



300627  
16  
203

UNIVERSIDAD LA SALLE  
ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

" ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS METODOS DE SANITIZACION DE TE DE MANZANILLA POR  
ESTERILIZACION CON OXIDO DE ETILENO Y POR PASTEURIZACION CON CALOR SECO. "

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA  
GERARDO DE LAGO ACOSTA

DIRECTOR DE TESIS:

ING. RAFAEL DE REGIL GOMEZ MURIEL

México, D.F. a 02 de Junio de 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.

## I N D I C E

|  |    |
|--|----|
| 1.- Objetivo e Hipótesis.                        | 1  |
| 2.- Introducción.                                | 2  |
| 2.1.- El Té de Manzanilla.                       | 4  |
| 2.2.- Aspectos Microbiológicos.                  | 9  |
| 2.3.- Métodos de Sanitización.                   | 15 |
| 2.4.- Normas Oficiales Para el Oxido de Etileno. | 32 |
| 2.5.- Pruebas Sensoriales.                       | 39 |
| 3.- Material y Métodos.                          | 44 |
| 4.- Resultados.                                  | 54 |
| 5.- Análisis de Resultados.                      | 61 |
| 6.- Conclusiones y Recomendación.                | 63 |
| Bibliografía.                                    |    |

TABLA DE ABREVIATURAS

|  |       |
|--|-------|
| Oxido de Etileno .....   | OE    |
| Environmental Protection Agency .....                          | EPA   |
| Food and Drug Administration .....                             | FDA   |
| Generally Recognized As Safe .....                             | GRAS  |
| National Institute of Occupational Higyene<br>and Safety ..... | NIOSH |
| American Association of Health and Safety ..                   | OSHA  |
| United States Department of Agriculture ...                    | USDA  |
| Atmósferas .....   | Atm   |
| Partes por Millon .....  | ppm   |

## 1.- OBJETIVO

Ante la creciente tendencia mundial hacia la desaparición del sistema de esterilización de especias con Oxido de Etileno, se pretende buscar un método alternativo, el cual sea reproducible, seguro y que no requiera una alta tecnología, ni una gran infraestructura, además de tener un costo comparable o menor al del método con Oxido de Etileno.

El sistema a estudiar es utilizar una cámara de pasteurización que funcione a base de circulación continua de aire seco caliente.

### Hipótesis

El utilizar una cámara de pasteurización por calor seco dará la oportunidad de substituir el método de esterilización del té de manzanilla con Oxido de Etileno, por otro que a través de muerte térmica de la flora microbiana de como resultado un producto para el consumo público con la misma calidad microbiológica, sin residuos de agentes externos presumiblemente cancerígenos, y mínima diferencia notable de sabor con el producto actual de línea.

## 2.- INTRODUCCION

Durante los últimos años se ha presentado una creciente tendencia por parte de los mercados internacionales hacia una buena nutrición, esto ha repercutido en un alza en el consumo de productos 100% naturales.

Por ésta razón dentro del mercado de las bebidas el consumo de té ha ido ganando popularidad con respecto al café y a las bebidas gaseosas.(23)

El té (negro) es un estimulante moderado pues contiene cafeína, al igual que la contienen los granos del café, el extracto de cola utilizado en bebidas gaseosas y la cocoa. Las hojas de té contienen mas cafeína que los granos de café (en peso drenado), pero para hacer la comparación, una libra de té sirve para aproximadamente 200 tazas, una libra de café alcanza solo para 40. En promedio 6 onzas de café contienen de 100 a 200 miligramos de cafeína, la misma cantidad de té contiene de 50 a 60 mg., 6 onzas de bebida de cola contienen de 25 a 30 mg., y una taza de cocoa contiene 5 mg.(5)

El té de manzanilla contiene pequeñas cantidades de proteínas, carbohidratos, lípidos así como niveles marginales de algunas vitaminas, es un producto 100% natural y a diferencia del café, el té negro, o las bebidas de cola, no contiene cafeína.(23)

La tendencia hacia lo natural se ha venido desarrollando en un período en el que tanto los consumidores como la industria en general han aumentado sus exigencias en materia de calidad, sobre todo en el área microbiológica, por afectar directamente a la salud del consumidor; éste es un punto muy importante dentro de la producción del té de manzanilla en México.

Debido a que este tipo de té no requiere mas proceso que el de secado y molido antes de su venta al consumidor, y que estas operaciones se llevan acabo al aire libre en los centros de cosecha(23), la carga microbiana presente en el producto es extremadamente alta, por lo que se hace necesaria la utilización de un método de sanitización efectivo para esporas que deberá efectuarse antes del envasado, para su posterior distribución y venta.

Un sistema utilizado eficazmente hasta el día de hoy se basa en la inyección de un cierto grado de humedad seguida de una corriente de OE a alta presión, reportandose cuentas microbianas cercanas a cero.(11)

Esto se hace porque actualmente gran parte de las especias que consumimos vienen de otros continentes, muchas

son originarias de regiones tropicales donde los bajos niveles sanitarios combinados con climas húmedos y calientes fomentan el crecimiento de bacterias y hongos, por lo que la mayoría de los productos son tratados con OE cumpliendo así con las especificaciones microbiológicas para su consumo (4).

A pesar de su efectividad, el OE presenta algunos inconvenientes - como su posible efecto cancerígeno y la peligrosidad para el manejo -(7), que lo han llevado a su prohibición en algunos países europeos, y en ciertos estados de la Unión Americana.

A partir de la tendencia hacia la desaparición del OE, se desea desarrollar y optimizar el método de pasteurización con calor seco, a tal grado, que pueda substituir al actual sin presentar cuentas microbianas muy altas, ni detrimento de las características sensoriales del producto terminado.

Logrando así obtener un producto de un buen nivel de calidad, bajando al mismo tiempo el costo del proceso, y por ende el del producto, eliminando el peligro para la salud del consumidor y de los trabajadores.

## 2.1- EL TÉ DE MANZANILLA

### GENERALIDADES

La matricaria chamomilla l., mejor conocida como manzanilla, es una hierba anual de 20 a 50 cm de altura, de tallo erguido, lampiño, muy ramificado, tiene hojas de color verde claro, divididas en finas laciniadas. Presenta flores agrupadas en capítulos solitarios y pedunculados, con un receptáculo cónico y hueco. Las flores centrales son de tipo tubular de color amarillo, las periféricas constituyen lígulas blancas. tiene un periodo de floración que comprende de mayo a octubre.(24)

Existen dos tipos de plantas que llevan el mismo nombre, la "manzanilla romana" que no tiene otro valor que el decorativo, y la matricaria chamomilla l., verdadera manzanilla, con gran valor medicinal. Estas tienen un aspecto parecido y solo pueden ser diferenciadas por medio del examen de los capítulos florales (15).

La matricaria chamomilla l. crecía abundantemente en Grecia, donde era estimada por su peculiar perfume y sus virtudes medicinales(24), la substancia curativa principal de la planta es el aceite de tono azul profundo que se extrae de sus flores frescas, su color se debe a la presencia de un hidrocarburo denominado "azuleno", y cuanto más intenso es tanto mayor su poder anti-inflamatorio.(15)

Recientes estudios farmacológicos respaldan su uso tradicional como antiinflamatorio y sedante, y han comprobado que constituye un antiespasmódico eficaz para aliviar cólicos. La infusión de manzanilla se consume como té por su agradable sabor y efecto digestivo y tonificante.(24)

Los experimentos con animales han demostrado una acción antiinflamatoria muy útil sobre todo en casos de artritis y padecimientos similares.(24)

Las pequeñas cantidades de vitamina B, pigmentos, proteínas y minerales existentes en el té son casi en su totalidad inodoras e insípidas; es entonces la presencia de otros dos tipos de substancias, los taninos, que son altamente responsables del color y la pungencia del té, y los aceites esenciales, que determinan el color, la astringencia, el sabor y aroma del té. Estos, aunque pequeños en cantidad, son muy penetrantes y proveen en mucho las características de sabor y bouquet. En cuanto al sabor astringente y el color mas oscuro en una infusión

prolongada, es causado por una cantidad adicional de taninos liberados.(5)

La cantidad de taninos y aceites esenciales varia considerablemente de un té a otro, por tanto no podemos depender de un análisis químico para determinar la calidad de un té, lo que provoca que la autoridad final deba ser un catador especializado.(5)

La matricaria chamomilla l. asi como otras especias y saborizantes de origen natural están regulados por la FDA, y estan comprendidos entre los productos designados GRAS para su utilización en la preparación o como constituyente de alimentos para el ser humano.(27)

Actualmente podemos encontrar la manzanilla para infusiones (té de manzanilla), definida dentro de las Normas Oficiales Mexicanas como:

El producto elaborado con la flor amarilla y su tallo, sana y limpia de la hierba manzanilla común (matricaria chamomilla l.) que es sometida a un proceso de secado y molienda, usandose como infusión estomacal, antiespasmódica y febrifuga.(18)

## PRODUCCION EN MEXICO Y EL MUNDO

La manzanilla, nativa de Europa e introducida en América, se cultiva ampliamente en todo México, en escala comercial y doméstica. (24) Los principales estados productores de té del país son Puebla y el Estado de México, impulsados principalmente por su cercanía a compañías empacadoras establecidas en la capital del país.

Los principales países productores de té en el mundo son: Ceylan (ahora Sri Lanka), Norte y Sur de India, Indonesia (islas de Java y Sumatra), Taiwan, República Popular de China, Y Kenya; algunos productores menores de té son: Nueva Guinea, Brasil, Ecuador, Argentina, Turkia, el sur de Rusia, y aproximadamente una docena de países africanos. (5)

## PROCESO DE MANUFACTURA

El proceso actual de manufactura para el té de manzanilla comienza cosechando la flor, cuidando no cortar junto con ella mas de un 5% del tallo; Se deja secar al aire libre y estando ya a un nivel de humedad de aprox. 9 % se pasa por un molino para obtener un producto con una granulometría aproximada de malla 10, este producto a granel es empacado en sacos de 50 kg., los cuales son vendidos a los diferentes empacadores de té.

El producto, antes de ser empacado, es enviado a compañías esterilizadoras que lo someten a un proceso de sanitización con OE, el cuál reduce las cuentas microbianas a niveles cercanos a cero.

Estando ya sanitizado, es empacado en bolsitas de papel filtro con un contenido neto de 1 gr.; Algunas compañías colocan una envoltura de celofán a cada una de ellas para conservar su higiene microbiológica y su sabor por mas tiempo.

En esta presentación es como el producto llega a el publico para su consumo final.

## COMERCIALIZACION Y CONSUMO

Prácticamente todo el té que se consume en los Estados Unidos es té negro, constituido en un 98% de producto importado, representando un cambio muy importante en los patrones de consumo de hace 50 años, cuando el té negro y el verde representaban aproximadamente un 40% cada uno y otras variedades el 20% restante.(5)

La trayectoria de domino del mercado por el té negro se debe en parte a su uso en el té helado, que fue introducido en 1904, y actualmente representa el 70% del consumo total en los Estados Unidos.(5)

Otros cambios importantes han surgido de la creciente búsqueda de los alimentos de fácil preparación, como por ejemplo, la bolsa de té, inventada por un importador, que puso muestras de su producto en bolsitas fáciles de manejar y probar por el posible comprador. Así también encontramos el té instantáneo, que después de muchos intentos alcanzo niveles comerciales de manufactura en 1948.(5)

Una encuesta dirigida por la Asociación Americana del Té, demostró que para 1970, las bolsitas de té acaparaban el 48.3% del mercado, el instantáneo tenia un 30.7%, las mezclas de instantáneo (que ya contienen endulzantes, colorantes y saborizantes) contaban con un 15.1% del mercado, y el té a granel solo tenia un 7.9% del mercado total.(5)

En base a estos niveles de consumo, actualmente se ha eliminado la venta de té a granel directo al consumidor, y se estan convirtiendo en reliquias las teteras, que antes eran un utensilio de uso normal en la cocina.

El gran consumo causo que durante el año de 1973 la cantidad de té importada por los estados unidos ascendiera a 170 millones de libras.

