

Nº 128  
251



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LOS  
COLORANTES CURCUMA Y ACHIOTE  
FRENTE A DIFERENTES DOSIS DE  
RADIACION GAMMA**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**

P R E S E N T A :

**RAMIREZ ZIEROLD JORGE ALBERTO**

Director de Tesis : DR. PEDRO VALLE VEGA

Aesor Técnico . DRA. SARA VALDES MARTINEZ



**FALLA DE ORIGEN**

CD, UNIVERSITARIA

MEXICO, D. F. 1992



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 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

### INTRODUCCION

### OBJETIVOS

### CAPITULO I ANTECEDENTES

#### I COLORANTES

1.1.1	.....	Generalidades de los colorantes	4
1.1.2	.....	Importancia del color en alimentos	6
1.1.3	.....	Legislación	9
1.1.4	.....	Aspectos perjudiciales de los colorantes sintéticos	10
1.1.5	.....	Aspectos generales del colorante de la Cúrcuma	10
1.1.6	.....	Aspectos generales del colorante del Achiote	12

#### II RADIACIONES

1.2.1	.....	Generalidades de las radiaciones ionizantes	16
1.2.2	.....	Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes	18
1.2.3	.....	Principios básicos de protección contra la radiación	21
1.2.4	.....	Importancia de las radiaciones en alimentos	22
1.2.5	.....	Legislación, dosis mas empleadas en alimentos	29

#### III DESARROLLO DEL ESPACIO UNIFORME DE COLOR DE LA COMISION INTERNACIONAL DEL COLOR (Comission Internationale de l'Enclariage; C.I.E.L.A.B.)

31

#### IV INTRODUCCION AL EMPLEO DE ARREGLOS ORTOGONALES EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL

38

## CAPITULO II METODOLOGIA

2.1	Irradiación de muestras. Cálculos de dosimetría	44
2.2	Determinación de la cuenta microbiana total en placas	47
2.3	Comportamiento de los colorantes Cúrcuma y Achiote frente a diferentes dosis de radiación Gamma	50
2.4	Determinación de las coordenadas cromáticas	51
2.5	Evaluación del efecto producido por: radiación, pH, luz, temperatura y aire, sobre la estabilidad de los colorantes naturales: Cúrcuma y Achiote	53

## CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSION

3.1	Determinación de la cuenta microbiana total en placas	57
3.2	Análisis del comportamiento de los colorantes Cúrcuma y Achiote frente a diferentes dosis de radiación Gamma	59
3.3	Evaluación del efecto producido sobre las características del color, mediante el uso de coordenadas de cromaticidad	63
3.4	Análisis estadístico del efecto causado por radiación, pH, luz, temperatura y aire; de acuerdo con el modelo L <sub>16</sub> de Ingeniería de Calidad	74

## CAPITULO IV CONCLUSIONES

## BIBLIOGRAFIA

## INDICE DE FIGURAS

1.- Estructura de la curcumina.	13
2.- Estructura de la bixina.	13
3.- Estructura de la orellina.	14
4.- Estructura típica para irradiación de alimentos.	26
5.- Construcción de la línea XY en el sistema C.I.E.	34
6.- Construcción del triángulo XYZ del sistema C.I.E.	34
7.- Triángulo completo del sistema C.I.E.	35
8.- Espectro herradura.	35
9.- Diagrama de cromaticidad del sistema C.I.E.	37
10.- Esquema del irradiador Gammacel 220.	45
11.- Colocación de los dosímetros en el centro de la cámara de irradiación del Gammacel.	46
12.- Comportamiento de la Cúrcuma frente a diferentes dosis de radiación Gamma.	60
13.- Comportamiento del Achiote frente a diferentes dosis de radiación Gamma.	61

## INDICE DE TABLAS

- |  |    |
|--|----|
| 1.- Cambios de color en especias irradiadas.   | 28 |
| 2.- Cambios de aroma y sabor en especias irradiadas.   | 28 |
| 3.- Factores físicos y químicos que repercuten significativamente en la estabilidad de la Cúrcuma. | 74 |
| 4.- Factores físicos y químicos que repercuten significativamente en la estabilidad del Achiote.   | 75 |
| 5.- Tabla de estrategia experimental para Cúrcuma.   | 76 |
| 6.- Tabla de estrategia experimental para Achiote.   | 77 |

## INDICE DE CUADROS

- |  |   |
|--|---|
| 1.- Clasificación de los colorantes naturales. | 5 |
|--|---|

## INTRODUCCION

El empleo de colorantes por el ser humano se remonta a sus orígenes y va aunado a su desarrollo, sin embargo, a raíz de la obtención del primer colorante sintético en 1856, este campo industrial ha tenido un amplio desarrollo, una de cuyas áreas más importantes han sido los alimentos (21). Esto último suscitó polémicas en torno al carácter ético de emplear aditivos para alterar la imagen de los productos alimenticios, pero se ha demostrado la enorme influencia que tienen las características sensoriales en la psicología del hombre, y por lo tanto, la calidad benéfica de utilizar sustancias que las realcen, siempre y cuando, no se trate de engañar al consumidor y no dañen la salud del mismo, como ocurrió a principios de este siglo (12,23).

Para evitar estas situaciones anómalas se realizaron investigaciones que culminaron con la regularización de estos compuestos por parte de instituciones gubernamentales. Sin embargo, los avances científicos y tecnológicos, así como estudios realizados en la década de los setentas han mostrado un enorme carácter potencial de efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratológicos de varias sustancias colorantes obtenidas por síntesis química, como la tartrazina (12,28).

Lo anterior ha ocasionado la prohibición de algunos de estos colorantes sintéticos, a la vez que se ha incrementado notablemente el regreso al uso de colorantes de origen natural (21).

En México se cuenta con un enorme potencial en plantas que poseen estas materias colorantes (por ejemplo: zempazúchitl, achiote, chiles, cúrcuma, etc., por mencionar algunas) y cuyo uso es de tipo regional, casi sin existir ninguna industria que aproveche su riqueza en toda su capacidad (21,25).

En cuanto a radiación se refiere, este método de conservación ha tenido un gran empuje en los últimos años, debido a que ha probado ser, hasta el momento, un método efectivo y seguro para la esterilización de los alimentos, alargando así su vida de anaquel (6,8). Desgraciadamente en algunos casos en los cuales la radiación no ha sido aplicada correctamente, o aún en los casos donde es aplicada dentro de los límites aceptados, esta provoca cambios perjudiciales en las características sensoriales de los alimentos. Es por esto importante investigar el efecto que estas radiaciones producen en el color, debido a que de este depende en gran medida la aceptación o el rechazo de un determinado alimento (6,23).

Otro punto de fundamental importancia es la falta de información que tienen las personas acerca de esta tecnología, ya que en la generalidad de los casos relacionan a la radiación como sinónimo de destrucción y muerte; provocando de esta manera que la tecnología de irradiación de los alimentos se desarrolle con lentitud, por la falta de popularidad de estos productos (6,24).

De acuerdo con esto, es necesario, por un lado, incrementar la información acerca de esta tecnología, además de realizar estudios científicos a profundidad sobre cada uno de los factores que la componen, ayudando de esta manera a la creación y perfeccionamiento de las metodologías involucradas en este proceso.

El presente trabajo trata los efectos causados por la radiación Gamma sobre dos de los principales colorantes naturales utilizados en la elaboración de alimentos, con el objeto de predecir los posibles cambios en el color de alimentos que los contengan, así como evaluar el efecto sobre los microorganismos de la flora normal de colorantes en polvo comerciales, que se sometan a este tratamiento.

**OBJETIVO GENERAL :**

Evaluar el efecto de diferentes niveles de radiaciones ionizantes sobre la estabilidad y carga microbiana de los colorantes naturales Cúrcuma y Achiote.

**OBJETIVOS PARTICULARES :**

- 1.- Análisis del comportamiento de los principios colorantes de la raíz de cúrcuma y el achiote, frente a diferentes niveles de radiación Gamma.
- 2.- Determinar el efecto de diferentes niveles de radiación Gamma sobre la carga microbiana original de dichos colorantes.
- 3.- Evaluación del efecto de diferentes niveles de radiación Gamma sobre las características que definen el color: matiz, intensidad y brillantez, de los principios colorantes curcuminá y bixina.
- 4.- Análisis del efecto producido por: radiación Gamma, pH, luz, temperatura y aire, así como el producido por la interacción de estos, sobre la estabilidad de los colorantes antes mencionados.

## CAPITULO I ANTECEDENTES

## I COLORANTES

### 1.1.1 Generalidades de los colorantes :

Los colorantes son todas aquellas sustancias que se fijan sobre otras proporcionando color y presentan cierta estabilidad. Los colorantes utilizados en alimentos se dividen en naturales y sintéticos.(2,7).

-Los colorantes sintéticos son producidos por síntesis química presentando alta pureza. Para ser certificados requieren, de la aprobación de la Secretaría de Salud. A su vez, se subdividen en pigmentos y lacas (cuando se los ha derivado en presencia de un metal).(2,28).

-Los colorantes naturales pueden ser obtenidos de vegetales animales o minerales; debido a que se consideran relativamente inocuos, están exentos de certificación.

-Los colorantes naturales a su vez, pueden ser de varios tipos de acuerdo a su origen; en el cuadro No. 1 se presenta dicha clasificación (2,21,28).

De manera muy general, podemos considerar dos formas comerciales de un colorante : Pigmento o Laca.(28).

Un pigmento es un compuesto hidrosoluble y manifiesta su poder tintoreo al ser disuelto en agua, puede tener diferentes presentaciones comerciales cuya concentración varía alrededor del 90 %, entre las más importantes se encuentran : Gránulos, líquidos, mezclas o combinaciones opacas y pastas. Cada forma tiene especificaciones necesarias para su uso, así como sus ventajas y desventajas.

C U A D R O N o. 1

Clasificación de colorantes naturales

---

	<u>ANTOCIANINAS</u> Malvidina, Peonidina, Cianidina, Petunidina, Delfinidina, etc.
	<u>BETALAINAS</u> Betacianinas, Betaxantinas.
<u>VEGETALES</u>	<u>CAROTENOIDES</u> Caroteno, Licopeno, Xantofilas, Apocarotenal, Cantaxantina, Bixina.
	<u>CLOROFILA</u> A, B, C, etc.
<u>ORGANICOS</u>	<u>FLAVONOIDES</u> Kaenferoles, Mercitina, Tapinos, Mercitina, etc.
	Hemoglobina Acido Carmínico Acido Kermésico Antraquinoides
<u>ANIMALES</u>	<u>IRIDOIDES</u> Monasco rubina, Monascina, etc.
<u>MISCELANEOS</u>	Bióxido de Titanio Azul ultramarino
<u>INORGANICOS</u>	Acido de Hierro Negro carbón
<u>MINERALES</u>	

Cada aplicación requiere una presentación especial, por ejemplo: los polvos o granulados son usados para bebidas, las pastas para productos horneados y los colores líquidos para productos lácteos, etc. (9).

Las lacas son todos los colorantes solubles en disolventes orgánicos, tratados generalmente en un sustrato de alúmina hidratada e imparten color por dispersión. Las lacas están disponibles en una gran variedad de colores y matices, el contenido de colorantes varía del 10 al 50 %. La intensidad del color de una laca no es proporcional a su pureza, a diferencia de un pigmento. En general, son usadas en productos de alto contenido graso o en productos donde no hay suficiente humedad para disolver el colorante, como por ejemplo: tabletas comprimidas, caramelo macizo, etc. Las lacas generalmente tienen mayor estabilidad química ante la luz y la temperatura, pero su costo es mayor (9,28).

#### 1.1.2 Importancia del color en alimentos :

El color de un alimento es sin duda una propiedad importante en cuanto a la aceptación o rechazo por parte del consumidor, pues el color y la apariencia general son el primer contacto que se tiene con los alimentos. Dado que los alimentos procesados pueden perder su color, o requieren un color determinado con el cual el consumidor los identifica, es indispensable el uso de aditivos conocidos como colorantes, ya sea para aumentar el color existente o dar una coloración determinada (13,16).

Algunos estudios han mostrado que los alimentos no gustan cuando no están bien coloreados. La apariencia de un alimento afecta las percepciones de olor, sabor y textura. Esto fué demostrado por Hall en 1958, él encontró una relación directa entre la asociación del sabor con el color del producto presentado, concluyendo que:

a).- El color de un producto influye en la impresión del consumidor, con respecto al sabor.

b).- El color no solamente influye en la habilidad del consumidor para identificar sabor, sino también en su estimación de la calidad.

Los colorantes pueden ser adicionados a los alimentos por las siguientes razones :

1.- Para establecer la apariencia original del alimento cuando el color natural ha sido destruido por procesamiento con calor.

2.- Para garantizar uniformidad de color, por ejemplo : frutas obtenidas en diferentes tiempos durante la estación, además de proporcionar uniformidad en apariencia y estabilidad.

3.- Para intensificar colores naturales presentes en alimentos, cuando dicho color es más débil al que el consumidor asocia con un alimento de un tipo o sabor, por ejemplo : Yogurt de fruta, salsas y bebidas ligeras.

4.- Para ayudar a proteger las vitaminas de la sensibilidad a la luz solar, durante almacenamiento.

5.- Para dar una apariencia atractiva a los alimentos, los cuales pueden observarse poco atractivos o inapetecibles.

6.- Para ayudar a preservar las características por las cuales los alimentos son reconocidos.

7.- Para servir como índice visual de la calidad.

8.- Para realzar la presentación de los alimentos.

Es muy importante que un producto en el mercado presente el color esperado, y para que un colorante pueda ser adicionado a un alimento, debe poseer ciertas características, como son:

\* No ser tóxicos para los seres humanos en los niveles utilizados.

\* Ser inodoros e insaboros.

\* Deben presentar estabilidad aceptable frente a factores como : luz, pH, oxidación, reducción, y actividad microbiana.

\* Debe ser compatible, al menos, con algún componente del alimento.

\* No deben presentar reactividad con ningún componente del alimento.

\* Debe tener un poder tintoreo elevado.

\* Deben ser solubles en agua o presentar alta dispersibilidad. (3,5,9,22).

