mayor impacto en la conservación de alimentos, es la irradiación.

1.2 Irradiación de alimentos.

Para irradiar los alimentos, estos se exponen en cámaras especiales, dejando que la emisión radiactiva tenga contacto con ellos por determinado tiempo.

Los alimentos pueden irradiarse por: bombardeo de electrones de alta energía, rayos x o con rayos gamma.

Se han empleado en esta investigación los rayos gamma debido a su mayor poder penetrante. La conservación por irradiación, puede efectuarse en dos formas:

a).- Pasteurización.- que se consigue mediante la exposición de los alimentos a dosis hasta de 500 krad, como por ejemplo utilizando dosis de 4 a 10 krad, y aplicándolas a papas y cebollas, inhibiendo el crecimiento de brotes o aplicando dosis de 20 a 60 krad, se logra la desinfestación de granos y cereales y con ello el exterminio de insectos (2).

b).- Esterilización.- por medio de dosificaciones más altas de 2,000 a 4,000 ó 5,000 krad, como por ejemplo: el tocino y otros subproductos del cerdo, pollos y carne bovina, pueden empacarse y ser luego irradiados de 4,000 a 5,000 krad, lo que permite almacenarlos sin inconvenientes durante un año a temperatura ambiente.

La dosis de radiación absorbida, se suele expresar en rads, que puede definirse, como la cantidad de radiación ionizante, que da lugar a la absorción de 100 ergios de energía por cada gramo de materia irradiada.

La cantidad de radiación absorbida, depende de la clase de alimentos en estudio y del recipiente que los contenga.

1.3 Ventajas de la Irradiación.

Las pérdidas económicas, tanto como la descomposición de los alimentos y en especial de las frutas, se debe a los insectos, a los hongos y a la producción de micotoxinas de estos mismos, también a la putrefacción, a la humedad, a las temperaturas inadecuadas y a los golpes sufridos en la transportación.

El objeto de irradiar las frutas, es evitar en parte lo anterior, ya que es posible hacerlo con unidades móviles en el mismo lugar de la cosecha y mandarlas al comercio, confiando plenamente después de haber establecido niveles de dosis y condiciones de almacenamiento, en que conservarán el período de utilidad comercial, algunos días más.

De las ventajas más importantes de la radiopreservación se tienen:

- a).- La radiación, se puede aplicar a los alimentos a través de cualquier tipo de empaque (8) con esto el productor y el consumidor ganan, ya que por una parte el empaque puede tener la forma que se quiera y también el contenido no sufrirá riesgos de reinfestación al empacarse.
- b).- Durante el proceso de la irradiación, la temperatura aumenta sólo unos cuantos grados aun a altas dosis de esterilización (8) con lo cual es mínima la desnaturalización y coagulación de proteínas así como descomposición de azúcares y grasas.
- c).- La radiación ionizante, puede preservar los alimentos por inhibición o destrucción de bacterias y otros microorganismos (esterilización) Ej: salmonella y clostridium (5).
- d).- Durante el proceso de la irradiación, los alimentos no sufren efectos nocivos, ni se tornan radiactivos con la ventaja que las dosis reducidas de radiación, producen menos pérdidas de vitaminas que los procesos de conserva, congelación y deshidratación (8).

Otras aplicaciones de la irradiación son:

- 1.- Estímulo del crecimiento de las plantas con dosis bajas de radiación en semillas antes de plantar (8).
- 2.- Inhibición de la germinación de brotes en tubérculos y raíces como cebollas y papas.
- 3.- Retardo de la maduración de las frutas, por ejemplo: papayas, mangos, fresas, jitomates, etc.
- 4.- Esterilización de parásitos (8) inhibiendo el desarrollo, de aplicación en carnes y vegetales infestados con *Tenia solium* y *saginata*, *Trichinella spiralis* así como *Fasciola hepática*.
- 5.- Tratamiento de productos alimenticios infestados por algunas clases de insectos.
- 6.- En otros campos, esterilización de productos farmacéuticos y de instrumentos médicos y químicos.

1.4 Aceptación y experiencia.

Para aceptar productos conservados con la radiación ionizante, como alimentos de consumo diario, debe tenerse la plena seguridad de que no produzcan alteraciones en el organismo.

Ya se han hecho pruebas a nivel de laboratorio, y algunas de las referencias son:

En los Estados Unidos se irradió bacalao a dosis de 2.8 a 5.6 Mrad y se experimentó, añadiéndolo a la dieta de ratones, ratas y perros. Se irradió también sardina a 0.4 y 0.8 Mrad probándose en ratas y pollos. En el Reino Unido, se irradió atún a 0.2 Mrad y se dió a comer a ratones. En la República Federal Alemana, fueron irradiados arenques a 0.16 y 0.48 Mrad y probado en ratas. Nunca se han encontrado en la evolución toxicológica, que estos alimentos irradiados hayan producido tumores, o que hayan afectado a la fertilidad o a la hematología al añadirlo en las dietas (9). Las recomendaciones al respecto de la Organización para la Agricultura y Alimentación de las Naciones Unidas, de la Agencia Internacional de Energía Atómica y de la Organización Mundial de la Salud (FAO/OIEA/OMS), que tienen expertos comités son: que los alimentos irradiados deberán permitirse solamente si han sido probado al menos en dos especies de vida diferentes, y que los datos concernientes a la toxicidad crónica pudieran obtenerse en especies no roedoras. Hay evidencias que aumentando las dosis radiactivas, aumentan algunos importantes productos radiolíticos como por ejemplo el H_2S en carne de res y carne de puerco irradiados,

malonaldehído en harinas irradiadas, hidrocarburos en carnes irradiadas, malonaldehído en leche en polvo, los valores de lípidos y peróxidos aumentan en carne irradiada a altas dosis.

Aunque esto puede disminuirse casi totalmente haciéndola con rayos gamma, rayos X e irradiación en frío. Sin embargo y hasta el momento no hay indicios de la presencia de substancias tóxicas o cancerígenas en alimentos irradiados en combinación con atmósferas inertes o al vacío y electrones de energía inferior a 5.0 Mev (2).

Los siguientes países ya han investigado alimentos irradiados: Estados Unidos, Rusia, Francia, Polonia, Irán, Sudán, Suecia, Libia, Malasia, Filipinas, India, Nigeria, Inglaterra, Hungría, Portugal, Yugoslavia, Holanda, España, Canadá, Israel, Japón, Australia, Checoslovaquia, Tailandia, Corea del Sur, Perú, Brasil, Venezuela, México, Bangladesh, Bélgica, Egipto, Rep. Federal Alemana, Indonesia.

Algunos países ya tienen alimentos irradiados a la venta del público como: Estados Unidos: papas, trigo y productos derivados.

Rusia: papas, cebollas, frutas secas, concentrados de alimentos secos, carnes y carnes de aves sin entrañas, hortalizas, verduras, legumbres y alimentos deshidratados.

Canadá: papas, cebollas, trigo y harina de trigo

Israel: cebollas y papas.

Holanda: Hongos, espárragos, fresas, cacao, especias y cebollas (6.29).

Japón: papas, y hace 1 año se pidió ya el permiso para cebollas.

1.5 Fuente radiactiva.

Se utilizó una fuente de irradiación Gamma beam 650 tipo IR-31 con una actividad de 37,500 Ci al iniciar las investigaciones. El irradiador, es un equipo panorámico con una cavidad para dosis variables, diseñado para uso en un cuarto completamente blindado.

La fuente de Co-60 está formada por 60 fuentes pequeñas colocadas en 12 tubos verticales, las cuales están acomodadas en muestras cilíndricas y pueden tener diámetro variable.

La variación de dosis en la cavidad de la fuente, puede ser realizada por preselección del diámetro de la abertura de la fuente (29).

1.6 Dosimetría

Para determinar la cantidad de energía absorbida al irradiar un alimento, es necesaria la dosimetría. Para medir la dosis absorbida de la radiación ionizante, existen 2 métodos.

1.- Métodos absolutos.- que incluyen la determinación directa de la intensidad de irradiación o dosis por medios físicos, por ejemplo, la ionización producida por un gas. Estos métodos no son usados en la rutina.

2.- Métodos secundarios.- en este caso la respuesta es conocida comparando con un dosímetro absoluto. Por ejemplo, la cámara de ionización pequeña y los dosímetros químicos. (29).

La dosis de radiación se puede calcular, por medio de la ecuación de Swope:

$$\text{rads/hora} = \frac{2.71 \times 10^4 \times Fc \times 60 \text{ min/hora} \times A}{t}$$

En donde:

A= aumento de la densidad óptica leída en 304 nm de la solución irradiada sobre los controles no irradiados.

Fc= Factor de corrección para temperaturas diferentes de 25 °C.

t= tiempo de irradiación de la solución de Fricke en minutos (25).

El método utilizado, fue el de Fricke, que está basado en la oxidación de una solución ácida de sulfato ferroso en presencia de oxígeno (16).

CAPITULO II EXPERIMENTACION

2.1 Selección y Tratamiento

Las naranjas variedad Tangerina, se clasificaron por su tamaño y madurez, cuidando que presentaran aspecto y condiciones homogéneas. Se hicieron pruebas preliminares, con tres diferentes grados de madurez: fruta de piel verde (tiernas), frutas con piel verde-manchas amarillas (sazón), y de piel completamente amarilla (maduras). Se utilizaron dosis entre 5 a 300 krad para las de verdes y las maduras y dosis de 0 a 5 krads para las de grado sazón.

Por los resultados del estudio preliminar, se decidió tratar tres lotes de naranjas de madurez grado sazón con 210 ejemplares en cada lote y a dosis de: 0, 0.50, 1.0, 2.5, 5.0 y 10.0 krad.

2.2 Almacenamiento

Una vez irradiadas las naranjas, se colocaron en una cámara de maduración a temperatura y humedad uniformes: $19 \pm 1^\circ \text{C}$ y $45 \pm 5\%$ humedad relativa.

2.3 Días de análisis

Las tangerinas para sus determinaciones físicas, químicas, bioquímicas y biológicas, se dividieron en siete análisis desde uno hasta 28 días, con los siguientes intervalos: 0, 2, 5, 9, 14, 19, 24, y 28 días después de la irradiación.

Las determinaciones que se realizaron fueron:

Físicas.- maduración, peso, textura.

Química.- acidez total titulable, Vitamina C, azúcares reductores totales y PH.

Organolépticas.- Aceptabilidad por sabor.

Bioquímicas.- Actividad enzimática de la pectín-metilesterasa.

Microbiológicas.- Hongos, levaduras y bacterias contaminantes

2.4 Determinaciones físicas:

2.4.1 Determinación de la madurez.

Se procedió a hacerla, por observación visual del color externo de la piel y se comparó con una escala arbitraria. (cuadro No. VII)

2.4.2 Pérdida de peso (agua y volátiles).

Se hizo en todas las frutas, por determinación gravimétrica común, determinando la pérdida de peso a través de los diferentes días de análisis, comparándolo con el peso inicial.

2.4.3 Determinación del PH.

Se realizó con un potenciómetro común.

2.4.4 Textura

Se hizo con un texturómetro o penetrómetro.

2.4.5 Aceptabilidad por el sabor.

Se utilizó el sentido del gusto, se formó un grupo de 4 degustadores empleándose escala arbitraria de sabor. (Cuadro No. VIII)

2.5 Determinaciones químicas:

2.5.1 Acidez total titulable.

Se determinó por el método clásico de la titulación volumétrica con NaOH 0.01N e indicador de fenolftaleína.

2.5.2 Azúcares reductores totales.

Se utilizó el método espectrofotométrico del sulfato cúprico alcalino con arsenomolibdato de sodio, empleando una longitud de onda de 520 nm en un espectrofotómetro UNICAM y utilizando celdas de cuarzo de 10 mm.

2.5.3 Acido ascórbico y deshidroascórbico.

Se determinaron por espectrofotometría, con la 2,4 dinitrofenil hidracina a longitud de onda de 520 nm en un espectrofotómetro UNICAM, modelo SP 500.

2.6 Determinaciones bioquímicas:

2.6.1 Actividad enzimática de la PME (pectín-metilestearasa).

El objeto de esta determinación, es el estudio de los cambios de la actividad de la pectín-metilestearasa en el proceso de maduración de las frutas irradiadas en las diferentes dosis y en los testigos no irradiados. Se cree que la textura de las frutas, es un índice del grado de polimerización y metilación de los constituyentes pécticos.

Las tres enzimas que influyen preponderantemente en la estructura de los constituyentes pécticos son: La pectasa o pectín-metilestearasa (PME), la pectinasa o pectín-poligalacturonasa (PG) y la pectín transeliminasa ácida (PATE) que son las responsables de la descomposición de los ácidos poligalacturónicos en pectina (14).

La PME es la enzima que cataliza, los grupos metilenos en ácidos pectínicos y pectinas (3, 11), fue descubierta por Fremy en 1840 por ser la responsable de la coagulación de la pectina soluble en gel en presencia de sales de calcio (3) El curso de la actividad enzimática, puede seguirse por las siguientes reacciones:

- A) Por la determinación de los cambios en el contenido de ésteres.
- B) Por el aumento de grupos carbonilos libres (6, 12)
- C) Por la estimación de la cantidad de metanol liberado (12).

Como todo constituyente enzimático, la PME, también es afectada por el PH, la temperatura, la concentración y los inhibidores.

La actividad de la PME es 30 veces mayor que la normal a pH 5.7 en presencia de cationes monovalentes a concentraciones 0.2 M, en cambio a pH 8.5 no se influye su actividad (3).

Técnica:

Para la determinación de la actividad enzimática de la PME, se utilizó la titulación volumétrica con NaOH 0.01N, utilizando como indicador el reactivo de Hinton y haciéndose la extracción de la enzima con solución de NaCl al 1% (P/V).

Reactivos. ;

- a).- Solución de pectina al 0.25% (P/V) en solución de NaCl 0.1 M
- b).- Hidróxido de sodio 0.01N y 0.01N
- c).- Solución de cloruro de sodio al 10% (p/v).
- d).- Extracto de la enzima de la fruta (jugo).
- e).- Reactivo de Hinton.

| | |
|----------------------------|--------|
| Azul de Bromotimol al 0.4% | 1 vol. |
| Rojo de cresol al 0.4% | 3 vol. |
| agua destilada | 1 vol. |

Procedimiento:

- a).- Tomar 10 ml del jugo de las tangerinas.
- b).- Extraer con 50 ml de la solución de NaCl al 10%
- c).- Colocar en un matraz 50 ml de la solución de pectina al 0.25%.
- d).- Añadir al matraz 2 gotas del indicador de Hinton.
- e).- Añadir solución de NaOH 0.01N hasta cambio de color amarillo a cereza, anotando los volúmenes consumidos.

Los intervalos de titulación fueron:

0, 10, 20, 40, 80, 100, 120, 160 y 180 minutos.

2.7 Determinaciones microbiológicas:

La mayoría de los vegetales, tienen una contaminación superficial considerable de organismos del suelo, las frutas adquieren la flora microbiana superficial por la contaminación con el polvo y por el manejo (12).

Las frutas con cáscara gruesa, son razonablemente resistentes a la penetración de las bacterias, a menos que se magullen, las frutas suaves, pueden dañarse más rápidamente (27).

Las frutas ácidas ofrecen un medio ambiente selectivo para las levaduras, hongos y bacterias. Cuando esto es así se encuentra un grupo característico de microorganismos del suelo (10).

La determinación de microorganismos que infestan y viven en las frutas, es importante para determinar la confiabilidad en la alimentación del hombre (4).

Las frutas ofrecen un buen habitat a los microorganismos aerobios en su cáscara (30).

Para el estudio de los microorganismos contaminantes de las tangerinas, se hicieron análisis a los 0, 2, 5, 9, 14, 19, 24, y 28 días después de la irradiación.

Toma de la muestra.