Un estudio conducido por el USDA, atravez de la compañía " Corporación Americana de Investigaciones de Mercado " (MRCA), mostró que el consumo promedio durante 14 días en una muestra combinada de 1,967 personas tomadas de un total de 10,819 hombres y mujeres mayores de 2 años de edad fue de 141.63 gr por día.(16)

Del estudio anterior, resaltan los siguientes datos:

De una muestra de consumo de té en un periodo de 4 días no consecutivos en mujeres de 19 a 50 años y de sus hijos de 1 a 5 años, encontramos que, en niños, de un total de 196 bebidas ingeridas el 7.5% fue té, y la de mayor aceptación fue el jugo de frutas con un 40% del total; en las mujeres, de un total de 823 bebidas el 18% fue té, y la mas ingerida fue el café con un 36% del total.(16)

Del mismo estudio se desprende que de la población infantil evaluada el 26.1% tomo té cuando menos una vez durante los 4 días que duro el estudio, y en el caso de la población femenina adulta se encontro que el 54.4% lo tomo almenos una vez durante los 4 días del estudio.(26)

Un trabajo equivalente realizado para hombres de 19 a 50 años, enfocado en el consumo de un solo día y comparándolo contra él mismo pero realizado en 1977, reportó los siguientes resultados:

El consumo de té representó el 29.4% de las bebidas ingeridas, esto muestra una disminución del 1.2% contra 1977, el café fue la bebida mas consumida al reportar un 53.8% del total ( este porcentaje es el mismo que se obtuvo para el café en 1977).(16)

Es importante mencionar que en este estudio cuando hablamos de té nos referimos no solo al de hojas, sino tambien al instantáneo, con limón, azúcar, o con algún endulzante artificial, así como concentrados congelados, y de hierbas.(16)

## 2.2.- ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

### FUENTES DE CONTAMINACION

Las plantas en crecimiento poseen superficialmente una flora microbiana típica, pudiendo ésta aumentarse por contaminación proveniente del medio ambiente, la magnitud de ésta refleja uno o varios de los aspectos siguientes: La población microbiana del medio donde se tomó el alimento, las condiciones del producto crudo, el método de manipulación, el tiempo y las condiciones de almacenamiento; cada factor contaminante puede llegar a las plantas por medios muy diversos.(2)

### CONTAMINACION PROVENIENTE DEL SUELO

Pocos ambientes tienen tanta variedad de microorganismos como es el suelo; éste es una mezcla microscópica formada por miles de millones de bacterias, hongos y virus (22), los cuales siempre están en condiciones de contaminar las superficies de las plantas que ahí crecen.

El polvo proveniente del suelo puede contaminar al ser arrastrado por las corrientes de aire, así mismo las aguas pueden transportar partículas de tierra que son capaces de llegar a los alimentos; podemos decir, acertadamente, que la mayor parte de la contaminación superficial de las plantas viene del suelo.(3)

Las diferentes composiciones de los suelos, combinadas con las características físicas propias y las prácticas agrícolas con las cuales son cultivados, producen diferencias importantes en la densidad de la población microbiana que podemos encontrar en éstos.(22)

Es por esto que dentro de los modernos tratamientos a los que son sometidos los alimentos, el lavado de su superficie y por tanto la eliminación de la tierra que llevan es una práctica común.(3)

### CONTAMINACION PROVENIENTE DEL AGUA

Las aguas naturales no sólo contienen su flora microbiana típica sino también microorganismos arrastrados del suelo, posiblemente desperdicios de los animales e incluso material cloacal. Es por esto que las aguas superficiales de arroyos y corrientes, y las aguas almacenadas en lagos y grandes charcas varían considerablemente en su contenido microbiano, de millares

por mililitro, después de una precipitación pluvial, a un número relativamente bajo debido a la autodepuración que sufren tanto las aguas tranquilas de lagos y estanques como las aguas corrientes.(3)

Las aguas subterráneas de fuentes y pozos, al atravesar capas rocosas y térreas hasta alcanzar un nivel determinado, pierden la mayor parte de sus microorganismos y del material orgánico en suspensión, su contenido microbiano varía entre unos pocos a varios cientos de microorganismos por mililitro.(3)

Comúnmente podremos encontrar dentro de la flora microbiana del agua los géneros Streptococos, Enterobacter, y Escherichia, los cuáles no son flora normal de ésta, pero son contaminantes muy comunes (3), y afectan fácilmente al ser humano.

Por lo general, dentro del agua es más importante, la clase de microorganismos que pueda llevar a los alimentos, que la cantidad total de los mismos.(3)

#### CONTAMINACION PROVENIENTE DEL AIRE

La flora microbiana del aire es transitoria y variable; ya que no es un medio en el que los microorganismos puedan desarrollarse, pero es portador de materia particulada, polvo y gotas, que pudieran estar cargados de microbios,(22) por esto la contaminación de los alimentos a partir del aire es muy importante, pues algunos organismos patógenos pueden llegar por medio de este a los manipuladores de industrias alimentarias y a los alimentos mismos.(3)

Tomando en cuenta que los microorganismos presentes en el aire no tienen oportunidad de desarrollarse en el, los más resistentes a la desecación serán los que persistiran como flora latente, como consecuencia de esto, el principal contaminante por este vehículo son las esporas de hongos.(3)

#### DURANTE LA MANIPULACION

La contaminación de los alimentos puede tener lugar antes de que estos sean obtenidos o cosechados, o puede originarse durante la manipulación o tratamiento de los mismos. También puede haber una contaminación adicional procedente del equipo empleado, los materiales de empaque y el personal.

La contaminación debida al factor humano puede llegar a niveles importantes dependiendo de las condiciones de trabajo y el nivel de salud general de cada empleado.

Algunos autores consideran que los seres humanos eliminan de  $10^3$  a  $10^4$  microorganismos viables por minuto.(3)

#### NORMA DE CALIDAD

Dentro las Normas Oficiales Mexicanas encontramos regulada la producción y comercialización de la matricaria chamomilla l., bajo el título de manzanilla para infusiones.

En ella encontramos las siguientes especificaciones:(18)

#### MANZANILLA PARA INFUSIONES

##### Sensoriales:

Color: Amarillo característico  
Olor: Dulce y fresco  
Sabor: Característico  
Aspecto: Fragmentos pequeños de la manzanilla

##### Físicas y Químicas:

|   |          |
|---|----------|
| Humedad (%)   | 12 max.  |
| Cenizas (%)   | 10 max.  |
| Extracto etéreo (%)   | 4.5 max. |
| Extracto acuoso (%)   | 30 min.  |
| Proteínas (%)   | 12 min.  |
| Fibra cruda (%)   | 15 max.  |
| Alcalinidad de las cenizas solubles.<br>(cm <sup>3</sup> HCl 0.1 N/100 g) | 35 max.  |
| Cenizas solubles en H <sub>2</sub> O (%)                                  | 4 max    |

##### Microbiológicas:

El producto objeto de esta norma al ser preparado de acuerdo a las instrucciones declaradas por el fabricante, no debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas, ni otras sustancias tóxicas que puedan afectar la salud del consumidor o provocar deterioro del producto.

Con respecto a las especificaciones sensoriales, físicas y químicas no hay ningún comentario. Apartir de esta norma se puede apreciar que las exigencias gubernamentales, con respecto a la calidad microbiológica del té de manzanilla que sale a la venta, son casi nulas, pues se está tomando como base que si la infusión es preparada según las

instrucciones del fabricante, (sumergir la bolsita 3 min en agua hirviendo), el producto final estará libre de microorganismos; por esto, la responsabilidad de la calidad microbiológica final del té recae sobre el consumidor y no sobre el fabricante.

#### METODOS OFICIALES DE PRUEBA

NOM-F-248-1975(19)

#### PREPARACION DE LA MUESTRA

Se pesa 1 gr de la especia transfiriéndose a un frasco de dilución, completando a 100 ml con solución buffer de fosfatos, y agitando durante 5 minutos. Se preparan diluciones decimales si se cree conveniente, agitándose durante un minuto y dejando asentarse las partículas gruesas antes de medir la cantidad para la siguiente dilución o para sembrar las cajas de Petri.

#### CUENTA TOTAL

Se transfiere 1 ml de la muestra o diluciones según se estime necesario a cajas de petri estériles. Se agregan de 12 a 20 ml del medio de cultivo triptona agar extracto fundido a temperatura de  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Se mezcla la muestra cuidando de que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejando solidificar, e incubando las cajas en posición invertida durante 48 hrs. a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Contar el número de colonias que aparezcan en las placas y seleccionar para el reporte aquellas donde aparezcan de 30 a 300, ya que en ellas es menor el error en el recuento.

#### CUENTA DE HONGOS Y LEVADURAS

Se procede como se indicó para la cuenta total, substituyendo el medio por agar-papa-glucosa acidificado a un pH de 3.5 con ácido tartárico. Incubando dos cajas a  $28^{\circ}\text{C}$  por 5 días, reportando las colonias de hongos y levaduras que aparezcan en las placas.

## COLIFORMES TOTALES

Transferir un mililitro de la dilución 1:10 a una caja de petri, agregar de 12 a 15 ml. del medio agar rojo violeta bilis fundido a 45°C ± 1°C, mezclar correctamente, dejar solidificar y agregar otros 4 ml. extendiendolos para cubrir completamente la superficie.

Dejar solidificar e incubar las cajas en posición invertida durante 24 horas a 37°C ± 2°C.

Contar las colonias de color rojo oscuro con halo de precipitación y diámetro de 0.5 mm ó mayor, éstas se consideran típicas de los organismos coliformes (pueden o no mostrar halo).

## PRESENCIA DE Escherichia coli

Se inocula 1 ml de la dilución 1:10 en 3 tubos de fermentación con caldo lactosado, incubandose a 37°C ± 2°C de 24 a 48 horas.

Se reportará Escherichia coli positivo cuando haya formación de gas.

## PRESENCIA DE Salmonella

Procedimiento previo de enriquecimiento de la muestra:

Se toma una muestra de 50 g. agregandosele 500 ml de caldo lactosado, e incubando a 37°C ± 2°C durante 24 horas. Si se observa desarrollo, mezclar agitando suavemente, y tomar porciones de 1 ml y pasarlas a recipientes que contienen respectivamente 10 ml de medio fluido de selenito-cistina y 10 ml de medio fluido de tetrationato. Mezclar e incubar a 37°C ± 2°C durante 24 horas.

Empleando un asa de platino para inoculación se toman porciones de los medios selenito-cistina y tetrationato pasandose a la superficie de 3 cajas de petri que contienen separadamente, medio de agar verde brillante, medio de agar-xilosa-lisina-desoxicolato y medio de agar-sulfito-bismuto. Las cajas se incuban invertidas a 37°C ± 2°C durante 24 horas. Si al examinarlas, ninguna de las colonias encontradas corresponde a la descripción dada en la tabla de características morfológicas, se prolonga la incubación por 24 horas más.

La ausencia de colonias descritas en la tabla de características morfológicas indica que el producto no contiene Salmonella.

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LAS ESPECIES SALMONELLA  
EN EL MEDIO DE AGAR SELECCIONADO

| Medio Seleccionado                        | Descripción de la colonia   |
|---|---|
| Medio de agar verde brillante.            | Pequeña, transparente, incolora o de color rosa a blanco opaco (frecuentemente rodeada de una zona de color rosa a roja). |
| Medio de agar xilosa lisina desoxicolato. | Roja con o sin centros negros.  |
| Medio de agar sulfito de bismuto.         | Negra o verde.  |

Si al examinar las colonias, éstas corresponden a la descripción dada en la tabla, se procedera a su identificación, tomando individualmente dos o tres colonias sospechosas, por medio de un asa de platino para inoculación pasándolas a un tubo inclinado con medio de agar de hierro y triple azúcar. La siembra se efectua por estrias en la superficie y por picadura hasta el fondo del agar. Incubando a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Se considera cultivo sospechoso cuando presenta las estrias rojas y fondo amarillo con o sin coloración negra (producción de gas  $\text{H}_2\text{S}$ ).

CALCULO O INTERPRETACION DE RESULTADOS

CUENTA TOTAL, CUENTA DE HONGOS Y COLIFORMES TOTALES

Se cuentan las colonias que aparezcan en la placas multiplicandolas por la inversa de la dilución para obtener el número de éstas por mililitro o gramo de muestra.

Escherichia coli y Salmonella

Se reporta presencia o ausencia de Escherichia coli y Salmonella.

## 2.3.- METODOS DE SANITIZACION

### GENERALIDADES

La preservación de los alimentos está asociada íntimamente con tratamientos externos aplicados para lograr una mayor duración o una mejor calidad del producto, actualmente podemos reunir estos métodos en siete grupos específicos:(22)

- 1.- Manejo aséptico
- 2.- Calor
- 3.- Temperaturas bajas
- 4.- Deshidratación
- 5.- Presión osmótica
- 6.- Químicos
- 7.- Radiaciones

Dichos sistemas de conservación se basan en uno o más, de los siguientes principios: a) Prevención o eliminación de contaminantes, b) Inhibición del desarrollo y metabolismo microbianos (acción microbiostática), c) Muerte de los microorganismos (acción microbicida); todos buscando mantener las características originales del producto por el mayor tiempo posible.(22)

Para la aplicación que nos interesa, tres de estos grupos pudieran ser utilizados: a) Calor, b) Deshidratación, c) radiaciones.

El tratamiento por calor lo encontramos como uno de los más usados, ya que la temperatura elevada es uno de los métodos más seguros y fáciles para conservar los alimentos, pudiendo aplicarse a una amplia gama de productos. Este puede subdividirse en tres sistemas específicos: a) Ebullición, b) Vapor a presión, c) Pasteurización.(22)

El calor se emplea para destruir los microorganismos existentes en latas, frascos y otros recipientes destinados a contener alimentos; la preservación de estos por calor requiere que sea conocida la resistencia de los microorganismos al calor; en particular la de las esporas (las cuales son más resistentes), ya que la muerte de la flora microbiana es una relación entre el tiempo y la temperatura de proceso.(22)

Uno de los procesos más usados en la industria, es el conocido como pasteurización, el cual consiste en elevar la temperatura de un líquido a aprox. 62°C, durante 30 minutos y posteriormente enfriarlo bruscamente.

