



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DE LA IRRADIACION GAMMA SOBRE
HUEVOS COMERCIALES DE GALLINAS TIPO
LEGHORN INOCULADOS CON *Salmonella enteritidis*

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
MIRIAM TREJO RUBIO

ASESORES: MVZ EZEQUIEL SANCHEZ RAMIREZ
MVZ. PH.D. GUILLERMO TELLEZ ISAIAS
PFB PERLA CARMINA LUNA CARBAJAL
DVM, PH.D. BILLY MARSHALL HARGIS



MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	19
LITERATURA CITADA.....	23
CUADROS.....	27
FIGURAS.....	31

RESUMEN

TREJO RUBIO MIRIAM. Efecto de la irradiación gamma sobre huevos comerciales de gallinas tipo leghorn inoculados con Salmonella enteritidis (bajo la dirección de: Ezequiel Sánchez Ramírez, Guillermo Téllez Isaías, Perla Carmina Luna Carbajal y Billy Marshall Hargis)

La presencia de casos de salmonelosis humana debido al consumo de productos avícolas mal conservados ó procesados se ha incrementado desde 1987, trayendo consigo grandes pérdidas económicas a los avicultores y principalmente pérdidas humanas. En el presente trabajo se evaluó el efecto de tres diferentes dosis de irradiación gamma sobre la población bacteriana y las características físicas relacionadas con su calidad comercial, como son las unidades Haugh y el color de la yema en huevos comerciales inoculados experimentalmente con Salmonella enteritidis. El muestreo bacteriológico del huevo fue realizado por las técnicas desarrolladas por Gentry y por Williams. La evaluación de las características físicas relacionadas con su calidad comercial se efectuó por la medición de las unidades Haugh y la determinación del color de la yema por medio de la escala colorimétrica de laboratorio Roche. Los resultados obtenidos en la técnica de Gentry mostraron un descenso significativo ($P < 0.05$) de la población bacteriana entre los grupos irradiados en relación con el grupo testigo positivo. El porcentaje de Salmonella enteritidis que se recuperó por medio de la técnica desarrollada por Williams de las estructuras internas del huevo, disminuyó de manera significativa ($P < 0.025$) en los grupos irradiados comparado con el grupo testigo positivo. Las unidades Haugh

que se obtuvieron en los grupos sometidos a irradiación decrecieron significativamente ($P < 0.05$) al ser comparados con los grupos testigo. Se observó un cambio de color en la yema en los grupos de huevos irradiados tornándose esta a un color más claro, difiriendo significativamente ($P < 0.05$) con los grupos testigo. Los huevos irradiados a estas dosis mostraron un descenso significativo en la población bacteriana, sin embargo se vieron afectadas las características como el color de la yema y las unidades Haugh. Este es la razón por la que es difícil que este método se llegue a emplear a nivel comercial.

INTRODUCCION

La salmonelosis producida por Salmonella enteritidis es una enfermedad que afecta a las aves y a otros animales incluyendo al hombre, razón por la que se considera una zoonosis. Se han presentado un rápido incremento de casos a partir de 1987 en Gran Bretaña, afectando de manera notable al ser humano y posteriormente a los pollos (20,25).

En México en 1987 los casos de paratifoidea ascendieron a 68,423 y para 1991 aumentaron a 104,105 casos (35,36).

Por otra parte la presencia de estos casos ha afectado la demanda de productos avícolas, ya que estos se ven implicados en los casos de salmonelosis humana (20,22).

La salmonelosis se produce a consecuencia de la ingestión de bacterias del género Salmonella. En algunos años ha sido considerada la infección bacteriana de origen alimentario más frecuente y de mayor incidencia en determinadas épocas del año.

En humanos, la sintomatología producida por salmonelosis es diarrea, dolor abdominal, escalofríos, fiebre, deshidratación y postración, durando el malestar por varios días (10).

El origen de la contaminación de alimentos con Salmonella radica en la presencia de seres portadores ó enfermos (animales ó el hombre). Actualmente se consideran fuentes importantes de Salmonella: el cascarón, los huevos líquidos (yema y clara sin cascarón), los huevos congelados

y en polvo, debido a que se les puede encontrar en alimentos que se preparan con huevo y que no han sido suficientemente cocinados ó pasteurizados (10,20).

La carne de ave, huevo y otros alimentos contaminados con Salmonella enteritidis (SE) no muestran ningún indicio de esta contaminación, ya que la bacteria no causa cambios en su olor, ni en su sabor. Esto representa un gran riesgo para la salud humana que consume productos avícolas mal procesados ó conservados (10).

Salmonella spp. es un bacilo gram negativo no esporulado, móvil, que fermenta la glucosa, casi siempre con formación de gas, pero no la lactosa ni la sacarosa. El género Salmonellae se encuentra subdividido en 65 subgrupos y por el momento se le ha clasificado en 2000 serotipos antigénicamente distintos. Esta clasificación se basa en las características de los antígenos "O" ó somáticos para la formación de serogrupos y en los antígenos "H" ó flagelares para la identificación de la especie. Salmonella enteritidis contiene antígenos somáticos 1,9,12 y antígenos flagelares g y m (10,14,27).

Estudios recientes demuestran una asociación significativa entre el tiempo de almacenaje del huevo y el número de salmonelas en su contenido ya que durante el almacenamiento ocurren cambios que facilitan el crecimiento de salmonelas. Se ha encontrado que Salmonella enteritidis PT4 puede crecer rápidamente en la yema del huevo a temperatura ambiente tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, puestos por gallinas infectadas ó no (15).