De las frutas más sospechosas, de posibles infestaciones por su aspecto exterior, en cada lote y análisis, se tomaron muestras de la cáscara.

Procedimiento.- Con el bisturí estéril, se tomó de la parte de la cáscara, donde la integridad, esté más alterada, manchada o deshidratada, también se tomó de la parte superior (pedúnculo) y de la inferior de la fruta.

2.7.1 Hongos contaminantes.

Los hongos pertenecen a un grupo de plantas que carecen de clorófila, pueden ser mono o multicelulares, las células contienen núcleos verdaderos y paredes bien definidas. El cuerpo rudimentario de la planta, el tallo, no está diferenciado en raíces, tallo y hojas y la producción es sexual o asexual, por medio de esporas. A las plantas con estas características, se les llama talofitas. La taxonomía de estos vegetales rudimentarios es:

| | | | |
|---------------|---------------|----------------|-----------|
| | | Celulares | Hongos |
| | Criptógamas | | Algas |
| Reino Vegetal | | Vasculares | Líquenes. |
| | Fanerógamas | | |
| | Schizomicetos | | |
| | Mixomicetos | | |
| Hongos | Eumicetos | Ficomicetos | |
| | | Ascomicetos | |
| | | Basidiomicetos | |
| | | Deuteromicetos | |
| | | Adelomicetos | |
| | Actinomicetos | | |

Se sabe, que la presencia de los hongos contaminantes, es importante porque:

- Son la causa principal de la descomposición.
- Algunas especies, son capaces de producir micotoxinas (10).

Siembra

Con una asa estéril, se procede a sembrar, en tubos inclinados de agar glucosado de sabouraud. Sembrando un tubo para cada dosis.

La siembra se efectúa, haciendo una estría en el tubo inclinado.

Se dejaron los tubos a incubación al medio ambiente, y se hicieron anotaciones, con las apreciaciones del crecimiento a intervalos de cinco días.

Examen del cultivo

El examen preliminar del cultivo, se realizó colocando el tubo sobre la platina del microscopio y el examen de la parte o borde del plano inclinado del medio con objetivos de poco aumento.

Los hongos filamentosos, se colocan en un montaje líquido, como el lactofenol y el azul de algodón y se separan suavemente los elementos del hongo con agujas apropiadas.

Colorante de lactofenol-azul de algodón (17).

| | |
|--------------------|--------|
| Cristales de fenol | 2 g. |
| Ac. láctico | 4 ml. |
| Glicerina | 4 ml. |
| Agua glicerinada | 20 ml. |

Técnica del microcultivo

Después de observarse bien definido el crecimiento de las colonias, se procedió a hacer microcultivos, técnica a través de la cual se aíslan las colonias para su mejor estudio.

Material:

Cajas de petri estériles.
Triángulos de varilla de vidrio estériles.
Pipetas de 10 ml. estériles.
Pinzas y bisturí estériles.

Medios de cultivo.

Se utilizaron cuadritos de 1 cm² de agar glucosado de Sabouraud y agua glicerina al 10%, estériles.

Medio de agar glucosado en Sabouraud.

| | |
|---------------------|---------|
| Glucosa (o maltosa) | 20 g |
| Agar | 36 g |
| Neopeptona | 10 g |
| Agua destilada | 1000 ml |

Procedimiento:

- 1.- En una caja de petri estéril, se colocan: un triángulo y un portaobjetos esterilizados.
- 2.- En el portaobjetos dentro de la caja, se coloca con las pinzas, un cuadrado del medio de cultivo.
- 3.- Se toma una asada de la colonia elegida y se siembra haciendo punciones en las aristas del cuadrado.
- 4.- Se deja incubar a 28° C.
- 5.- A los 4 ó 5 días se observó crecimiento.
Las colonias ya desarrolladas, se resiembran en tubos inclinados con agar glucosado de Sabouraud para obtener las cepas.

Crecimiento y desarrollo.

Se observó abundante crecimiento en todos los lotes en las dosis de 1.0, 2.5 y 0.5 krad y en menor cantidad en las dosis de 5.0 y 0.25 krad y muy poco crecimiento en el control o sea 0 krad, al cabo de 10 días.

Para comparar mejor el crecimiento, se expuso un testigo al aire libre, en el cual no se observó desarrollo de algún contaminante.

Por regla general, el crecimiento de las colonias, en todos los tubos fue primero en hongos del género Mucor que tardó aproximadamente de 4 a 5 días en crecer así como los géneros Rhizopus y Nigrospora.

Alrededor de 6 a 7 días la presencia del género Penicillium y posteriormente en un intervalo de 7 a 20 días el crecimiento de diferentes hongos contaminantes.

Crecimiento de hongos contaminantes en la fruta.

Las frutas al ser irradiadas, cambian en algunas dosis su color y su textura. En las dosis de 1.0, 2.5 y 5 krad. a partir de los 14 días se observó crecimiento de contaminantes por debajo de las frutas o en zonas lesionadas. En cada análisis, siempre se encontró una fruta con este aspecto.

2.7.2 Descripción de los géneros encontrados.

1.- *Penicillium*.

La colonia crece rápidamente de 3 a 5 cm de diámetro en 8 días, es al principio blanca, pero después toma color verde azulado y un aspecto polvoriento, debido a la abundante producción de esporas a partir del micelio aéreo.

Las hifas portadoras de esporas, forman el pincel o cepillo característico.

Los conidios aparecen en cadenas no ramificadas las cuales se han dispuesto en verticilio. Fig. # 1.

2.- *Aspergillus*.

La colonia es compacta, de crecimiento lento de 2.5 cm a los 8 días. Es al principio blanca, después verde azulado con áreas amarillas diseminadas por la superficie. La estructura portadora de conidios es una hifa alargada, no tabicada, ramificada que nace de una célula pedal en el micelio, se ensancha en su extremo, formando una vesícula formadora de estigmas. Algunos *Aspergillus*, desarrollan peritacios que contienen ascos y ascosporas. Fig. # 2.

3.- *Rhizopus*.

Es un hongo de crecimiento rápido, llena la caja de petri o un tubo inclinado en 5 días, con un micelio algodonoso aéreo y denso, al principio blanco, después gris oscuro. Entre los micelios aéreos no tabicados existen numerosos estolones, que unen fascículos o grupos de esporangióforos no ramificados, que se unen en el punto de contacto del estolón con alguna superficie (medio o vidrio) en cuya punta se produce un penacho de hifas parecidas a raíces o rizoides. Los esporangióforos, terminan en esporangios llenos de esporas y globos negros.

Se diferencian del Mucor por la presencia de estolones, rizoides y esporangióforos no ramificados que nacen en el fascículo. Fig. # 3.

4.- Mucor.

Hongo de crecimiento rápido, que llena el tubo inclinado o la caja de petri en 5 días, con micelio aéreo, velludo, abundante, al principio blanco, después gris oscuro.

El micelio vegetativo no tabicado da origen a gran número de esporangióforos de longitud desigual que se ramifican irregularmente y portadores de esporangios globosos terminales llenos de esporas. Fig. # 4.

5.- Fusarium.

Hongo de crecimiento rápido. Es al principio, blanco y algodonoso pero rápidamente desarrolla color rosa intenso en el centro y rosado pálido en la periferia.

Ramos cortos de hifas dan origen a los conidióforos verticilados de los cuales parten los conidios multitabcados, largos en forma de uso o media luna, terminados en punta. Fig. #5.

6.- Alternaria.

Colonia de crecimiento rápido, desarrollan su micelio cerca de la superficie del agar, gris al principio después negra con periferia grisasea. El reverso de la colonia es negra. Al principio el micelio aéreo no es abundante, pero después desarrolla áreas de micelio aéreo algodonoso, liso, blanco que pronto se torna en blanco mate o gris y que finalmente puede cubrir el micelio negro en esporulación. Fig. # 6.

7.- Nigrospora.

Hongo de crecimiento rápido 70 mm en 6 días, forma un crecimiento aéreo, blanco, lanudo, compacto, que forma color gris debido al micelio negro en trance de esporulación sobre la superficie del agar. El reverso del cultivo es negro. Los conidios son grandes, negros, brillantes y globosos. Fig. # 7.

8.- Paecilomyces.

Colonia de crecimiento rápido, cubre en capa delgada la superficie del agar y toma color pardo amarillento, debido a la abundante producción de conidios. Las hifas portadoras de conidios, son parecidas al género *Penicillium*. El aspecto del estirigma que nace aisladamente de la hifa, su extremo característico que termina en un largo tubo portador de conidios que se encurvan alejándose del eje principal del estirigma y las células accesorias o macrosporas, lo permite diferenciar del género *Penicillium*. Fig. # 8.

9.- Streptomyces.

Colonia de crecimiento lento, coriácea tiene un diámetro de apenas 2 cm. en unos días. La colonia pronto se torna negra y se cubre de una superficie blanca, fina. Muchas especies producen gran variedad de colores debido a la formación de pigmentos característicos. Fig. # 9.

10.- Neurospora.

Colonia de color amarillento intenso de crecimiento lento. Es octosporada y hermafrodita.

Las esporas son de color café oscuro y negro con estrías sobre la pared externa que caracterizan al género *Neurospora* y le dan su nombre.

11.- Botrytis.

Colonia de crecimiento rápido, conidios grandes, ovals o esféricos, se producen en extremos conidióforos erguidos o ramificados. Los conidios no están en cadenas, sino más bien en formaciones capitulares. Pueden ser hialinos o en algunas especies brillantemente coloreados.

12.- Cladosporium.

Colonia de crecimiento lento. Forma conidios bicelulares oscuros. Contiene gran cantidad de especies saprobias.

2.7.3. Levaduras contaminantes.

El término levaduras, se refiere a los Ascomicetos y Deuteromicetos que poseen un talo unicelular, se reproducen asexual y sexualmente y producen ascosporas en un saco desnudo que se origina de un cigoto o partenogenéticamente de una sola célula somática.

También se incluyen dentro de las levaduras formas en las cuales no se conoce la producción de ascosporas pero que poseen todas las características mencionadas y que no relacionan de manera evidente con otros grupos de hongos. (1).

Distribución e importancia.- Las levaduras se distribuyen, sobre la tierra, son particularmente abundantes en los sustratos que contiene azúcares (7); tales como el néctar de las flores y la superficie de los frutos (30).

Estructura somática.

Las levaduras, son organismos unicelulares, en contraste con la mayoría de los restantes ascomicetos. Poseen pared celular definida y entre otros compuestos contienen quitina y un núcleo pequeño pero visible, rodeado de citoplasma. Una gran vacuola ocupa gran parte de la célula. En el citoplasma, hay otras inclusiones. Las células de las levaduras, varían en forma según la especie y aun dentro de la misma especie. Pueden ser globulosas, ovoides, elongadas o rectangulares. A veces, se adhieren en cadenas para formar un pseudomicelio.

Observadas individualmente, las células de las levaduras, parecen incoloras, pero cuando se les cultiva en medios artificialmente sólidos, producen colonias blandas de color crema o teñidas con pigmentos característicos.

Tanto las características de las colonias como las reacciones bioquímicas que presentan, son útiles para la taxonomía de las levaduras, un grupo difícil de clasificar.

Procedimiento.- Se procede a sembrar, de cada dosis en un tubo con medio de gelosa peptona. Se llevaron los tubos a incubación 4 días a 28° C y se hicieron anotaciones, con las apreciaciones del crecimiento cada 2 días.

Después de observarse, bien definido el crecimiento de las colonias, se procedió a hacer observaciones al microscopio, para conocer la morfología de las colonias.

Medio de cultivo.

Gelosa-peptona:

Composición (gramos/litro.

Peptona especial 10 g.

D (+) glucosa 20 g.

Agar agar 17 g.

Se añaden 47 g del medio a un litro de agua destilada.

Se esteriliza en autoclave (16 min. a 120° C y a pH= 5.5 - 5.7

Crecimiento y desarrollo

Se observó crecimiento en todos los lotes. Pero de mayor abundancia en las dosis de 2.5 y 0.5 krad. En menor abundancia en las dosis de 5.0 y 0.25 krad.

2.7.4. Géneros encontrados.

En todos los análisis se encontraron estos géneros:

Saccharomices y Rhodotorula.

Saccharomices.- Es una levadura ascosporada de forma redonda u ovalada que se multiplica por gemación. Es una levadura filamentosa ascosporada.

Se identificó plenamente al hacerla crecer en medios de zanahoria y gis sumergidos en agua peptonada pues aproximadamente entre los 10 y 15 días presenta las ascas características al mirarse en el microscopio en preparaciones frescas.

Medio de zanahoria.

En un tubo de ensayo, estéril, se colocan 5 ml. de agua peptonada al 10% y después se introduce un pedacito de zanahoria (aprox. de 4 cm. de largo) se inocula, tomando del medio de gelosa peptonada.

Para el medio del gis se siguen los mismos pasos, únicamente cambia la zanahoria por un pedacito de gis (aprox. 4 cm.).

Rhodotorula.- Es una levadura de la familia: Cryptococaceae que es reconocida fácilmente. Produce una colonia rosada, rosa o anaranjada. Es uno de los contaminadores más comunes en el laboratorio. Se identificó plenamente, por su morfología, en observaciones al microscopio y por el color de las colonias.

2.7.5. Bacterias contaminantes.

Las bacterias son, un grupo universalmente distribuido. Viven en las frutas, generalmente en la cáscara, de lo cual sabemos que son aerobias, o sea que requieren de oxígeno de la atmósfera para su metabolismo. (12)

Se estudiaron en este experimento, bacterias de tipo aerobio.

Procedimiento.-

Se procede a sembrar de cada una de las dosis en un tubo con caldo de enriquecimiento llamado caldo cerebro corazón (c.c.c.) se incuba durante dos días.

Del caldo de enriquecimiento, se resiembran para cada dosis en medios de gelosa nutritiva para bacterias Gram negativas y en medio 110 para desarrollo de bacterias Gram positivas. Se incuba a 37° C durante cuatro días y se observa el crecimiento. Para inhibir el crecimiento de hongos, se añadió un mililitro de solución al 5% de Actidiona. Se hacen frotis del desarrollo bacteriano utilizando la tinción de Gram.

Tinción de Gram.

El frotis se prepara, tomándose una asada de la colonia, que se extiende en un portaobjetos con una gota de agua destilada y se fija a la flama del mechero.

- 1.- Como primer paso se cubre el frotis con cristal violeta durante un minuto.
- 2.- Se lava con agua de la llave y se cubre con lugol un minuto.
- 3.- Se lava con agua. Se decolora al gotear alcohol-acetona, hasta color gris.
- 4.- Se escurre la mezcla de alcohol-acetona, se vuelve a lavar al chorro del agua y, para hacer contraste, se añaden unas gotas de safranina durante 30 segundos.
- 5.- Se lava y se seca al aire. Se observa al microscopio con aceite de inmersión.

Crecimiento y desarrollo.

El crecimiento en los medios, se observó en forma abundante para las dosis de 1.0, 2.5, 5.0 y 0.5 krad respectivamente y menor crecimiento en las dosis de 0.5 y 0 krad. En medio de gelosa nutritiva, en el cual crecen en general microorganismos Gram negativos, se observó crecimiento de colonias extendidas y mucoides. Siempre se encontró este tipo de colonia.

En el medio de 110 no se encontró resultado positivo.

Medios utilizados:

Gelosa nutritiva.

| | | |
|-------------------|---------|-------------------|
| Peptona | 10/g | |
| Extracto de carne | 3/g | pH ajustado a 7.8 |
| Grenetina | 4/g | |
| Agar | 18/g | |
| Agua destilada | 1000/ml | |

Medio 110

| | | |
|----------------|---------|------|
| Peptona | 10/g | (18) |
| Agar | 15/g | |
| NaCl | 5/g | |
| Agua destilada | 1000/ml | |

2.7.6. Especies encontradas.

De acuerdo con la morfología de las colonias, de la observación microscópica de los bacilos y de sus pruebas químicas específicas, se concluye: que las tangerinas estaban infestadas o se contaminaron, con microorganismos de género *Pseudomonas*.