Apesar de todas sus ventajas, uno de los principales problemas del tratamiento con altas temperaturas, es que no todos los alimentos conservan su buen sabor, características organolépticas o su valor nutritivo al ser procesados.

#### METODOS ALTERNOS PARA LA SANITIZACION DE ESPECIAS

Algunos métodos alternativos potenciales para la reducción de la carga microbiana en especias, incluyen irradiación con rayos gamma, tratamiento por medio microondas, deshidratación, y exposición al óxido de propileno o bromuro de metilo.(4)

El uso de este gas es ampliamente preferido para el control de microorganismos cuando es comparado con cualquiera de los métodos alternos.(4)

La irradiación con rayos gamma es efectiva para reducir la flora microbiana de una gran cantidad de especias sin afectar su calidad (su uso esta aprobado por la FDA), la irradiación con rayos gamma es considerada tan efectiva como el OE para el control de contaminaciones microbiológicas, apesar de esto, muchos procesadores de alimentos se niegan a aceptar especias tratadas con este método, debido a que no quieren arriesgarse a una respuesta adversa de los consumidores hacia sus productos.(4)

La EPA considera que el tratamiento de especias con OE cuesta aproximadamente de 4 a 6 centavos de dolar por libra, mientras el método por irradiación cuesta entre 8 y 23 centavos de dolar por libra; este costo no incluye los gastos de transportación, los cuales fueron calculados en un máximo de 10 centavos de dolar por libra de especia, en caso de que el producto tuviera que viajar hasta los centros de irradiación. ( en 1990 de todo Estados Unidos solo una planta, en California, estaba trabajando con irradiación de especias.)(4)

Debido a sus estrictas normas ecológicas y de medicina ocupacional, en California, se ha generado gran interes para usar óxido de propileno en vez de OE para sanitizar especias. El óxido de propileno es 10 veces menos tóxico que el OE, sin embargo la EPA estima que el óxido de propileno es menos efectivo que el OE como esterilizante, ya que es de menor reactividad y menos penetrante que el OE, ademas de ser mas difícil de remover con aereación después del tratamiento.(4)

Los otros métodos son mucho menos efectivos que el OE para la reducción de la carga microbiana en especias.(4)

Otra limitante para el cambio de método de sanitización es el impacto económico que este trae consigo, desde la inversión en modificar las cámaras de OE a que funcionen con óxido de propileno, hasta la campaña educacional al consumidor y que éste acepte sin prejuicios las especies irradiadas con rayos gamma; la EPA calcula que el impacto económico de este cambio en los Estados Unidos costaría, durante el primer año, de 90 a 100 millones de dolares.(4)

Por lo tanto como hay pocos agentes, o tal vez ninguno, que sean substitutos totalmente confiables del OE para usos regulados por la EPA y la FDA, el OE parece tener uso presente y futuro en la rama alimenticia.

## ESTERILIZACION CON OXIDO DE ETILENO

### GENERALIDADES

Dos aplicaciones que el hombre ha encontrado para algunos tipos de gas son la esterilización y la fumigación (entendiéndose por fumigación el desinfectar algún objeto a través de humos o gases). En estas aplicaciones un gas es utilizado para matar bacterias y otros microorganismos en instrumentales médicos y farmacéuticos, así como para fumigar interiores de aviones, equipo de transportación ferroviario y especies comestibles.(figura 1)(11)

La facilidad de usar un gas como esterilizante es atribuible primariamente a las propiedades únicas del OE, éste tiene la propiedad de matar todas las formas de vida y a la vez prevenir el desarrollo de cepas resistentes. Además las propiedades esterilizantes del OE son complementadas con su capacidad para penetrar materiales de empaque.

Utilizando OE, o una mezcla de éste, los materiales a tratar pueden ser empacados, sellados, y hasta colocados en cajas para su embarque antes de entrar a la cámara de esterilización, el gas penetrará el empaque y rodeará los objetos a esterilizar de manera que todas sus partes queden esterilizadas.(11)

Aún teniendo todos estos atributos, el OE debe ser tratado con gran cuidado; en su forma pura es extremadamente flamable, explosivo y tóxico.

Tomando en cuenta que para mantener su efectividad deberá permanecer tóxico, sus características de flamabilidad y explosividad pueden ser eliminadas mezclándolo con gases inertes como el Diclorodifluorometano (CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>), o el Bióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>).(11)

El uso de gas para esterilización ha ido ganando popularidad, pues la mayoría de los artículos no toleran las altas temperaturas, humedad y presión, que son características de los métodos con vapor o calor seco.(11)

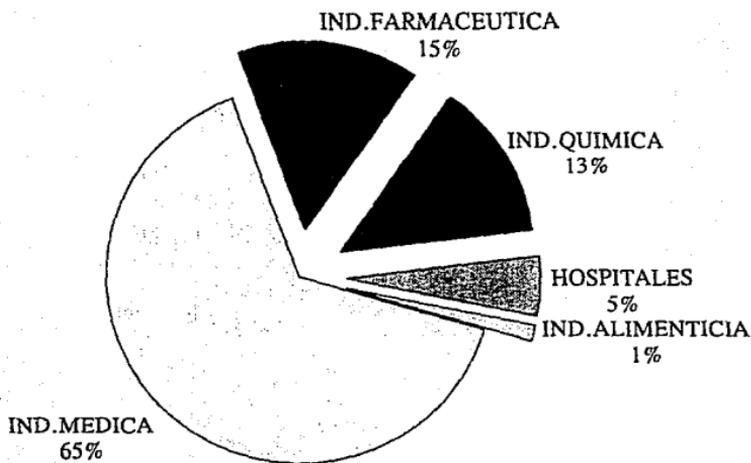
Aunque la esterilización por gas es tecnología relativamente nueva, de una forma u otra, la historia del uso de gas se remonta por lo menos hasta los tiempos de la antigua Grecia, donde utilizaban los gases emitidos al quemar azufre para deodorizar y desinfectar.(11)

Durante los años 30's, tanto el formaldehído como el vapor se usaban para desinfectar ropa y sábanas de los hospitales; como la mayoría del equipo no era desechable, la esterilización se llevaba a cabo en "autoclaves".(11)

Durante los años 50's y 60's se inició la esterilización por medio de gas, para convertirse en la herramienta que es actualmente(11); en la figura 1 se observa como se distribuye el mercado de gases esterilizantes.

# GASES ESTERILIZANTES

## CONSUMO POR TIPO DE MERCADO (fig.1)



## EL PROCESO DE ESTERILIZACION CON GAS

### EQUIPO

El concepto de la esterilización con gas no es muy complejo, pero el proceso requiere precaución y control.

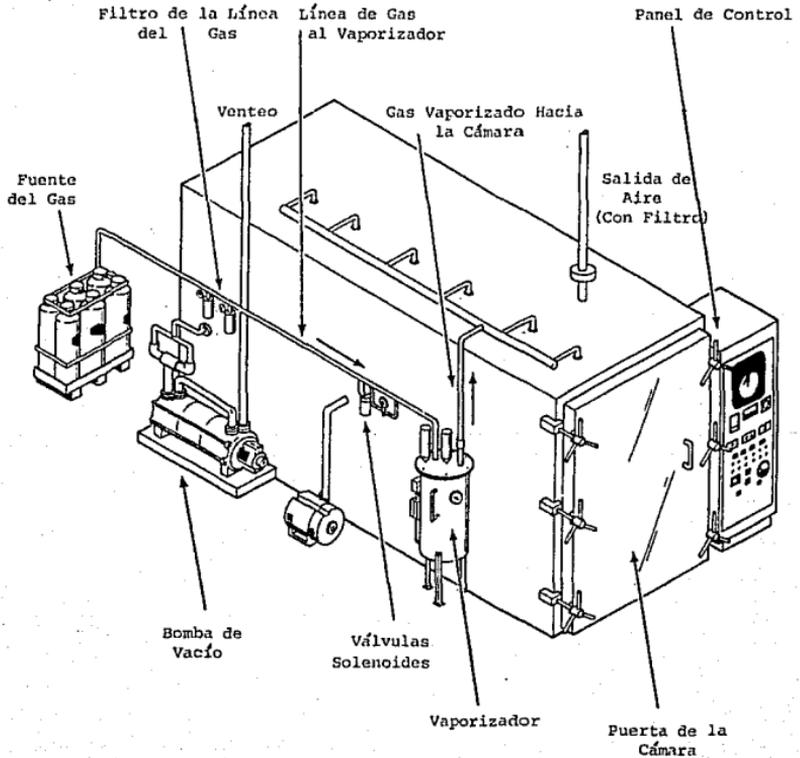
Para que un material sea esterilizado adecuadamente, requiere ser expuesto a un gas esterilizante a la concentración exacta, por un periodo de tiempo específico, a una cierta temperatura y humedad, y un nivel especial de presión.(11)

Como una regla, los parámetros de operación de esterilizadores utilizados en hospitales son prefijados por el fabricante del equipo. Es sólo en el caso de grandes esterilizadores industriales que el usuario puede ajustar variables como: temperatura y nivel de humedad; comúnmente estos ajustes son determinados en base a datos tomados durante los procesos de validación para la esterilización de un producto específico.(11)

Aunque los esterilizadores varían de un fabricante a otro, todos funcionan de una manera similar, tienen un sistema de transporte de gas que une la cámara con una fuente externa, y un sistema de filtración construido en línea con el sistema de transporte, para eliminar las partículas sólidas que pudiesen ser acarreadas por el esterilizante.

Posteriormente un vaporizador convierte en vapor al esterilizante (que se vende en forma líquida), una válvula controla la entrada de gas a la cámara y una puerta con sello de aire previene fugas del gas tóxico hacia el ambiente; el sistema de evacuación y entrada de aire permite que la cámara sea purgada después de que el ciclo de esterilización ha sido completado.(figura 2)(11)

DIAGRAMA ESQUEMATICO DE UNA CAMARA INDUSTRIAL PARA  
ESTERILIZACION CON OXIDO DE ETILENO (fig.2)



## EL PROCESO

Algunos artículos pueden requerir una limpieza previa a ser colocados dentro de la cámara, ésto es muy importante cuando se van a esterilizar productos altamente contaminados. (11)

Los materiales son colocados dentro de la cámara de esterilización, la puerta de acceso es cerrada, y el interior es calentado usualmente entre 54°C y 60°C; como una regla, mientras mas alta es la temperatura mas corto es el tiempo requerido de exposición al gas. (11)

Después de que la cámara ha alcanzado la temperatura de operación, un vacío parcial es generado dentro de ésta; este previene la dilución con aire del gas esterilizante, y en el caso de esterilizantes flamables (OE puro), la eliminación del aire reduce la probabilidad de ignición. Crear el vacío adecuado puede tomar desde 4 hasta 45 minutos, dependiendo del producto (algunos pueden deteriorarse con cambios repentinos de presión). Cuando el vacío es alcanzado, se inyecta vapor de agua para crear una humedad relativa del 30% al 60%, comúnmente seguido por un " periodo de residencia " con el fin de asegurar la humectación de todo el producto, la duración de este periodo dependerá de la naturaleza de el material a esterilizar, una humectación adecuada es clave para el proceso de esterilización, debido a que un microorganismo en un medio húmedo es mas susceptible a la acción del esterilizante. (11)

Finalmente, el gas es introducido en la cámara, la presión depende del tipo de gas utilizado (OE puro o alguna mezcla), normalmente la presión del gas dentro de la cámara varía desde 0.5 atm. (con OE puro), hasta 2.24 atm. con una mezcla de 10% de OE puro y 90% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). La concentración del esterilizante dentro de la cámara esta relacionada con la presión del gas dentro de esta. Para determinar la concentración exacta del OE dentro del equipo, un numero creciente de empresas esterilizadoras están efectuando análisis instrumentales del gas dentro de la cámara. (11)

El tiempo que el gas es mantenido dentro de la cámara depende de muchos factores; como son: temperatura, presión, niveles de humedad, la mezcla de esterilizante utilizada, y el material que esta siendo esterilizado; además de que algunas bacterias son especialmente resistentes y por tanto requeriran mayor tiempo de exposición para ser destruidas.