Salmonella enteritidis se transmite rápidamente tanto de manera horizontal como verticalmente. Aunque la forma vertical no es la más importante desde el punto de vista epidemiológico (25).

Se ha corroborado que Salmonella enteritidis es capaz de penetrar el cascarón y permanecer entre el cascarón y las membranas testáceas (8,22,40). Esta es la razón por la que puede multiplicarse durante el almacenamiento, bajo condiciones adecuadas de humedad y temperatura (10).

La mayor parte de los huevos recién puestos son estériles al menos en el interior, pero el cascarón se contamina rápidamente con las materias fecales, con el agua de lavado, por los manipuladores y hasta con el material con que se empacan (10,25,28,29).

El huevo presenta varias barreras protectoras frente a la invasión microbiana. La primera línea de defensa está formada por la cutícula, que es una cubierta proteica que recubre el cascarón y retrasa la penetración bacteriana; el cascarón que es poroso y sirve para el intercambio gaseoso y por último están las membranas, que se encuentran debajo del cascarón actuando como barreras mecánicas. La más externa de las dos membranas del cascarón, es también más porosa pero la mayor protección la ofrece la membrana interna que no posee poros dificultando el paso de las bacterias (10,20,22,28,41).

El huevo está constituido por un 73.6 % de agua y un 26.4% de sólidos. La albúmina ó clara está constituida por un 87.9 % de agua y un 12.2 % de sólidos, de este porcentaje un 10.6 % corresponde a proteínas. Dentro de las

proteínas que se encuentran principalmente en la albúmina están, la ovoalbúmina (54%), la conalbúmina (13%) y la ovomucina (11%) (20).

Debido a que los huevos sucios se pagan a un precio más bajo que los limpios, se han inventado nuevos métodos de limpieza para eliminar la suciedad de estos. La limpieza en seco por corriente de arena desprende la suciedad así como la cutícula. El lavado con agua caliente elimina la suciedad, parte de los microorganismos, pero favorece la penetración de bacterias. Es por eso que todos los tipos de lavado provocan la destrucción de la cutícula favoreciendo la penetración bacteriana (10).

Los métodos de conservación de los huevos son variados utilizando diferentes tipos de temperaturas. Dentro del empleo del calor se encuentra la pasteurización, pero este tratamiento está limitado por la coagulación de la clara. El método más común de conservación consiste en emplear temperaturas bajas (refrigeración para huevos enteros y congelación para los huevos desprovistos de cascarrón). Por último se encuentra el método de desecación, que es similar al método de atomización empleado para la obtención de leche en polvo. La desecación reduce la carga microbiana de los huevos líquidos de 10 a 100 veces, además de que la clara requiere de un tratamiento adicional antes de su desecación para que conserve su capacidad de batido (10,20).

HISTORIA E INOCUIDAD DE LA IRRADIACION DE ALIMENTOS

Los trabajos de investigación relacionados con el proceso de irradiación como tecnología de conservación de alimentos han sido realizados desde hace hace 40 años en programas internacionales conducidos por diversos países, los que han demostrado plenamente la efectividad e inocuidad de los alimentos tratados con radiación ionizante.

En 1904, S. Prescott del Instituto Tecnológico de Massachusetts sugirió la utilización de rayos X ó radioactividad en la conservación de alimentos (37).

En 1921 Shwartz de Estados Unidos, obtiene la primera patente sobre irradiación de carne de cerdo con rayos X para eliminar la Trichinella spiralis (33).

Por el año de 1961 el proceso de irradiación interesó a varios organismos internacionales. Se realizó la primera reunión internacional en Bruselas, Bélgica con el fin de evaluar los trabajos relacionados con la investigación sobre la inocuidad de los alimentos procesados por irradiación (18,26).

En 1958 la Unión de Repúblicas Soviéticas Socialistas (URSS) otorgó el primer permiso para irradiar alimentos para consumo humano; posteriormente en Canadá en 1960 y en Estados Unidos en 1963 concediendo el permiso para irradiar papas, trigo y tocino.

Con el fin de obtener una cantidad representativa y científica sobre la comestibilidad de los alimentos irradiados, se creó un proyecto internacional en el cual participaron 23 países con apoyo de la Organización Mundial

de la Salud (OMS), el Organismo de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación (FAO) y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Durante 12 años se realizaron experimentos y pruebas que concluyeron que los alimentos irradiados no son perjudiciales a la salud, las propiedades nutritivas de los alimentos no se ven afectadas seriamente, además de que no se encontraron sustancias tóxicas ó carcinogénicas en estos productos (26).

A partir de 1976 se incrementó rápidamente el número de autorizaciones para irradiar productos alimenticios por diferentes países del mundo. Actualmente la irradiación ha sido aprobada por 37 países para 71 productos alimenticios. En 1979 el Comité Mixto de Expertos (FAO, OMS y OIEA) evaluó los resultados obtenidos de los estudios toxicológicos, radiación química y ausencia de efectos adversos, resultado de las dietas irradiadas dadas a animales de laboratorio, ganado y pacientes inmunológicamente incompetentes; el Comité concluyó que: " La irradiación de alimentos a dosis promedio de hasta 10 kGy, no presenta peligro toxicológico, por consiguiente las pruebas toxicológicas de alimentos irradiados no requieren de nuevos estudios".