Este género de microorganismos, pertenecen a la familia *pseudomonadaceae*. Son bacilos rectos, móviles, con flagelos polares, oxidan a los compuestos orgánicos, son aeróbios, producen pigmentos hidrosolubles en el medio en el cual se difunden y son microorganismos de amplia distribución en el suelo y en el agua (12,21,30).

Ahora describe las *pseudomonas* encontradas.

Pseudomonas sp.

Son bacilos pequeños, generalmente rectos aunque pueden ser algo curvos, son activamente móviles y poseen de uno a tres flagelos polares. Se tiñen fácilmente con los colorantes de anilina. Se obtiene un desarrollo excelente a 37° C. Generalmente en agar después de 24 horas de incubación se producen colonias extendidas, grandes, blandas, lisas, grisáceas, que pueden llegar a ser confluentes a cubrir todo el medio. Licúa rápidamente la gelatina. No produce sulfuro de hidrógeno. No desdobra la urea ni produce indol, lleva a cabo oxidaciones completas.

CAPITULO III

RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

3.1 RESULTADOS.

PECTIN-METILELSTEARASA (PME).

Los resultados de los promedios de los análisis, se muestran en los cuadros 1 al 6 y en las gráficas 1 a la XII.

Las gráficas I, III, V, VII, IX y XI muestran la actividad enzimática a los 2, 5, 9, 14, 19 y 24 días de irradiación.

Se hace una comparación entre los promedios de los controles, el promedio de las frutas irradiadas y el promedio de las dosis.

En las gráficas II, IV, VI, VII, X y XII, se hace comparación del promedio de la actividad enzimática de los controles y en las muestras irradiadas.

Microbiología:

Se aislaron de la cáscara los siguientes microorganismos:

HONGOS:

- | | |
|-------------------|----------|
| 1.- Penicillium | Fig. # 1 |
| 2.- Aspergillus | Fig. # 2 |
| 3.- Rhizopus | Fig. # 3 |
| 4.- Mucor | Fig. # 4 |
| 5.- Fusarium | Fig. # 5 |
| 6.- Alternaria | Fig. # 6 |
| 7.- Nigrospora | Fig. # 7 |
| 8.- Paecilomyces | Fig. # 8 |
| 9.- Streptomyces | Fig. # 9 |
| 10.- Neurospora | |
| 11.- Botrytis | |
| 12.- Cladosporium | |

LEVADURAS

- 1.- Saccharomices
- 2.- Rhodotorula

BACTERIAS

- 1.- Pseudomonas
- 2.- Acetobacter

3.2 Discusión:

PECTIN-METILESTEARASA (PME)

A los dos días de irradiación, el control muestra más actividad que las frutas irradiadas, a excepción de la muestra que recibió un nivel de dosis de 1 000 rads (gráfica No. II).

A los cinco días de irradiación, las muestras con dosis de 2 500 y 1 000 rads, está más activas que el control, las demás muestras, está menos activas que él. (gráficas III y IV).

A los 9 días de irradiación, sigue activa más que el control y las demás dosis, la de 1 000 rads (gráficas V y VI).

A los 14 días de irradiación, el control incrementa su actividad notablemente; las muestras irradiadas presentan menor actividad (gráficas VII y VIII).

A los 19 días de irradiación, se inhibió la actividad del control y las muestras irradiadas están más activas (gráficas IX y X).

A los 24 días después de la irradiación, la actividad enzimática del control es mayor que la de las frutas irradiadas (gráficas XI y XII).

Microbiología:

Durante el desarrollo de la experimentación, se notó menor incremento de crecimiento de hongos en las dosis de 0.5, 0.25 y 5.0 krad en ese orden y de mayor crecimiento en las dosis de 1.0 y 2.5 krad.

Las levaduras y las bacterias, incrementaron su crecimiento en las dosis de 2.5 y 0.5 krad y menor crecimiento en las dosis de 1.0, 0.25 y 5.0 krad.

Siempre se observó que en las frutas con magulladuras, golpes o picaduras hubo mayor crecimiento de contaminantes.

No se observó crecimiento de hongos, levaduras y bacterias patógenas para el hombre, sólo contaminantes normales en la fruta y en cualquier laboratorio de experimentación.

3.3 Conclusiones.

Se notó que en las naranjas, variedad Tangerina que presentaban algunas picaduras o magulladuras no visibles había un crecimiento mayor de hongos y levaduras contaminantes; tanto en el cáscara como en los medios de cultivo. En los controles no irradiados, que presentaban algunas picaduras y magulladuras, el crecimiento de hongos contaminantes no fue mayor al de las frutas irradiadas.

En frutas tanto irradiadas como no irradiadas que no tenían ninguna lesión visible en la cáscara, no se presentó crecimiento de hongos contaminantes.

Lo anterior demuestra que la irradiación no alteró las capas protectoras exteriores de la fruta.

El tratamiento de irradiación es altamente significativo (1%).

Se encontró la dosis mínima óptima de preservación. (5Krad), aunque el método es útil solamente para Tangerinas grado sazón, no así para frutas tiernas (verdes) o maduras (amahillas o anaranjadas).

Se sugiere para una investigación posterior, la alimentación de organismos vivos con dietas parciales y totales, control e irradiadas a corto plazo (un año) u a largo plazo (crónico) y demostrar la utilidad de la radiopreservación.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Alexopoulos, Constantine John (1907)
Introducción a la Micología.
EUDEBA 2a. reimpresión Buenos Aires, Arg. (1966)
- 2) Azamar Barríos José Antonio
Preservación de mango manila por irradiación.
Tesis para obtener el título de Químico
Escuela de Ciencias Químicas de la Universidad
Autónoma de Puebla, Pue. (1971).
- 3) Bertrand G. Mallerve.
Comp. Rend. 119, 1013 in pectin substances.
Kertes 12, I
Inter Sc N.Y. 27-28 (1951)
- 4) Baumgartner J.
Conservas alimenticias y fundamentos técnicos microbiológicos.
Versión de la 4a. ed. inglesa por Bernabé Sáenz Pérez.
Zaragoza, Esp. Acribia 101-102 (1969)
- 5) Ball Charles Olin.
Food Technology. Sterilization in food technology.
Theory, practice, and calculations.
Mac Graw Hill. New York (1957).
- 6) Cabrera Mosqueda Luis.
Cambios en la actividad de la pectín-metilestearasa en
la preservación de papayas por radiación gamma.
Tesis para obtener el grado de Maestría en Química Nuclear
Facultad de Química UNAM México, D.F. (1970).
- 7) Cook Arthur.
The Chemistry and Biology of Yeast.
Academic Press London (1958).

- 8) Desroiser N. W.
Conservación de alimentos
Cecsa, México. (1968)
- 9) Diehl J.F.
Irradiated food.
Science. Vol. 180 214-215 (1973)
- 10) Frazier William Canol.
Food Microbiology.
Mac Graw Hill. New York. (1958)
- 11) Jansen E. F. and L.R. Macdonell.
Determination of pectin-metilesterase activity.
J. Biol. chem. 121: 589-598. (1973)
- 12) Jawetz E.
Manual de Microbiología Médica.
El Manual Moderno.
México, D.F. 4a. Ed. (1970)
- 13) Jay James M
Microbiología Moderna de los alimentos.
Traducida por José Tornaiguacel.
Madrid, Esp. (1973)
- 14) Kertesz Z.I.
Pectic enzymes. IV Structural considerations in connection
with the enzymic hydrolysis of pectin.
J. Am. Chem. Soc. 61: 2544-48 (1939)
- 15) Langeron Maurice.
Outline of Mycology.
2a. rev. by R. Vanbreu Seghim.
Academic Press. London (1950)
- 16) Loyola V. Víctor M.
Cambios inducidos por dosis variable de radiación
gamma en mango manila para su preservación.
Tesis para optar por el grado de Maestría en Química Nuclear.
Facultad de Química, UNAM. México, D.F. (1973)

- 17) Medios de cultivo para Microbiología.
Merck. Folleto ilustrativo. (1972)
- 18) Metodología y procedimiento en los Laboratorios.
Manual DIFCO de Laboratorios. (1971)
- 19) Mitchel P.H.
Bioquímica. ;
Ed. Salvat (1956)
- 20) Pelczar Michael J.
Microbiología General
Mac Graw Hill. New York. 253-255. (1916)
- 21) Noms John Robert
Methods in Microbiology.
London Academic. (1969). 48-49
- 22) Rojas Garcidueñas Manuel.
Fisiología Vegetal.
Manuales Universitarios. México, UNAM. (1959)
- 23) Richter Gerhard.
Fisiología del Metabolismo de las plantas.
Una introducción a la Fisiología y Bioquímica del
Metabolismo Primario.
México. CECSA. (1971)
- 24) Shultz H. W.
Food Enzymes.
The first of a serie of Symposia on foods held at Oregon.
Oregon State College.
Westport Conn. AVI Publishing. 146, 147. (1960)
- 25) Spink J. T. W. and R. J. Woods.
An introduction to radiation chemistry.
Wiley, New York. 104 (1964)
- 26) Swope, H. Gladys.
Dosimetry in the high level gamma-irradiation facility.
Argonne National Laboratory. 5, 819: 2-5 (1958)

- 27) Tanner Fred W.
The Microbiology of foods.
Garrard Press. 2a. Ed. 75-77 (1944)
- 28) Tressler Donald Kitelay.
The Freezing preservation of food.
AVI publishing Co. Westport Conn. 192 (1957)
- 29) Velázquez Villafuente Carlos R.
Preservación de mangos con irradiación y criterios de
diseño de cámaras de irradiación y maduración.
Tesis para obtener el título de Ing. Químico.
Fac. de Ciencias Químicas. UNAM. México, D.F. (1971)
- 30) Zinzer
Microbiología
UTHEA. 204, 706, 707. (1970)
- 31) Zapater Ricardo
Introducción a la Micología Médica.
Los hongos patógenos y las micosis.
Ed. Ateneo. Buenos Aires. Arg. (1965)

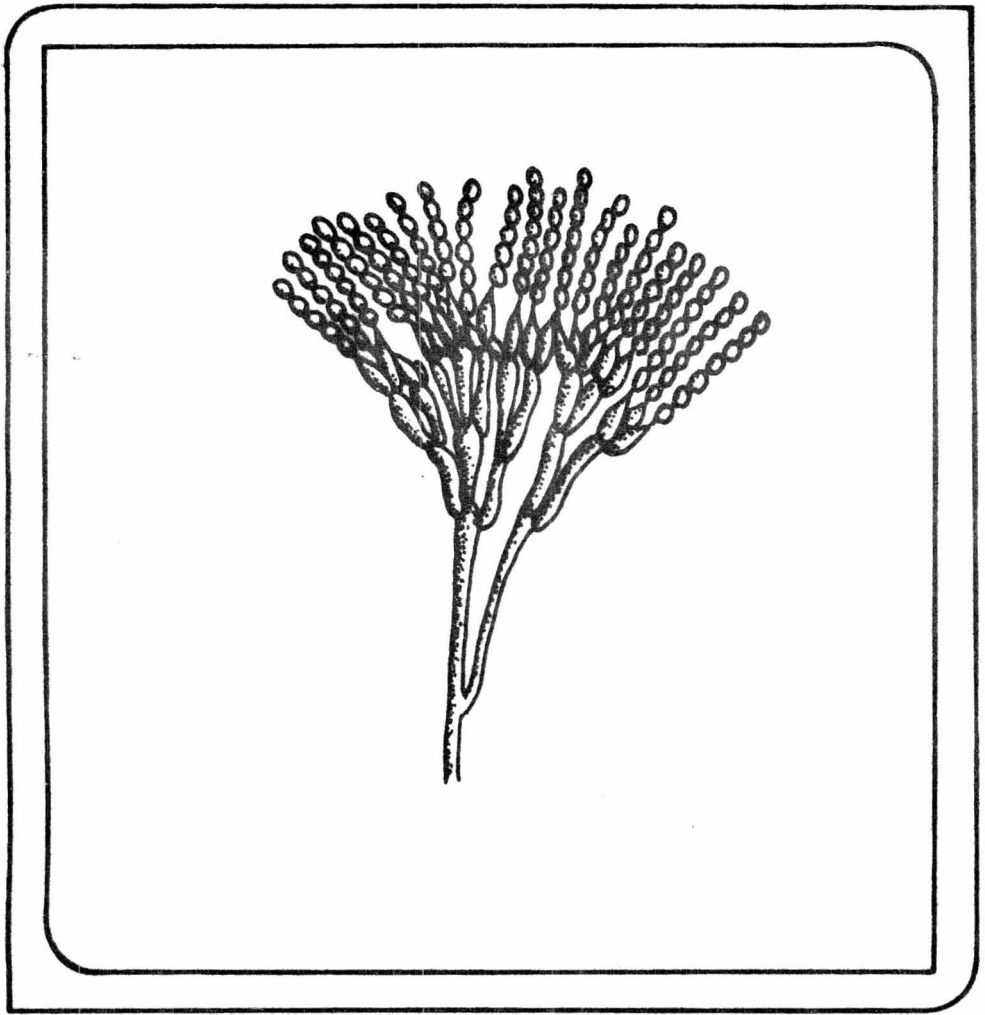


FIG. No.1 GENERO PENICILLIUM.

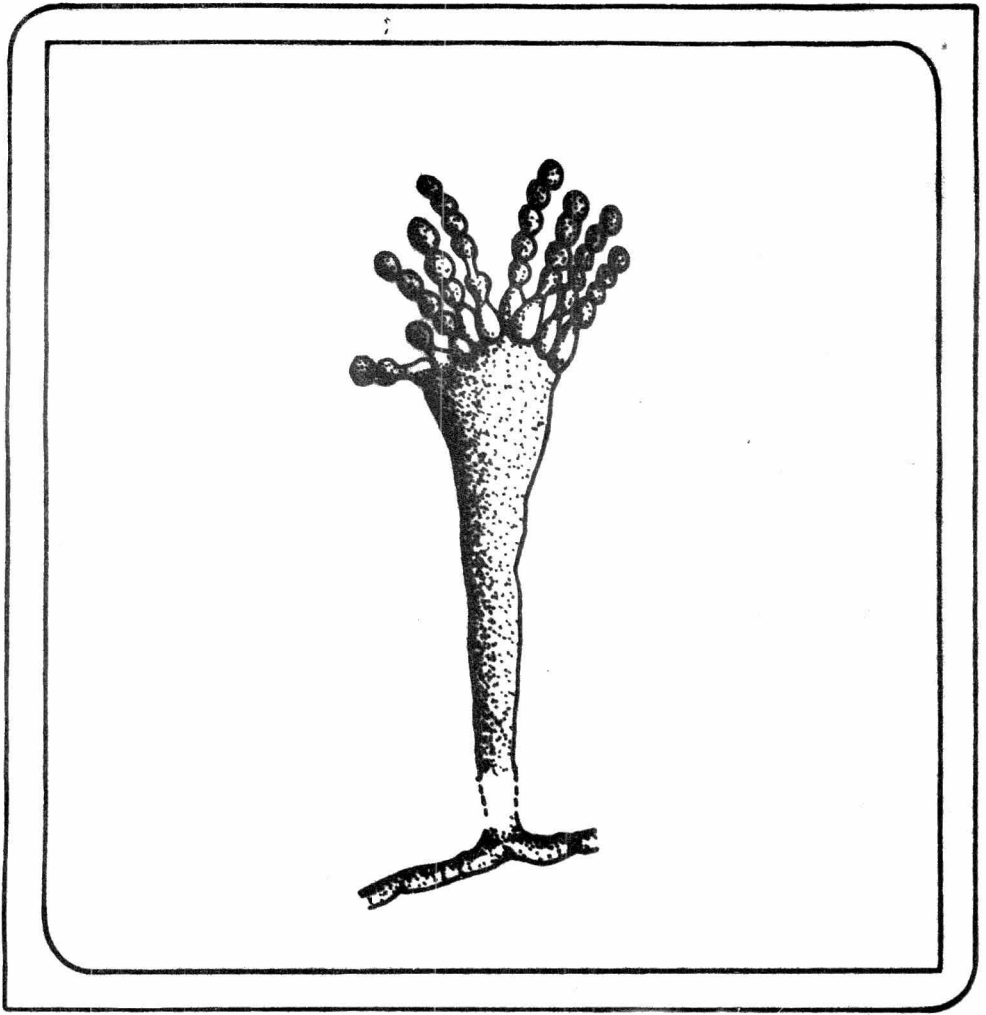


FIG. No. 2 GENERO ASPERGILLUS.