Después de este periodo, el gas es evacuado por medio de lo que se conoce como postvacío. Cuando el esterilizante utilizado no era flamable, aire estéril es usado para "lavar" el OE residual en el producto, cuando un

esterilizante flamable fue utilizado se puede aplicar nitrógeno o bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) para "lavar" los residuos de OE en el producto.(11)

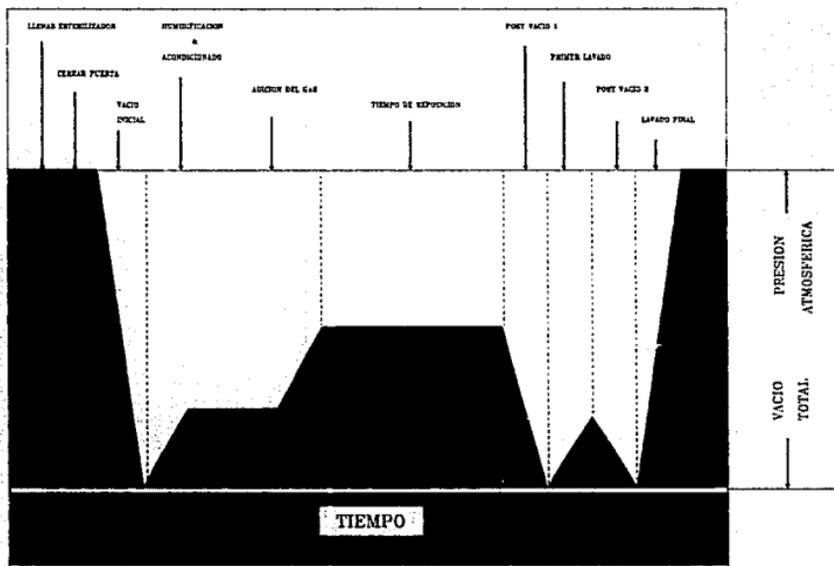
Después de ser "lavado", el material es removido del esterilizador pasando por un periodo de aereación que busca terminar la eliminación de los residuos de OE, esto es particularmente importante cuando el material procesado va a tener contacto con el cuerpo humano.(11)

Cuando aun así quedan residuos de OE en el material procesado, este puede ser eliminado a través de una aereación con calor, el tiempo y temperatura a ser utilizados varían, y son dependientes de factores iguales a los que determinan el tiempo de exposición al esterilizante.(11)

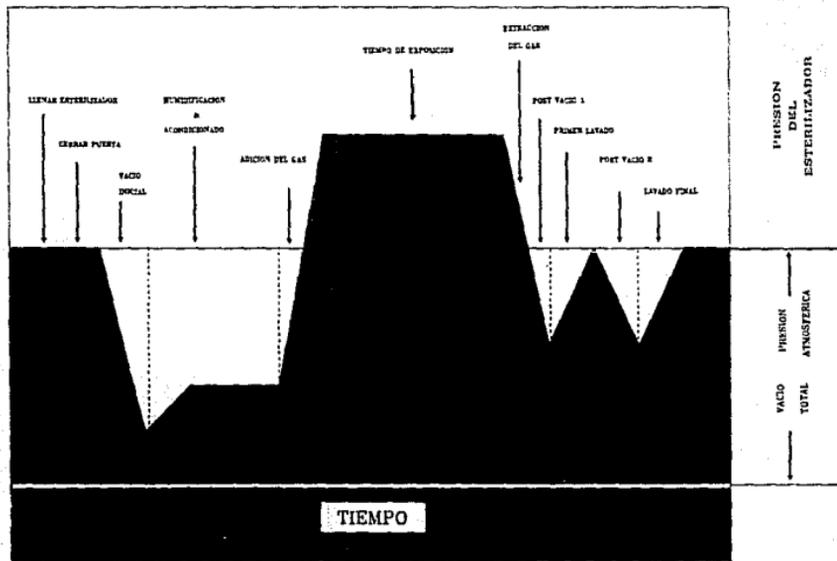
Usando un sistema de monitoreo se asegura la efectividad del proceso para destruir toda la flora microbiana contenida inicialmente en el material. Este sistema esta basado en un punto de vista estadístico, y los niveles generalmente alcanzados aseguran menos de una probabilidad en un millón de tener un producto no estéril después de haber sido procesado.(11)

Esquemas del ciclo típico de esterilización con OE puro y con diferentes mezclas esterilizantes pueden ser observados en las figuras 3 y 4.

# CICLO TÍPICO DE ESTERILIZACIÓN OXIDO DE ETILENO PURO (fig.3)



# CICLO TÍPICO DE ESTERILIZACIÓN MEZCLAS DE ÓXIDO DE ETILENO CON GASES INERTES (fig.4)



## TIPOS DE GASES ESTERILIZANTES Y SUS APLICACIONES

### OXIDO DE ETILENO PURO

El OE puro  $C_2H_4O$  ( oxirano, epoxyetano, oxido de dimetileno) es el gas esterilizante mas potente utilizado (3), es incoloro, se condensa a bajas temperaturas formando un liquido incoloro que ebulle a  $10.4^{\circ}C$  y 760 mm de Hg., es miscible en cualquier proporci3n con agua, alcohol, 6ter, y en la mayoria de los solventes org6nicos comunes (7). Tiene un ligero olor a 6ter en concentraciones relativamente altas, su forma pura es altamente flamable y explosiva; a temperatura ambiente mezclas que contengan un 3% de OE pueden hacer ignici3n si son expuestas a una chispa en presencia de aire (11). El vapor de OE puro en condiciones normales de almacenamiento, es mas difi3cil de encender que las mezclas de este con aire, o mezclas de hidrocarburos con aire (7). El vapor de OE es mas pesado que el aire y puede viajar distancias considerables hacia una fuente de ignici3n e inflamarse desde este punto hasta el lugar de la fuga.(6)

El OE reacciona exot6rmicamente, especialmente en la presencia de catalizadores, con todos los compuestos que presenten un 6tomo de hidrogeno labil, como el agua, alcoholes, aminas, amonio, y 6cidos org6nicos.(7)

El OE es el 6nico producto quimico conocido que r6pida y efectivamente penetra muchos materiales de empaque porosos o semiporosos y que al mismo tiempo destruye la flora microbiana presente. Quimicamente el OE es la mol6cula c3clica de carbono mas peque1a posible, conteniendo un "grupo ep6xico".(7)

No importando lo delicado y peligroso de su manejo, muchos hospitales y empresas esterilizadoras equipadas para un manejo seguro del gas, lo utilizan en su forma pura.(11)

### MEZCLAS ESTERILIZANTES

En el mercado se pueden encontrar una gran variedad de mezclas esterilizantes, todas teniendo como ingrediente activo el OE y mezcl6ndolo con uno o dos gases inertes como el Diclorodifluorometano ( $CCl_2F_2$ ), o el Bi6xido de Carbono ( $CO_2$ ).(11)

De estas, la mas popular es la que contiene 12% de OE (en peso), y 88% de Diclorodifluorometano ( $CCl_2F_2$ ), su popularidad ser atribuida a varios factores, uno de los mas importantes es que contiene la mayor concentraci3n posible de OE sin perder su estatus de mezcla no flamable, debido a que contiene una concentraci3n relativamente alta de OE puede ser utilizada en esterilizadores de baja presi3n, los

cuales comúnmente son de construcción y mantenimiento menos costoso que las unidades para alta presión.(11)

#### PASTEURIZACION CON CALOR SECO

El método de pasteurización con calor seco sustenta las mismas bases de la pasteurización de líquidos, la cual debemos entender como la acción de calentar el producto a una temperatura de 62°C, y mantenerlo a esta temperatura por lo menos durante un periodo de 30 minutos, buscando a través de la temperatura desnaturalizar las proteínas celulares de los microorganismos patógenos presentes, logrando así la muerte de estos, y por tanto aceptación para su consumo de los productos así procesados.(22)

La pasteurización con calor seco es utilizada para productos sólidos (principalmente aquellos con características higroscópicas), como pastas, granos, productos lácteos deshidratados y albúmina de huevo deshidratada; este método consiste en colocar el producto a tratar en una cámara térmica, y con aire caliente, elevar la temperatura a niveles parecidos a los utilizados con productos líquidos, manteniéndola por un periodo más prolongado (de 1 a 5 días); esto ha demostrado dar buenos resultados y está siendo utilizado actualmente en la industria alimenticia.

#### EQUIPO

Para su aplicación, el equipo comúnmente utilizado es una cámara térmica, construida en madera o metal con un recubrimiento interno, el cual tiene como función aislar el interior de la cámara de los cambios de temperatura del medio ambiente y a la vez optimizar la utilización del sistema de calentamiento de la cámara.

Este consta de un serpentín, por donde fluye agua caliente, y de dos ventiladores, los cuales provocan una turbulencia de aire a través del serpentín hacia la cámara, siendo este el agente directo de calentamiento del producto a procesar.

La cámara está diseñada con difusores y paredes inclinadas, que puedan crear una turbulencia de aire suficiente para lograr una temperatura homogénea en cualquier punto de la cámara.

Es importante mencionar que la homogeneidad de la temperatura se ve afectada por varios factores:

- a) Tipo de material a procesar: La naturaleza del material a procesar es muy importante, puesto que dependera de su coeficiente de transferencia de calor el que el centro geométrico del contenedor alcance una temperatura igual a la del exterior del empaque (condición que sabemos es casi imposible).
- b) Material de empaque o contenedor utilizado: El material de empaque utilizado durante el proceso influirá fuertemente en la efectividad del proceso, no solo por su capacidad de permitir el paso del calor a través de sí mismo y hacia el producto, sino que también por su capacidad de retener la temperatura una vez estabilizada (para este caso no será lo mismo un empaque de papel kraft que uno de polietileno).
- c) La distribución del producto dentro de la cámara: El acomodo de los contenedores del producto, ya sean sacos, tambores, cajas o cuñetes, es crítico en la eficiencia del proceso, puesto que este deberá propiciar un buen flujo de aire y por tanto de temperatura, por toda la cámara y de ser posible por todas las caras de los contenedores.

Para ayudar en este punto se utilizan separadores o rejillas de madera entre las capas de producto, logrando túneles de aire para así elevar la temperatura del producto lo más rápido posible.

#### EL PROCESO

Para el adecuado tratamiento de algún producto sólido con el sistema de pasteurización en seco, es necesario primero colocarlo en el contenedor que ha sido evaluado como conveniente para el proceso al que va a ser sometido, tomando en cuenta que para este tipo de tratamiento comúnmente se utilizan contenedores de alto volumen, los que no serán utilizados como empaque final para venta al consumidor.

Los materiales son colocados dentro de la cámara, la puerta de acceso es cerrada, iniciándose tanto el flujo de agua caliente a través del serpentín como los ventiladores.

Se eleva la temperatura de hasta alcanzar entre 55 y 70°C dependiendo del producto a procesar, en este caso se

mantiene la relación tiempo/temperatura mencionada para el proceso con OE.

Una vez alcanzada la temperatura de proceso, está se mantiene constante durante un periodo mínimo de 120 hrs, durante las cuales esta se monitorea para asegurar la eficiencia del proceso.

Terminado el tiempo de proceso se apaga el flujo de agua, los ventiladores y se vacía el producto, muestreando y analizándose mandándolo posteriormente al área de proceso para su empaque final.

#### VENTAJAS DEL PROCESAMIENTO TERMICO

El calor como método de destrucción de flora microbiana es uno de los mas usados debido a los beneficios que presenta con respecto a otros métodos utilizados comercialmente.

Algunos de estos beneficios son:

- a) Amplio rango de aplicación.- El usar calor para destruir microorganismos es uno de los sistemas mas antiguos y con amplio uso en la industria alimenticia, debido a que una gran variedad de alimentos pueden ser sometidos a este tipo de proceso sin perder muchas de sus características originales. Su efectividad como bactericida esta ampliamente comprobada en una gran variedad de alimentos y con una amplia gama de microorganismos; Es a través de este método como muchos productos son llevados al mercado con un nivel microbiológico conocido como esterilidad comercial.

Actualmente podemos encontrar procesos de destrucción microbiana en alimentos que van desde granos, pastas, deshidratados, líquidos hasta hortalizas y carnicos, manteniendo siempre altos niveles de calidad y sabor.

- b) Baja disminución de características organolépticas.- Como ya se mencionó los alimentos procesados utilizando calor tienen un mínimo deterioro de sus características organolépticas originales. Actualmente podemos encontrar procesos diseñados para productos hasta cierto grado termolabiles, logrando mantener no sólo sus características de sabor y consistencia sino también su valor nutritivo original.

- c) Contribución al sabor, color y textura del alimento.- Como parte de los beneficios de estos métodos podemos encontrar que el mismo proceso microbicida aporta además del nivel microbiológico comercialmente aceptado, características de sabor, color y textura que contribuyen a la aceptación del producto por parte del consumidor final.
- d) Bajo costo en infraestructura.- Aunque podemos encontrar equipo muy moderno, automatizado y caro para el proceso térmico de alimentos, el calor sea ha utilizado por grandes, medianas, y microindustrias alimenticias debido a su fácil aplicación y pequeña inversión. En equipo, esto se debe a que por sus sencillas bases y fácil metodología, el método puede llevarse a cabo ya sea en el área de proceso de la fábrica mas moderna o en la cocina de una familia para la cuál la manufactura de alimentos es su sustento.
- e) Comprobada repetibilidad y fácil control.- Los métodos de procesamiento térmico de alimentos han demostrado tener una amplia repetibilidad en cuanto a eficiencia microbicida comprobada, razón por la cuál muchas industrias los utilizan para asegurar la calidad de sus productos antes de salir al mercado.
- Además los sistemas básicos de control y monitoreo de proceso son muy sencillos comparados con los utilizados en procesos equivalentes, por lo que requieren entrenamientos técnicos menos especializados que otros métodos.
- f) Bajo costo de operación.- Debido al tipo de agente microbicida que estamos utilizando (calor), su generación y manejo es muy sencillo y de muy bajo costo, estos sistemas incluyen desde el simple hecho de utilizar una flama y un recipiente para obtener agua caliente, hasta llegar a el uso de vapor de agua generado por una caldera de combustoleo, pasando obviamente por el sistema que utiliza una turbulencia de aire caliente generada por la combinación de un serpentín y un ventilador.
- g) Bajo riesgo de operación.- Tomando en cuenta que en el caso mas peligroso, los sistemas térmicos requieran del uso de vapor a presión, no

podemos comparar su bajo riesgo de operación contra los conocidos de los métodos alternos como gases o irradiación.