En 1983 la Comisión del Codex Alimentarius aceptó las recomendaciones del Comité de Expertos (FAO, OMS y OIEA) y las incorporó a la Norma General del Codex para Alimentos Irradiados y a su norma conexas para el funcionamiento de Instalaciones de Irradiación (Norma Codex Alimentarius, 1983).

En México se autorizó la irradiación de alimentos en 1988 (34).

PROCESO DE IRRADIACION

La irradiación ha demostrado una gran capacidad para inactivar ó matar los microorganismos patógenos presentes en los alimentos y causantes de enfermedades infecciosas (4,5,6,13,24,31,33).

La irradiación es un proceso físico de tratamiento de alimentos y como tal es comparable a otros métodos de conservación como la pasteurización ó la congelación (9).

El proceso de irradiación consiste en exponer el alimento empacado ó a granel a una fuente de energía ó radiación ionizante durante un tiempo determinado (17). La radiación ionizante actúa depositando energía en los átomos y moléculas que constituyen el alimento, llevándose a cabo la formación de iones que originan una serie de reacciones químicas trayendo consigo cambios físicos y químicos en los alimentos (3).

De acuerdo con la norma Codex Alimentarius y con la norma para alimentos irradiados propuesta por el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) a la Secretaría de Salud y que se encuentra en revisión, se permite el uso de irradiación en alimentos con el fin de reducir la carga microbiana ó de microorganismos patógenos no esporulados, inhibir la germinación de tubérculos y bulbos, retardar la maduración y extender el tiempo de anaquel de los alimentos. Para ningún caso se permitirá ocultar defectos de calidad sanitaria ó para disminuir

alteraciones ó contaminaciones en los alimentos (39).

En el proceso de irradiación se permiten los siguientes tipos de radiación ionizante:

- Radiación gamma de fuentes encapsuladas de los radioisótopos, Cobalto 60 ó Cesio 137
- Rayos X generados por máquinas, que no excedan de 5 MeV (megaelectronvolts)
- Máquinas generadoras de electrones con energía que no exceda de 10 MeV (3,6,13,24,31,33,39).

Las unidades que se utilizan en irradiación es el Gray (Gy) (que mide la cantidad de energía absorbida en la materia) y sus múltiplos. Las equivalencias del Gray son Joule/kg ó 100 erg/g (1,2).

La irradiación tiene diversas aplicaciones en el procesamiento de alimentos, principalmente con el fin de extender la vida de anaquel, reducir la carga microbiana, desinfestación y eliminación de parásitos. Las dosis utilizadas dependen del tipo de alimento y del tratamiento deseado. Estas dosis son:

a) DOSIS BAJAS

Las dosis menores de 1 kGy (0.1 Mrad) tiene los siguientes efectos:

1. Inhibición de la germinación.

Inhíbe la germinación de tubérculos y bulbos como las papas, ajos, cebollas, zanahorias, camotes, etc.

2. Retardo en la maduración.

Estas dosis tiene el fin de extender la vida de anaquel. Ha sido demostrada en los plátanos, mangos, guayaba, papaya y otras frutas tropicales.

3. Desinfestación.

Estas dosis pueden matar insectos que se encuentren en los granos y otros alimentos almacenados.

4. Eliminación de la Triquinosis.

La carne de cerdo al ser irradiada produce esterilidad en el parásito por lo que no completa su ciclo biológico y no causa la enfermedad.

b) DOSIS MEDIAS

Estas dosis se encuentran en el rango de 1 a 10 kGy. Sus principales usos son:

- Destrucción de los microorganismos. También se da una reducción por el retraso en su crecimiento.
- Mejoramiento de las propiedades tecnológicas de los alimentos.

c) DOSIS ALTAS

Son dosis de más de 10 kGy (1 Mrad) sus usos son:

- Esterilización del equipo de hospital.
- Eliminación de virus y bacterias.
- Esterilización de la comida para pacientes que requieren una dieta completamente estéril (33,39).

HIPOTESIS

La irradiación gamma será capaz e inhibir el desarrollo de Salmonella enteritidis inoculada experimentalmente en huevos comerciales.

OBJETIVOS

- Determinar el efecto de tres diferentes dosis de irradiación gamma, sobre las unidades formadoras de colonias (UFC) de Salmonella enteritidis inoculada en huevos comerciales.
- Evaluar las unidades Haugh y el color de la yema de uevos comerciales inoculados, expuestos a tres diferentes dosis de irradiación gamma.

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon 100 huevos comerciales de gallinas Leghorn de 67 semanas de edad, con certificado libre de Salmonella. Los huevos se recolectaron con guantes estériles inmediatamente después de ser puestos. Se colocaron dentro de bolsas de plástico estériles de forma individual. No se recolectaron aquellos huevos que presentaran fracturas, restos de materia fecal y/o de sangre. Los huevos se dividieron en 5 grupos de 10 huevos cada uno, realizándose dos réplicas de cada uno.

Los grupos se establecen a continuación:

inoculación dosis de irradiación

GRUPO I	si	1 kGy
GRUPO II	si	2 kGy
GRUPO III	si	3 kGy
GRUPO IV	no	no (testigo neg.)
GRUPO V	si	no (testigo pos.)