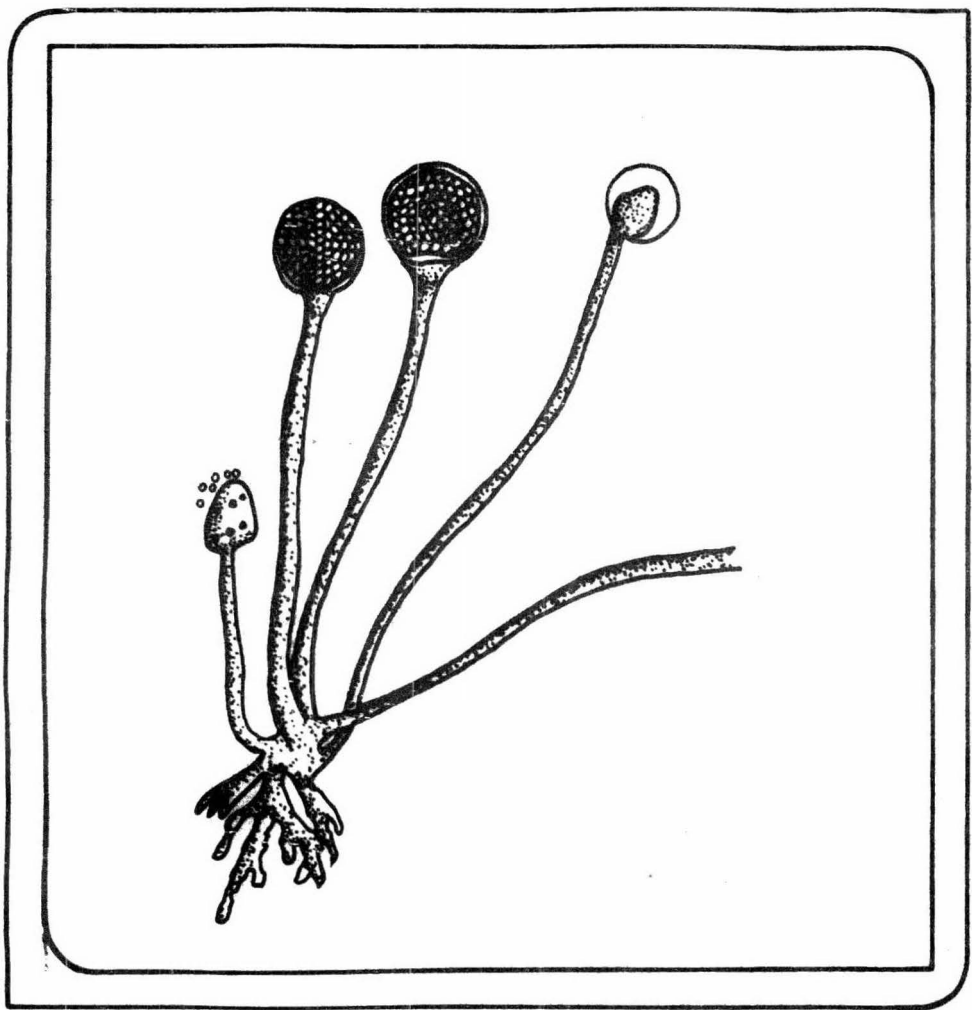


FIG. No. 3 GENERO RHIZOPUS.

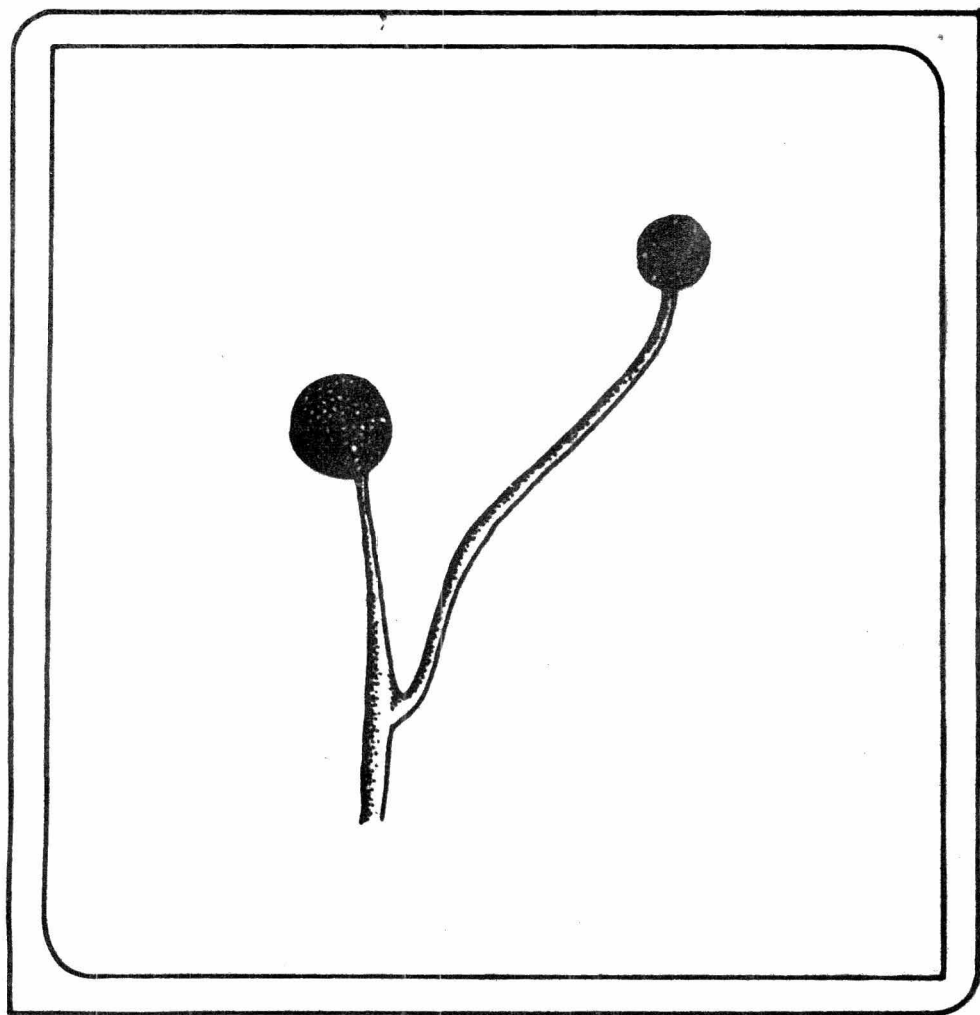


FIG. No.4 GENERO MUCOR.

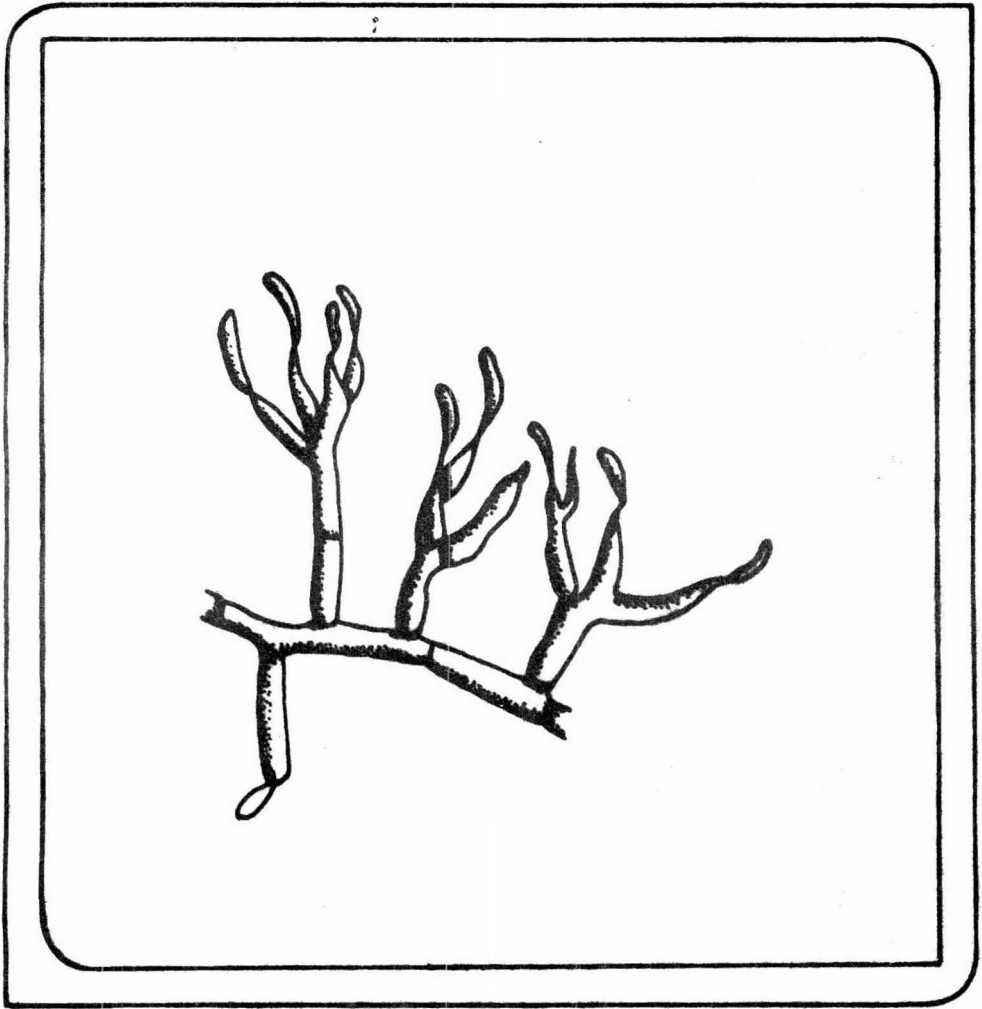


FIG. No.5 GENERO FUSARIUM.

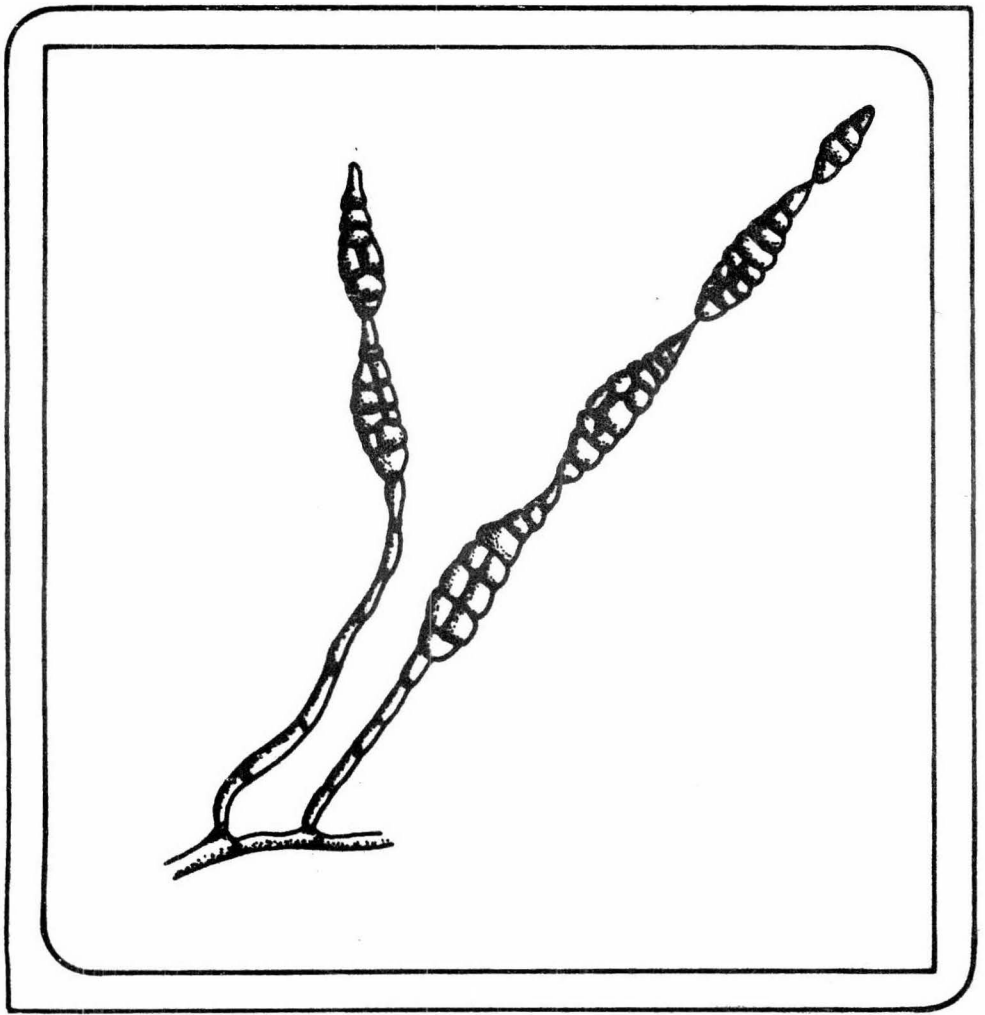


FIG. No.6 GENERO ALTERNARIA.

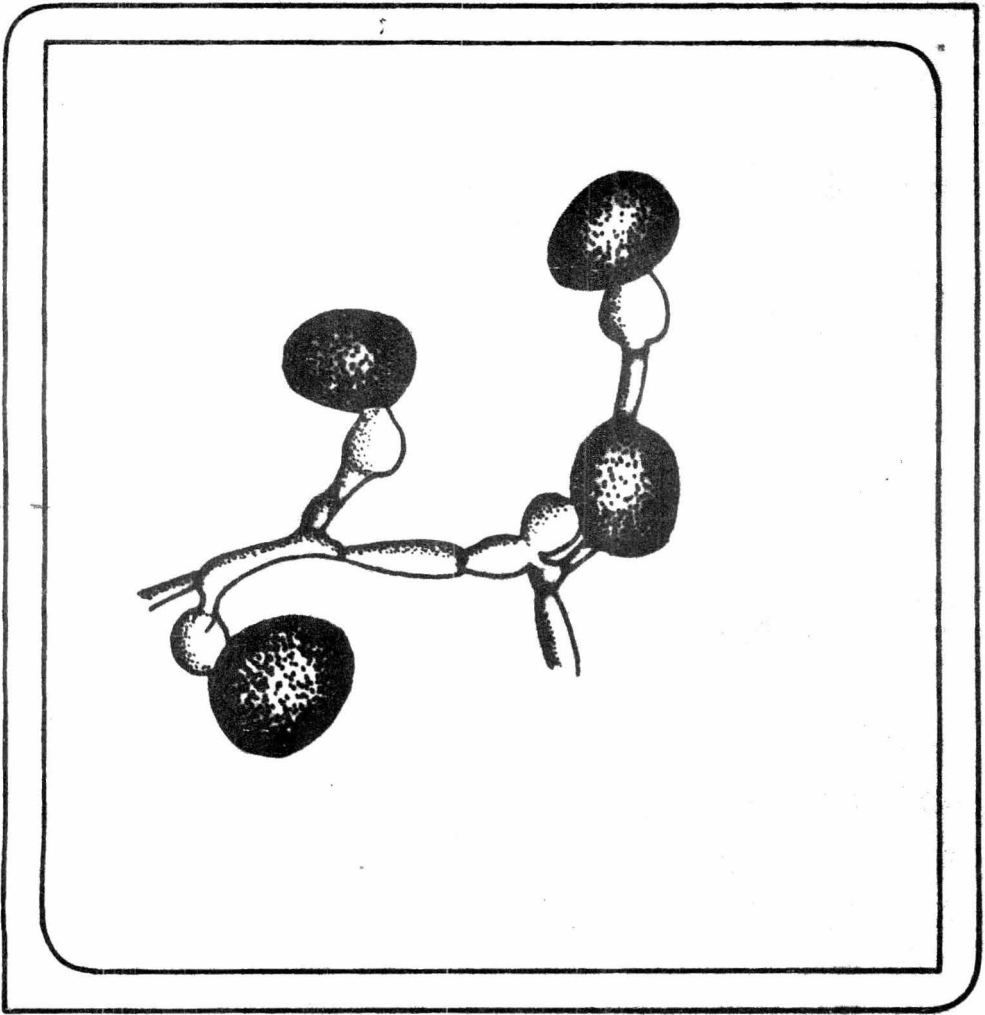


FIG. No. 7 GENERO NIGROSPORA.