Es esta razón, combinada con el costo de la infraestructura y la fácil operación, por lo cual se utilizan procesos de este tipo en la pequeña y microindustria alimenticia.

- h) Cero efectos sobre el consumidor.- Este es un punto en el que estos métodos rebasan por mucho a los sistemas alternos para la destrucción de microorganismos en alimentos, puesto que no importa cuantas veces ni que tan seguido consuma una persona alimentos procesados térmicamente, nunca presentará efectos secundarios que dañen su salud como consecuencia de su consumo continuo.

Esta es una característica primordial para este estudio, puesto que al sistema de esterilización con gas aquí comparado le ha sido comprobada una alta tasa de efectos secundarios congénitos en las personas que con que ha tenido contacto continuo. Razón por la cual el uso de este método ha sido prohibido en algunos países del Continente Europeo.

Son estos beneficios y otros mas no mencionados (ciclo de producción, tecnología de empaque, medicina del trabajo), los cuales hacen ver a los métodos de procesamiento térmico como una opción muy viable, barata y de funcionamiento comprobado para su utilización continua y permanente en la industria de los alimentos procesados.

#### 2.4.- NORMAS OFICIALES PARA EL OXIDO DE ETILENO

##### NORMA DE UTILIZACION

El OE es utilizado como fumigante de productos alimenticios y textiles, como esterilizante para instrumental quirúrgico, y como fungicida para la agricultura; esta registrado como pesticida en los estados unidos (EPA/Ingredientes activos 1985).(6), y aparece dentro del código de regulaciones federales, para productos derivados de la agricultura, estableciéndose la siguiente norma:

Una tolerancia de 50 ppm. esta establecida para residuos del agente antimicrobiano e insecticida, Oxido de Etileno, cuando es utilizado como fumigante postcosecha en alguna de las siguientes materias primas crudas de la agricultura: nuez, pulpa de coco y especies enteras.(8)

Así mismo el uso de OE en alimentos esta regulado en la sección de aditivos para alimentos, estableciéndose las siguientes restricciones de aplicación (9):

El OE podra ser usado como fumigante para el control de microorganismos y contra plagas de insectos en especies y saborizantes procesados, a excepcion de los que se les haya adicionado sal, siguiendo las siguientes condiciones:

a) OE, solo o mezclado con Bióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>) o Diclorodifluorometano (CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>), debera ser usado en cantidades que no excedan las necesarias para alcanzar los efectos técnicos deseados, si la mezcla es con diclorodifluorometano (CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub>), éste debera cumplir con la regulación 21 CFR 173.355 para su uso.

b) Para asegurar su uso como aditivo, el OE debera estar etiquetado según las reglas de la EPA.

c) Ninguna aplicación podra exceder el limite de 50 ppm. como residuo máximo, establecida en la norma 40 CFR 180.151

La FDA, Autoriza el uso del OE como fumigante para el control de microorganismos e insectos en especies de tierra y otros materiales sasonadores naturales procesados, a excepcion de aquellas mezclas que contengan sal. (FDA 21 CFR 193.200)

Así mismo el OE no esta autorizado para ser usado como fumigante de frijol, chicharo o granos (10); pero sí podra ser utilizado como estabilizante de espuma en bebidas de malta fermentadas. (FDA 21 CFR 172.770)

La EPA estima que de las 6.5 billones de libras producidas de OE anualmente, menos de un decimo del uno porciento (aproximadamente 700,000 libras), son usadas para fumigar especias y algunos otros saborizantes naturales.(4)

La NIOSH a recomendado que el OE sea manejado como un potencial cancerígeno humano.(17)

#### NORMA ECOLOGICA

Los estándares vigentes se refieren en gran parte al desempeño de los equipos usados en la industria de manufactura de productos químicos orgánicos sintéticos, y se basan en que las emisiones generadas por este tipo de industrias, causan o contribuyen significativamente, a la contaminación del aire y del agua, contaminación que comprobadamente daña la salud publica.

El objetivo de estos estándares es asegurar que la industria de manufactura de productos químicos orgánicos sintéticos utilice los mejores sistemas continuos de reducción de contaminantes, el OE es producido por este tipo de industria y por tanto esta sujeto a dichos estándares.

- Los fabricantes de OE deberan reportar evaluaciones preliminares concernientes a producción, uso, y exposiciones a este gas en sus plantas a la EPA. (EPA 40 CFR 712.30)
- Cuando el OE se convierte en desecho, ya sea como producto comercial o intermediario de manufactura, deberá ser manejado acorde con las regulaciones de desechos peligrosos vigentes; Se define como desecho peligroso cualquier residuo, agua, tierra contaminada, o cualquier otro residuo resultante de limpiar un derrame de OE. (EPA 40 CFR 261.33)

## IMPACTO AMBIENTAL

### TOXICIDAD EN EL AGUA

El OE es moderadamente tóxico a la fauna acuática según se indica (7):

- 96 hrs. de concentración letal media (LC50)\* con 84 mg/l de OE con peces fathead minnows.
- 48 hrs. de concentración letal media (LC50)\* con aprox. 200 mg/l de OE con peces daphnia

\* concentración de prueba que mato al 50% de los organismos de prueba expuestos.

### BIODEGRADACION

Estudios de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) demuestran que el OE y sus derivados se biodegradan a gran velocidad, 20 días para un 50% DBO completa, lo cual podra reducir el riesgo de concentraciones tóxicas a largo plazo.(7)

Como conclusión del impacto ambiental del OE podemos decir que es una estructura química no duradera, de la cual no debe esperarse una acumulación en el medio ambiente.(7)

### MEDICINA OCUPACIONAL

El hecho de que el OE, constituyente activo de los gases esterilizantes, pueda matar todo tipo de organismos vivientes es un indicador de su potencia. Estudios recientes sobre su toxicidad sugieren que la excesiva exposición a el OE podría ser un factor cancerígeno, además, como se ha comentado anteriormente, el OE puro y algunas de sus mezclas comerciales son flamables y explosivas.(11)

Debido a sus posibles efectos sobre la salud, el OE debiera ser manejado como reactivo químico altamente tóxico, siguiendo las regulaciones vigentes sobre la concentración permitida en áreas de trabajo.(7)

Los límites recomendados para el uso de OE son:

- a) 5 ppm (10 mg/m<sup>3</sup>) como concentración máxima determinada durante un periodo de 10 minutos, y < 0.1 ppm. como promedio en un turno de 8 hrs. (6)
- b) 1 ppm (2 mg/m<sup>3</sup>) promedio en un turno de 8 hrs como valor umbral máximo, debido a que es un producto industrial potencialmente cancerígeno para el ser humano.(6)
- c) 1 ppm de límite de exposición permitido en el aire como promedio en un turno de 8 hr. (6)

Una característica importante del OE es su alto umbral de detección por medio del olfato, el olor del OE no puede ser detectado por el olfato humano hasta llegar a concentraciones entre 500 y 700 ppm., las cuales son mucho mas altas que los límites de exposición recomendados. Ya que el olfato no puede ser utilizado como medida de alarma, los sistemas de seguridad deberan basarse en un máximo de adhesión en contra de fugas en conexiones de tubería y equipos. Por protección personal no deberan ser permitidas fugas de ningún tipo dentro del área de trabajo. (7)

Las posibles rutas de entrada del OE al cuerpo humano son:(6)

- Por inhalación
- Cutánea
- Por ingestión

#### INHALACION

El OE es tóxico si se inhala a concentraciones de 12500 ppm/ 10 seg.(NIOSH 1985)(14), por esta via causa nausea, tos, vértigo, dolor abdominal, arritmia, e irritaciones severas a la mucosa del tracto respiratorio lo cual podría resultar en edema pulmonar.(2)(13)

#### ABSORCION CUTANEA

Es fuerte irritante de la piel y de los ojos, puede causar conjuntivitis y hasta necrosis (6), sus residuos en guantes o ropa pueden derivar en una irritación severa.

El contacto prolongado puede llegar a desordenes neurológicos y hasta la muerte.(6)

## OTROS EFECTOS

La exposición prolongada a OE podrá afectar, en las mujeres embarazadas, al feto en desarrollo. Además se ha presentado una creciente incidencia de desordenes ginecológicos y abortos espontáneos entre las trabajadoras de la producción del OE.(6)

A largo plazo la exposición prolongada a OE puede causar daños en el sistema nervioso, hígado, riñón, debilidad en manos, pies, y alergia al contacto con OE.(6)

Los tipos de intoxicación que se pueden presentar, dependiendo del nivel de contacto con el gas, son:(6)

- Aguda
- Retardada
- Crónica

| VALORES DE TOXICIDAD EN HUMANOS   |                                    |                       |
|---|------------------------------------|-----------------------|
| EFFECTOS  | CONC.                              | PERIODO DE EXPOSICION |
| *Ninguno  | 5-10 ppm.<br><18 mg/m <sup>3</sup> | 10 años               |
| Síntomas de malestar  | 100 ppm.<br>180 mg/m <sup>3</sup>  | -----                 |
| Tóxicos severos   | 250 ppm.<br>450 mg/m <sup>3</sup>  | 60 min                |
| * conc. mayores a las 10 ppm. se consideran no satisfactorias para el ser humano.(29) |                                    |                       |

Aunque existen valores recomendados y normas establecidas para los niveles de exposición al gas, el OE es un probable cancerígeno en humanos, y como no hay nivel de exposición seguro hacia un carcinógeno, todo contacto deberá reducirse al mínimo posible.(6)

Por estas razones es esencial que los gases esterilizantes sean manejados de manera correcta y segura todo el tiempo, esto requiere a toda persona que trabaje con gases esterilizantes este perfectamente entrenada en los

peligros que representa y en los procedimientos adecuados de manejo de tanques que contengan estas mezclas. Pese a todas las precauciones que se tomen los usuarios deberan estar al pendiente de la posibilidad de fugas, por lo que los sellos de las puertas de los esterilizadores, los cilindros, las conexiones con válvulas, la tubería y demás partes del equipo deberan ser monitoreadas frecuentemente en busca de fugas del gas.

#### CANCERIGENO Y MUTAGENICO HUMANO POTENCIAL

En 1982, el comite de la conferencia gubernamental de higiene industrial de los estados unidos, recomendo que el OE retuviera su designación como substancia industrial sospechosa de ser factor cancerígeno para el ser humano.(1)

El Grupo de Evaluaciones Carcinogénicas (CAG), de la oficina de salud y evaluación ambiental en el departamento de investigación y desarrollo de la EPA, ha preparado un lista de substancias químicas de las cuales hay fuerte evidencia que muestra que la exposición a estas, bajo ciertas condiciones, causa cáncer en humanos, o que lo pueden causar en especies animales, lo que las hace potenciales cancerígenos para el ser humano. Las substancias son adicionadas a la lista de la CAG solo cuando han demostrado inducir tumores malignos en una o mas especies animales, o demostrado inducir tumores benignos que son generalmente reconocidos como etapas primarias de tumores malignos, tambien son incluidas en la lista si estudios epidemiológicos positivos han demostrado que son cancerígenas. El OE se encuentra dentro de esta lista.(28)

Así mismo la NIOSH a recomendado que el OE sea tratado como un potencial cancerígeno humano (17), y la OSHA esta proponiendo reducir su límite de exposición permitido actual de 50 ppm. en promedio por turno de 8 hrs, a 1 ppm., basado en datos de estudios en humanos y animales.(20)

#### ESTUDIOS DE SEGUIMIENTO

Trabajadores que han estado trabajando por mas de un año con una compañía fabricante de OE, fueron monitoreados de 1960 a 1961, no se encontró diferencia significativa entre éstos y un grupo de trabajadores que nunca ha trabajado en la producción de OE, pero cuando el monitoreo se extendio hasta 1977, aquellos que estuvieron expuestos tiempo completo al OE mostraron una tasa de mortalidad mucho mayor a la normal, debido principalmente a una alta incidencia de leucemia, cáncer estomacal, y enfermedades del sistema circulatorio.(25)

En un estudio del efecto del OE sobre la salud de los operadores de esterilizadores y demas personal expuesto a

OE, los únicos resultados significativos fueron obtenidos por análisis cromosomal de linfocitos tomados de muestras de los trabajadores. Se detectaron diferencias importantes en el número y tipo de las aberraciones cromosomales entre los trabajadores expuestos al gas y el grupo control (blanco), formas cromosomales trirradiales y cuadrirradiales, las cuales fueron encontradas muy raramente en el grupo control, se incrementaron en los trabajadores expuestos.