El inóculo se elaboró con una cepa mutante de Salmonella enteritidis (resistente al ácido nalidíxico) fagotipo 13. Para la preparación del inóculo se incubó previamente la bacteria en caldo infusión cerebro corazón por 18 h a 37°C y posteriormente a la incubación se diluyó en solución salina fosfatada estéril (PBS).

I. PREPARACION DE LOS HUEVOS

Los huevos fueron ovoscopiados, para marcar la cámara de aire y determinar el área a inocular. Esta zona debe encontrarse fuera de la cámara de aire. La superficie del huevo seleccionada se delimitó por medio de un anillo de papel aluminio (de 7 mm de alto con 1.5 cm de ancho) el cual fue fijado posteriormente al huevo con parafina.

Se aplicaron 3×10^6 UFC en 100 μ l sobre el área seleccionada a inocular. Después de la inoculación, los huevos se mantuvieron por 2 horas a temperatura ambiente, antes de ser irradiados.

II. IRRADIACION DE LAS MUESTRAS

Para la irradiación de las muestras se empleó un irradiador experimental con fuente de radiación gamma de Co-60 (Gammacell 220 AECL) que se encuentra en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (carretera federal México-Toluca, km 36.5).

Para aplicar las dosis propuestas se realizó una dosimetría previa a la irradiación de las muestras. La dosimetría se determinó con un dosímetro de solución de sulfato ferroso (dosímetro de Fricke) contenido en ampolletas de 2 ml. Este procedimiento consistió en determinar la dosis absorbida, producida por la oxidación de iones ferrosos a iones férricos (7,16). La cantidad de iones férricos producidos se midió por medio de un espectrofotómetro (Varian serie 634) a 304 nm, usando como blanco una solución sin irradiar.

La rapidez de la dosis media fue de .956 kGy/h . Con

IV. MEDICION DE LAS CARACTERISTICAS FISICAS RELACIONADAS CON LA CALIDAD COMERCIAL DEL HUEVO

Se determinó por:

A) Medición de las unidades Haugh. Este procedimiento está basado en la relación entre el peso del huevo y la altura de la albúmina densa (38). Después de efectuar el examen bacteriológico, los huevos fueron pesados de manera individual. Posteriormente se efectuó el rompimiento del cascarón con la ayuda de una tijera (del lado opuesto a la cámara de aire) disponiéndose el contenido del huevo en una superficie plana, para llevar a cabo la medición de la altura de la albúmina densa con el vernier.

B) Determinación del color de la yema. Se basó en la escala visual colorimétrica del Laboratorio Roche, la cuál tiene una puntuación del 1 al 14 (32). Esta actividad se efectuó al mismo tiempo en que se realizaba la actividad mencionada anteriormente.

V. ANALISIS ESTADISTICO

Las unidades formadoras de colonias (UFC) que se obtuvieron a partir de la técnica de Gentry se evaluaron por un análisis de varianza utilizando el procedimiento de Modelos Generales Lineales. Las diferencias significativas fueron separadas mediante la prueba de Duncan, utilizando el programa de análisis estadístico SAS (SAS INST., CARY, N.C.) (23).

Se utilizó un análisis de Ji-cuadrada para determinar las diferencias significativas entre los grupos de huevos inoculados con Salmonella enteritidis (42).

este dato se calculó el tiempo de irradiación necesario para aplicar las dosis de 1,2 y 3 kGy respectivamente.

Una vez realizado este cálculo preeliminar del tiempo de irradiación, se prosiguió a irradiar los grupos de huevos inoculados con Salmonella enteritidis. A la mitad del tiempo de irradiación, las muestras eran rotadas 180° sobre su eje vertical, para que la distribución de dosis fuese uniforme.

III. MUESTREO BACTERIOLOGICO

Una vez que fueron irradiados los grupos I, II y III se mantuvieron a refrigeración (4°C) por 42 h. Con objeto de determinar la contaminación bacteriana en las estructuras externas de cada una de las muestras, se empleó la técnica desarrollada por Gentry (11), utilizándose únicamente como medio selectivo de crecimiento, agar verde brillante adicionado con 200 µg de ácido nalidíxico.

Para establecer la contaminación bacteriana de las estructuras internas del huevo se utilizó la técnica descrita por Williams (40). Después de la inoculación, el caldo fue sembrado en agar verde brillante, el cuál contenía 200 µg de ácido nalidíxico. En ambas técnicas los medios de crecimiento se incubaron por 24 h adicionales a 37°C y se examinaron para identificar las colonias lactosa negativas y ácido nalidíxico resistentes. Posteriormente se realizaron pruebas bioquímicas para comprobar la identificación de la especie.

RESULTADOS

El grupo testigo positivo (V) fue el grupo que mostró el mayor número de UFC/ml de Salmonella enteritidis (cuadro 1) difiriendo significativamente ($P < 0.05$) del grupo irradiado a 1 Kgy, el cuál mostró un descenso en la población bacteriana de $3.94 \log_{10}$ Salmonella/ml. Los grupos irradiados a 2 y 3 kGy fueron los grupos que no presentaron crecimiento bacteriano. No se encontraron diferencias significativas entre estos grupos irradiados, ya que el valor obtenido en la técnica de Gentry fue de cero para ambos (figura 1).