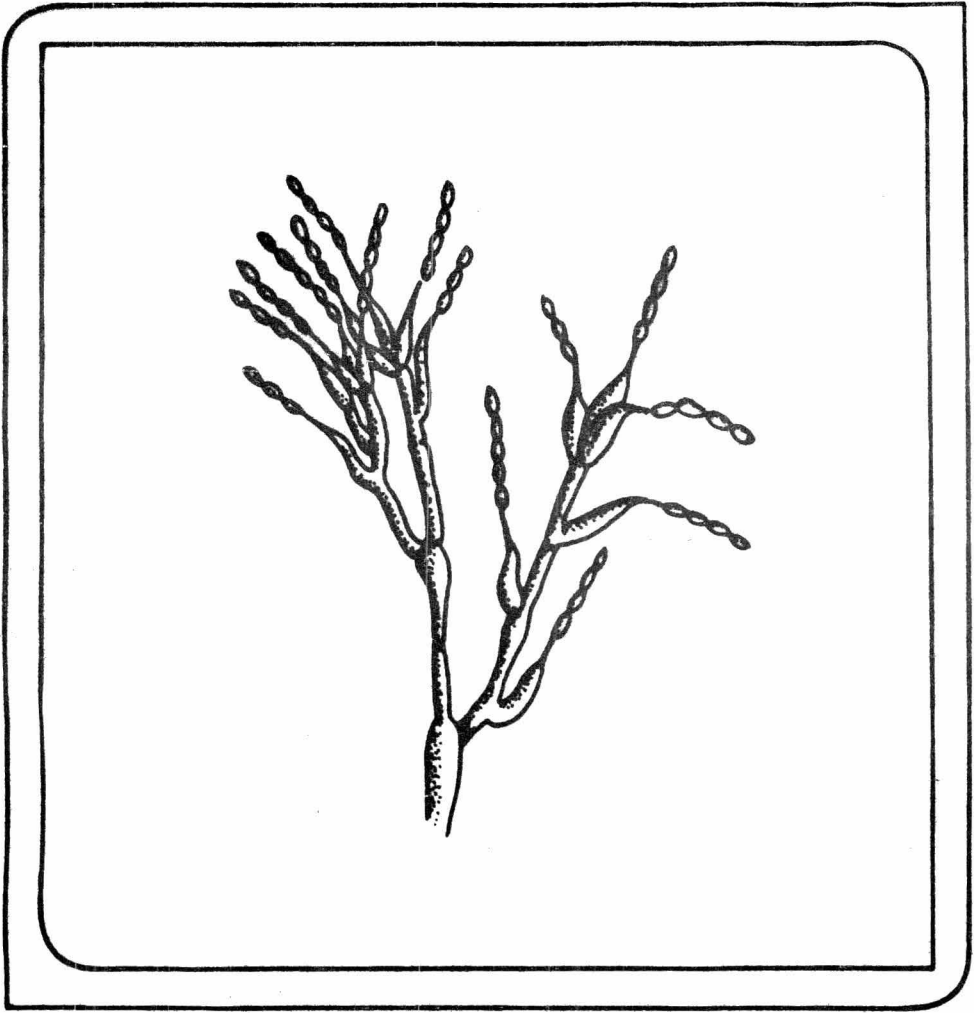


FIG. No. 8 GENERO PAECILOMYCES.

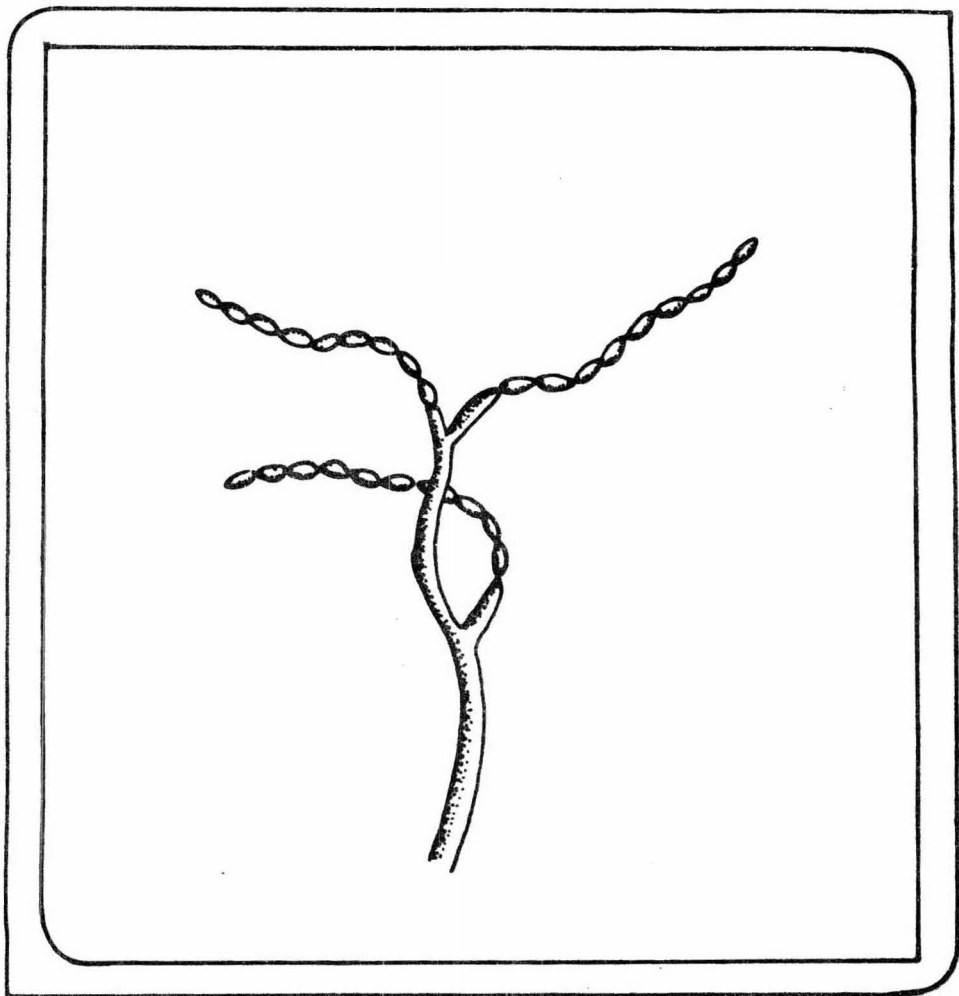


FIG. No. 9 GENERO STREPTOMICES

P.M.E. En Tangerinas 2 días después de la irradiación

CUADRO No. I

40

| Irradiado | Tiempo Min | Dosis RADS | 10 | 20 | 40 | 80 | 100 | 120 | 160 | 180 | Total | Prom. |
|-----------|---------------|---------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| | | | 0 | 4.5 | 4.5 | 9.3 | 16.8 | 21.6 | 30.2 | 34.7 | 37.7 | 159.3 |
| 250 | 0 | 0 | 4.1 | 10.1 | 14.2 | 22.4 | 24.6 | 28.5 | 103.9 | 13.0 | | |
| 500 | 1.5 | 1.5 | 9.3 | 14.5 | 17.8 | 26.4 | 26.4 | 35.4 | 132.8 | 16.6 | | |
| 1000 | 4.5 | 4.5 | 9.0 | 13.8 | 18.3 | 29.5 | 36.6 | 40.7 | 156.9 | 19.6 | | |
| 2500 | 5.6 | 5.6 | 5.6 | 13.4 | 17.9 | 27.9 | 29.4 | 35.7 | 141.1 | 17.6 | | |
| 5000 | 0 | 0 | 4.5 | 10.5 | 13.5 | 23.5 | 23.5 | 30.2 | 10.57 | 13.2 | | |
| Total | 16.1 | 16.1 | 41.8 | 79.1 | 103.3 | 159.9 | 175.2 | 208.2 | 799.7 | - | | |
| Total | 11.6 | 11.6 | 32.5 | 62.3 | 81.7 | 129.7 | 140.5 | 170.5 | - | - | | |
| Prom. | 2.3 | 2.3 | 6.5 | 12.4 | 16.3 | 25.9 | 28.1 | 34.1 | - | - | | |

P.M.E. En Tangerinas 5 días después de la irradiación
CUADRO No. II

| | Tiempo Min | Dosis RADS | 10 | 20 | 40 | 80 | 100 | 120 | 160 | 180 | Total | Prom. |
|--------------------|---------------|---------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| | | | 0 | 3.7 | 3.7 | 6.7 | 14.5 | 18.2 | 27.2 | 27.2 | 34.7 | 135.9 |
| 250 | 0 | 0 | 2.2 | 12.3 | 16.0 | 24.2 | 25.3 | 33.5 | 113.5 | 14.1 | | |
| 500 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 10.8 | 17.5 | 22.3 | 25.3 | 32.0 | 119 | 14.8 | | |
| 1000 | 5.6 | 5.6 | 7.1 | 13.4 | 19.9 | 26.6 | 28.8 | 34.8 | 141.8 | 17.7 | | |
| 2500 | 6 | 6 | 9.2 | 15.9 | 21.9 | 27.9 | 30.9 | 38.5 | 159.3 | 19.9 | | |
| 5000 | 1.5 | 1.5 | 3.3 | 13.0 | 17.5 | 25 | 29.5 | 36.2 | 128.7 | 16 | | |
| Total | 20.8 | 20.8 | 32.5 | 79.9 | 111.2 | 153.2 | 167 | 209.7 | 795.1 | - | | |
| Inradiado Total | 16.8 | 16.8 | 25.8 | 65.4 | 92.8 | 126 | 139.8 | 175 | - | - | | |
| Prom. | 3.3 | 3.3 | 5.1 | 13.8 | 18.5 | 25.2 | 27.9 | 35 | - | - | | |

P.M.E. En Tangerinas 9 días después de la irradiación
 CUADRO No. III

| | Tiempo Min | Do sis RADS | 10 | 20 | 40 | 80 | 100 | 120 | 160 | 180 | Total | Prom. |
|--------------------|---------------|-------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| | | | 0 | 4.1 | 4.1 | 9.3 | 18.3 | 24.3 | 32.5 | 34.0 | 42.6 | 169.2 |
| 250 | 0 | 0 | 2.2 | 11.5 | 16.7 | 23.4 | 24.1 | 31.6 | 109.5 | 13.6 | | |
| 500 | 0 | 0 | 0 | 9 | 18 | 27.3 | 29.5 | 37.7 | 121.5 | 15.1 | | |
| 1000 | 5.2 | 5.2 | 10.0 | 15.2 | 22.5 | 32.6 | 34.8 | 45.0 | 170.5 | 21.3 | | |
| 2500 | 0 | 0 | 0 | 8.6 | 16.8 | 26.9 | 30.6 | 37.3 | 120.2 | 15 | | |
| 5000 | 3.3 | 3.3 | 8.1 | 18.1 | 23.7 | 27.4 | 30.4 | 39.4 | 153.7 | 19.2 | | |
| Total | 12.6 | 12.6 | 29.6 | 70.7 | 122 | 170.1 | 183.4 | 233.6 | 834.9 | - | | |
| Irradiado Total | 8.5 | 8.5 | 20.3 | 52.4 | 97.7 | 137.6 | 149.4 | 191 | - | - | | |
| Prom. | 1.7 | 1.7 | 4.0 | 10.4 | 19.5 | 27.5 | 29.8 | 38.2 | - | - | | |

P.M.E. En Tangerinas 14 días después de la irradiación
 CUADRO No. IV

| | Tiempo | | | | | | | | | | Prom. |
|-------|-----------|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| | Min | 10 | 20 | 40 | 80 | 100 | 120 | 160 | 180 | Total | |
| Dosis | 0 | 78 | 11.5 | 19 | 29.8 | 42.1 | 56.7 | 67.2 | 77.3 | 311.4 | 38.9 |
| | 250 | 0 | 0 | 0 | 6.7 | 6.7 | 14.5 | 25.0 | 33.6 | 86.5 | 10.8 |
| | 500 | 0 | 0 | 10.1 | 20 | 20 | 29.3 | 39.5 | 47.3 | 166.2 | 20.7 |
| | 1000 | 0 | 0 | 0 | 10.1 | 10.1 | 15.7 | 26.2 | 32.5 | 94.6 | 11.8 |
| | 2500 | 4.1 | 4.1 | 7.8 | 12.6 | 12.6 | 18.2 | 30.5 | 33.8 | 123.7 | 15.4 |
| | 5000 | 4.5 | 4.5 | 4.5 | 9.6 | 9.6 | 15.6 | 29.4 | 32.7 | 110.4 | 13.8 |
| | Total | 16.4 | 38.6 | 31.3 | 88.8 | 101.1 | 150 | 217.8 | 258.2 | 892.8 | - |
| | Inradiado | Total | 8.6 | 8.6 | 12.3 | 59 | 59 | 93.3 | 150.6 | 180.9 | - |
| | Prom. | 1.7 | 1.7 | 2.4 | 11.8 | 11.8 | 18.6 | 30.1 | 36.1 | - | - |

P.M.E. En Tangerinas 19 días después de la irradiación
 CUADRO No. V

4

| Tiempo Min | Do sis RADS | 10 | 20 | 40 | 80 | 100 | 120 | 160 | 180 | Total | Prom. |
|---------------|-------------------|----|------|------|------|------|-------|------|-------|-------|-------|
| | | 0 | 0 | 0 | 7.8 | 21.6 | 24.6 | 33.2 | 35.2 | 40.4 | 162.8 |
| 250 | 0 | 0 | 6.7 | 14.9 | 14.9 | 19.7 | 24.2 | 29.7 | 110.1 | 13.7 | |
| 500 | 0 | 0 | 0 | 7.1 | 7.1 | 17.9 | 23.1 | 27.2 | 82.4 | 10.3 | |
| 1000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.0 | 13.5 | 17.6 | 34.1 | 4.2 | |
| 2500 | 0 | 0 | 0 | 8.6 | 8.6 | 12.3 | 25.5 | 29.1 | 84.4 | 10.5 | |
| 5000 | 0 | 0 | 6.7 | 6.7 | 6.7 | 14.9 | 22.4 | 28.0 | 85.4 | 10.6 | |
| Total | 0 | 0 | 21.2 | 58.9 | 58.9 | 101 | 144.2 | 172 | 559.2 | - | |
| Irradiado | Total | 0 | 0 | 13.4 | 37.3 | 37.8 | 67.8 | 109 | 131.4 | - | - |
| | Prom. | 0 | 0 | 2.6 | 7.4 | 7.4 | 8.4 | 13.6 | 26.2 | - | - |