Un número alto en intercambios de gemelos cromátides (SCE) fue encontrado en algunos de los trabajadores expuestos al gas durante los 2 años de estudio; 13 de ellos fueron retirados de la exposición al gas en 1979 debido al número creciente de aberraciones celulares, un seguimiento de 4 años no mostro mejoría alguna a excepción de una moderada reducción en SCE.(26)

En un estudio desarrollado con 86 roedores Webster hembra libres de gérmenes, estos fueron expuestos durante 150 días a maíz tratado con OE, y luego de por vida a maíz sin tratar (máximo 900 días), 63 roedores desarrollaron tumores en varios sitios.(12)

Ningún tumor fue reportado en un grupo control formado por 83 roedores hembra de 100 a 600 días de edad los cuales nunca fueron expuestos a maíz tratado con OE.(12)

La Exposición de roedores Long-Evans macho durante 4 hr a 1.83 gr/m<sup>3</sup> (1000 ppm) de OE produjo mutaciones dominantes letales; Aberraciones cromosómicas fueron observadas en células de médula ósea de roedores Long-Evans macho expuestos a 0.45 gr/m<sup>3</sup> (250 ppm) de OE durante 7 horas diarias por 3 días.(12)

## 2.5.- PRUEBAS SENSORIALES

### PRINCIPIOS

La evaluación sensorial mide y cuantifica las características de un producto, ingrediente o modelo, las cuales son percibidas por los sentidos humanos. Entre estas podemos mencionar, por su importancia:(21)

Apariencia: color, tamaño, forma, conformación y uniformidad

Olor: los miles de compuestos volátiles que contribuyen al aroma.

Gusto: dulce, amargo, salado y ácido.

Textura: las propiedades físicas como dureza, viscosidad y granulosis.

Algunos otros sistemas sensoriales secundarios contribuyen a la percepción, particularmente a través de los labios y la parte interior de la boca, zonas muy sensibles al dolor y la temperatura.(21)

A pesar de lo complejo y costoso que puede resultar la aplicación de alguna técnica sensorial para establecer los atributos que contribuyen a la calidad de un producto, y de que está sujeto a error debido a la variabilidad del juicio humano, no existen instrumentos capaces de duplicar o substituir este dictamen.(21)

Durante esta prueba, el juez asocia todas las características arriba mencionadas con su experiencia pasada y los efectos contextuales del momento con la emisión de su juicio.(21)

Debido a la subjetividad del método, los pánels sensoriales se ven influenciados por factores psicológicos humanos; en el intento de no ser engañados por éstos, debemos usar guías estadísticas para obtener una respuesta que involucre el máximo de población y por lo tanto sea lo mas homogénea y cierta posible.(14)

### AREA DE PRUEBA

Una manifestación de la naturaleza del individuo se da cuando éste integra la información de su medio circundante para así apreciar su realidad. Por lo mismo, para que este no desvíe su atención del punto que se quiere sea su objeto de observación, es necesario controlar todo tipo de variables que puedan, en un momento dado, influir, modelar, sesgar o afectar la sensibilidad del evaluador.(21)

Uno de estos factores es el área física donde se realiza la prueba sensorial, por lo que para una respuesta adecuada de los jueces, donde se lleve a cabo el panel se deberá contar con las siguientes características mínimas:

1.- El área de elaboración de las muestras debe estar independiente del área de evaluación, en ningún momento el juez debe percatarse de lo que está sucediendo en el área de preparación.(21)

2.- Cada juez deberá contar con el suficiente silencio y privacidad para que sus respuestas no se vean influenciadas por palabras o expresiones de algún otro juez.(14)

3.- El alumbrado del área deberá ser uniforme, para evitar que el resultado de un juez a otro se vea afectado por el color o intensidad de éste en la muestra; En muchos casos donde el color pudiese ser una clave para la diferencia de las muestras, se recomienda el uso de luz negra o de una luz complementaria al color de las muestras para que estas aparezcan de color gris o negro ante el juez.(14)

4.- Es importante evitar que los olores emanados del área de preparación de muestras invadan el área de evaluación, por lo cual se deberá contar con un buen sistema de extracción de vapores en el área de preparación.(21)

El uso de aire acondicionado y el control de temperatura, no son estrictamente necesarios, así como no lo son los cubículos con muebles muy atractivos, o equipados con agua corriente (14), lo que se recomienda es que el juez encuentre un buen grado de comodidad en el área de evaluación.(21)

#### PREPARACION DE LA MUESTRA

La preparación de la muestra debe hacerse con mucho cuidado antes de presentarse al juez; se preparará desde un punto de vista estadístico, por lo que todo material que no sea completamente homogéneo, deberá ser descartado; buscando con esto que a todos los evaluadores se les presenten alicuotas prácticamente idénticas.(14)

Un factor importante es que la muestra deberá ser presentada al juez, de ser posible, en la forma que es consumida comúnmente, para así obtener la mejor respuesta posible.(14)

Factores como dulzura o temperatura pueden afectar la decisión de un juez, por lo que se recomienda eliminar estos factores de error desde la preparación, y no a través de

instrucciones hacia el juez de no tomar estos factores en cuenta.(14)

#### PRESENTACION DE LA MUESTRA

Las muestras deben ser presentadas ante el juez, el cuál se encontrará en un cubículo aislado de los demás jueces, en series o de una en una dependiendo del método a utilizar, en el caso de que se cuente con una muestra de referencia, ésta deberá ser incluida como desconocida.(14)

#### INSTRUCCIONES

Las instrucciones que se den al juez nunca deberán indicar la identidad de ninguna de las muestras, así como asociar el orden de presentación de éstas; no se dará ninguna indicación que guíe al juez hacia la respuesta, o hacia concluir resultados por anticipado.(14)

Por el contrario, todas las instrucciones que se proporcionen deben estar claramente dirigidas a explicar los objetivos y metodología de la prueba en forma clara, sencilla, directa, sin necesidad de otras explicaciones y sin dejar lugar a duda de lo siguiente:(21)

- 1.- El procedimiento que el juez debe seguir para evaluar las muestras.
- 2.- El orden para analizarlas.
- 3.- El atributo que se debe observar en éstas.
- 4.- Forma de señalar, en la hoja de respuestas, las impresiones sensoriales recibidas.
- 5.- Otras consideraciones, como enjuague y expectoración, el no tragar la muestra, el intervalo que debe mediar entre cada evaluación, etc.

Se recomienda que en la hoja de respuestas aparezcan marcadas las claves de las muestras que vayan a analizarse, y en el orden que se irán presentando al juez para que las evalúe.(21)

#### RESULTADOS

Para una respuesta adecuada, es muy importante no crear un atmósfera de urgencia o apresuramiento, por el contrario, permitir al juez tomar el tiempo que le sea necesario para emitirla.(14)

Estas deberán ser analizadas desde un punto de vista completamente objetivo y analítico, utilizando herramientas estadísticas, para obtener la mayor representatividad y exactitud posibles.

#### METODO A UTILIZAR

El sistema de prueba a utilizar para determinar si existe una diferencia sensorialmente perceptible entre el té procesado con OE y el tratado con calor seco, es conocido como " prueba triangular ".

La diferenciación se obtiene de comparar tres muestras a la vez, ordenadas aleatoriamente, de las cuales dos son iguales entre sí y la otra es diferente. El juez desconoce la variable sensorial de las muestras en estudio, por lo que simplemente esta prueba permitirá detectar si existe o no diferencia, sin saber que atributo.

Las ventajas de esta prueba sobre las demás son su sencillez y el no tener que saber de antemano el parámetro de diferencia entre las muestras, sino que el juez simplemente escogerá la que sea "diferente", la posibilidad de tener una respuesta correcta al azar es pequeña (33.3 %), en comparación con otras pruebas en las que la probabilidad es del 50 %.

#### MUESTRAS

La prueba triangular requiere que las tres muestras que se presenten estén codificadas como desconocidas (14) en base a las siguientes seis combinaciones (21) :

|     |     |
|-----|-----|
| AAB | BBA |
| ABA | BAB |
| ABB | BAA |

La misma letra indica muestras iguales y la letra diferente la posición de la desigual.

#### JUECES

En este caso debido a la falta de jueces entrenados se usarán voluntarios, tomados de una población con parámetros de sensibilidad desconocidos.

## ANALISIS DE DATOS

El análisis de la información generada por la prueba triangular, es tomando en cuenta que la probabilidad de que un juez escoja la muestra correcta sólo por casualidad es del 33.3 %. Debido a que el resultado es de decisión forzada y respuesta única, su comportamiento se ubica en la región de significancia de una sola cola en las tablas de distribución normal.(21)

### 3.- MATERIAL Y METODOS

El material utilizado para la realización del presente trabajo esta basado en los Métodos Oficiales de la Secretaría de Normas Mexicana, y se desglosan a continuación:

Benzal al 4 %

Buffer de Fosfatos  
( 0.085 mg de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> en 1000 ml de agua destilada )

#### Medios Utilizados

| <u>Nombre</u>                                    | <u>Método</u>           |
|--|-------------------------|
| Triptona Agar Extracto fundido                   | Cuenta Total            |
| Agar-Papa-Glucosa                                | Hongos y Levaduras      |
| Agar Rojo Violeta Bilis                          | Coliformes Totales      |
| Caldo Lactosado                                  | <u>Escherichia coli</u> |
| Caldo Lactosado<br>(Enriquecimiento)             | <u>Salmonella</u>       |
| Caldo Selenito-Cistina<br>(Enriquecimiento)      |                         |
| Caldo Tetrationato<br>(Enriquecimiento)          |                         |
| Agar Verde Brillante<br>(Selección)              |                         |
| Agar-Xilosa-Lisina-Desoxicolato<br>(Selección)   |                         |
| Agar-Sulfito de Bismuto<br>(Selección)           |                         |
| Agar de hierro y triple Azucar<br>(Confirmación) |                         |

Todos los medios fueron preparados según la metodología marcada en el envase por el fabricante, previa confirmación con la Norma Estandar de Calidad.(19)

## Material y Equipo

- Matraces Erlenmeyer 250, 500 y 1000 ml.
- Pipetas Graduadas 1, 5, 10 y 25 ml.
- Frascos de Vidrio 120, 500 y 4000 ml.
- Cajas de Petri.
- Tubos de Ensaye 15 X 2.
- Tubos de Fermentación.
- Termómetro -10°C a 150°C.
- Autoclave.
- Estufas de Incubación @ 37°C y 28°C.
- Refrigerador.
- Balanza Granataria.
- Mechero Fisher.
- Baño María.
- Parrilla de Gas.
- Telas de Asbesto.
- Guantes de Asbesto.
- Tripie.
- Asa de Platino.
- Espátula de Acero Inoxidable.
- Cuchara Estéril.
- Abatelenguas.
- Algodón.
- Gasa.

## METODOS

Los métodos de análisis utilizados en el presente trabajo se encuentran descritos dentro del capítulo II, bajo el subtítulo de "2.2 Aspectos Microbiológicos", Sección "Métodos Oficiales de Prueba".

## METODO DE ESTERILIZACION CON OXIDO DE ETILENO

El lote de referencia fue tratado con OE, buscando que el método que se utilizó fuera exactamente el mismo que se aplica a todos los lotes.

El equipo utilizado fue una cámara de OE marca G.M.S. con una capacidad de 18 m3.

### PROCEDIMIENTO

Se llenó la cámara con los sacos de té a esterilizar, éstos no recibieron limpieza previa de ningún tipo, se cerró la cámara y se inició el precalentamiento hasta alcanzar los 50°C., ya a esta temperatura se hizo un vacío inicial de 0.6684 atm., el cuál requirió de 15 min para estabilizarse.

Una vez estable el vacío inicial se inyectó el gas esterilizante, que en este caso es OE puro, hasta llegar a una presión interna entre 0.3342 y 0.4344 atm. (no hay ajuste de humedad, y por lo tanto tampoco hay tiempo de acondicionamiento), a partir de la estabilización de la presión se tuvo un periodo de 12 hrs de contacto del gas con el producto.

Transcurrido este tiempo de exposición, se evacuó el gas esterilizante, se inyectó aire filtrado para " lavar " el producto y eliminar los residuos de OE que pudieran haber quedado, una vez lavado, se sacó de la cámara y se dejó para un periodo de aereación de 12 hrs. para así eliminar al máximo los residuos del gas esterilizante. Terminado este periodo se muestreó el producto terminado de manera aséptica enviándose al laboratorio para su análisis microbiológico.

En total el ciclo de esterilización con OE puro duró 14 hrs con 55 min (Sin contar el periodo de aereación).

Para cada muestra se llevaron a cabo los siguientes análisis microbiológicos:

- a) Cuenta estandar
- b) Coliformes totales
- c) Hongos
- d) Levaduras
- e) Salmonella
- f) E. coli

## METODO DE PASTEURIZACION CON CALOR SECO

La prueba se realizó utilizando una cámara de pasteurización que funciona a base de la circulación continua de aire seco caliente, de la cual se enuncian sus principales características en el siguiente cuadro:

| CARACTERISTICAS DE LA CAMARA DE AIRE |   |
|--------------------------------------|---|
| Capacidad                            | 8.8 m3  |
| Material de construcción             | Madera  |
| Sistema de circulación de aire       | 2 Ventiladores con 2 aspas de 40 cm. de long. |
| Sistema de calentamiento             | Serpentin con circulación de agua caliente.   |
| Control de temperatura               | Controlador y graficador Taylor               |

La principal ventaja de este método en comparación con el que utiliza OE, es que por aplicar un sistema natural para provocar la muerte de la flora microbiana (Calor), el producto resultante no presentara ningún peligro hacia el consumidor, no importando la frecuencia o la cantidad con que este lo consuma, lo cual no se puede decir del actual sistema, el cual utiliza al OE como activo esterilizante, que como ya se ha dicho dentro del presente trabajo, se le ha demostrado en pruebas de laboratorio ser posible cancerígeno humano.