En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos en la técnica descrita por Williams. En lo que respecta a el área de muestreo 1, los grupos sometidos a irradiación tuvieron un porcentaje de recuperación del 0 % mostrando una diferencia significativa ($P < 0.025$) con el testigo positivo (35 %). En el área 2 el porcentaje recuperado para el grupo I fue de un 5 % y para los demás grupos irradiados fue de 0 %. No se encontró diferencia significativa entre los grupos irradiados, pero sí se encontró una significancia ($P < 0.025$) de estos con el grupo testigo positivo, el cuál obtuvo un 50 % de recuperación de Salmonella enteritidis. En el área 3 los grupos irradiados tuvieron un 0 % de recuperación de Salmonella enteritidis, en comparación con el grupo V que mostró un 40 % de recuperación y una diferencia significativa del $P < 0.025$. En

la figura 2 se muestran los resultados obtenidos en las diferentes áreas de muestreo.

Las unidades Haugh (cuadro 3) obtenidas en los grupos tratados con irradiación disminuyeron significativamente ($P < 0.05$) en relación a las obtenidas en los dos grupos testigo, los cuales tuvieron un puntaje de 66.72 (figura 3). Al mismo tiempo se observaron cambios indeseables en la consistencia de la clara, ya que esta era más acuosa y no se lograba distinguir la albúmina fluida de la albúmina densa. Estos cambios se observaron desde la dosis de 1 Kgy.

Los resultados obtenidos en el cuadro 4 muestran que los grupos irradiados a 2 y 3 kGy tuvieron una disminución significativa ($P < 0.05$) del color con respecto a los dos testigos y al grupo irradiado a 1 kGy. Los grupos de 2 y 3 kGy no se mostraron significativamente diferentes entre sí (figura 4). Esto nos indica que en dosis de hasta 1 kGy no se ve afectado el color de la yema.

DISCUSION

En el muestreo bacteriológico de los grupos irradiados se obtuvo un descenso significativo ($P < 0.05$) de la población bacteriana comparado con el testigo positivo. Los resultados obtenidos en las unidades Haugh y el color de la yema mostraron una disminución significativa ($P < 0.05$) al compararlos con los resultados obtenidos en los grupos testigo. Los cambios en las propiedades físicas se observaron desde la dosis mínima de irradiación.

En el presente trabajo, los resultados del muestreo bacteriológico concuerdan con los reportados por Mallet y col. (*) quienes observaron que dosis bajas de 1 kGy reducen la viabilidad de Salmonella enteritidis en 3 logaritmos. La disminución en la población bacteriana está basado en la alteración que sufren los microorganismos en su ADN perdiendo así su capacidad reproductora, además del efecto secundario que está dado por la presencia de radicales libres. La muerte de los microorganismos que es producida por la exposición a radiaciones ionizantes es de naturaleza logarítmica generalmente (20).

Los resultados obtenidos en el color de la yema indicaron que al incrementarse la dosis de radiación a más de 1 kGy el color disminuye. Harewood (12) encontró que al incrementar la dosis de radiación, esta tiene un efecto inverso en la retención del color de la yema, debido al efecto que tiene la irradiación sobre la vitamina A.

(*) Univ. of Massachusetts at Lowell.

Los cambios que se producen en las vitaminas inducidos por la energía ionizante están determinados de forma primaria por la reactividad individual de las vitaminas y de manera secundaria por la producción de radicales libres. Las vitaminas como la A, C, E, B-12, tiamina y quinonas son muy reactivas con una variedad de radicales orgánicos incluyendo a los radicales peróxido.

La posible causa de la pérdida de la vitamina A pudo estar influenciada a que el procesamiento de irradiación se realizó en presencia de oxígeno y que la fuente de energía ionizante provenía de Cobalto-60 (19). Se ha demostrado en diversos trabajos el efecto de la energía ionizante sobre las vitaminas, concluyéndose que son mejor preservadas si la energía ionizante se aplica en ausencia de oxígeno y que se disminuye la pérdida de vitaminas si la fuente de energía ionizante proviene de un acelerador de electrones, que sí proviene de radioisótopos (7).

Ball y Gardner (4) notaron un cambio en el color de la yema de los huevos irradiados, observando un color verdoso amarillento apagado en estos. Ellos pudieron notar también un olor similar a la mezcla de sulfuro de amonio. En este trabajo no se obtuvieron cambios similares a los citados anteriormente.

Los cambios advertidos en la consistencia de las albúminas, fueron también reportados por Parson y Stadelman a una dosis de 100,000 reps.

También McArdele y Desrosier en 1954 trabajando a una dosis de 500,000 reps encontraron un debilitamiento en las membranas de la yema con una consecuente disminución de la

calidad comercial del huevo (30).

Los cambios observados en la consistencia de la clara están basados en los diferentes tipos de reacciones que pueden sufrir las proteínas de la clara, como son: la pérdida de un grupo amino ($-NH_2$), la formación de un grupo carbonilo ($\geq C=O$) ó su descarboxilación, dando lugar a la formación de un dióxido de carbono. O bien el efecto de los radicales libres, producto de la energía ionizante sobre el agua, alterando la organización y el desdoblamiento molecular de las proteínas (4,7,21,31). Debido a que la clara es una mezcla de proteínas especialmente sensibles resultan ser las más afectadas las que se encuentran en mayor proporción como la ovoalbúmina, la ovomucina y la lizosima, razón por la que se ve afectada la consistencia de las claras.

Ball y col. (4) encontraron que la radiación causa una reducción en la viscosidad y un escaso decremento en el porcentaje de sólidos del huevo. Al analizar los patrones electroforéticos de la clara de huevo irradiada observaron una disminución en la concentración relativa de proteínas como la ovomucina, conalbúmina y la ovoalbúmina.