P.M.E. En Tangerinas 24 días después de la irradiación
 CUADRO No. VI

| Tiempo Min | Do sis RADS | 10 | 20 | 40 | 80 | 100 | 120 | 160 | 180 | Total | Prom. |
|---------------|-------------------|----|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 0 | 0 | 0 | 5.6 | 13.8 | 13.8 | 28.8 | 28.8 | 39.8 | 130.6 |
| 250 | 0 | 0 | 4.3 | 11.8 | 11.8 | 22.8 | 22.8 | 37.8 | 111.3 | 13.9 | |
| 500 | 0 | 0 | 0 | 7.5 | 8.0 | 18.5 | 18.5 | 33.5 | 86.0 | 10.7 | |
| 1000 | 0 | 0 | 2.7 | 10.2 | 10.2 | 21.2 | 22.4 | 29.9 | 96.9 | 12.0 | |
| 2500 | 0 | 0 | 0 | 8.2 | 8.2 | 23.9 | 27.5 | 35.7 | 103.5 | 12.9 | |
| 5000 | 0 | 0 | 3.2 | 12.9 | 12.9 | 26.4 | 26.4 | 36.9 | 118.7 | 14.8 | |
| Total | 0 | 0 | 15.8 | 64.9 | 64.9 | 141.6 | 146.4 | 213.4 | 647 | - | |
| Total | 0 | 0 | 10.2 | 51.1 | 51.1 | 112.8 | 117.6 | 173.8 | - | - | |
| Prom. | 0 | 0 | 2.0 | 10.2 | 10.2 | 22.5 | 23.5 | 34.7 | - | - | |

45

Irradiados

ACEPTABILIDAD POR EL SABOR
ESCALA ARBITRARIA DE ACEPTABILIDAD PARA TANGERINAS
CUADRO No. VII

| <u>ESCALA</u> | <u>DESCRIPCION</u> |
|---------------|--------------------|
| 1 | Múy amargo |
| 2 | amargo |
| 3 | poco amargo |
| 4 | muy ácido |
| 5 | ácido |
| 6 | poco ácido |
| 7 | simple |
| 8 | poco dulce |
| 9 | dulce |
| 10 | muy dulce |
| 11 | poco fermentado |
| 12 | fermentado |
| 13 | muy fermentado |

M a d u r e z
Escala arbitraria para tangerinas (%)
CUADRO No. VIII

| Madurez | Colores | | | | Valor | |
|------------|---------|----------|-----------------|---------------|-------|-------|
| | Verde | Amarillo | Anaran- jado | Café Negro | Sazón | Verde |
| Muy verde | > 50 | < 20 | ----- | (a) 40 | ----- | 2 |
| Verde | > 25 | < 20 | ----- | (a) 40 | 2 | 4 |
| 1/2 verde | (a) 20 | (a) 30 | ----- | (a) 40 | 4 | 6 |
| 1/2 madura | < 10 | > 40 | ----- | (a) 60 | 6 | 8 |
| Madura | - - | (a) 20 | ----- | (a) 40 | 8 | 10 |
| Muy madura | - - | (a) 20 | (a) 20 | (a) 40 | 10 | 12 |
| Desechable | - - | - - - | (a) 40 | (a) 20 | 12 | 14 |

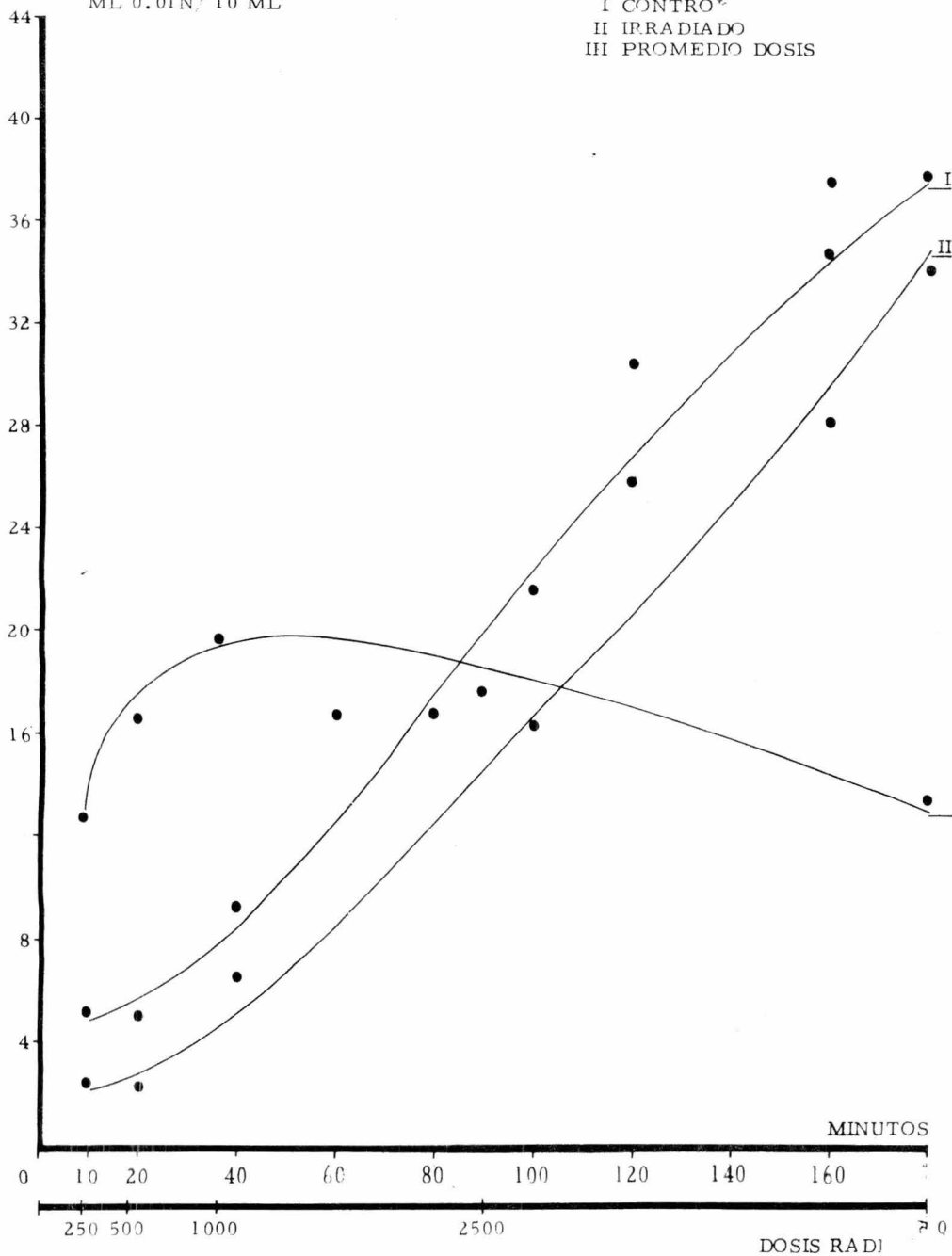
a = alrededor de -

GRAFICA No. I

P.M.E. EN TANGERINAS
2 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

ML 0.01N/ 10 ML

I CONTRO
II IRRADIADO
III PROMEDIO DOSIS

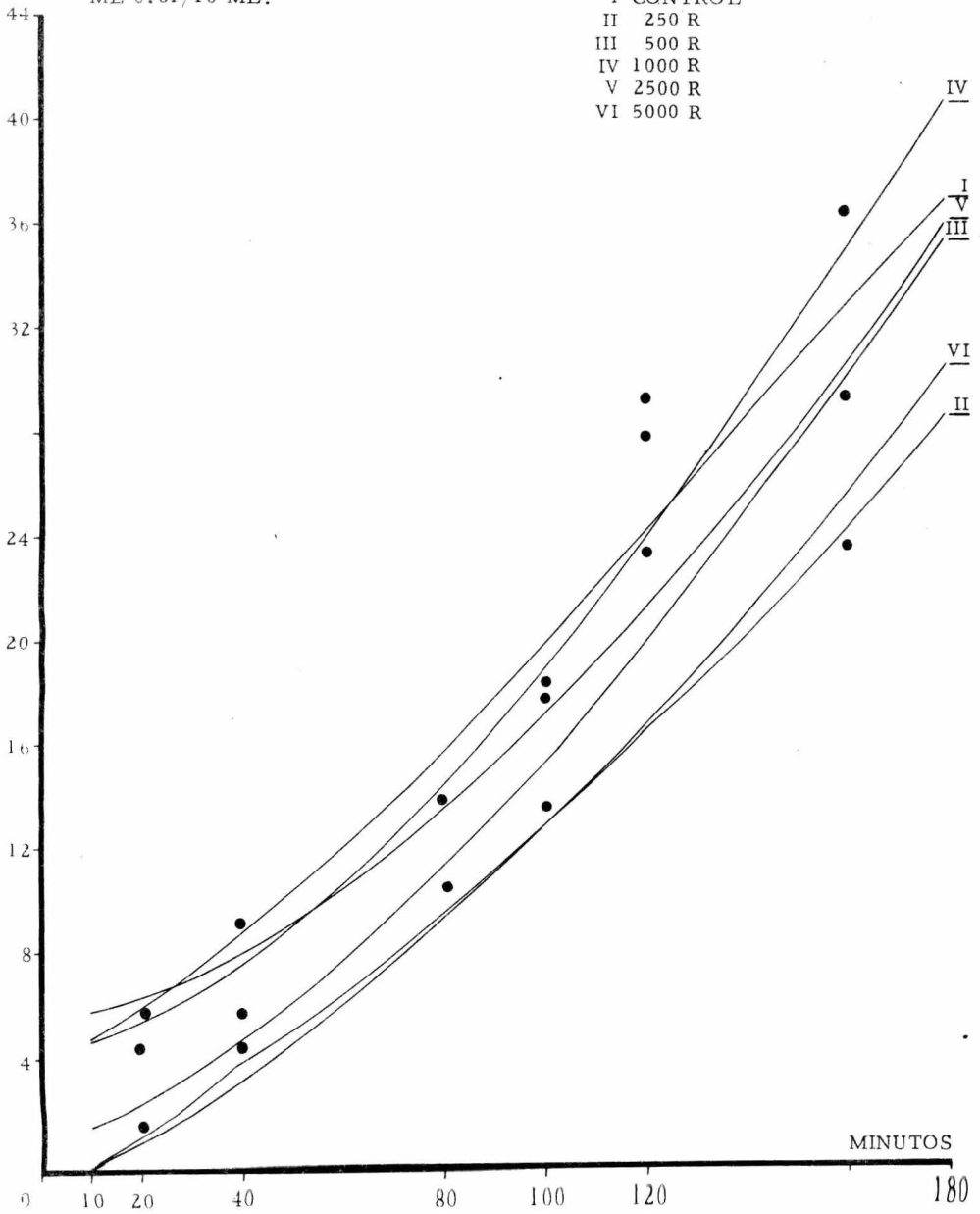


GRAFICA No. II

ACTIVIDAD DE LA P.M.E. EN TANGERINAS,
2 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

ML 0.01/10 ML.

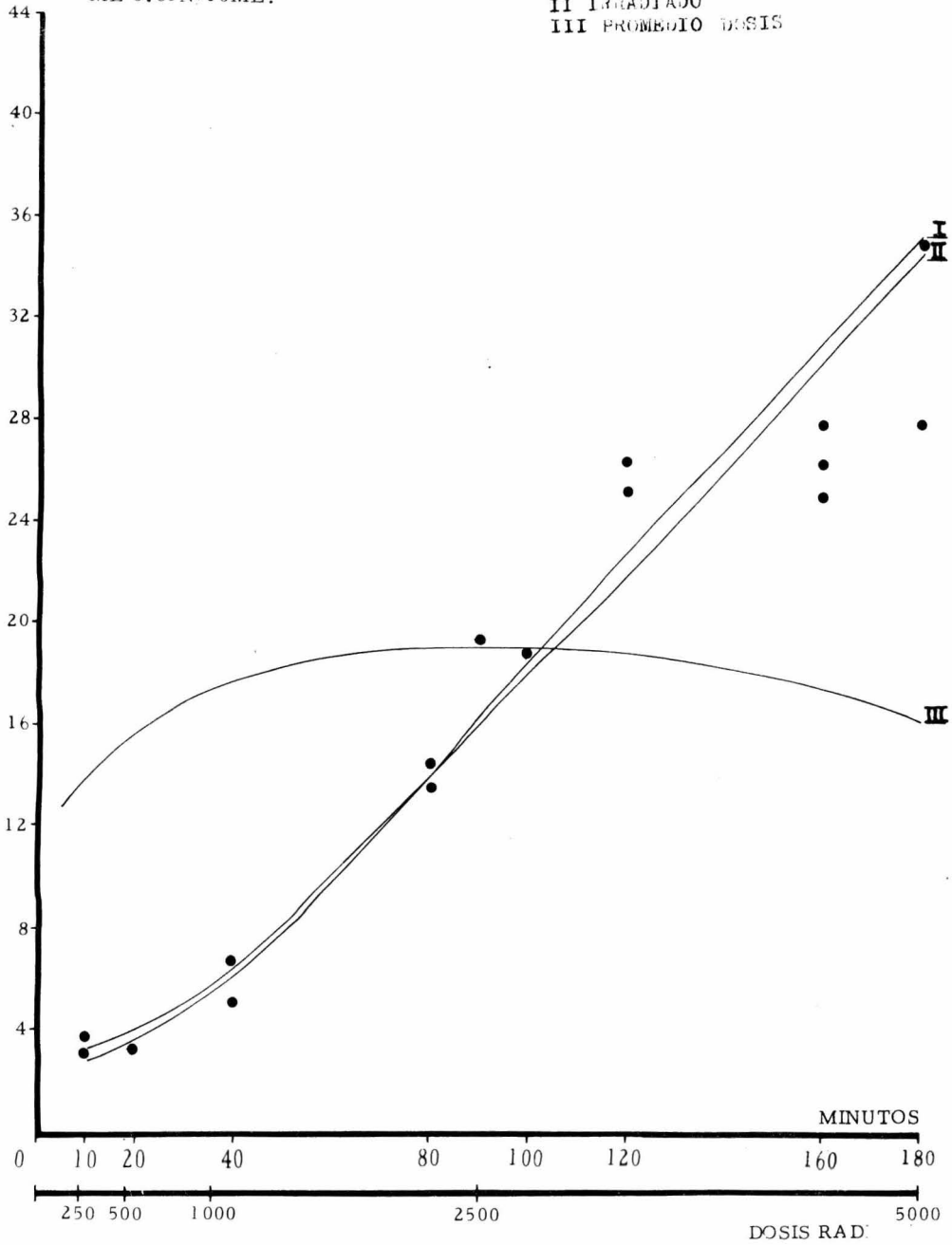
- I CONTROL
- II 250 R
- III 500 R
- IV 1000 R
- V 2500 R
- VI 5000 R



GRAFICA No. III

P.M.E. EN TANGERINAS
5 DIAS DESPUES DE IRRADIACION
I CONTROL
II IRRADIADO
III PROMEDIO Dosis

ML 0.01N/10ML.