Los colorantes naturales pueden aparecer como inadecuados en la aplicación en alimentos, si los comparamos con los colorantes sintéticos en cuanto a estabilidad y poder tintoreo en general, pero en los últimos años, las investigaciones realizadas, han dejado ver propiedades superiores asociadas a los colorantes-

naturales en cuanto a aspectos tóxicos, químicos y tecnológicos. (9,13).

### 1.1.3 Legislación :

La Secretaría de Salud, como órgano regulador y legislador en materia de alimentos y bebidas, en el Artículo 690 del diario oficial publicado el 18 de enero de 1988, define a un colorante como:

"La sustancia obtenida de los vegetales, animales o minerales, o por síntesis química para impartir o acentuar el color" Reconoce 3 grupos de colorantes y menciona los colorantes permitidos para cada grupo:

I).-Colorantes orgánicos naturales: Aceite de zanahoria, Achiote, Azafrán, Beta-Apo-8-Carotenal, Betabel deshidratado, Beta-Caroteno, Caramelo, Clorofila, Cochinilla, Cúrcuma, Extracto de tegumento de uva, Harina de semilla de algodón cocida, tostada y parcialmente desengrasada, Jugos de frutas, Jugos de vegetales, Pimiento, Pimiento oleo-resina, Riboflavina y Xantofilas,

II).-Colorantes orgánico sintéticos o colorantes artificiales para alimentos permitidos, son los siguientes: Amarillo # 5 (Tartrazina), Azul # 1 (Azul brillante F.C.P.), Azul # 2 (Indigotina), Rojo cítrico # 2 (Solo se permite para colorear la corteza de la naranja), Rojo # 3 (Eritrocina), Rojo # 40, Verde # 3 (Verde firme F.C.P.).

III).-Colorantes orgánico minerales permitidos son: Gluconato ferroso, Bióxido de titanio, respectivamente.

Es importante resaltar que ninguno de los colorantes pertenecientes al grupo I tiene límite en su nivel de uso, a diferencia de los colorantes de los grupos II y III.

#### 1.1.4 Aspectos perjudiciales de los colorantes sintéticos :

Existe la tendencia a examinar periódicamente la toxicidad de los colorantes sintéticos que son permitidos actualmente como aditivos en alimentos. Se han prohibido algunos colorantes aceptados al principio y otros se hallan bajo control, debido a sus potenciales efectos peligrosos sobre la salud.(12).

Hasta el momento no existe ninguna regla uniforme, válida para todos los países, sobre cuales son los colorantes sintéticos que pueden considerarse inofensivos. Durante el primer trimestre de 1990, la FDA prohibió el uso de el color rojo laca #.3 por causar problemas de cáncer en tiroides.(2,12).

El que los colorantes se reabsorban poco, constituye una ventaja; hay algunos que se eliminan en un 98 % por heces. En el caso de los colorantes que se reabsorben es conveniente conocer e investigar los metabolitos que producen y si pueden acumularse en el organismo a causa de una ingestión continua.(12,19).

#### 1.1.5 Aspectos generales del colorante Cúrcuma :

La Cúrcuma es un producto natural vegetal que seco, molido y granulometría estandarizada, se utiliza como colorante.

Los rizomas secos de la planta Cúrcuma Longa L. poseen un principio colorante en una porción del 5 % conocido con el nombre de curcumina (1,7-(bis-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-dional). cuya estructura carotenoide se muestra en la figura # 1.

Este producto se comercializa en dos formas, en mezcla con bixina

en solución/aceite o como curcumina pura en forma de polvo fino de color amarillo-naranja. (21).

CARACTERISTICAS:

- Su color es amarillo ligeramente verdoso a café rojizo, dependiendo del pH.
- Color listado C.I. 75300, No. E 100

Causas de alteración:

- A pH ácido es de color amarillo verdoso y en básico café rojizo con baja estabilidad.
- Dióxido de azufre, a concentraciones mayores de 100 ppm, lo decolora.
- Muy sensible a la luz y a la oxidación.

Solubilidad:

- Soluble en aceites y grasas.
- Poco soluble en agua fría y soluble en agua caliente.
- Soluble en disolventes orgánicos.

Presentaciones comerciales:

- Raíz seca y molida.
- Solución alcohólica.
- Suspendida en aceite vegetal.
- Oleo y acuarresinas.
- Polvo.
- Lacas dispersadas.
- Dispersión de oleorresina en polvo.

Usos industriales:

- |             |                     |                           |
|-------------|---------------------|---------------------------|
| - Fideos    | - Dulces            | - Quesos                  |
| - Mostaza   | - Galletas          | - Productos deshidratados |
| Condimentos | - Productos lácteos |                           |
| - Consomes  | - Confitería        | (2,16,21).                |

#### 1.1.6 Aspectos generales del colorante Achiote :

El achiote es una planta originaria de las áreas tropicales de México, pertenece a la familia de las bixáceas y cuyo nombre es Bixa orellana Linn. (4).

El contenido de colorante en el achiote es de 5 a 8 %, alcanzando en ciertos cultivos hasta un 19 % del peso total de semilla empleada con 0 % de humedad. (2,4).

El colorante achiote está formado principalmente por dos sustancias: la bixina y la orellina. La primera está presente de un 70 a 80 % en la masa del pigmento, consiste de cristales violeta de brillo metálico, insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Su fórmula ha sido causa de polémicas, pero actualmente se reconoce como  $C_{25}H_{30}O_4$  y que corresponde al monometil éster de un ácido dicarboxílico poliénico y cuya estructura se muestra en la figura # 2.

La orellina forma cristales de color amarillo, solubles en agua y cuyo poder de tinte es menor que la bixina. Allen y Kerndt sugieren que este pigmento deriva de la oxidación de la bixina, por lo que también la denominan xantobixina. (4).

McKeown sugiere que la bixina es inestable y forma esta sustancia amarilla (orellina) y meta-xileno durante la extracción térmica, ya que el espectro de absorción muestra poco contenido de este pigmento antes de realizar la extracción. La estructura sugerida para la orellina se muestra en la figura # 3. (2,4).

#### Usos y Aplicaciones:

En un principio fué empleado en cosméticos y como tintura de textiles, cuero, madera, etc.

Actualmente se utiliza como colorante de productos lácteos y de margarinas. Además en Estados Unidos se usa en helados, aceites comes-

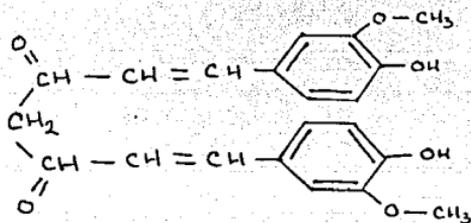


fig. 1 : Estructura de la curcumina.

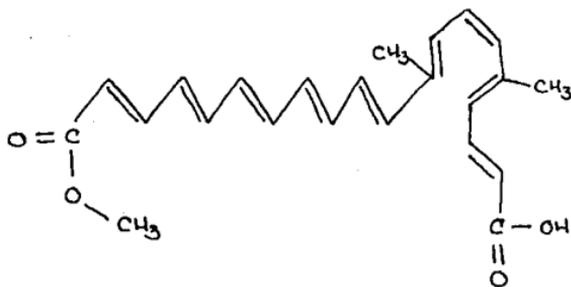
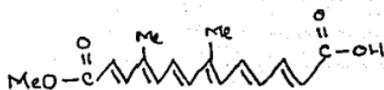
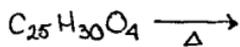


fig. 2 : Estructura de la bixina.



+

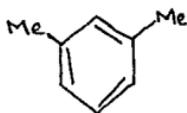


fig. 3 : Estructura sugerida para la orellina.

tibles, dulces y productos de panadería. (4,9).

En America Latina y en México, es usado como condimento para el arroz, estofado, guisos típicos de carne, etc., por su grato sabor y vivo color, además de las propiedades digestivas que se le atribuyen. (2,4).

## II RADIACIONES

### 1.2.1 Generalidades de las radiaciones ionizantes :

La radiactividad se manifiesta a través de la emisión espontánea de ciertas radiaciones por parte de núcleos atómicos. Dichas radiaciones son capaces de impresionar placas fotográficas (como lo observó Becquerel en los experimentos que lo condujeron a descubrir este fenómeno en 1896, usando sulfato de uranio y potasio), de producir centelleos al incidir en materiales fluorescentes, y de producir ionización en los materiales que atraviesan (14). Existen tres tipos de radiaciones emitidas por sustancias radiactivas, a las cuales se les asignaron los nombres de radiaciones alfa, beta y gamma, en base a sus poderes de penetración crecientes, y a sus poderes de ionización decrecientes, respectivamente.

Los rayos alfa son detenidos por unas hojas de papel, produciendo una ionización alta de los átomos o moléculas del material en que inciden. Los rayos beta requieren varias hojas de aluminio o varios metros de aire para ser detenidos por completo, y su poder de ionización es intermedio. En contraste, los rayos gamma son tales que una fracción de los mismos siempre atraviesa cualquier espesor de absorbedor, inclusive plomo, y producen una ionización relativamente baja (14).

Los rayos alfa se han identificado como núcleos de Helio y son emitidos con energías del orden de 5 MeV.

Los rayos beta se han identificado como partículas del tamaño y masa del electrón, y con carga tanto negativa como positiva (positrones), dependiendo del tipo de desintegración, beta (+) o beta (-).

Los rayos gamma son radiaciones electromagnéticas de la misma naturaleza que la luz (infrarroja, visible, ultravioleta) y los rayos X. Los rayos gamma emitidos por sustancias radiactivas tienen energías del orden de 1 MeV, en comparación con energías del orden de 1 eV y 1 keV de la luz y de los rayos X, respectivamente, los cuales pueden ser emitidos o absorbidos por electrones en procesos atómicos o moleculares. (14).

La emisión de radiaciones por las sustancias radiactivas es solamente un aspecto del proceso de desintegración radiactiva. El otro aspecto de dicho proceso involucra el cambio o transmutación de los núcleos de la sustancia radiactiva al emitir las radiaciones. Obviamente, ambos aspectos son manifestaciones de un mismo fenómeno y, por lo tanto, el uno determina al otro. (14).

#### Desintegración Gamma.

Como la desintegración gamma carece de carga y de masa en reposo, los núcleos que la emitan y los núcleos resultantes tienen los mismos números de carga y de masa y, por lo tanto, de neutrones, y se dice que son núcleos isómeros. De hecho estamos en presencia de dos estados de un mismo núcleo, uno con exceso de energía con respecto al otro.

La actividad de una muestra radiactiva es el número de desintegraciones que ocurren en la misma por unidad de tiempo. En otras palabras, la actividad es la rapidez de desintegración de la muestra.

Si la muestra radiactiva contiene núclidos que emiten una radiación por cada desintegración, entonces la actividad es también igual al número de radiaciones emitidas por la muestra por unidad

de tiempo.

Para comprender los diferentes comportamientos de las radiaciones ionizantes en su paso através de la materia, es conveniente distinguir las partículas cargadas pesadas (rayos alfa, protones, Núcleos), las partículas cargadas ligeras (electrones y positrones) y la radiación electromagnética (rayos gamma, rayos X).

En el caso de radiación electromagnética, se observa una ley de absorción exponencial, es decir, para un cierto espesor adicional de absorbedor, la intensidad de la radiación se reduce a la mitad de su valor inicial. (6,14).

La detección de la radiación se basa en el efecto que produce dicha radiación sobre la materia con la que interacciona. Los métodos de detección más empleados se basan en el uso de:

- 1.- Placas fotográficas
- 2.- Detectores por ionización en gases
- 3.- Centelladores
- 4.- Detectores semiconductores
- 5.- Detectores químicos, calorimétricos, termoluminiscentes, de neutrones, etc.

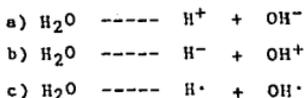
#### 1.2.2 Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes :

Los electrones producidos en la interacción de la radiación y los átomos de un cuerpo, generalmente llevan ciertas cantidades de energía cinética. Estos electrones pueden llegar a interaccionar con la célula en tres grandes regiones: a nivel de la membrana, a nivel del citoplasma y a nivel del núcleo. (14).

Cuando los electrones interaccionan con la membrana, se producen

alteraciones osmóticas, lo que hace que la célula pueda recibir mayor cantidad de fluidos del exterior o, bien, que el citoplasma salga de ella al medio exterior. En el primer caso, la célula aumenta su volumen mientras que en el segundo se reduce. En ambos casos, la célula no muere pero sus funciones de duplicación no se llevan a cabo.

Cuando la interacción se efectúa en el citoplasma, y en virtud de que éste se compone aproximadamente de un 70 % de agua, se puede llegar a entender la interacción de la radiación ionizante con el citoplasma, si se conoce el efecto de esta radiación en la molécula de agua. Los electrones producidos por la radiación ionizante pueden llegar a romper los enlaces de la molécula de agua en la siguiente forma:

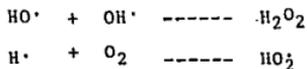


En los casos a) y b), los iones producidos en estas reacciones pueden llegar a formar la molécula de agua debido exclusivamente a sus diferencias en las cargas eléctricas.

Otra reacción sería la producción de la molécula de hidrógeno mediante la unión de los iones:



En el caso c), la molécula de agua se rompe de tal forma que se producen radicales libres, los cuales son mucho más reactivos que los iones y pueden llegar a producir las siguientes reacciones:



En la primera reacción se produce peróxido de hidrógeno, el cual biológicamente es muy dañino, llegando a producir en la célula alteraciones en su funcionamiento.

En la segunda reacción se produce el radical libre llamado hidro-nio, el cual es mucho más activo que el peróxido de hidrógeno, llegando a producir envenenamiento en la célula.

Por último, cuando la radiación interacciona con el núcleo, se produce un electrón energético que colisiona con uno de los enlaces de la molécula de DNA, pudiendo en algunos casos llegar a romperla en dos fragmentos. Esta molécula de DNA se encuentra alterada, y por lo tanto, el gene al cual pertenece está dañado. Dicho gene alterado puede llegar a producir un efecto en los cromosomas, los cuales al dividirse la célula pueden producir células con funciones diferentes a las de la célula madre. (14)

Como conclusión, podemos indicar que la alteración de la radiación ionizante en las células, puede producir en ellas:

- Aumento o disminución de volumen.
- Su muerte.
- Un estado latente.
- Mutaciones en las células hijas.