Conforme a los datos obtenidos en este trabajo, podemos concluir que bajo estas condiciones de irradiación se disminuye la actividad patógena de Salmonella enteritidis, pero debido a la presencia de características no deseables que se observaron desde la dosis de 1 kGy, es difícil que este método de conservación se llegué a utilizar a nivel comercial. Tal vez pueda tener mayores

aplicaciones en la industria panadera y de alimentos, que utilizan el huevo en polvo ó con un mayor procesamiento.

LITERATURA CITADA

1. Azorín, N.J.: Protección Radiológica II. Dosimetría. Cuadernos del Instituto Nacional de investigaciones Nucleares. Serie Divulgación Técnico Científica, México, D.F. 1988.
2. Azorín, N.J.: El Sistema Internacional de Unidades (SI) y las Ciencias Nucleares. 2a ed. Cuadernos del Instituto Nacional de investigaciones Nucleares. Serie Divulgación Técnico Científica, México, D.F. 1988.
3. Balcázar, G.M.: Concepts of ionizing radiation in food irradiation. Seminario Nacional de Irradiación de Alimentos. México, D.F. 1990. 27-39. *ININ, OMS, OPS Y SSA*. México, D.F. (1991).
4. Ball, H.R. and Gardner, F.A.: Physical and functional properties of gamma irradiated liquid egg white. *Poult. Sci.*, 47: 1481-1487 (1968).
5. Cliver, O.D.: Microbiological aspects. Seminario Nacional de Irradiación de Alimentos. México, D.F. 1990. 67-73. *ININ, OMS, OPS Y SSA*. México, D.F. (1991).
6. Cliver, O.D.: Safety of irradiated foods. Seminario Nacional de Irradiación de Alimentos. México, D.F. 1990. 61-66. *ININ, OMS, OPS Y SSA*. México, D.F. (1991).
7. Council for Agricultural Science and Technology: Ionizing Energy in Food Processing and Pest Control II. Applications. Task force report No. 115. Ames, Iowa, 1989.
8. Cox, N.A.: Contaminación por *Salmonella* en incubadoras comerciales. *Avicultura Profesional*, 7: 74-78 (1989).
9. Farkas, J.: Review microbiological safety of irradiated foods. *J. Food Microbiol* 9: 11-15 (1989).
10. Frazier, W.C. y Westhoff, D.C.: Microbiología de los Alimentos. 3a ed. *Acribia*, Zaragoza, España, 1985.
11. Gentry, R.F. and Quarles, C.L.: The measurement of bacterial contamination on eggshells. *Poult. Sci.*, 21: 930-933 (1972).
12. Harewood, M.P.: Technological assessment of irradiated eggs. Tesis de doctorado. *University of Rhode Island*. Rhode Island, USA, 1992.
13. Hefferman, E.B.: Touring the canadian irradiation centre. *Turkey world*, 67: 22-27 (1991).

14. Heneidi, Z.A.: Reglamentación sanitaria para el control de la salmonelosis aviar en México. Memorias del Curso de Actualización sobre Salmonella enteritidis y Campylobacter en las aves domésticas. México, D.F. 1991. *Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas*.
15. Humphrey, T.J.: Infección por Salmonella enteritidis en pollos y gallinas de postura. Memorias del Curso de Actualización sobre Salmonella enteritidis y Campylobacter en las aves domésticas. México, D.F. 1991. 22-26. *Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas*. México, D.F. (1991).
16. International Atomic Energy Agency (IAEA). Manual of Food Irradiation Dosimetry. Technical reports series No. 178. Vienna, 1977.
17. International Atomic Energy Agency (IAEA). Training Manual on Food Irradiation and Techniques. 2nd ed. Technical reports series No. 114. Austria, 1982.
18. International Atomic Energy Agency (IAEA). Food Processing by Irradiation: world facts and trends. New features No. 5, Vienna, Austria, 1989.
19. International Atomic Energy Agency (IAEA). Irradiation of poultry meat and its products. A compilation of technical data for its authorization and control. Vienna, Austria, 1993. TECDOC-688.
20. International Commission on Microbiological Specifications for Foods: Ecología Microbiana de los Alimentos Vol I. *Acribia*. Zaragoza, España, 1983.
21. Josephson, S.E. and Peterson, S.M.: Preservation of Food by Ionizing Radiation Vol I. *CRC Press Inc.*, Boca Raton, Florida, 1982.
22. López, J., Karpowics, E. y Becker, S.: Penetración de Salmonella enteritidis en huevos clasificados intactos sin llegar al contenido del huevo. Memorias del Curso de Actualización sobre Salmonella enteritidis y Campylobacter en las aves domésticas. México, D.F. 1991. 90-120. *Asociación Nacional de especialistas en Ciencias Avícolas*. México, D.F. 1991.
23. Luginbuke, R.C. and Sholotzhaver, S.D. SAS/STAT Guide for Personal Computers, 6th ed. *SAS Institute*. Cary N.C., 1987.
24. Marcotte, M.: Will consumers accept irradiated poultry. *Turkey world*, 67: 29-30 (1991).
25. Monte, N.F.: El dilema de la Salmonella enteritidis. *Avicultura Profesional*, 6: 132-134 (1989).