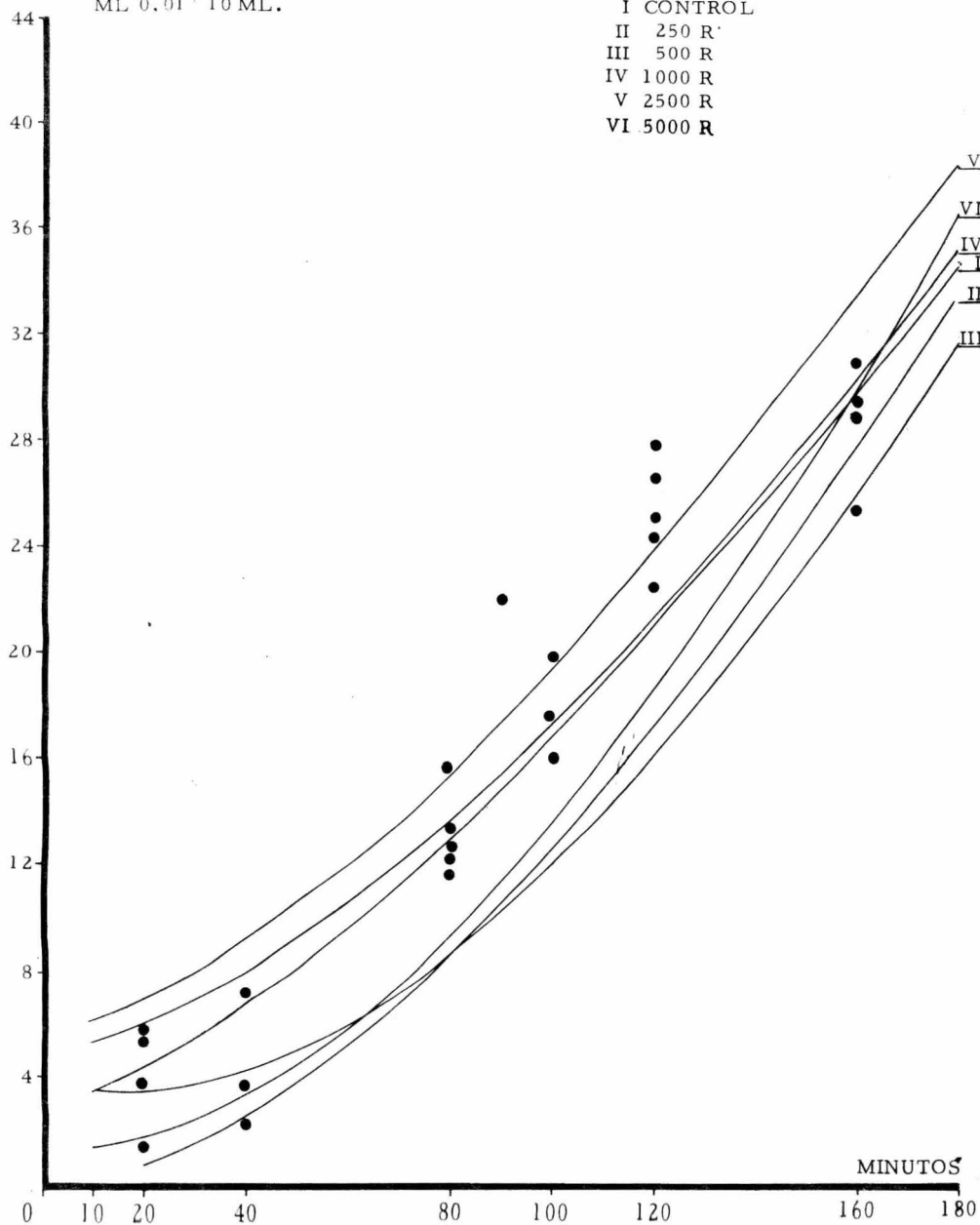


GRAFICA No. IV

ACTIVIDAD P.M.E. EN TANGERINAS
5 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

ML 0.01 / 10 ML.

- I CONTROL
- II 250 R
- III 500 R
- IV 1000 R
- V 2500 R
- VI 5000 R



GRAFICA No. V

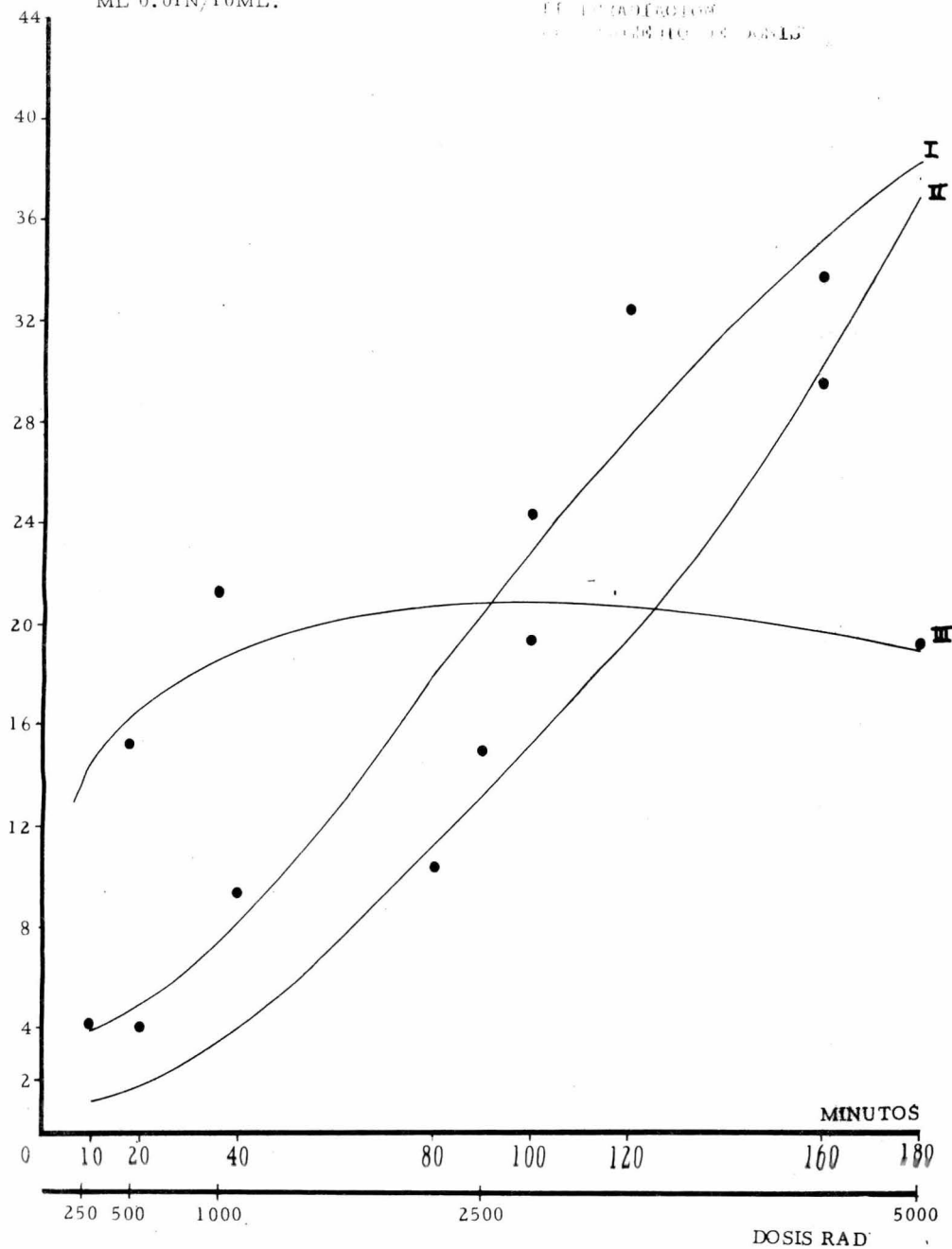
ML 0.01N₂/10ML.

P.M.E. EN TANGERINAS
9 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

I CONTROL

II 10000 RAD

III 50000 RAD

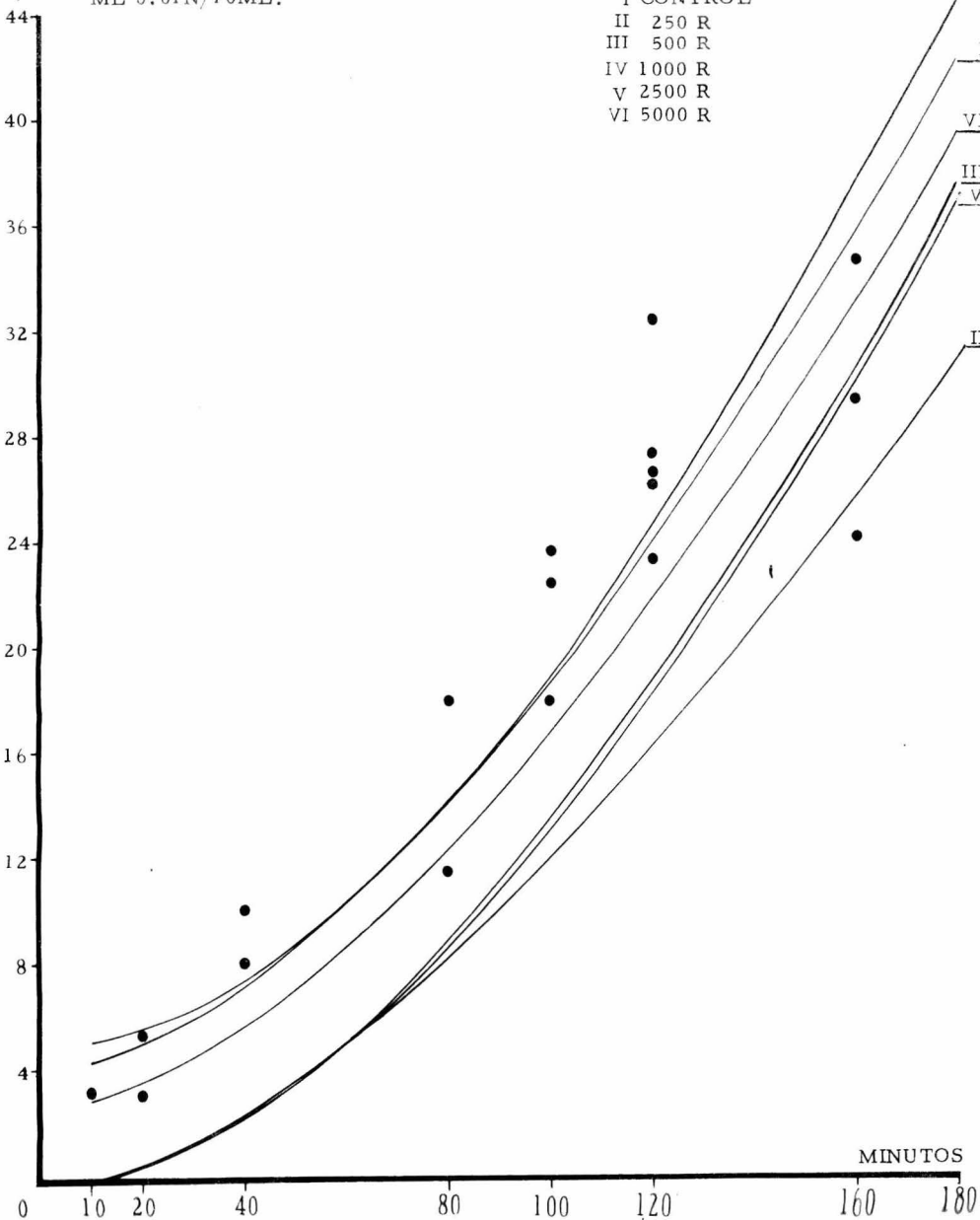


GRAFICA No. VI

ACTIVIDAD P.M.E. EN TANGERINAS
9 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

ML 0.01N/10ML.

- I CONTROL
- II 250 R
- III 500 R
- IV 1000 R
- V 2500 R
- VI 5000 R



GRAFICA No. VII

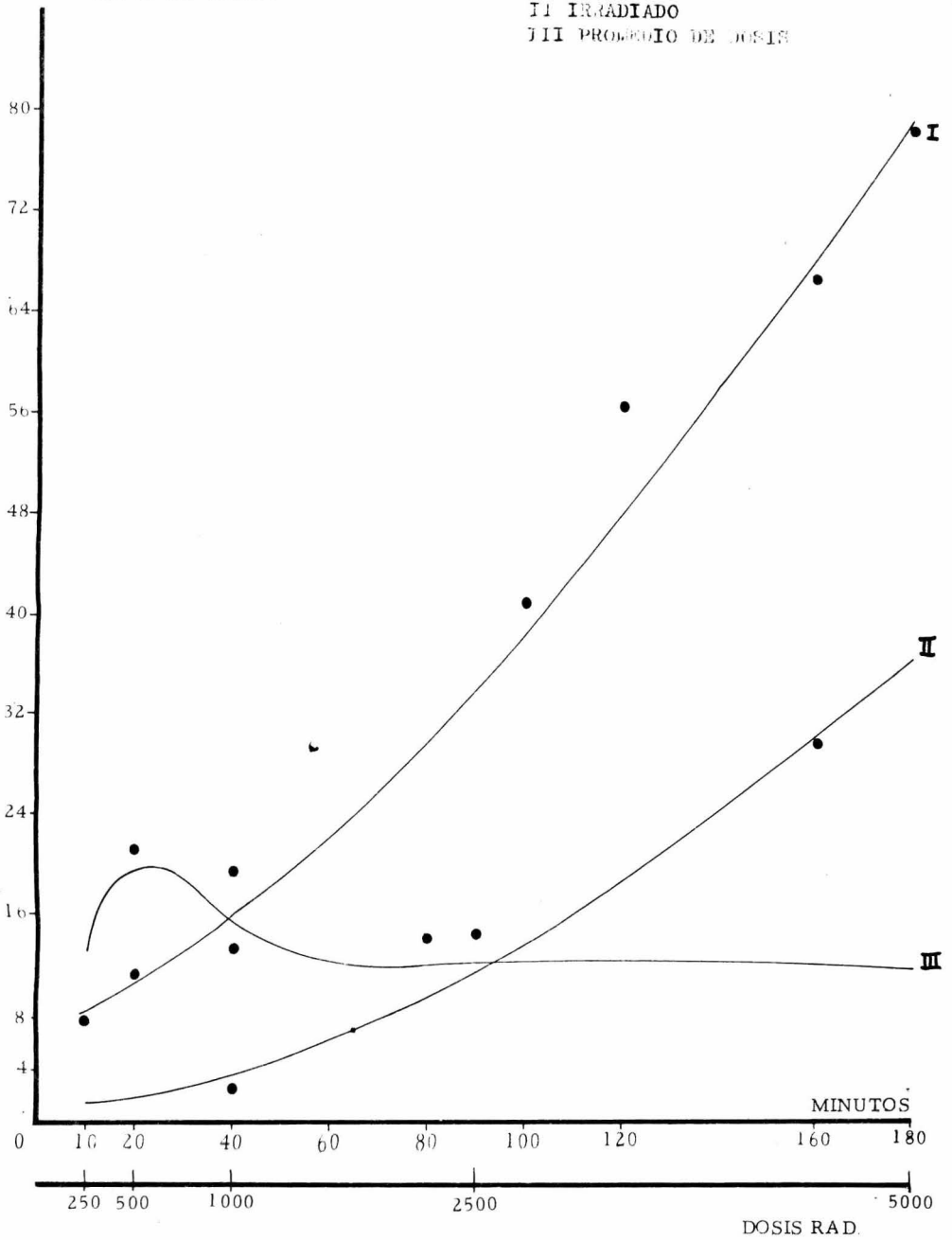
ML 0.01N/10ML.