Radiosensibilidad es la respuesta que las células ofrecen a la acción de la radiación, siendo directamente proporcional a su capacidad reproductiva y variando inversamente con el grado de diferenciación de los tejidos que forman. Por lo tanto, las células que más rápidamente se dividen son las más radiosensibles (piel, hematopoyéticas, cristalino, epitelio, gastrointestinales, gónadas etc.) (14).

### 1.2.3 Principios básicos de protección contra la radiación :

El objetivo fundamental de la protección radiológica es reducir hasta donde sea posible los riesgos que implica el uso de materiales radiactivos y dispositivos que producen radiaciones ionizantes. El riesgo dependerá de la dosis, del tipo de radiación y de su energía o poder de penetración; por ello, los rayos X, gamma y los neutrones son los tipos de radiación que constituyen el peligro más común de irradiación externa.

Los fotones X o gamma, cuando tienen energía suficiente, penetran profundamente en el organismo irradiando cualquier órgano y por su uso tan ampliamente difundido, requieren de especial atención.

Los factores principales que se deben manejar para protegerse de la radiación son:

tiempo  
distancia  
blindaje

El tiempo que el personal se exponga a la radiación debe ser el mínimo necesario para efectuar el trabajo planeado en forma segura y la distancia entre la fuente radiactiva y la persona será la máxima posible, sin que ello dificulte el trabajo, al grado de requerir mucho más tiempo debido a incomodidad para efectuar la maniobra planeada. El blindaje es un material que se utiliza para atenuar la radiación, de manera que la intensidad de ésta no represente un peligro para las personas que estén cerca.

Durante el trabajo normal con material radiactivo, el personal expuesto no deberá recibir un equivalente de dosis mayor al límite establecido de 5 rem/año. (14,24).

#### 1.2.4 Importancia de las radiaciones en alimentos :

En los últimos años se esta difundiendo la tecnología de la irradiación de los alimentos como un método seguro para su conservación e higiene. Sin embargo pese a su relativo éxito y a su rápida difusión, la irradiación puede ser considerada todavía como una tecnología nueva, por lo tanto, como una tecnología de punta que debe ser estudiada y difundida tanto entre los fabricantes como entre los consumidores. (6,24)

La irradiación de alimentos, por sus características de seguridad, higiene, reducción de costos y volumen de alimentos susceptibles de ser tratados tienen un futuro promisorio y será un aporte a la mejora de la calidad y disponibilidad de los alimentos en el mundo.

La factibilidad técnica y económica de los alimentos irradiados ha sido comprobada, pero si no existe una demanda por parte de los consumidores definitivamente los alimentos tratados por irradiación no se pueden comercializar. (6)

Hace 25 años, aproximadamente, que se iniciaron las actividades para la venta de alimentos irradiados, la respuesta de los consumidores fué totalmente negativa, había confusión de conceptos e ignorancia de esta nueva tecnología; ha transcurrido algun tiempo durante el cual se han establecido campañas y programas educativos para dar a conocer los beneficios y costos de las aplicaciones de la irradiación para conservar alimentos. (24)

La irradiación tiene variadas e interesantes aplicaciones en los alimentos, las que pueden ser clasificadas de acuerdo a la cantidad de energía absorbida por unidad de masa. Esto es según el rango de dosis, como sigue:

a) Dosis bajas (máximo 1 kGy)

- Inhibición de brotación en bulbos y tubérculos.
- Desparasitación de carnes.
- Retardo de maduración (extensión de vida útil).
- Desinsectación.

b) Dosis medias (1-10 kGy)

- Destrucción de microorganismos (reducción de contaminación).
- Mejoramiento de las propiedades tecnológicas de los alimentos.

c) Dosis altas (más de 10 kGy)

- Esterilización.
- Eliminación de virus. (6,8,25)

Si bien es cierto que todas las anteriores aplicaciones son de fundamental importancia para la conservación de los alimentos, la principal y más atractiva es la de esterilización. (25)

Los alimentos esterilizados por medio de la radiación no están aún disponibles en el mercado, sin embargo, han sido consumidos por astronautas americanos y soviéticos, así como por algunos pacientes de hospitales sujetos a trasplantes, o que presentan deficiencias en su sistema inmunológico. (27)

Algunas de las ventajas que presenta este tratamiento son:

- a) Alto poder penetrante (radiación gamma), por lo cual el alimento puede tratarse ya envasado.
- b) No deja residuos, lo que es importante si se compara con fumigantes
- c) No produce un aumento apreciable de temperatura en el producto, por lo cual se le denomina también "esterilización en frío".
- d) Implica un menor gasto de energía, si se le compara con algunos otros métodos de preservación. (6,8)

Sin embargo, como en cualquier tratamiento, existen desventajas algunas de las cuales son:

a) No tiene aplicación general. No es posible tratar todos los alimentos, siendo algunos de estos muy sensibles a la radiación, como es el caso de la leche fluida (6,15).

b) Puede inducir en ciertos casos, mayor susceptibilidad a recontaminación. Así, algunas frutas por ejemplo, sufren alteraciones o experimentan una mayor sensibilidad al ataque de algunos microorganismos, durante el almacenamiento. Esto último ha sido solucionado, en parte, con la aplicación de tratamientos combinados. Existe en algunos casos un claro efecto sinérgico (6,15,25).

c) La difusión de su uso es difícil, cara y lenta. En relación a esto, se debe tener siempre presente que las dosis y niveles de energía empleados en la conservación de alimentos no son suficientes para inducir cambios nucleares. (15).

La radiación ionizante tiene la misma naturaleza que otros métodos físicos utilizados en la preservación de alimentos, incluyendo al horno de microondas. (6,25).

La tecnología de fuentes de energía ionizante para tratamiento de alimentos está bien establecida; fuentes parecidas o idénticas son ampliamente usadas en hospitales, universidades e industria, sirviendo a la investigación sobre alimentos por más de 40 años (6,15).

Las formas de energía ionizante aprobadas para tratamiento de alimentos son derivadas de radionucleótidos o de fuentes mecánicas. Los únicos radionucleótidos permitidos son Cobalto 60 y Cesio 137, los cuales emiten rayos Gamma. Las fuentes mecánicas producen rayos X o haces de electrones. Ambos tipos de radiaciones poseen características similares(15).

El Cobalto 60 es producido artificialmente, por la exposición del elemento natural Cobalto 59 a la incidencia de un haz de neutrones, en un reactor nuclear. El Cesio 137, usualmente encontrado como cloruro de cesio en polvo, es producido por fisión nuclear de uranio.

Cualquiera de ambos, para ser utilizados como herramienta en el tratamiento de alimentos, se encapsulan doblemente en contenedores de acero inoxidable. El arreglo de una estructura típica para irradiación de alimentos se muestra en la figura 4. En la cual los alimentos son expuestos a la energía ionizante en recipientes encaquetados, los cuales circulan sobre una banda móvil frente a la fuente; de esta manera, a medida que la fuente es fuerte y la velocidad de la banda menor, la dosis absorbida es mayor.(15).

Una vez que el producto abandona la cámara, es etiquetado con la fecha, la dosis aplicada y su número de identificación. (6,14,15).

Para especias enteras o en polvo y materiales relacionados, los cuales eran tratados originalmente con óxido de etileno, una dosis de 5 a 8 kGy, reduce la cuenta microbiana original de 10,000 a 1,000 microorganismos por gramo. (10).

El tratamiento comercial de especias con energía ionizante ha sido practicado en Europa por muchos años. En los Estados Unidos, la Food and Drug Administration, regula y permite el tratamiento de especias, saborizantes naturales y vegetales deshidratados con dosis de energía ionizante de hasta 10 kGy en 1983 y de hasta 30 kGy en 1986, obteniendose con dichos tratamientos, productos de una calidad microbiológica cercana a la esterilidad. (6,10).

De acuerdo con lo anterior, muy probablemente se sustituya el uso de óxido de etileno por tratamientos con energía ionizante. (10).

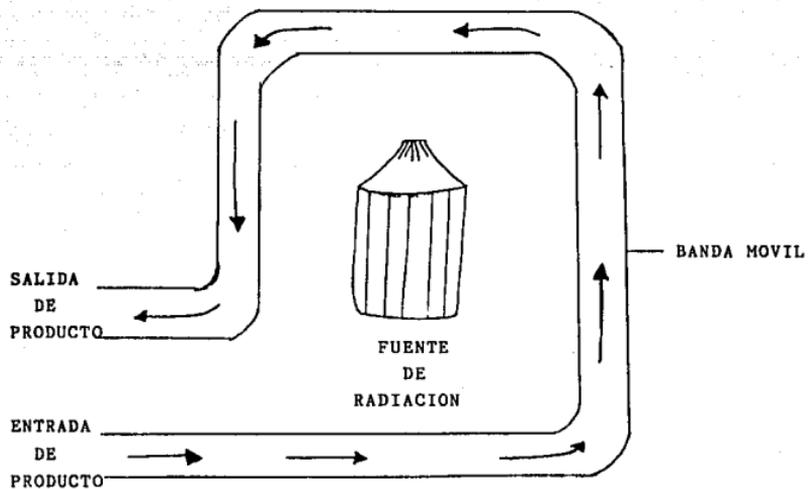


FIG. 4 : Estructura típica para irradiación de Alimentos.

Una vez que se tiene establecido el método y la dosis de radiación para descontaminar microbiológicamente las especias y condimentos, se debe también establecer un plan de control que permita evaluar el efecto real de la irradiación en forma sistemática y observar la conformancia contra lo que se espera de ella; los controles que se deben contemplar dentro de este programa son:

Cambios de color  
Cambios de aroma  
Cambios de sabor

#### CAMBIOS DE COLOR:

Los cambios de color están directamente relacionados con la dosis de irradiación a la que fué sometido el producto; una mayor dosis implica un mayor cambio, no solo microbiológico sino también en el color; existen estudios técnicos que muestran el cambio de tono de color (L), el cambio de color rojo (a) y el cambio de color amarillo (b) en productos irradiados que van de 4 a 8 kGy. Estos cambios se muestran en la tabla 1, en la cuál se observa que los valores "L" y "a" aumentan para cilantro, disminuyen para pimienta negra y permanecen sin cambio en Cúrcuma, chile y comino, al aumentar la dosis aplicada (6,23).

#### CAMBIOS DE AROMA Y SABOR:

La concentración de los componentes volátiles en relación a una dosis de irradiación de 10 kGy se muestran en la tabla 2 para 5 diferentes especias. Como se observa los cambios no son significativos (6,23).

T A B L A N o. 1

Cambios de color en especias irradiadas

ESPECIA / DOSIS (kGy)	L			a			b		
	C	4	8	C	4	8	C	4	8
Pimienta negra	22	21	22	12	13	12	14	0.8	0.6
Chile	37	37	37	25	26	25	20	21	20
Cilantro	43	46	47	0.2	1.1	1.8	11	11	12
Comino	43	42	44	8	7	8	12	11	12
<u>Cúrcuma</u>	54	54	54	9	10	10	35	33	34

T A B L A N o. 2

Cambios de aroma y sabor en especias tratadas y no tratadas

ESPECIAS / PICO	1	2	3	4	5	6	7	8	
Pimienta negra	C	0.15	0.6	-	75	0.15	2	13	10
	M	0.26	0.6	-	72	0.20	2	13	12
Chile	C	0.21	0.91	-	54	0.08	4	28	1
	M	0.26	0.99	-	55	0.04	3	27	13
Cilantro	C	4	5	-	54	0.06	6	9	16
	M	0.52	3	-	57	0.05	10	12	18
Comino	C	4	2	0.03	41	0.02	14	8	29
	M	3	2	-	45	0.10	13	10	28
Cúrcuma	C	0.35	0.25	-	28	0.15	1	61	9
	N	0.38	0.29	-	27	0.21	1	60	12

### 1.2.5 Legislación, dosis más usadas en alimentos :

A la Secretaría de Salud le compete el control sanitario de la irradiación de alimentos, con base en la ley general de salud y sus reglamentos, por lo que permitirá la irradiación de alimentos: cuando se justifique plenamente la exposición de radiaciones ionizantes específicas, con el fin de reducir la carga microbiana o la de microorganismos patógenos no esporulados, inhibir la brotación, retardar la maduración, ampliar la durabilidad de los alimentos o la desinfectación de insectos y parásitos; pero en ningún caso se permitirá para ocultar defectos de calidad sanitaria o para disimular alteraciones o contaminaciones en los alimentos. (6).

Los tipos de radiación ionizante que se permiten son los siguientes:

- Radiación gamma de fuentes encapsuladas de los radionucleótidos, Cobalto 60 y Cesio 137.
- Rayos X generados por máquinas, con energía que no exceda de 5 Mev. (6,15).
- Electrones generados por máquinas con energías que no excedan de 10 Mev.

El control de los alimentos irradiados, deberá efectuarse por métodos aceptados para comprobar las dosis absorbidas y acompañando de una vigilancia de los parámetros físicos del proceso autorizado. (6).

En cuanto al material primario de envase de los alimentos irradiados, deberá ser de material resistente, que por la radiación no puedan producirse sustancias que vayan a alterar, adulterar o contaminar los alimentos y resulten perjudiciales a la salud.

Respecto a la venta o suministro de productos irradiados, se requiere que la etiqueta tenga dimensiones apropiadas, con relación a

las del producto unitario, con caracteres visibles, en la que figuren todos los textos reglamentarios, con un texto que los identifique que diga "tratados por irradiación" y presentar la figura que internacionalmente los identifica, así mismo en su documentación.

Dependiendo del objetivo que se persiga y del tipo de alimento, las dosis comunmente utilizadas en la irradiación de alimentos oscilan desde 0.1 hasta 30 kGy. (6,8,10,15,25).

### III. ESPACIO UNIFORME DE COLOR C.I.E.L.A.B. (Commission Internationale de l'Eclairage)

El problema de la representación del color es ya antiguo. En 1860 Maxwell propuso una construcción geométrica llamada "triángulo de los colores", en el cual, cualquier color puede ser especificado en términos de cantidades relativas de rojo, verde y azul necesarias para producirlo dentro del mismo; dichas cantidades se conocen como "valores triestímulo" (1).

En todo caso, se ha encontrado conveniente expresar estos valores como fracciones de un total, las cuales se conocen como "coordenadas cromáticas", y han sido designadas como  $r$ ,  $v$  y  $a$ .