26. Organización Mundial de la Salud. La comestibilidad de los alimentos irradiados. Informe de un Comité Mixto FAO/OIEA/OMS de expertos. Serie de informes técnicos No. 659, Ginebra, 1981.
27. Padrón, N.M.: Infecciones paratifoideas en el pollo de engorda. *Avicultura Profesional*, 6: 123-130 (1989).
28. Padrón, N.M.: Factores que influyen en la penetración de las bacterias a través del cascarón. Memorias del I Curso de Manejo para la Prevención de los Problemas Aviarios. México, D.F. (1989).
29. Padrón, N.M.: Salmonella typhimurium penetration through the eggshell of hatching eggs. *Avian Dis.*, 34: 463-465 (1990).
30. Parsons, W.P. and Stadelman, W.J.: Ionizing irradiation of fresh shell eggs. *Poult. Sci.*, 36: 319-322 (1957).
31. Potter, N.N.: La Ciencia de los Alimentos. Harla. México, D.F., 1978.
32. Quintana, L.J.A.: Avitecnia: Manejo de las Aves Domésticas más Comunes. Trillas. México, D.F., 1988.
33. Rubio, T.: Aplicaciones de la irradiación de alimentos. Seminario Nacional de Irradiación de Alimentos. México, D.F. 1990. 50-57. ININ, OMS, OPS Y SSA. México, D.F. (1991).
34. Secretaría de Salud. Reglamento de la ley general de salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios. Publicado en el diario oficial de la federación el 18 de enero de 1988.
35. Secretaría de Salud. Anuario de Información Epidemiológica de Morbilidad en los Estados Unidos Mexicanos, 1988. Dirección General de Epidemiología, Departamento de Morbilidad. México, D.F. 1989.
36. Secretaría de Salud. Anuario de Información Epidemiológica de Morbilidad de los Estados Unidos Mexicanos, 1991. Dirección General de Epidemiología, Departamento de Morbilidad. México, D.F. 1992.
37. Sivinsky, J.S.: Transferencia a la industria de la tecnología del tratamiento de alimentos por irradiación. International Atomic Energy Agency (IAEA). Vienna, 1985. TECDOC-331.
38. Stadelman, W.J. and Coterill, D.J.: Egg Science and Technology. *The Avi Publishing Company Inc*, Connecticut, USA, 1977.

39. Villarreal, J.L.: Legislación de alimentos irradiados. III Seminario sobre Irradiación de Alimentos, México, D.F. 1989. 81-84. Instituto de Investigaciones Nucleares, México, D.F. (1989).

40. Williams, J.E. and Whittemore, A.D.: A method for studying microbial penetration through the outer structures of the avian egg. *Avian Dis.*, 11: 467-490 (1967).

41. Williams, J.E., Dillard, L.H. and Ball, O.G.: The penetration patterns of Salmonella typhimurium through the outer structures of chicken eggs. *Avian Dis.*, 12: 445-466 (1968).

42. Zar, J.: Bioestadistical Analysis, 2nd. Prentice Hall Inc. Englewood, Cliffs (1984).

Cuadro 1

UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC) OBTENIDAS MEDIANTE LA TECNICA DE GENTRY

GRUPO	UFC (log 10/ml) ($\bar{X} \pm D.E.$)
I	3.32 \pm 3.5 *
II	0 \pm 0
III	0 \pm 0
IV	0 \pm 0
V	7.26 \pm 0.62 *

\bar{X} = media , D.E.= desviación estándar

*. (P<0.05)

Cuadro 2
PORCENTAJE RECUPERADO DE *Salmonella enteritidis* OBTENIDO
CON LA TECNICA DE WILLIAMS EN LOS DIFERENTES GRUPOS
EXPERIMENTALES

GRUPO	AREAS DE MUESTREO		
	1	2	3
I	0 % (b)	5 % (b)	0 % (b)
II	0 % (b)	0 % (c)	0 % (b)
III	0 % (d)	0 % (e)	0 % (d)
IV	0 %	0 %	0 %
V	35 %	50 %	40 %

b, c, d, e: valores con distinta literal son estadísticamente significativos (P,0.025).

Cuadro 3
UNIDADES HAUGH OBTENIDAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS
EXPERIMENTALES

GRUPO	UNIDADES HAUGH ($\bar{X} \pm D.E.$)*
I	34.72 \pm 2.87 ^(b)
II	34.43 \pm 3.12 ^(b)
III	34.38 \pm 2.95 ^(b)
IV	66.72 \pm 3.50 ^(a)
V	67.00 \pm 3.64 ^(a)

* Medias con literal distinta tienen diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$)

\bar{X} = media, D.E.= desviación estándar

ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

Cuadro 4
COLOR DE LA YEMA OBTENIDO MEDIANTE LA ESCALA
COLORIMETRICA DE LABORATORIOS ROCHE

GRUPO	COLOR DE LA YEMA ($\bar{X} \pm D.E.$)*
I	7.1 \pm 1.59 ^(a)
II	4.9 \pm 0.56 ^(b)
III	4.5 \pm 0.84 ^(b)
IV	8.0 \pm 1.35 ^(a)
V	8.1 \pm 1.28 ^(a)

* Medias con literal distinta tienen diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