P.M.E. EN TANGERINAS
14 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

I CONTROL

II IRRADIADO

III PROMEDIO DE DOSIS

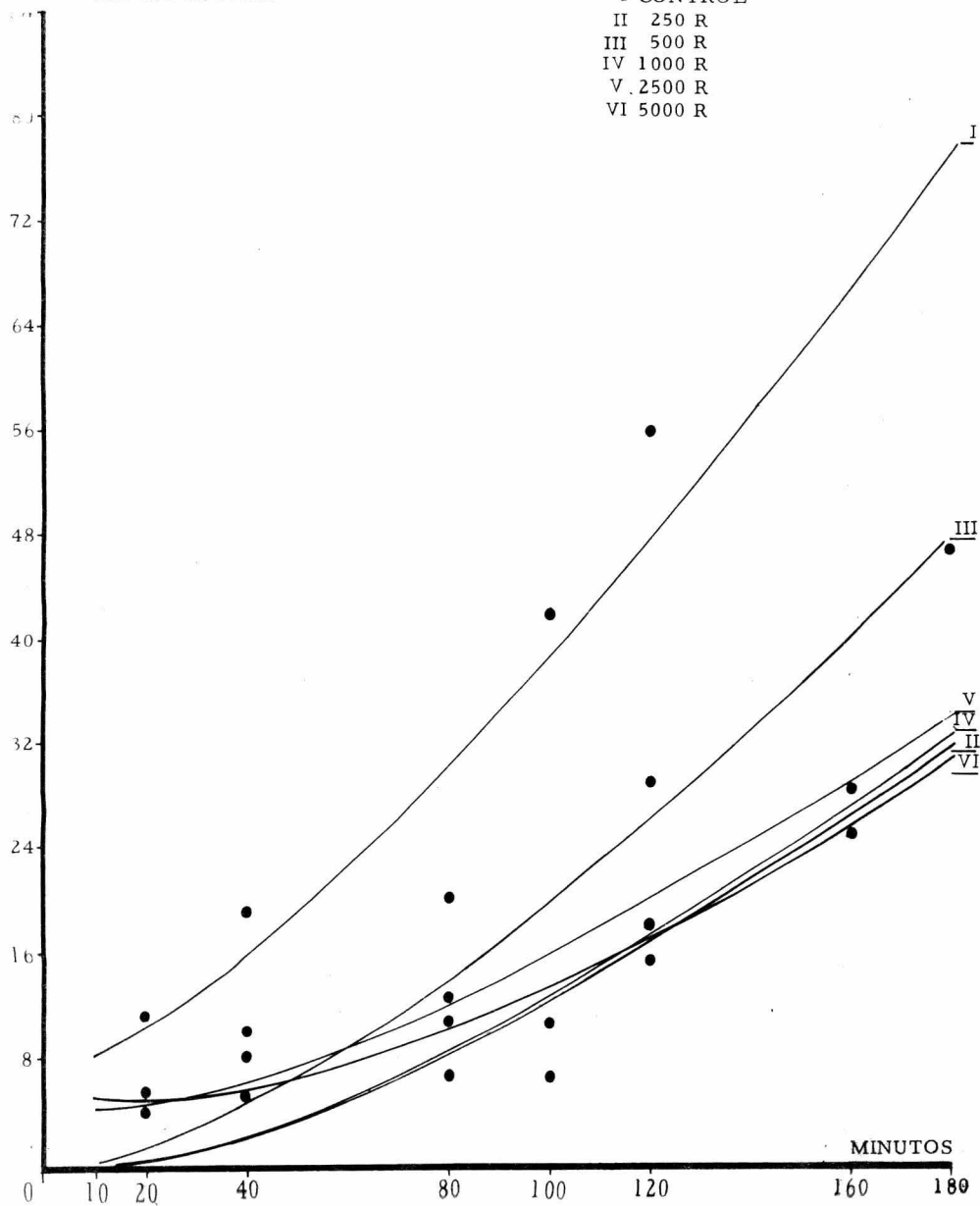


GRAFICA No. VIII

P.M.E. EN TANGERINAS
14 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

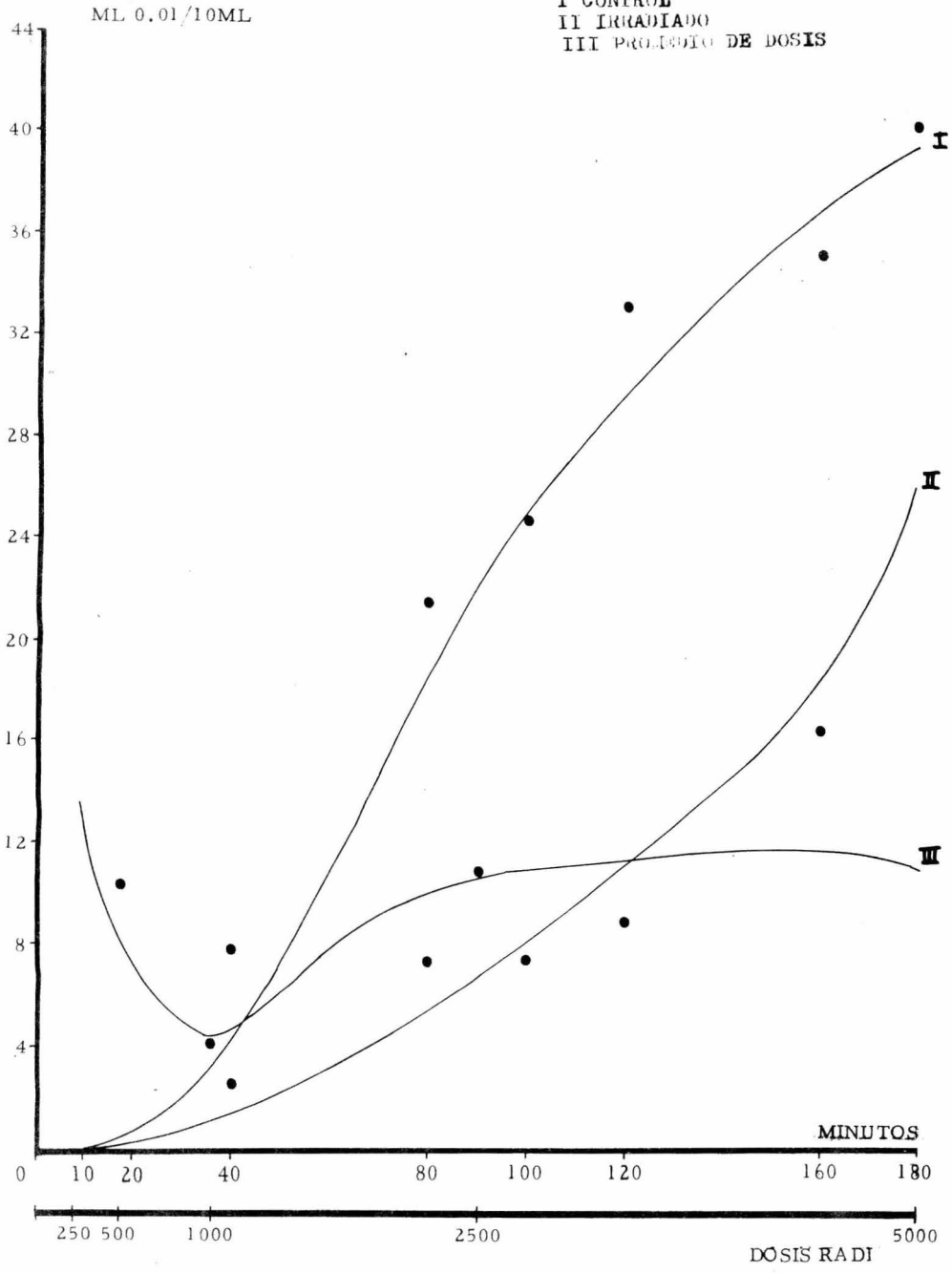
ML 0.01N/10ML

I CONTROL
II 250 R
III 500 R
IV 1000 R
V 2500 R
VI 5000 R



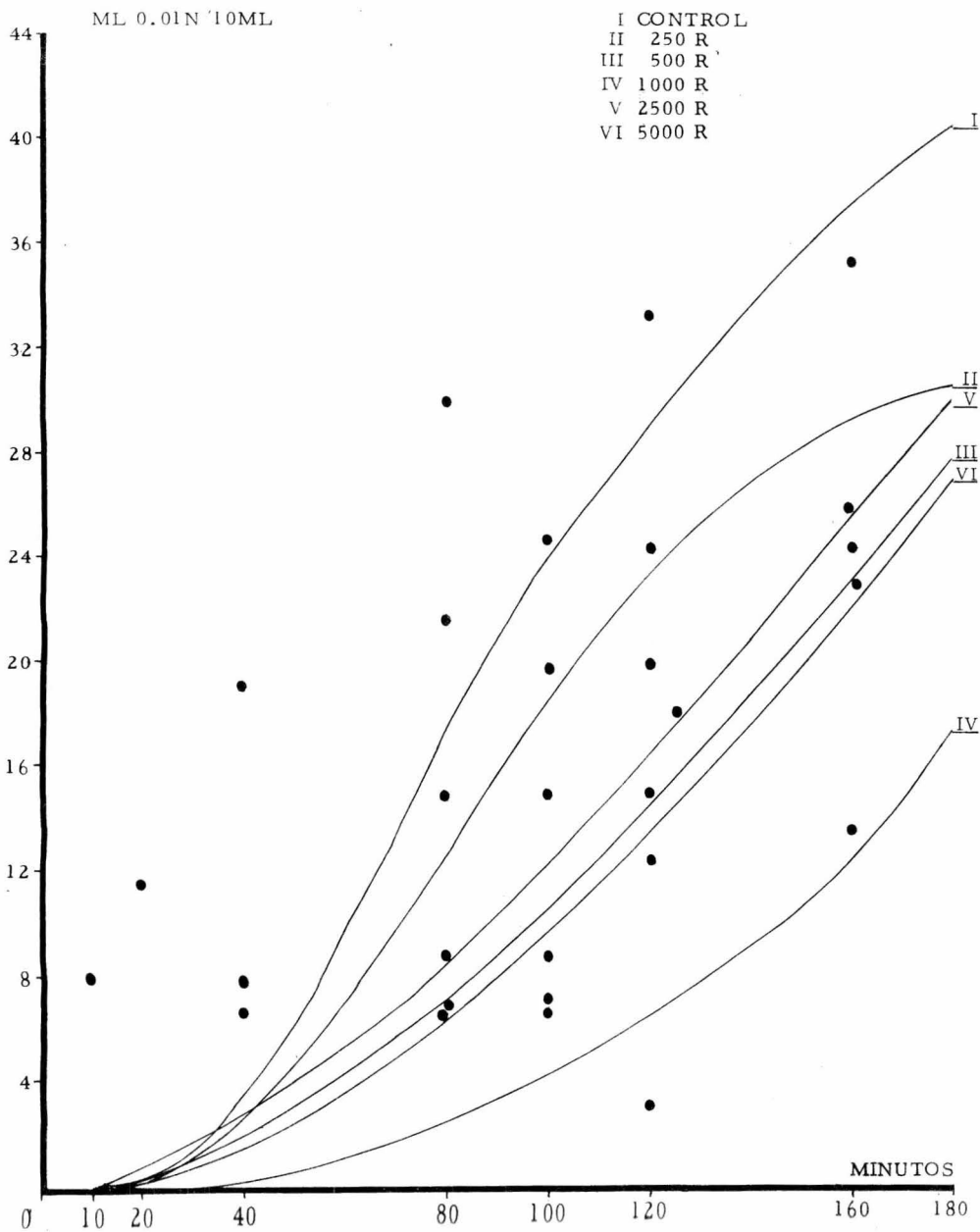
GRAFICA No. IX

P.M.E. EN TANGERINAS
19 DIAS DESPUES DE IRRADIACION
I CONTROL
II IRRADIADO
III PROBLETO DE DOSIS



GRAFICA No. X

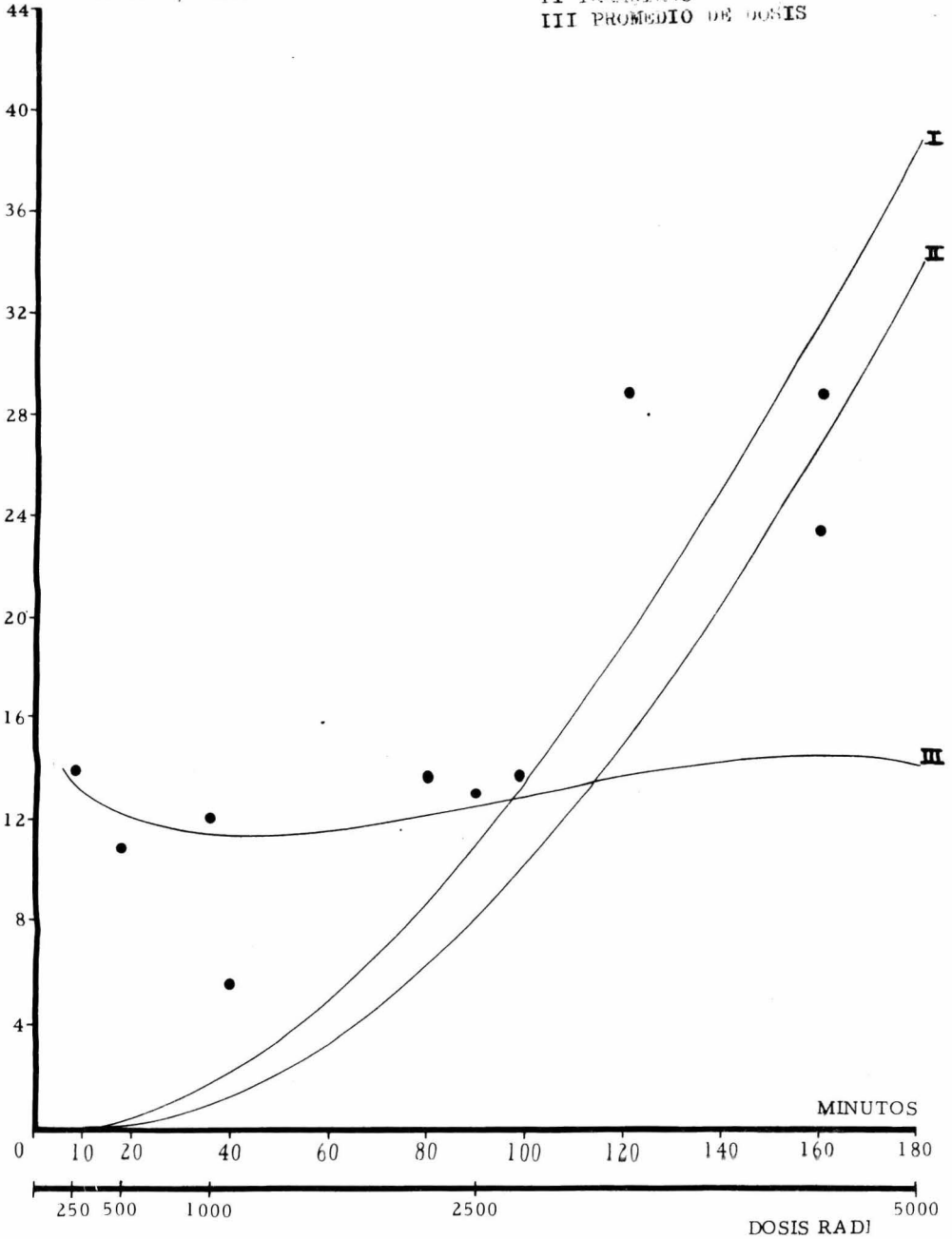
P.M.E. EN TANGERINAS
19 DIAS DESPUES DE IRRADIACION



GRAFICA No. XI

P.M.E. EN TANGERINAS
24 DIAS DESPUES DE IRRADIACION
I CONTROL
II IRRADIADO
III PROMEDIO DE DOSIS

ML 0.01 / 10ML



GRAFICA No. XII

P. M. E. EN TANGERINAS
24 DIAS DESPUES DE IRRADIACION

ML 0.01N 10ML

- I CONTROL
- II 250 R
- III 500 R
- IV 1000 R
- V 2500 R
- VI 5000 R