Para simplificar, dichos valores se obtienen matemáticamente de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}v &= v/v+r+a \\ r &= r/v+r+a \\ a &= a/v+r+a\end{aligned}$$

En donde  $v+r+a = 1$ .

(1)

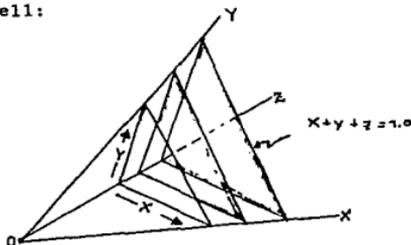
Lo anterior puede generalizarse para todos los colores, obteniéndose así la calidad cromática (matiz e intensidad) característica de cada uno (1,17).

Por otra parte, se observa que la calidad del color resultante, sólo lo define en un plano dimensional no quedando clara la tercera característica del color, "brillantez o luminosidad", que se define como la intensidad de luz que representa un color (11).

Para calcular la brillantez de un color, Grassman propone la teoría de que la brillantez producida por una mezcla de un cierto número de fuentes luminosas, es la suma de la brillantez producida, por separado, de cada una de estas fuentes (11,17).

De manera sencilla, lo anterior significa que la suma de las fracciones apropiadas de luz roja, verde y azul producirán luz blanca, cuya luminosidad será proporcional a la suma algebraica de las luminosidades respectivas de los tres colores. (1,11).

La naturaleza tridimensional del color queda ilustrada por la siguiente figura, según Maxwell:



El punto donde los valores triestímulo se unen, es decir los vértices del triángulo, tienen dimensión cero, lo que representa ausencia de color (negrura). En este punto también la luminosidad es cero.

A partir de este punto, y hacia el exterior, la luminosidad aumenta así como el tamaño de los triángulos lo que se traduce en un aumento en la diversidad de colores hasta llegar al 100 % de luminosidad (blanco). (11)

Como se estableció anteriormente, una combinación de fuentes espectrales primarias rojo, verde y azul, producirán cualquier color del espectro visible. No obstante, esto involucra el uso de cantidades negativas de color, las cuales complican la manipulación matemática de las unidades de color. Por esta razón la C.I.E. decidió que, aunque el sistema r, v, a es apropiado para definir respuestas patrón, debía desarrollarse un nuevo sistema de referencia de estímulos. (11)

Para ello se eligieron  $x$ ,  $y$ ,  $z$  como patrones teóricos, los cuales forman un espacio de color en relación a rojo, verde y azul, de tal manera que todo color del espectro pudiese conformarse por cantidades positivas de ellos.

Para desarrollar este nuevo sólido de color, es necesario examinar el triángulo  $r, v, a$  con el espacio espectral sobrepuesto, como lo muestra la figura 5. (11).

Este espacio contiene los puntos de referencia de todos los colores dentro del espectro visible que pueden producirse por combinaciones de rojo, verde y azul. Nótese que dicho espacio, en uno de sus extremos, forma casi una línea recta desde rojo a verde, por tanto es necesario ubicar un lado de nuestro nuevo sólido de color,  $XY$ , de manera tangencial al espacio espectral sobre la línea rojo-verde, partiendo del punto donde el rojo tiene brillantez cero. Además es necesario que el valor teórico  $Z$ , que es análogo al azul, tenga también brillantez cero. (11).

Para lograr lo anterior se traza una línea entre ambos puntos de brillantez cero, como se muestra en la figura 6.(11).

En este momento, lo único que hace falta para completar el triángulo es unir los puntos  $Y$  y  $Z$ , mediante una línea que pasa tangencialmente al extremo exterior del espacio espectral. obteniéndose la figura 7.

En el sistema C.I.E., por definición, el valor  $Y$  unicamente especifica brillantez, y gráficamente localiza el espacio donde se encuentra el triángulo; por lo tanto, teniendo sólo dos coordenadas cromáticas que se ubiquen a lo largo del eje  $Y$  definirán un color específico.

La figura 8 muestra el espectro "herradura" en el cuál se hace dicha localización. (11).

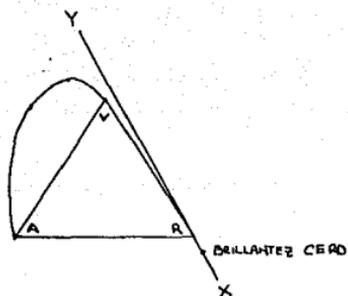


fig. 5 : Construcción de la línea XY en el sistema C.I.E.

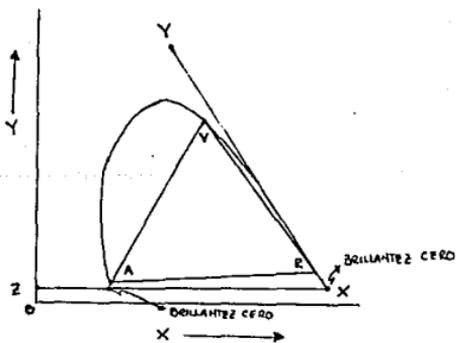


fig. 6 : Construcción del triángulo XYZ del sistema C.I.E.

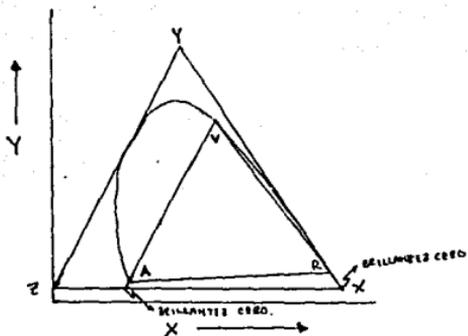


fig. 7 : Triángulo completo del sistema C.I.E.

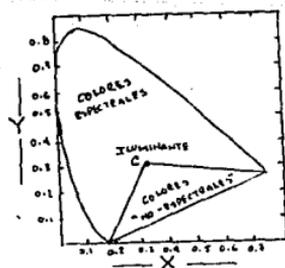


fig. 8 : Espectro herradura. División de las cromaticidades reales en partes espectrales y no espectrales.

Este espacio espectral C.I.E. contiene todos los colores reales, incluyendo a los colores dentro y fuera del espectro visible. (11).

Finalmente, en la figura 9 se muestra el diagrama de cromaticidad de la C.I.E., en el cuál, trazando una línea recta desde el punto que representa la cromaticidad de la muestra, hasta intersectar la longitud de onda dominante ( $\lambda$ ) que se encuentra en el espacio espectral, sabremos, por la geometría de la figura qué combinación adecuada de  $\lambda$  y de iluminante igualarán el color propio de la muestra.

De esta manera, la longitud alcanzada sobre la línea iluminante, através de la muestra, nos dá idea de la intensidad del color. Además, el cosciente de la distancia del iluminante a la muestra entre la distancia del iluminante a  $\lambda$  se conoce como pureza del color de la muestra. (11).

La descripción del color proporcionada por la determinación de la longitud de onda dominante  $\lambda$  y la pureza, unicamente se logra para colores dentro del espectro visible. (11).

En el caso de colores fuera del espectro visible, se prefiere manejar una longitud de onda complementaria ( $\lambda_c$ ), la cuál se óbtiene trazando una línea desde la cromaticidad de la muestra, através del iluminante y hasta topar con el espacio espectral donde ésta se haya. Para obtener la pureza de un color "no espectral", se hace el cosciente entre la distancia del iluminante a la muestra sobre la distancia del iluminante al límite del espacio espectral. (1,11).

De acuerdo con todo lo anterior podemos decir que el Matiz de un color és análogo a la longitud de onda dominante, su intensidad análoga a la pureza y su brillantez análoga a su luminosidad; sin embargo debe remarcarse que son analogías y que por tanto no siempre son iguales.



#### IV INTRODUCCION AL USO DE ARREGLOS ORTOGONALES EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL

Los arreglos ortogonales han sido elaborados desde un punto de vista práctico, para ser utilizados en el mejoramiento de resultados, a partir de un mínimo de datos experimentales. (26).

Los aspectos estadísticos se analizan en conjunto con la cantidad de información requerida para ser evaluada durante el experimento.

En este tipo de diseño experimental se determinan los efectos ocasionados por diversos factores, y la interacción entre ellos, sobre un determinado producto o proceso; además de manejar técnicas de aleatorización que permiten conocer las fuentes más importantes de variación de los resultados y, por lo tanto, un mejor control sobre las mismas.

De esta manera, los principales pasos a seguir en este tipo de diseño experimental son:

a) Selección de los factores y/o las interacciones a ser evaluadas. La determinación de qué factores investigar depende de las características intrínsecas de un producto o proceso, o del interés que se persiga con uno o con otro.

b) Selección del número de niveles para los factores. Generalmente es recomendable usar 2 niveles diferentes y representativos de cada factor, con el objeto de minimizar el tamaño del experimento inicial.

c) Selección del arreglo ortogonal adecuado.

La selección de qué arreglo ortogonal usar depende de 2 aspectos:

- 1.- El número de factores e interacciones de interés.
- 2.- El número de niveles para los factores de interés

Ambos aspectos determinan el número total de grados de libertad re-

queridos para el experimento entero.

Existen 2 clases básicas de arreglos ortogonales:

- Arreglos para 2 niveles:  $L_4$ ,  $L_8$ ,  $L_{12}$ ,  $L_{16}$ , y  $L_{32}$

- Arreglos para 3 niveles:  $L_9$ ,  $L_{18}$ , y  $L_{27}$

Los números en la designación del arreglo indican el número de ensayos a realizar. De esta manera el número total de grados de libertad disponibles en un arreglo ortogonal es igual al número de ensayos menos uno. (26).

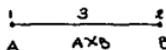
d) Asignación de factores e interacciones a las columnas.

Taguchi ha propuesto 2 herramientas para ayudar a esta asignación:

1.- Gráficas lineales

2.- Tablas triangulares

Gráficas lineales. - Considerando, por ejemplo, el arreglo más simple ( $L_4$ ), se tienen 4 ensayos y 3 columnas, por lo tanto su gráfica sería:



Esto significa que el factor A se asigna a la columna 1, el factor B a la columna 2, y la interacción AXB a la columna 3.

De manera general se establece que los puntos de la gráfica representen las columnas a las cuales se asignarán factores específicos, y la línea entre ellos significa la columna a la cual se asigna la interacción entre ellos. (26).

Tablas triangulares. - Las tablas triangulares enlistan todas las posibles interacciones entre las columnas de un determinado arreglo. siguiendo el ejemplo anterior se observa que las columnas 1 y 2 interactúan en 3, 2 y 3 en 1, y, 1 y 3 en 2. como se muestra a continuación:

Columna	2	3
1	3	2
2		1

e) Realización del experimento

Una vez que los factores han sido asignados a sus respectivas columnas del arreglo ortogonal-seleccionado, la estrategia experimental queda establecida y el desarrollo real del experimento puede comenzar.

Para entender mejor dicho desarrollo, a continuación se presenta una tabla completa para un experimento tipo  $L_4$

Ensayo no.	Columna no.		
	1	2	3
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1
	A	B	AxB

Como se observa, por ejemplo, el ensayo # 3 requiere de  $A_2$  y  $B_1$ , donde los subíndices numéricos significan el nivel del factor. (26).

Sin embargo las condiciones de interacción no pueden ser controladas durante el transcurso del experimento, debido a que dependen directamente de los niveles de los factores principales. (26).

Además es recomendable realizar los ensayos de manera aleatoria para proteger al experimentador de factores desconocidos e incontrolables, que debido a su variación durante el experimento pueden alterar los resultados. (26).

f) Análisis de resultados

Una propiedad básica de los arreglos ortogonales es el hecho de que la variación total puede ser evaluada mediante la suma de la variación individual de las columnas.

Para evaluar la variación de las columnas se utiliza un método estadístico de análisis denominado ANOVA de dos vías, el cuál, mediante la determinación de parámetros sencillos, proporciona información de la medida en que dicha variación se presenta. (26).

Estos parámetros se explican a continuación:

SST.- Es la suma de cuadrados total y proporciona información de la variación total presente. se define como:

$$SST = \left[ \sum_{i=1}^M SS_i \right] - \frac{T^2}{N}$$

donde:  $SS_i$  = Suma de cuadrados de cada Factor  
 $T$  = suma total de observaciones  
 $N$  = # total de ensayos

SSi.- Es la suma de cuadrados de cada columna. Proporciona información sobre la variación individual de cada columna. se define como:

$$SS_i = \frac{(i_1 - i_2)^2}{N}$$

donde:  $i_1$  = respuesta del factor  $i$  nivel 1  
 $i_2$  = " " " " " 2  
 $N$  = # total de ensayos

SSe.- Es la suma del error de los cuadrados y proporciona información de la variación total del error. se define como:

$$SS_e = SST - \left[ \sum_{i=1}^M SS_i \right]$$

GLT.- Son los grados de libertad totales, es igual al número total de ensayos.

GLm.- Son los grados de libertad asociados al significado, su valor es siempre la unidad

GLe.- Son los grados de libertad del error. se definen como:

$$GLe = GLT - GLm$$

Vi.- Es la varianza de cada columna. se define como:

$$V_i = \frac{SS_i}{GL_i}$$

donde:  $GL_i$  = grados de libertad de cada factor. es igual al # de niveles menos uno.

Ve.- Es la varianza del error. y se define como:

$$V_e = \frac{SS_e}{GLe}$$

ZP.- Contribución porcentual. Este valor proporciona información acerca de la participación de cada factor e interacción, a la variación total de resultados. Es una medida de conocer cuál es el factor que más repercute en la reducción de la variación. se define como:

$$\%P = \frac{SS_i}{SST} * 100$$

donde:  $SS_i$  = Es la suma de cuadrados esperada para un determinado factor. y es igual a:

$$SS_i = SS_i - (Ve)(GL_i)$$

Teóricamente este valor debe ser el 100%, sin embargo se considera aceptable que su magnitud sea mayor del 50%, ya que de lo contrario, significaría que los factores desconocidos son muy importantes, por lo tanto las condiciones experimentales no fueron del todo controladas, o que el error fué excesivo. (26).

F.- Es una medida de la confiabilidad de los resultados obtenidos. puede calcularse mediante la siguiente fórmula:

$$F = \frac{SS_i}{Ve}$$

el valor así obtenido debe compararse con tablas para conocer el nivel de confiabilidad logrado.