Al contrario del método con EO, este sistema no utiliza humedad, con el fin de evitar que la combinación de humedad y alta temperatura cause una disminución importante de los aceites esenciales contenidos en la matricaria chamomilla l.

### ESTUDIOS PRELIMINARES

Para el mejor desarrollo de este método, se realizaron algunas pruebas preliminares, las cuales incluyeron hacer

varios acomodados del material dentro de la camara buscando dos características deseadas para este proceso:

a) Máximo flujo de aire, con la intención de que el calentamiento del producto dentro de la camara sea lo más homogéneo posible y esto redunde en resultados estadísticamente confiables.

b) Máximo aprovechamiento del espacio, buscando poder procesar la mayor cantidad de té por cada carga de la camara y que el costo del proceso por gramo de producto se reduzca al mínimo.

El resultado de estas pruebas preliminares determinó que lo ideal es utilizar 900 kg. de té de Manzanilla a granel, en sacos de polietileno con capacidad para 16 kg. cada uno, acomodados en 2 estibas de 7 camas cada una, teniendo una separación de madera cada 2 camas de producto para propiciar el flujo de aire por el centro de la estiba. Un diagrama de la camara puede observarse en la figura 5.

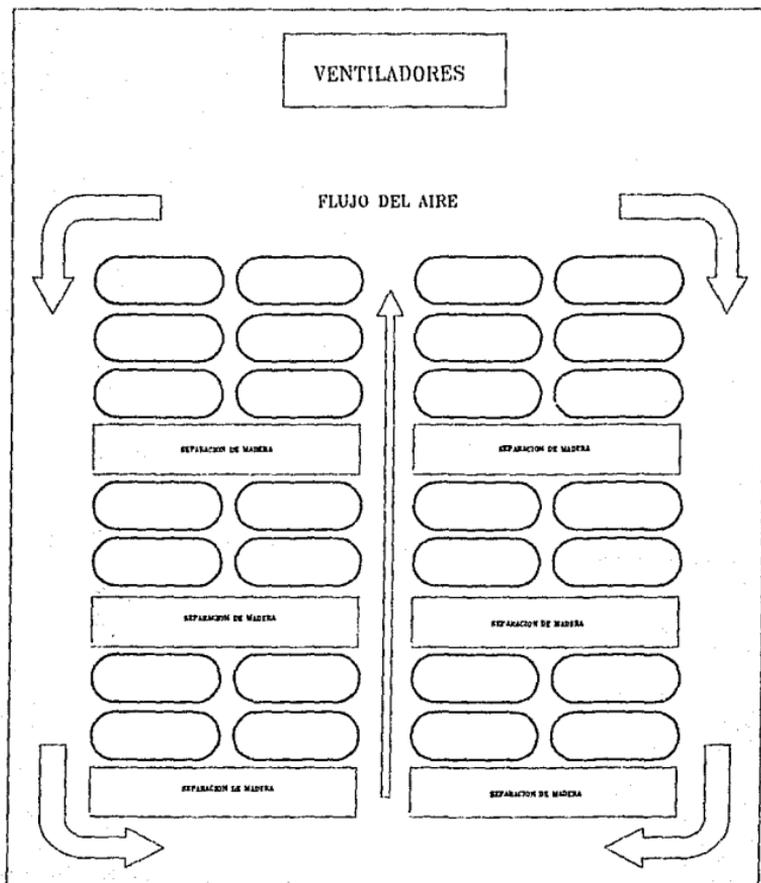
El método para verificar la temperatura dentro del bulto de Té de Manzanilla será por medio de dos termopares autónomos programables, los cuales realizaran lecturas de la temperatura dentro del bulto de té a intervalos de 15 minutos, éstos estarán colocados en sacos localizados en los puntos mas caliente y mas frio de la camara, determinados en las pruebas preliminares (figs. 6 y 7), y en el centro geométrico de los mismos, buscando obtener las lecturas de la temperatura mas fría de todo el bulto.

#### PROCEDIMIENTO

Se llenó la camara según el acomodo discutido con anterioridad. Se inició el flujo de aire caliente pasando ésta por un periodo de calentamiento desde los 20°C hasta llegar a los 65°C, temperatura a la cual se estabilizo.

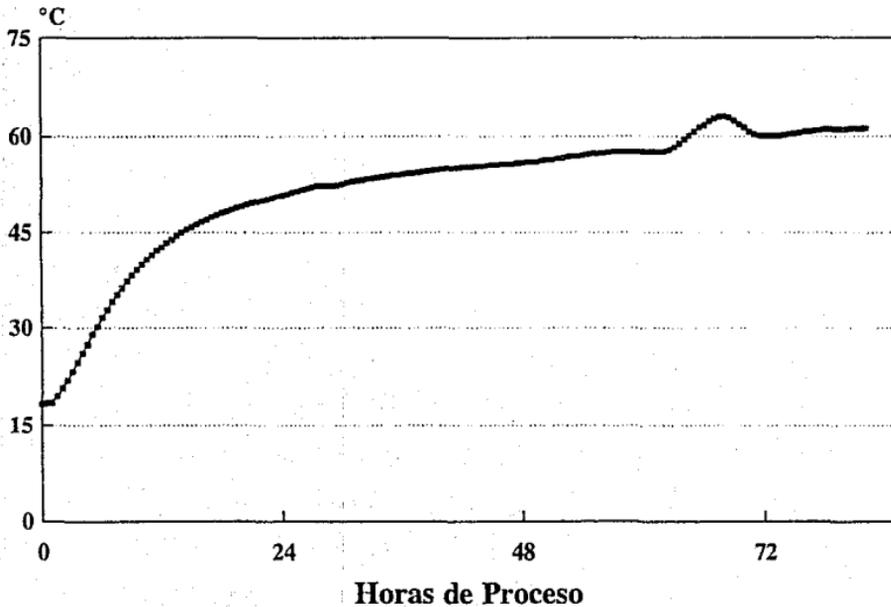
El flujo de aire caliente y la temperatura, se mantuvieron constantes apartir de la estabilización de la temperatura de la camara y durante las siguientes dos semanas que duro la prueba.

DIAGRAMA ESQUEMATICO DE LA CAMARA DE PASTEURIZACION POR CALOR SECO. (fig. 5)



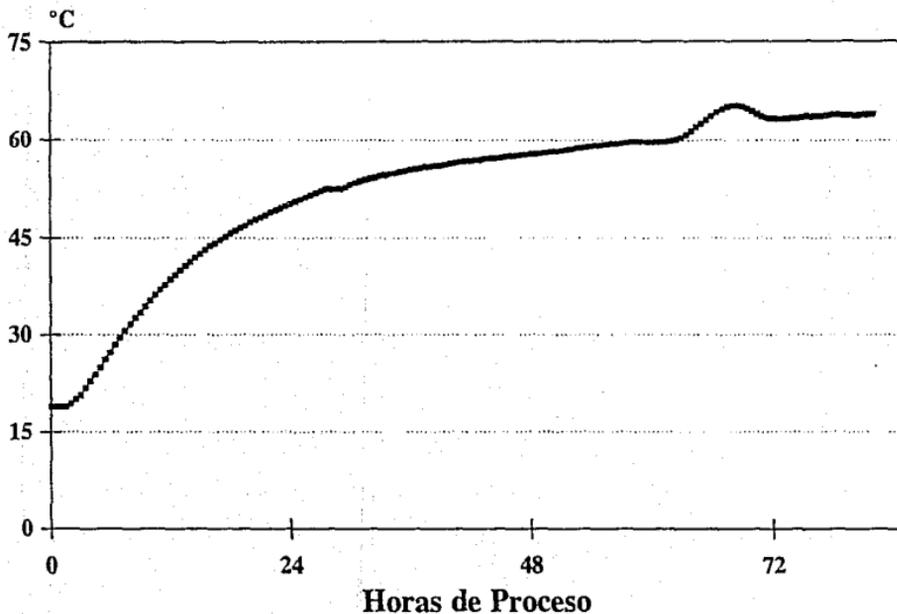
# CURVA DE PENETRACION DE CALOR

## Te de Manzanilla



# CURVA DE PENETRACION DE CALOR

Te de Manzanilla



Todos los días se tomaron, de una manera aseptica, muestras de los sacos de té utilizando cucharas y frascos estériles, que fueron llevadas al laboratorio de microbiología para su análisis; éstas fueron tomadas de 10 sacos distintos, distribuidos por toda la camara, de manera que se pudiera formar una muestra representativa de todo el té que se estaba procesando.

Ya en el laboratorio aprox. 250 gr. fueron mezclados en un contenedor mas grande, para apartir de éste sacar las muestras para análisis.

Para cada una se llevaron a cabo los siguientes análisis microbiológicos:

- a) Cuenta estandar
- b) Coliformes totales
- c) Hongos
- d) Levaduras
- e) Salmonella
- f) E. coli

Después de dos semanas de monitoreo continuo, se cortó el flujo de aire y se tomaron las muestras finales del té procesado para su análisis.

## PRUEBA TRIANGULAR

La prueba fue realizada comparando una muestra de té de manzanilla esterilizado con OE contra una procesada con el método de pasteurización con calor seco. Se presentaron a los jueces 3 muestras, 2 iguales y una diferente, mezcladas en base al sistema presentado en el capítulo anterior e identificadas cada una con un numero aleatorio de 3 cifras, sin ningún orden ni secuencia específica.

Ambas fueron preparadas utilizando la siguiente formula:

1 lt de agua.  
4 gr de manzanilla.  
10.1 gr de azucar.

Las tres fueron presentadas a los jueces a una temperatura de  $60^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y en el orden que debían probarlas, (este orden, así como los números de muestra, ya estaban preimpresos en la hoja de respuestas).

En la prueba participaron 33 jueces voluntarios a los cuáles se les anunció que se trataba de té de manzanilla y se les pidió que identificaran la muestra diferente dentro de las 3 que se les presentaban, así mismo se les solicitó mencionar en que característica encontraban diferencia y cuál tenía el mejor sabor.

#### 4.- RESULTADOS

##### Método de Esterilización con Oxido de Etileno

Los resultados finales de la prueba, así como una comparación contra el proceso de pasteurización con calor seco, se pueden observar en la figura numero doce.

##### Método de Pasteurización con Calor Seco

El seguimiento del comportamiento para cada uno de los parámetros aparecen en las figuras 8,9,10 y 11.

Los resultados finales de la prueba, así como una comparación contra el proceso con OE, están presentados en la figura numero doce.

##### Prueba Triangular

Los resultados obtenidos de esta prueba fueron los siguientes (fig. 13):

Participantes: 33 jueces (voluntarios)

##### Diferencia sensorial:

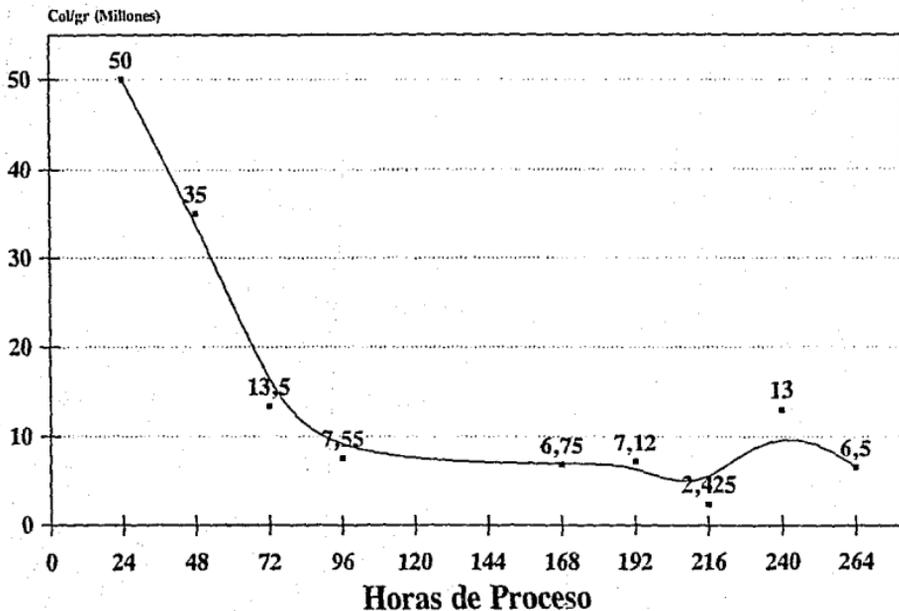
24 Detectaron alguna diferencia.  
9 No detectaron diferencia.