\bar{X} = media, D.E. = desviación estándar

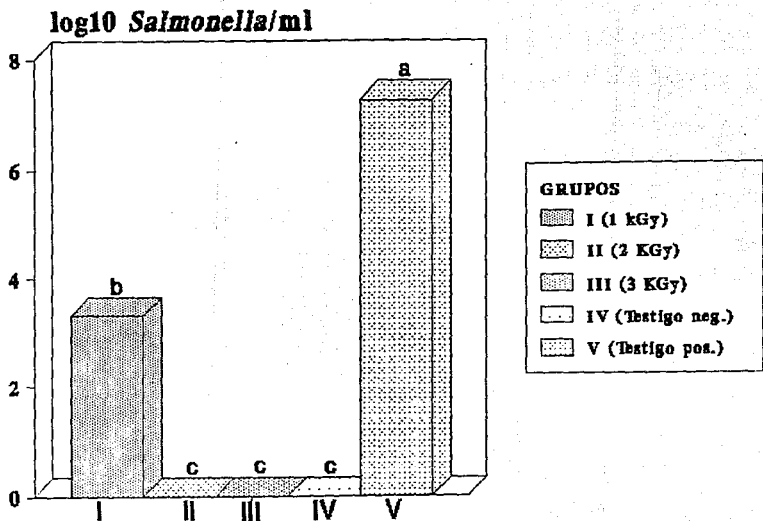


Figura 1. UFC de *S. enteritidis* obtenidas por la técnica de Gentry. Grupos con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

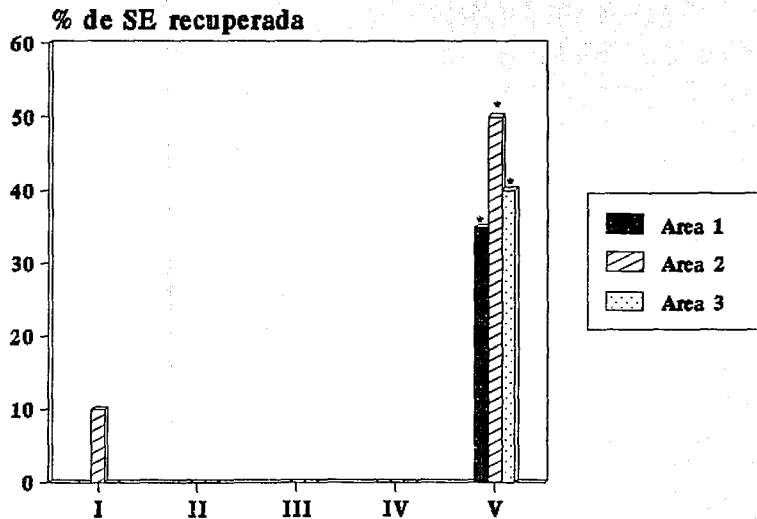


Figura 2. *S. enteritidis* recuperada mediante la técnica de Williams. * ($P < 0.05$)

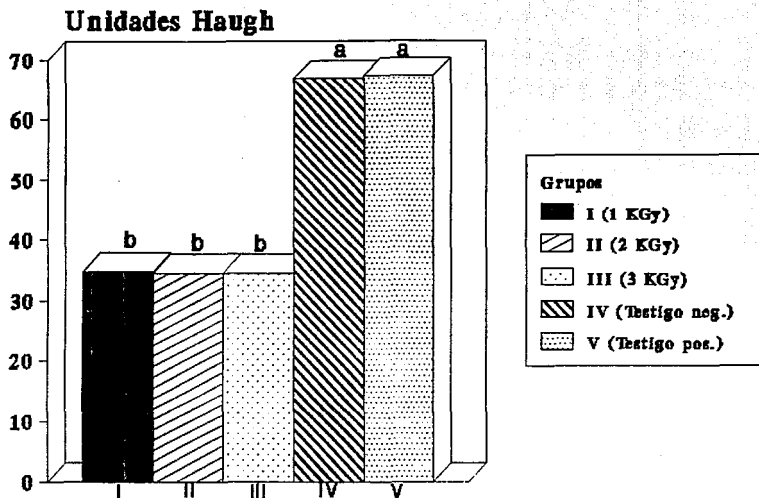


Figura 3. Medición de unidades Haugh
 Grupos con diferente literal son estadísticamente
 diferentes ($P < 0.05$)

Escala del colorímetro de Roche

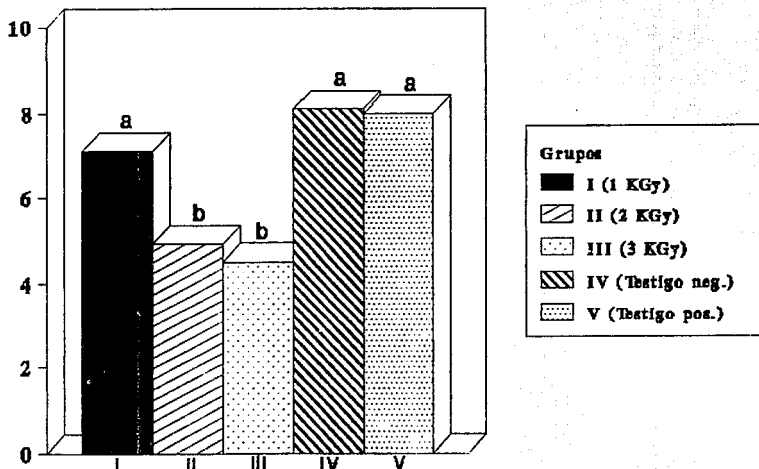


Figura 4. Evaluación del color de la yema
Grupos con diferente literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).