Una vez determinados los parámetros anteriores, el experimentador enfrenta el problema de interpretarlos; para ello Taguchi propone que se les ordene en forma ascendente y tabulados de la siguiente forma:

<u>FUENTE</u>	<u>SSi</u>	<u>SSe</u>	<u>GLe</u>	<u>Ve</u>	<u>ZP</u>	<u>F</u>	<u>F tablas</u>
A	4	5	1	5.00	-	0.8	405
AXB	16	21	2	10.50	22	1.52	93.5
B	32	53	3	17.86	57	1.81	34.1

} 99% confiable

donde: SST = 25 y E = error inicial = SST - suma SSi = 1 (26).

Como se observa en la tabla anterior, la SSe adquiere diferentes valores, aumentando progresivamente, debido a una corrección, en la cual se le van sumando los valores de SSi para estimar mejor la variabilidad del error; así mismo, se aumentan los grados de libertad del error en consideración a factores desconocidos e incontralables. (26).

De esta manera, la información obtenida acerca de la participación o efecto de los diferentes factores sobre un determinado producto, adquiere un significado más real. (26).

g) Experimento confirmatorio.

Una vez conocidos los factores determinantes en la experimentación, se diseña otro experimento que los involucra, sólo que en este caso con diferentes niveles, más próximos entre sí, con el objeto de conocer el valor crítico de los mismos, pudiéndose así tomar decisiones más efectivas con respecto a las condiciones de tratamiento de un determinado producto, o, las condiciones de operación de un proceso. (26).

## CAPITULO II METODOLOGIA

## 2.1 Irradiación de muestras. Cálculos de dosimetría :

### PROCEDIMIENTO

Se determina la razón de dosis (D) en el centro de la cámara de irradiación del irradiador de Cobalto-60, Gammacell 220 AECL (fig 10), cuyas dimensiones son:

Altura 20.6 cm.

Diámetro interior 15.4 cm.

Dosímetro empleado.- Solución de sulfato ferroso (Fricke) contenido en ampollitas de vidrio de 2 ml.

Diseño dosimétrico.- Se muestra en la figura # 11.

### Calibración

- 1.- Colocar 3 dosímetros en el soporte.
- 2.- Colocar el soporte en el centro de la cámara de irradiación y poner el timer en posición manual.
- 3.- Para medir el tiempo de irradiación utilizar un cronómetro. Poner el cronómetro en marcha y simultáneamente presionar el botón que acciona el descenso de la cámara de irradiación.
- 4.- Quitar los dosímetros.
- 5.- Repetir la operación anterior colocando otros 3 dosímetros e irradiar 3 minutos.
- 6.- Se repite irradiando 4, 5, 6 y 7 minutos sucesivamente.
- 7.- Se debe asegurar que el cuello de las ampollitas este libre de solución antes de empezar a irradiar.
- 8.- Al concluir la irradiación de los dosímetros se procede a leer la densidad óptica (DO) de la solución en un espectrofotómetro, a 304 nm y usando como blanco solución sin irradiar.
- 9.- Mientras se leen los dosímetros impedir su congelamiento y exposición prolongada a la luz fluorescente. Impedir su exposición a fuentes de radiación.
- 10.- Con el valor DO se calcula el valor de la dosis absorbida (D).

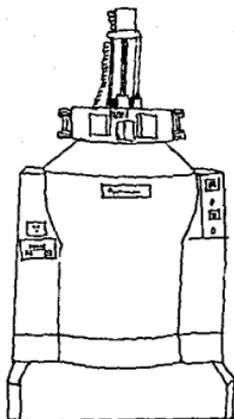


fig. 10: Esquema del irradiador GAMMACEL 220

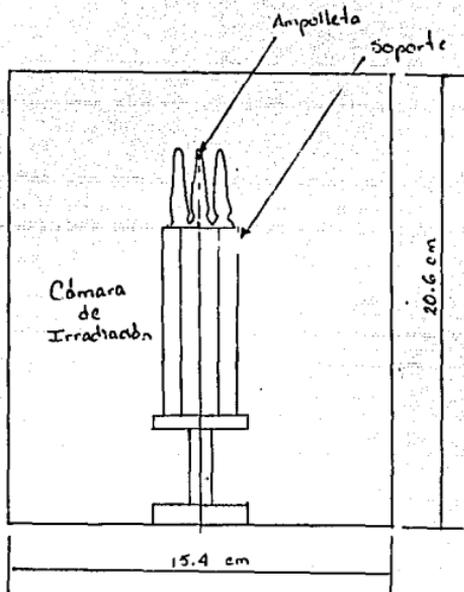


fig. 11 : Colocación de los dosímetros en el centro de la cámara de irradiación del Gammacel.

11.- Se grafica D vs t (t= tiempo de irradiación), donde la pendiente de la recta, multiplicada por 60, es D en Mrad/h.

Una vez calibrado el irradiador se procede a irradiar las muestras colorantes, de acuerdo a las dosis requeridas, que en este caso son de: 1, 5, 10, 20 y 30 kGy, para cada uno (29).

## 2.2 Determinación de la cuenta microbiana total en placas :

Se preparan diluciones decimales de la muestra colorante homogeneizado con el medio de cultivo adecuado. Después de incubar las placas a 30°C durante 72 hrs., se calcula el número de microorganismos por gramo de muestra, basándose en el número de colonias obtenidas en cajas Petri elegidas con diluciones que den resultados significativos.

### Enumeración de las bacterias aeróbicas mesófilas.

#### Preparación de medios:

- Agar para el conteo bacteriano en placa:

Agar Soya-Tripticaseína	30 grs.
Agua destilada	1000 ml.

Se ajusta el pH a 7.0, se vierte en tubos en volúmenes de 15 ml y se esteriliza durante 20 minutos a 121°C en autoclave. Antes de utilizarlos es necesario licuar el medio, sometiendo los tubos a baño maría, manteniéndolos a temperatura de 45-48°C.

- Solución reguladora de Peptona:

Peptona	10.0 grs
Cloruro de Sodio	5.0 grs
Fosfato disódico hidrogenado	9.0 grs
Fosfato potásico dihidrogenado	1.5 grs
Agua destilada	1000 ml

Se ajusta el pH a 7.0, se vierte en matraces de 500 ml, en volúmenes de 225 ml y en tubos con tapa de rosca, en volúmenes de 9 ml.

Se esteriliza durante 20 minutos a 121°C en autoclave.

Procedimiento:

Se pesa 1 gr de muestra y se añade a 100 ml de solución reguladora de Peptona. Se agita hasta homogeneizar perfectamente (± 2.5 min); Se toma un mililitro de la mezcla con una pipeta volumétrica, y se vierte en un tubo que contenga 9 ml de solución reguladora de peptona; se mezcla cuidadosamente.

Con la misma pipeta se toma 1 ml de la primera dilución y se vierte en un segundo tubo con 9 ml de solución reguladora; se homogeneiza agitando cuidadosamente. De esta manera se obtiene la segunda dilución.

Se repite la operación dos veces más, obteniéndose 4 diluciones, de cada una de las cuales se toma 1 ml mezclando uniformemente con 5 ml del agar para cómputo bacteriano. la mezcla anterior se vierte en cajas de Petri previamente marcadas y por duplicado, y se dejan solidificar.

Las cajas así preparadas se incuban, invertidas, durante 72 hrs a 30°C.

Después de la incubación se cuentan todas las colonias de las cajas y se anotan los resultados por cada dilución contada.

Cuando las cajas examinadas no contienen ninguna colonia, el resul-

tado se expresa de la siguiente manera: menos de 10 bacterias por gramo de muestra.

Cuando las cajas (dilución 1:10) contienen menos de 30 colonias, - el resultado se expresa: menos de  $3 \times 10^2$  bacterias por gramo.

Cuando hay más de 30 colonias, se cuentan las colonias de las dos placas de una misma dilución y se calcula la media, la cuál se multiplica por el inverso de la dilución correspondiente, obteniéndose el número de bacterias por gramo de muestra.

#### Determinación de bacterias coliformes totales:

##### Preparación de medios:

- Agar para el cómputo en placa:

Agar McConkey:	Gelisato	17 grs
	Polipeptona	3 grs
	lactosa	10 grs
	Sales biliares	1.5 grs
	Cloruro de Sodio	5 grs
	Agar	13.5 grs
	Rojo neutro	0.03 grs
	Cristal violeta	0.001 grs

La manera de prepararlo es disolviendo 50 grs del producto anterior en 1000 ml de agua destilada, obteniéndose un medio con pH final de 7.1. El procedimiento es idéntico al descrito para la cuenta de bacterias aeróbicas mesófilas.

#### Determinación de Hongos y Levaduras:

##### Preparación de medios:

- Agar para el cómputo en placa:

Agar Sabouraud Dextrosa:	Neopeptona Difco	10grs
	Dextrosa Bacto	40 grs
	Agar Bacto	15 grs

La manera de prepararlo es disolviendo 65 grs. del producto de formulación anterior (Bacto agar Sabouraud Dextrosa), en 1000 ml de agua destilada, obteniéndose un medio con pH final de 5.6.

En un medio de estas características se identifican tanto hongos como Levaduras, en forma de colonias de color azulado. El procedimiento de determinación es idéntico a los anteriores.

### 2.3 Comportamiento de los colorantes Cúrcuma y Achiote frente a diferentes dosis de radiación Gamma.

Se realiza un barrido en un espectrofotómetro Beckman DV-64 en la región del visible de 340-750 nm, para encontrar la longitud de onda de máxima absorbancia para los pigmentos en estudio.

Las lecturas serán efectuadas sobre soluciones de etanol al 95% en agua, ya que los colorantes en cuestión muestran la mejor solubilidad en dicho disolvente.

La longitud de onda obtenida se utilizará para evaluar la estabilidad del pigmento y será manejada como el porcentaje de absorbancia relativa, que es una medida del porcentaje de colorante que se conserva después de aplicarsele diferentes niveles de energía ionizante. (17) Para determinar el porcentaje de absorbancia relativa, se usará la siguiente fórmula:

$$\%R.A. = \text{Abs. de la muestra dosis X} / \text{Abs. de la muestra dosis 0} * 100$$

donde:

%R.A. = Porcentaje relativo de absorbancia.

Abs. de la muestra dosis X es la absorbancia de cada muestra irradiada.

Abs. de la muestra dosis 0 es la absorbancia del colorante sin irradiar.

Con los datos obtenidos se construye una gráfica de %R.A. vs dosis.

#### 2.4 Espacio uniforme de color C.I.E.L.A.B.:

##### - Extracción del principio colorante.

Se pesa con exactitud cerca de 0.1 g de muestra dentro de un matraz Erlenmeyer de 125 ml con cuello esmerilado. Añadir 30 ml de alcohol etílico 95% v/v, ensamblar con el condensador, calentar en placa -- eléctrica y refluja durante 2.5 horas. Quitar el matraz, enfriar -- el extracto a temperatura ambiente, filtrar cuantitativamente a través del filtro de microfibras, pasar a un matraz volumétrico de 100 ml. Lavar el filtro y residuo con alcohol colectando los lavados en el mismo matraz. Diluir hasta la marca de aforo con alcohol y homogeneizar. (11,20).

##### - Determinación de las coordenadas cromáticas.

Las soluciones obtenidas se leen en un espectrofotómetro Beckman DV-64 en la región entre 480-680 nm.

Los valores de absorbancia así obtenidos se multiplican, respectivamente por factores Hunterlab de los valores triestímulo rojo, verde y azul. Posteriormente se efectúan las sumas de estos valores obteniéndose los valores necesarios para la determinación de las respectivas coordenadas de cromaticidad. (20).

Para calcular los valores triestímulo teóricos x, y, z, se efectúan las siguientes operaciones:

$X = \frac{\text{valor de la suma en rojo}}{\text{suma de los factores de energía verde}} * 100$

$Y = \frac{\text{valor de la suma en verde}}{\text{suma de factores de energía verde}} * 100$

$Z = \frac{\text{valor de la suma en azul}}{\text{suma de factores de energía verde}} * 100$

Por último, para obtener las coordenadas de cromaticidad, se divide el valor obtenido para X entre el valor de la suma de los tres, obteniéndose así la coordenada x. La misma operación se efectúa para Y, obteniéndose la coordenada y.

Así, en el sistema, cada muestra queda caracterizada por sus coordenadas, las cuales se incluyen en el sólido de color para determinar sus respectivas características de matiz, intensidad y brillantez. (20).

2.5 Evaluación del efecto producido por: radiación Gamma, pH, luz, temperatura y aire, sobre la estabilidad de colorantes naturales.

a) Selección de los factores.

Se seleccionaron los factores pH, luz, temperatura y aire, por ser los factores más determinantes que se encuentran involucrados en la mayoría de los procesos de alimentos. Por otro lado, la radiación Gamma, y el efecto que produce, és el objetivo principal del presente estudio. (26).

b) Selección del número de niveles para los factores.

Siguiendo la recomendación hecha por Taguchi (26), se eligieron 2 niveles extremos de cada uno de los factores antes mencionados; los cuales se enlistan a continuación.

<u>FACTOR</u>	<u>NIVEL 1</u>	<u>NIVEL 2</u>
Radiación Gamma	0 kGy	10 kGy
pH	3	9
Temperatura	ambiente	70 C
luz	sin luz	con luz
aire	sin aire	con aire

Radiación Gamma.- Se eligió la dosis de 10 kGy por ser la más comúnmente usada en irradiación de alimentos.

pH.- Estos valores de pH se eligieron por ser representativos de las 2 posibles condiciones que este factor presenta, ácido y básico.

Temperatura.- Se eligió temperatura ambiente (aprox. 25°C) como representante de las condiciones de almacenamiento de este tipo de productos. la temperatura de 70 C se eligió como representante de los procesos térmicos a que se someten algunos alimentos.

Luz.- Su presencia o ausencia determina, en muchos casos, la decoloración de algunos productos alimenticios.

Aire.- Su presencia o ausencia determina la velocidad de reacciones de oxidación, que producen alteraciones frecuentes en el color de los alimentos.

c) Selección del arreglo ortogonal adecuado.

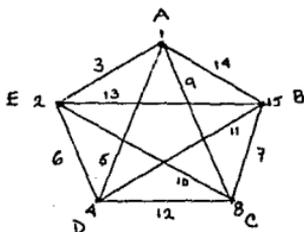
De acuerdo con el número de factores y niveles seleccionados, el arreglo que mejor se adecua a estas condiciones experimentales es el  $L_{16}$ , cuya estructura se presenta a continuación:

Ensayo no.	Columna no.														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2
3	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1
5	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2
6	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1
7	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1
8	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
10	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1
11	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1
12	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2
13	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1
14	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2
15	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	2
16	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1

En donde los numeros 1 y 2 representan el nivel de los factores.

d) Asignación de los factores e interacciones a las columnas.

Para efectuar esta asignación, se utiliza una gráfica lineal en forma de pentágono, como se muestra a continuación:



De acuerdo con la figura anterior, y ubicando a los diferentes factores en los vértices de la misma, el ordenamiento de columnas queda como sigue:

Factores e interacciones															
A E AXE D AXD EXD BXC C AXC EXC BXD CXD BXE AXB B															
Columna no.															
Ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2

etc.

donde: A = irradiación gamma

B = temperatura

C = pH

D = luz

E = aire

AXE = interacción entre irradiación y aire

AXD = " " " y luz

AXB = " " " y temperatura

AXC = " " " y pH

EXD = " " aire y luz

EXC = " " " y pH

EXB = " " " y temperatura

BXC = " " temperatura y pH

BXD = " " " y luz

CXD = interacción entre pH y luz

De esta manera, la estrategia experimental queda establecida y se procede a desarrollar el experimento.

La preparación de los 16 ensayos presenta ciertos detalles que se mencionan a continuación:

- El pH se ajusta usando, dependiendo el caso, soluciones de HCl 0.1 N o de NaOH 0.1 N, y un potenciómetro.
  - La temperatura de 70 C se contróla en una estufa con termostato.
  - Para la aplicación controlada de luz se utiliza una fuente luminosa de 100 watts dentro de una cámara oscura; para las muestras sin luz se protegen los tubos con papel aluminio y fueron guardados en otra cámara oscura.
  - Para eliminar el aire de las muestras, se burbujean con Nitrógeno, cerrandose posteriormente con sus tapones de rosca.
- Para las muestras con aire, se exponen al medio ambiente los tubos que las contienen durante la preparación de los mismos.

### CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Determinación de la cuenta total microbiana en placas (colonias/g):

- Enumeración de bacterias aeróbicas mesófilas:

<u>DOSIS (kGy)</u>	<u>Cúrcuma</u>	<u>Achiote</u>
Control	$2.4 \times 10^4$	$3.4 \times 10^4$
1	$1.7 \times 10^3$	$2.2 \times 10^3$
5	$7.0 \times 10$	$5.7 \times 10$
10	no detectado	no detectado
20	"	"
30	"	"

- Determinación de bacterias coliformes totales:

<u>DOSIS (kGy)</u>	<u>Cúrcuma</u>	<u>Achiote</u>
Control	no detectado	no detectado
1	"	"
5	"	"
10	"	"
20	"	"
30	"	"

- Determinación de Hongos y Levaduras:

<u>DOSIS (kGy)</u>	<u>Cúrcuma</u>	<u>Achiote</u>
Control	$7.8 \times 10$	$9.3 \times 10$
1	no detectado	no detectado
5	"	"
10	"	"
20	"	"
30	"	"

De acuerdo con los resultados anteriores, una dosis de 10 kGy es suficiente para eliminar cualquiera de los microorganismos estudiados anteriormente.

Generalmente los hongos y los coliformes requieren dosis bajas para inactivarse, aproximadamente 1 kGy, comparando contra la cuenta total bacteriana, debido a la alta incidencia del género Bacillus que presenta esporas resistentes al calor (6,10).

Por otro lado se tiene evidencia de que muestras que presentan cuentas de coliformes del orden de  $10^5$ , con presencia de E. coli, dosis de entre 10-15 kGy disminuyen la cuenta total hasta  $10^2$ , pero aún con presencia de E. coli, por lo tanto es necesario aumentar la dosis (6,25).

Así pues, para asegurar los productos, garantizar que los microorganismos no deterioren el alimento y considerando el costo del tratamiento, se puede sugerir que la dosis máxima sea de 15 kGy, ya que a este nivel de irradiación todavía no existen cambios considerables en el color, como se menciona más adelante (6,10).

3.2 Comportamiento de los colorantes Cúrcuma y Achiote frente a diferentes dosis de radiación Gamma.

A continuación se presentan los datos obtenidos, por triplicado, a una longitud de onda de 480 nm que fué a la cuál se presentó la mayor absorbancia:

CURCUMA :

<u>Dosis (kGy)</u>	<u>A1</u>	<u>A2</u>	<u>A3</u>	<u><math>\bar{A} \pm \sigma</math></u>	<u><math>\%R.A. \pm \sigma</math></u>
0	0.40	0.38	0.41	0.3966 $\pm$ 0.0125	100 $\pm$ 3.15
1	0.69	0.67	0.73	0.6966 $\pm$ 0.025	175.64 $\pm$ 6.3
5	0.64	0.64	0.63	0.6366 $\pm$ 0.005	160.51 $\pm$ 1.26
10	0.75	0.72	0.76	0.7433 $\pm$ 0.017	187.42 $\pm$ 4.28
20	0.74	0.74	0.73	0.7366 $\pm$ 0.005	185.73 $\pm$ 1.26
30	0.88	0.87	0.88	0.8766 $\pm$ 0.005	221.03 $\pm$ 1.26

ACHIOTE :

<u>Dosis (kGy)</u>	<u>A1</u>	<u>A2</u>	<u>A3</u>	<u><math>\bar{A} \pm \sigma</math></u>	<u><math>\%R.A. \pm \sigma</math></u>
0	1.6	1.55	1.59	1.58 $\pm$ 0.022	100 $\pm$ 1.39
1	0.65	0.66	0.65	0.6533 $\pm$ 0.005	41.35 $\pm$ 0.32
5	1.15	1.16	1.15	1.1533 $\pm$ 0.005	72.99 $\pm$ 0.32
10	1.09	1.10	1.08	1.09 $\pm$ 0.005	68.98 $\pm$ 0.32
20	1.22	1.20	1.22	1.2133 $\pm$ 0.009	76.79 $\pm$ 0.57
30	1.70	1.70	1.70	1.70 $\pm$ 0.00	107.59 $\pm$ 0.00

donde:

$\bar{A}$  = Absorbancia media

$\%R.A.$  = porcentaje de absorbancia relativa medio.

En las figuras 12 y 13 aparecen, respectivamente, graficados los datos anteriores.

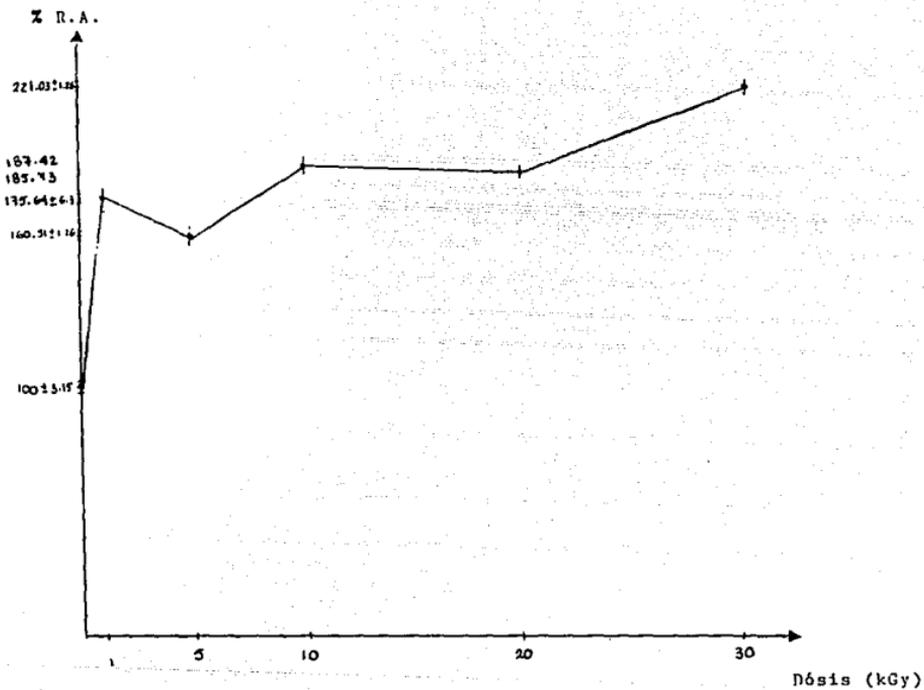


Fig. 12: Comportamiento de la Cúrcuma frente a diferentes dosis de radiación Gamma.

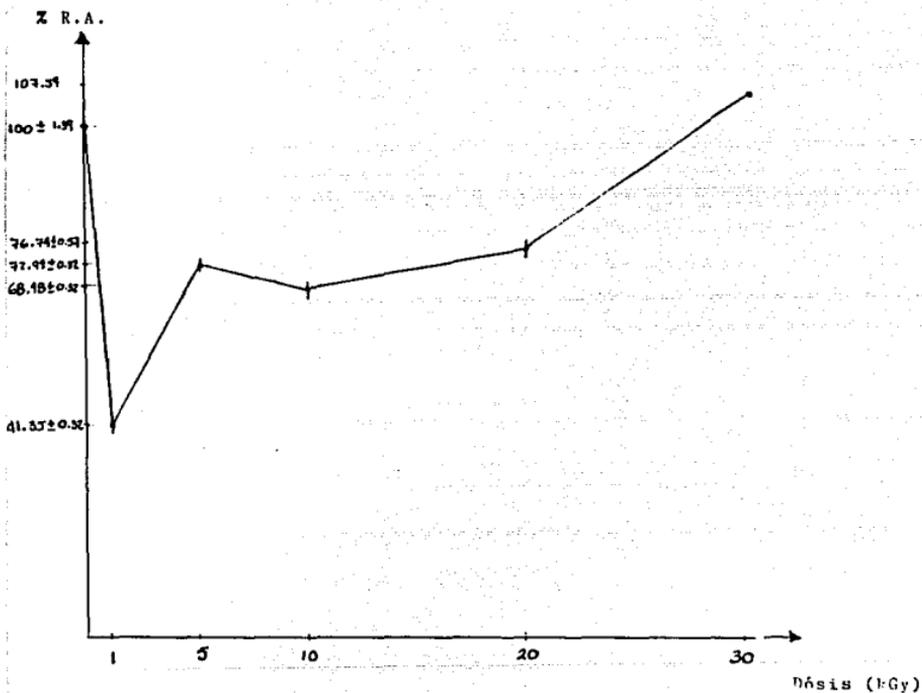


Fig. 13: Comportamiento del Achiote frente a diferentes dosis de radiación Gamma.

Analizando las gráficas anteriores no se observa, para ninguno de los dos colorantes, una disminución progresiva del porcentaje de absorbancia relativa, que significaría la pérdida de color de acuerdo con lo esperado.

En el caso de la Cúrcuma no se aprecian cambios visuales en cuanto a la tonalidad del color amarillo característico de este colorante, entre las diferentes soluciones, sin embargo sí aparecen cambios en la brillantez de las mismas, aumentando a medida que aumenta la dosis aplicada (6).

Además, al realizar el barrido correspondiente, entre 340-750 nm, se observa que a dosis de 30 kGy la absorbancia aumenta significativamente para cada una de las longitudes de onda, comparadas con los valores originales de absorbancia respectivos de cada una de ellas; no obstante que la longitud de onda de 480 nm permanece como la longitud de máxima absorción.

Por otro lado, para el Achiote se observan cambios en la tonalidad, pasando de un color amarillo-naranja brillante a un tono naranja de menor brillantez, a medida que aumenta la dosis aplicada (6).

Con respecto a su comportamiento durante el barrido entre 340-750 nm, se observa una disminución drástica en la absorbancia a dosis de 1 kGy y un aumento progresivo, a partir de 20 kGy, hasta llegar a un máximo a dosis de 30 kGy, para cada una de las longitudes de onda.

Sin embargo, como en el caso de la Cúrcuma, tampoco hay variación en cuanto a la longitud de onda de máxima absorción, que también en este caso es, y permanece, de 480 nm.

Todo lo anterior sugiere que a dosis por arriba de 10 kGy comienzan a aparecer, paulatinamente, alteraciones significativas en el color, principalmente a partir de 30 kGy, para Cúrcuma, y de 20 kGy para Achiote.

3.3 Evaluación del efecto producido por diferentes dosis de radiación Gamma sobre las características del color (matiz, intensidad y brillantez), mediante la determinación y uso de coordenadas cromáticas.

A continuación se presenta la hoja de cálculo necesaria para la determinación de los valores triestímulo de cada una de las muestras:(20):

LONGITUD DE ONDA (nm)	VALORES HUNTERLAB		
	EcX (rojo)	EcY (verde)	EcZ (azul)
480	11.849	17.222	100.711
490	3.864	25.106	56.134
500	0.551	36.208	30.492
510	0.953	51.457	16.181
520	6.131	68.799	7.583
530	16.216	84.476	4.130
540	29.648	97.403	2.079
550	45.601	104.674	0.922
560	62.598	104.774	0.406
570	77.971	97.390	0.211
580	89.607	85.086	0.150
590	95.678	70.552	0.108
600	95.259	56.601	0.068
610	88.651	44.465	0.033
620	75.277	33.566	0.017
630	56.535	23.320	0.008
640	39.322	15.365	0.003
650	25.007	9.437	-
660	14.497	5.362	-
670	7.543	2.762	-
680	<u>3.928</u>	<u>1.428</u>	<u>-</u>
	846.686	1035.453	219.236

Para obtener los valores triestímulo, se multiplica el valor de absorbancia respectivo de cada longitud de onda por sus correspondientes factores de energía. Los valores así obtenidos se suman, y, respectiva-

mente, se dividen entre 1035.453 y multiplican por 100, para obtener los valores triestímulo X, Y, Z. Las coordenadas de cromaticidad de cada muestra se obtienen dividiendo:  $X/X+Y+Z$  y  $Y/X+Y+Z$ . (11,17,20).

**RESULTADOS:**

<u>Cúrcuma:</u>	<u>Dosis (kGy)</u>	<u>Coordenadas de cromaticidad (x,y)</u>
	0	(0.2485 , 0.3570)
	1	(0.1042 , 0.3229)
	5	(0.0899 , 0.2932)
	10	(0.0840 , 0.2970)
	20	(0.0790 , 0.2230)
	30	(0.2050 , 0.4140)

<u>Achiote:</u>	<u>Dosis (kGy)</u>	<u>Coordenadas de cromaticidad (x,y)</u>
	0	(0.072 , 0.281)
	1	(0.072 , 0.224)
	5	(0.073 , 0.657)
	10	(0.068 , 0.305)
	20	(0.153 , 0.323)
	30	(0.144 , 0.502)

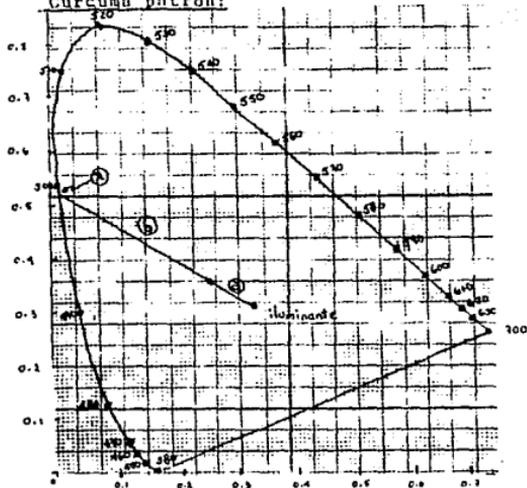
Por último, se presentan los diagramas de cromaticidad de cada muestra en los cuales se especifican las características del color: matiz, intensidad y brillantez, de cada una. (20).

donde:  $\lambda$  = Longitud de onda dominante (matiz)

z = Brillantez o luminosidad

$\frac{a}{a+b}$  = Pureza o intensidad

Cúrcuma patrón:



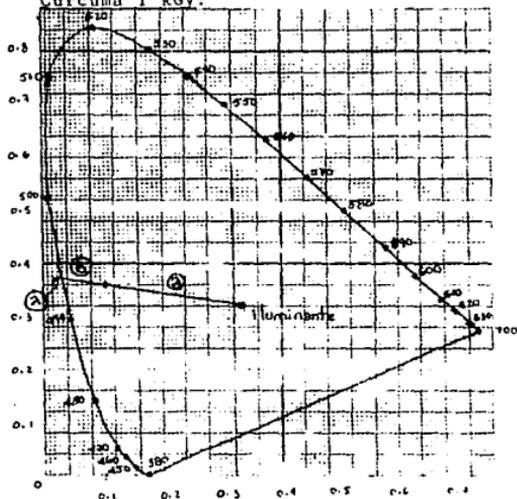
Coordenadas de cromaticidad  
(0.2565 , 0.3576)

$$a = 0.85 \quad \frac{a}{a+b} = 0.2428$$

$$a+b = 3.50$$

$$\lambda = 499 \quad z = 0.394$$

Cúrcuma 1 kGy:



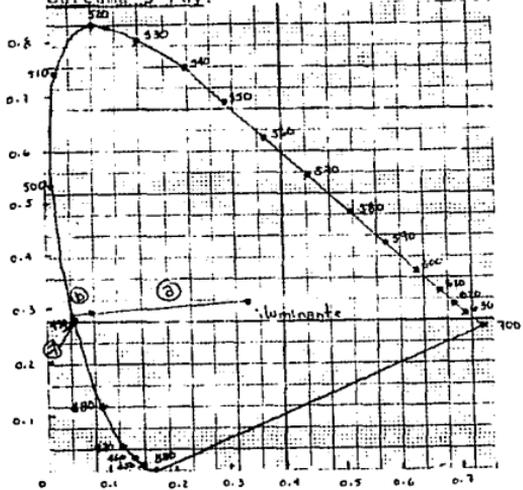
Coordenadas de cromaticidad  
(0.1042 , 0.3229)

$$a = 2 \quad \frac{a}{a+b} = 0.7407$$

$$a+b = 2.7$$

$$\lambda = 493 \quad z = 0.370$$

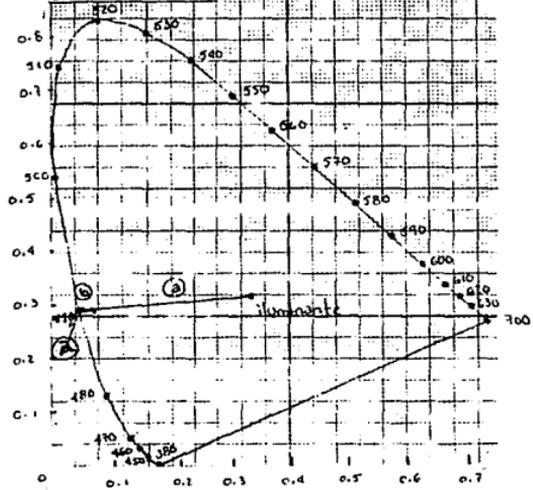
Cúrcuma 5 kGy:



Coordenadas de cromaticidad  
(0.0899 , 0.2932)

$a = 2.15$        $\frac{a}{a+b} = 0.8269$   
 $a+b = 2.60$   
 $\lambda = 490.5$        $z = 0.617$

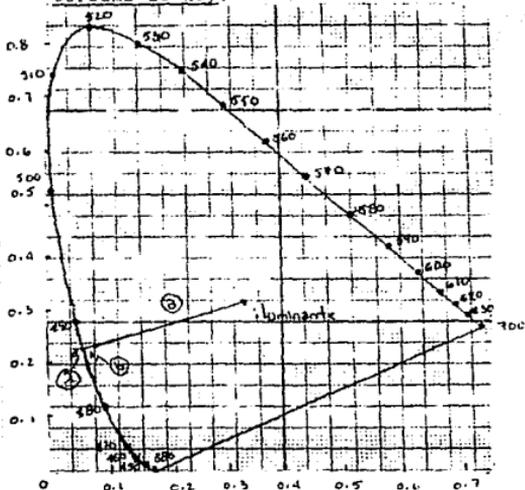
Cúrcuma 10 kGy:



Coordenadas de cromaticidad  
(0.084 , 0.297)

$a = 2.1$        $\frac{a}{a+b} = 0.8235$   
 $a+b = 2.55$   
 $\lambda = 490$        $z = 0.619$

Córcuma 20 kGy:



Coordenadas de cromaticidad

(0.075 , 0.213)

$$a = 2.55$$

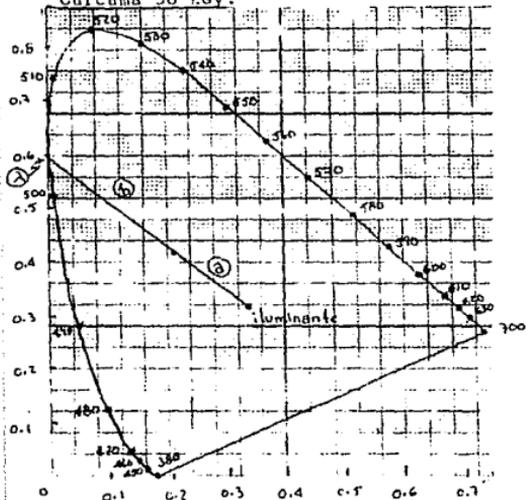
$$\frac{b}{a+b} = 0.9038$$

$$a+b = 2.6$$

$$\lambda = 488$$

$$z = 0.696$$

Córcuma 30 kGy:



Coordenadas de cromaticidad

(0.235 , 0.414)

$$a = 1.45$$

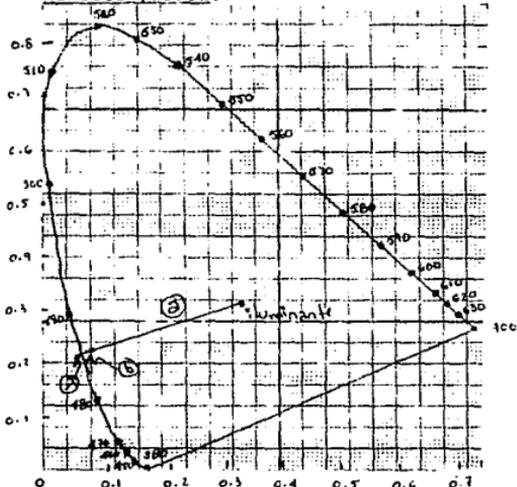
$$\frac{b}{a+b} = 0.3766$$

$$a+b = 3.85$$

$$\lambda = 503$$

$$z = 0.381$$

Achiote patrón:



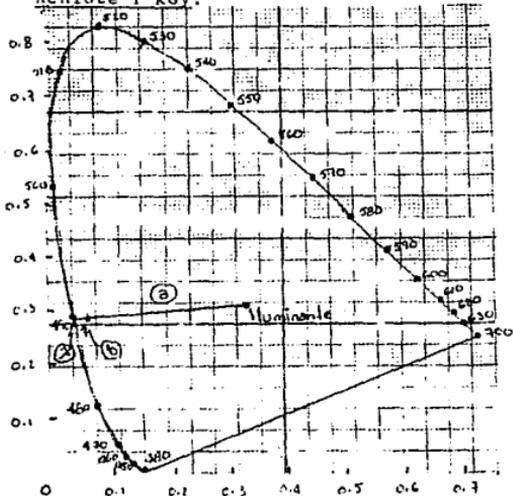
Coordenadas de cromaticidad  
(0.072 , 0.224)

$$a = 2.3 \quad \frac{a}{a+b} = 0.918$$

$$a+b = 2.55$$

$$\lambda = 490 \quad z = 0.704$$

Achiote 1 kGy:



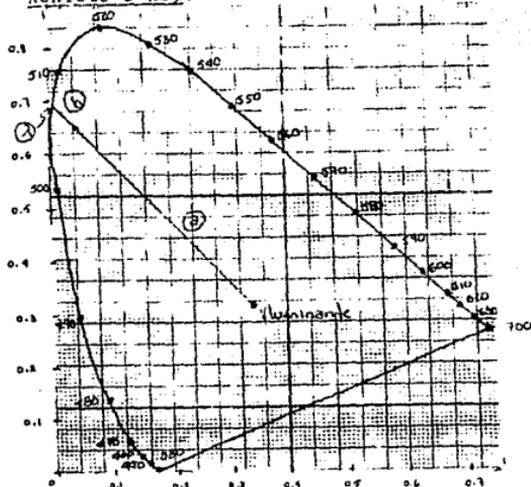
Coordenadas de cromaticidad  
(0.072 , 0.281)

$$a = 2.25 \quad \frac{a}{a+b} = 0.902$$

$$a+b = 2.45$$

$$\lambda = 487 \quad z = 0.647$$

Achiote 5 kGy:



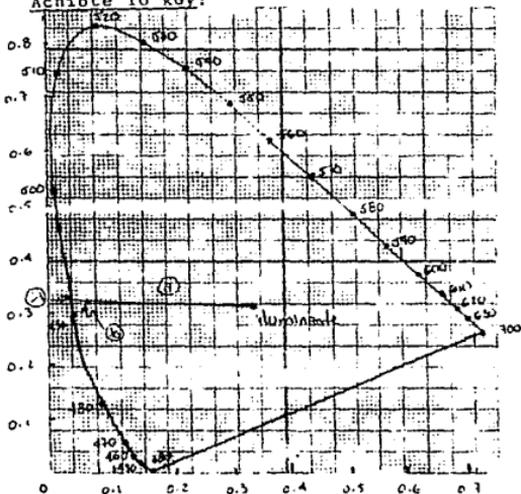
Coordenadas de cromaticidad  
(0.673 , 0.657)

$$a = 3.92 \quad \frac{a}{a+b} = 0.901$$

$$a+b = 4.35$$

$$\lambda = 508 \quad z = 0.270$$

Achiote 10 kGy:



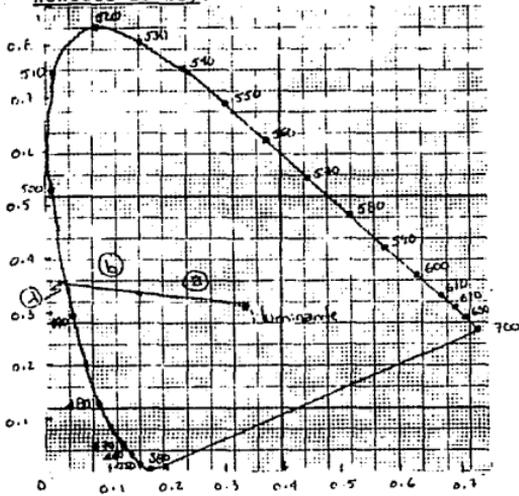
Coordenadas de cromaticidad  
(0.068 , 0.305)

$$a = 2.15 \quad \frac{a}{a+b} = 0.860$$

$$a+b = 2.5$$

$$\lambda = 492 \quad z = 0.527$$

Achiote 20 kGy:



Coordenadas de cromaticidad  
(0.153 , 0.323)

$$a = 1.45$$

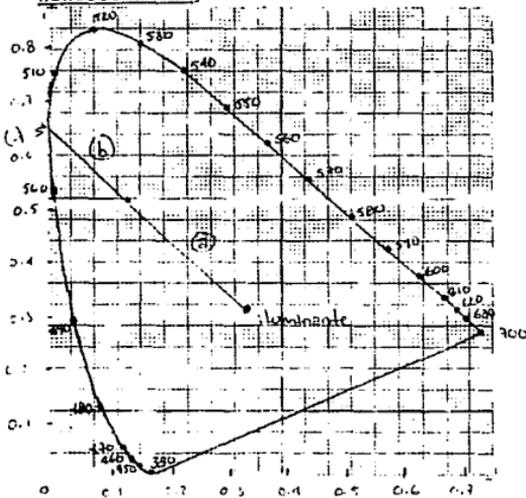
$$\frac{a}{a+b} = 0.580$$

$$a+b = 2.5$$

$$\lambda = 493$$

$$z = 0.524$$

Achiote 30 kGy:



Coordenadas de cromaticidad  
(0.144 , 0.502)

$$a = 2.35$$

$$\frac{a}{a+b} = 0.546$$

$$a+b = 4.3$$

$$\lambda = 505$$

$$z = 0.354$$

A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los colorantes tratados:

<u>Cúrcuma:</u>	<u>DOSIS (kGy)</u>	<u>PUREZA (intensidad)</u>	<u>MATIZ (<math>\lambda</math>)</u>	<u>BRILLANTEZ (<math>\alpha</math>)</u>
	0	0.2428	499	0.394
	1	0.7407	493	0.570
	5	0.8269	490.5	0.617
	10	0.8235	490	0.619
	20	0.9038	488	0.693
	30	0.3760	503	0.351

<u>Achiote:</u>	<u>DOSIS (kGy)</u>	<u>PUREZA (intensidad)</u>	<u>MATIZ (<math>\lambda</math>)</u>	<u>BRILLANTEZ (<math>\alpha</math>)</u>
	0	0.918	490	0.704
	1	0.902	487	0.647
	5	0.901	508	0.270
	10	0.860	492	0.627
	20	0.580	493	0.524
	30	0.546	505	0.354

Como se observa, las características originales, dosis 0, de pureza y brillantez de ambos colorantes son muy diferentes, siendo mayores para Achiote, mientras que el matiz de ambos es similar: lo anterior sugiere un poder de tinción mayor de la curcumina (2).

Al aplicar una dosis de 1 kGy, la curcumina presenta un aumento importante en sus características de pureza y brillantez, así como una ligera disminución en el matiz; de acuerdo con esto, a dicha dosis ocurre una disminución importante en la carga microbiana original, permitiendo mayor exactitud en la determinación del colorante presente en la solución.

Entre dosis de 5-10 kGy, la intensidad y la brillantez permanecen prácticamente constantes, aumentando ligeramente entre 10-20 kGy, mientras que el matiz no sufre cambios importantes en todo el intervalo entre 5-20 kGy. De acuerdo con esto la curcumina presenta una gran estabilidad a las dosis comunmente empleadas en el tratamiento de irradiación de alimentos (6).

Por último, es importante mencionar que no se observan cambios visuales entre las diferentes soluciones en cuanto al tono del color amarillo, aunque si se observa un ligero aumento en la brillantez e intensidad del color hasta llegar a un punto crítico, a dosis de 30 kGy, donde la solución se torna amarilla oscura.

Por otro lado, en el caso particular de la bixina se observa una disminución importante en la intensidad y brillantez, aunque el matiz permanece casi constante a dosis de 1 kGy.

Así mismo, entre dosis de 1-5 kGy donde la intensidad permanece constante, la brillantez continua disminuyendo de manera importante y el matiz aumenta repentinamente; Dichos cambios se explican en términos de la inestabilidad de la bixina y su consecuente transformación a orellina, la cual posee características de brillo y tinte menores que ella (21).

Posteriormente entre 10-20 kGy sucede una disminución progresiva e importante, tanto en intensidad como en brillantez, aunque el matiz permanece constante, hasta llegar a un punto crítico, al igual que la curcumina, a dosis de 30 kGy, donde el color de la solución es francamente naranja oscuro.

Desde un punto de vista práctico no hay diferencias significativas entre las diferentes soluciones, excepto a partir de 10 kGy, y hasta 30 kGy, donde se nota perfectamente la pérdida de brillo, así como

el cambio de tonalidad desde amarillo-naranja hasta naranja oscuro.

3.4 Análisis estadístico del efecto causado por radiación, pH, luz, temperatura y aire, sobre la estabilidad de los colorantes Cúrcuma y Achiote de acuerdo con el modelo L<sub>16</sub> de Ingeniería de Calidad.

Una vez determinados los parámetros estadísticos propuestos para el presente estudio, se toman los factores e interacciones de mayor repercusión porcentual sobre la estabilidad de ambos colorantes y se presentan tabulados de la siguiente forma: (26).

Tabla # 3: Factores físicos y químicos que repercuten en la estabilidad de la Cúrcuma.

<u>Lectura</u>	<u>Fuente</u>	<u>ZP</u>	<u>F</u>	<u>F tablas</u>	<u>Confiabilidad</u>
1	B	10.74	3.52	4.67	95%
	CXD	13.88	3.61	4.60	"
	C	20.63	4.04	4.54	"
2	AXE	7.03	2.34	4.67	"
	B	7.60	2.30	4.60	"
	BXD	11.85	2.78	4.54	"
3	BXC	18.26	3.74	4.54	"
	C	18.69	4.48	4.60.	"
4	BXC	6.80	2.33	4.67	"
	BXD	7.07	2.54	4.60	"
	C	21.70	4.20	4.54	"

donde: B = temperatura, C = pH, BXC = interacción entre temperatura y pH, BXD = interacción entre temperatura y luz, CXD = interacción entre pH y luz, y AXE = interacción entre radiación Gamma y aire.

De la tabla anterior se observa que los factores que mas aparecen, y por lo tanto los que mas repercuten, son pH y temperatura, así como la interacción entre ambos. Además se observa una breva participación de la luz interaccionando con ambos.

Tabla # A: Factores físicos y químicos que repercuten en la estabilidad del Achiote.

<u>Lectura</u>	<u>Fuente</u>	<u>TP</u>	<u>F</u>	<u>F tablas</u>	<u>Confiabilidad</u>
1	AXD	15.59	4.04	4.67	95%
	C	21.56	4.23	4.60	"
2	D	9.88	3.52	8.86	99%
	CXD	10.40	4.29	9.07	"
	C	38.48	6.77	8.68	"
3	D	13.33	6.79	9.07	"
	CXD	14.88	5.32	8.86	"
	C	45.09	7.76	8.68	"
4	CXD	10.27	8.39	9.07	"
	D	17.32	7.36	8.86	"
	C	53.25	9.16	8.68	+ de 99%

donde: C = pH, D = luz, CXD = interacción entre pH y luz, AXD = interacción entre radiación y luz.

De la tabla anterior se observa que en este caso los factores decisivos son pH y luz, así como la interacción entre ambos.

Para determinar los niveles correspondientes a estos factores predominantes, se realiza un análisis de bloques sobre la tabla de estrategia experimental, correspondiente a la última lectura realizada (lectura 4), ordenando los ensayos en forma creciente de repercusión sobre la estabilidad, de manera que los valores que se encuentran al final de cada tabla corresponden a los niveles de los factores e interacciones de mayor repercusión porcentual (26).

Tabla # 3: Tabla de estrategia experimental para Cúrcuma.

<u>Ensayo</u>	<u>BXC</u>	<u>BXD</u>	<u>C</u>
11	1	2	1
1	1	1	1
4	2	2	2
13	1	1	1
7	1	2	1
5	2	2	1
12	1	1	2
15	2	1	1
2	1	2	2
9	2	2	1
3	2	1	1
14	1	2	2
16	2	2	2
6	2	1	2
8	1	1	2
10	2	1	2

donde 1 y 2 representan los niveles de cada factor.

De acuerdo con esta tabla, las condiciones que mayor repercusión tienen sobre la estabilidad de la Cúrcuma son: pH = 9, presencia de luz y temperatura de 70°C.

De las condiciones anteriores el pH básico es el factor que mas efecto tiene, observandose un cambio radical en la coloración de la solución que se torna de amarilla brillante a naranja oscuro. (21).

Por otro lado se observa que la radiación Gamma, dosis de 10 kGy, no presenta una repercusión porcentual importante, si se le compara con el efecto producido por otros factores físicos y químicos comunes en la elaboración y procesamiento de alimentos.

Tabla # 6: Tabla de estrategia experimental para Achiote.

<u>Ensayo</u>	<u>CXD</u>	<u>D</u>	<u>C</u>
10	2	1	2
2	2	1	2
6	2	1	2
16	1	2	2
4	1	2	2
8	1	2	2
14	2	1	2
12	1	2	2
9	1	1	1
1	1	1	1
5	1	1	1
13	1	1	1
11	2	2	1
3	2	2	1
15	2	2	1
7	2	2	1

donde 1 y 2 representan los niveles de cada factor.

De acuerdo con la tabla anterior los factores que mas repercuten sobre la estabilidad del Achiote son: pH = 3, presencia de luz y la interacción entre ambos.

De las condiciones anteriores el pH ácido es el factor que mas afecta la estabilidad de este colorante, ocasionando decoloración en la solución que lo contiene. (21).

En este caso, al igual que en la Cúrcuma, la dosis de 10 kGy no representa un efecto de importancia sobre la estabilidad del Achiote, en comparación con el producido por el pH.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este análisis estadístico se observa que el efecto sobre el color que presenta el nivel de radiación Gamma mas utilizado en irradiación de alimentos, no es significa-

tivo, en comparación con el producido por otros factores físicos y químicos involucrados comunmente en la elaboración, proceso y manipulación de alimentos.

## CAPITULO IV CONCLUSIONES

## ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

- La eliminación de microorganismos indeseables se logra a dosis de 5-10 kGy, sin producir alteraciones importantes en las características de matiz, intensidad y brillantez de Cúrcuma y Achiote.

- Por otro lado, a simple vista, no se observa ningún tipo de alteración en el color de las muestras en polvo, sin embargo se observan pequeñas variaciones en las soluciones al 1 % en Etanol 95 % correspondientes a dosis de 30 kGy.

En el caso de Cúrcuma, a 30 kGy, la solución se torna "brillante" y casi ha perdido su coloración amarilla característica.

Para el Achiote se observa una disminución en la "brillantez" de las soluciones de 20 y 30 kGy, así como vire de amarillo-naranja a naranja.

- El efecto producido por la radiación Gamma, a dosis de 10 kGy, sobre la estabilidad de dichos colorantes es mínimo.

- Por medio del análisis con los modelos de Ingeniería de Calidad se observa :

- a) La Cúrcuma, irradiada y no irradiada, en solución a pH 9 se torna café rojiza.
- b) El Achiote, irradiado y no irradiado, en solución a pH 3 pierde su tonalidad amarilla.
- c) Si se considera que las interacciones de mayor contribución porcentual son : para Cúrcuma pH 9, presencia de luz y temperatura de 70 C; y para Achiote pH 3 y presencia de luz, cabe resaltar el hecho de que este método estadístico no distingue cual de las 2 variables involucradas en la interacción tiene mayor repercusión,

-- Por todo lo anterior, y aunado al hecho de que este tipo de tratamiento tiene un costo aproximado de 30,000 pesos/Kg de producto, para dosis de 10-15 kGy, en comparación al tratamiento con óxido de etileno, cuyo costo aproximado es de 35,000-40,000 pesos/Kg de producto, además de ofrecer la posibilidad de esterilidad total, hacen de este tratamiento una alternativa, no solo factible sino necesaria en un futuro inmediato, para asegurar la calidad total de los alimentos.

## BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Artigas J.M., Gil J.C., Felipa A. (1985). El Espacio Uniforme de Color C.I.E.L.A.B. Utilización. Rev. Agroquim. Tecnol. Alim. 25 (3).
- 2.- ATAM (octubre 1991) Memorias del congreso sobre: Aditivos y Sabores en la Industria Alimentaria. Fac. de Química. UNAM. México.
- 3.- Badui D.S. (1981). Química de los Alimentos. Alhambra. México.
- 4.- Bañuelos M.V.D. (1982). Aportación al estudio de extracción del colorante alimentario del Achiote. Tesis. Fac. de Química. UNAM. México.
- 5.- Brannen A.L. and Davison P.M. (1990). Food Additives. Ed. Marcel Dekker inc. New York, USA.
- 6.- Bustos R.M.E., Rocabado Q.F. (1990). Irradiación de Alimentos. Memorias del Seminario Nacional realizado en México D.F. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Salazar, Edo. de Méx.
- 7.- Diario Oficial de la Federación. (18 enero 1988). Aditivos Alimentarios. # 5. México D.F.
- 8.- Diehl J.F. and Kaulsruhe H. (1986). Safety of Irradiated Foods. Ed. Marcel Dekker inc. New York, USA.
- 9.- Dziezak J.D. (1987). Applications of Food Colorants. Food Technology. (4) 78.
- 10.- Farkas J. (1988). Irradiation of Dry Ingredients. CRC press. Boca Raton Florida. USA.
- 11.- Francis F.J., Clydesdale F.M. (1975). Food Colorimetry: Theory and applications. Avi publishing. Connecticut. USA.
- 12.- Francis F.J. (1987). Lesser Known Food Colorants. Food Technology. 8 (8) 65.
- 13.- Furia T. (1975). Handbook of Food Additives. Press. USA.
- 14.- Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. (1990). Manual de Protección Radiológica en Radiografía Industrial. Salazar, Edo. de Méx.

- 15.- Ionizing Energy in Food Processing and Pest Control: II Applications. (1989). Council for Agricultural Science and Technology. Task Force Report No. 115. USA.
- 16.- Kaerlsley M.W. and Rodríguez N. (1981). The Stability and Use of Natural Colors in Foods. Food Technology 16 (4) 74.
- 17.- Kussner J.E. (1987). Instrumentation for Color Measurements of Certified Colors. Food Technology. (4) 74.
- 18.- Kassner J.E. (1988). Modern Technologies in the Manufacture of Certified Colors. Food Technology (4) 78.
- 19.- Kristen W. Mc Nutt (1986). Food Colors, Flavour and Safety. Food Technol. (8) 72.
- 20.- Minolta. (1990). Precise Color Communication. Minolta Corporation 101 William Drive Ramsci, New Jersey. 07446. USA.
- 21.- Nájera G.A.J. (1988). Los Colorantes Naturales en la Industria Alimentaria. Trabajo monográfico de actualización. Fac. de Química. UNAM. México.
- 22.- Pedrero F., Paynborn R.E. (1989). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Alhambra. México.
- 23.- Pratt G.B. and Ecklund O.F. (1956). Organoleptic Studies of Irradiated Foods. Food Technology. 3 (2) 53.
- 24.- Pszczola D.E. (1990). Food Irradiation: Countering the Tacties and Claims of Opponents. Food Technology. 6 (6) 44.
- 25.- Robinson R.F. (1954). Some Fundamentals of Radiation Sterilization. Food Technology. 3 (12) 24.
- 26.- Ross J.Ph. (1989). Taguchi Techniques for Quality Engineering. Mc Graw-Hill. Singapore.
- 27.- Ryer R. (1956). Influence of Radiation Preservation of Foods on Military Feeding. Food Technology. 5 (6) 43.
- 28.- Santos S.E. (1981). Colorantes en la Industria Alimentaria. Tesis. Facultad de Química. UNAM. México.
- 29.- Zuazua G.H.P. (1987). Determinación de la razón de Dosis al centro de la cámara de irradiación del Gammacell 220 AECL. Informe AI-87-44. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Salazar, Edo de Méx.