##### Preferencia de sabor: (mejor sabor)

21 Procesado con OE.  
9 Procesado con calor seco.  
3 Sin preferencia.

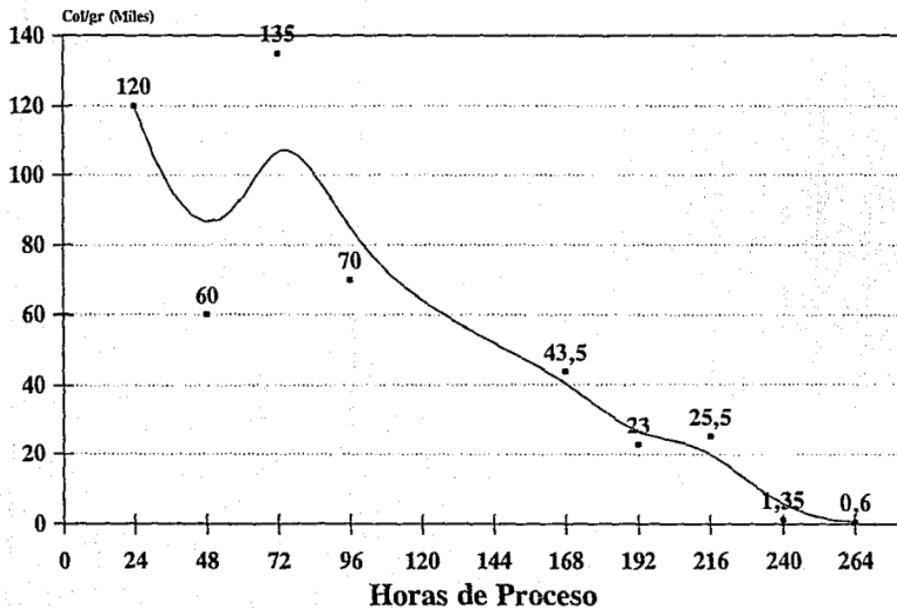
# RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Cta. Standar



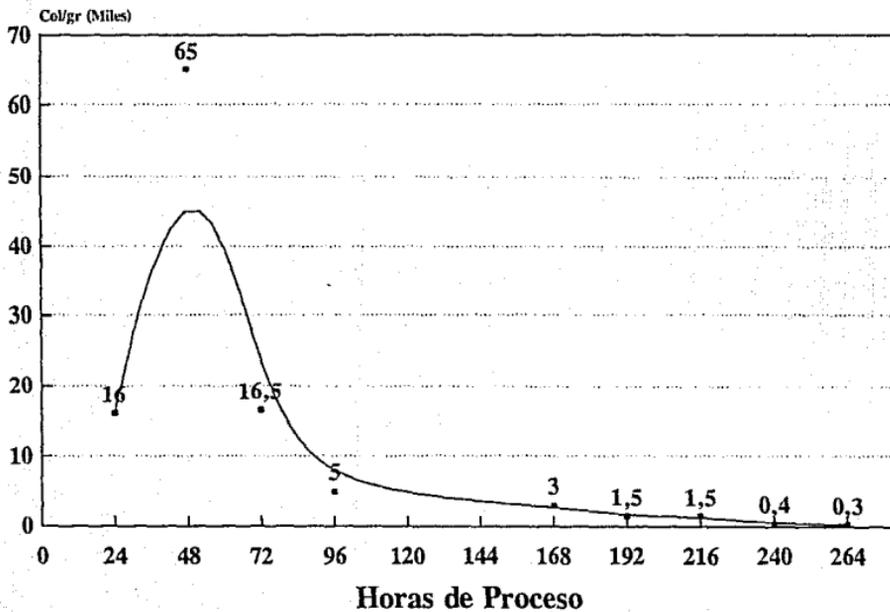
# RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

## Coliformes



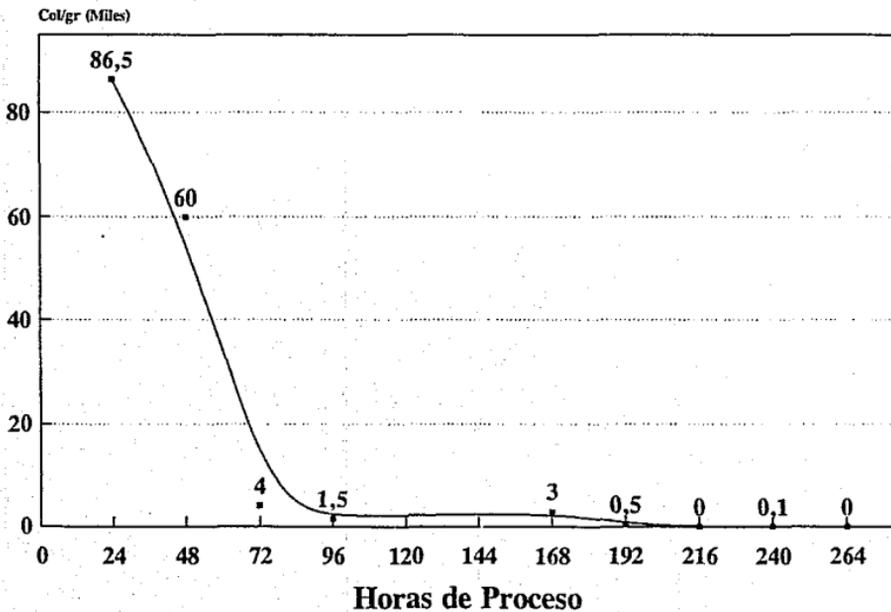
# RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

## Hongos



# RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

## Levaduras



**TABLA COMPARATIVA DE RESULTADOS**  
(fig. 12)

**PASTEURIZACION CON CALOR SECO**

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS  
264 Hrs. de Proceso

| DETERMINACION                             | CUENTA INICIAL<br>(Col/gr) | CUENTA FINAL<br>(Col/gr) | % DE MEJORA |
|---|----------------------------|--------------------------|-------------|
| Cuenta Estandar<br>(Mesofílicos Aerobios) | 50,000,000                 | 6,500,000                | 87%         |
| Coliformes                                | 120,000                    | 600                      | 99.5%       |
| Hongos                                    | 16,000                     | 300                      | 98.1%       |
| Levaduras                                 | 86,500                     | 0                        | 100.0%      |
| <u>Salmonella</u>                         | Neg/10 gr                  | Neg/10 gr                | ----        |
| <u>E.coli</u>                             | Neg/10 gr                  | Neg/10 gr                | ----        |

**ESTERILIZACION CON OXIDO DE ETILENO**

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS  
1 Ciclo Completo

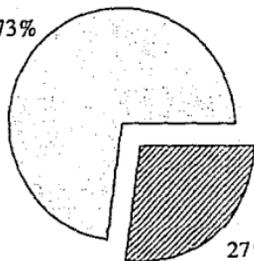
| DETERMINACION                             | CUENTA INICIAL<br>(Col/gr) | CUENTA FINAL<br>(Col/gr) | % DE MEJORA |
|---|----------------------------|--------------------------|-------------|
| Cuenta Estandar<br>(Mesofílicos Aerobios) | 50,000,000                 | 0                        | 100.0%      |
| Coliformes                                | 120,000                    | 0                        | 100.0%      |
| Hongos                                    | 16,000                     | 0                        | 100.0%      |
| Levaduras                                 | 86,500                     | 0                        | 100.0%      |
| <u>Salmonella</u>                         | Neg/10 gr                  | Neg/10 gr                | ----        |
| <u>E.coli</u>                             | Neg/10 gr                  | Neg/10 gr                | ----        |

# RESULTADOS PRUEBA TRIANGULAR

## METODO CON OE vs. CALOR SECO

DETECTO DIFERENCIA

73%

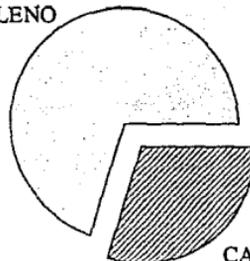


DIFERENCIA SENSORIAL

OXIDO DE ETILENO

70%

NO DETECTO DIFERENCIA



PREFERENCIA DE SABOR

CALOR SECO  
30%

## 5.- ANALISIS DE RESULTADOS

### Método de Esterilización con Oxido de Etileno

En los datos presentados en la figura numero doce podemos ver que en todos los casos la eliminación de la flora microbiológica es del 100%, debido a la gran capacidad esterilizante presentada por este gas, estos niveles no pudieron ser alcanzados con el otro método.

### Método de Pasteurización con Calor Seco

En las figuras 8,9,10 y 11 se pueden ver caídas drásticas en las cuentas microbianas durante las primeras 96 horas de proceso, periodo en el cual la reducción de microorganismos es casi del 50%.

Esto lo podemos atribuir a que el impacto térmico inicial es muy fuerte y que la flora microbiana menos resistente a la temperatura (<50°C) es destruida durante este periodo primario del tratamiento.

Después de las 96 horas se aprecia una reducción constante de la carga microbiana, haciendose asintótica a cero según va aumentando el tiempo.

Durante todo el proceso la cuenta microbiana presenta aumentos periódicos cada 24 hrs, para después mostrar una reducción significativa de la flora microbiana; Esto lo podemos atribuir a los cambios de temperatura ambiental durante la noche, pues el controlador taylor no estaba conectado a la temperatura ambiental de la cámara, sino a la entrada del agua caliente hacia el serpentín.

Por esto, cada disminución nocturna de la temperatura ambiente provocaba la reducción de la temperatura interna de la cámara, esto daba oportunidad a que la flora microbiana presente se multiplicara; por la mañana, al alcanzarse la temperatura máxima, se presentaba una muerte microbiana significativa.

De los datos de la figura numero doce podemos observar que la mejora microbiológica del producto fue bastante buena, 96% en promedio, aunque no alcanza los niveles obtenidos con el OE.

Muy posiblemente se pudieran alcanzar los niveles microbiológicos que reporta el método con OE, pero sería necesario alargar mucho el tiempo de proceso, y podría afectar seriamente el sabor del producto final.

## Prueba Triangular

En base al tipo de prueba que se realizó, el número de ensayos requerido para demostrar que las muestras son diferentes, según tablas estadísticas es (21):

| Num. de ensayos | Nivel de probabilidad *<br>(0.001) |
|-----------------|------------------------------------|
| 33              | 21                                 |

\* número mínimo de juicios necesarios para establecer significancia estadística a este nivel de probabilidad.

La muestra fue reconocida como diferente en la prueba de sabor en un 72% de los casos, esto establece que es estadísticamente diferente a un nivel de probabilidad del 0.1%. (21)

La principal característica a la que es atribuible el que la muestra se haya reconocido tan fácilmente como diferente es:

La pérdida de aceites esenciales.- los aceites esenciales contenidos en el té de manzanilla son altamente volátiles a altas temperaturas, por lo que no importa que tan bueno sea el control de temperatura que se utilice, siempre tendremos pérdidas de aceites (y por tanto de sabor), si queremos obtener muerte térmica de la flora microbiana presente; esto hace que los jueces lo definan como "sabor a viejo" o "sabor a quemado".

El que el sabor se vea afectado por la pérdida de aceites esenciales hace que los consumidores tengan preferencia por el té tratado con OE, ya que el procesado con Calor Seco no pudo igualar el sabor acostumbrado por el cliente.

## 6.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACION

De este estudio debemos tomar varios puntos de vista que nos lleven a conjuntar un criterio de éxito que cubra totalmente las expectativas del fabricante y del consumidor.

Desde el punto de vista microbiológico, según los resultados presentados en el capítulo anterior, el método de pasteurización por medio de calor seco mejora la calidad del producto, mínimo en un 87%, llegando a un 96 %, cuando se toman en cuenta las cuatro variables evaluadas.

Por lo tanto se concluye que la mejora microbiológica es suficiente para aceptar el método como sanitariamente utilizable, ya que los niveles microbiológicos remanentes serán eliminados totalmente durante la preparación de la infusión. ( para esta conclusión se tomó en cuenta el método de preparación declarado por el fabricante según indica la norma oficial mexicana NOM-F-293-1982, "ALIMENTOS PARA HUMANOS - MANZANILLA PARA INFUSIONES"(18), en su capítulo cinco sección tres. )

Desde el punto de vista sensorial ( Satisfacción al consumidor ), según los resultados presentados, la muestra fue reconocida como diferente en la prueba de sabor ( en un 72% de los casos), lo que nos lleva a concluir que el producto presenta características sensoriales diferentes a las de la muestra contra la cual nos estamos comparando (producto actual de línea), y por lo tanto el usar el método de pasteurización por medio de calor seco para el té de manzanilla, causaría muy probablemente, bajas en su venta por rechazo del consumidor debido al cambio de sabor.

Desde el punto de vista del costo del proceso, el método de pasteurización con calor seco es mucho mas barato que el que utiliza OE, algunos de los factores se tomaron en cuenta para esta conclusión son:

- a) Costo del gas esterilizante.
- b) Costo de transportación de la materia prima a la planta de esterilización.
- c) Tecnología e infraestructura muy avanzadas en caso de querer adoptarlo como un proceso propio.

Actualmente se gasta aproximadamente el equivalente al 150% del costo de compra de la materia prima en aplicarle OE, sin tomar en cuenta el riesgo potencial que implica el manejo del gas.

Con el método de pasteurización con calor seco no se requiere una gran inversión en infraestructura, los gastos generados por el funcionamiento del equipo son mínimos, siendo este un proceso que se puede adoptar fácilmente como propio, ya que no requiere gran tecnología y es 100% seguro en su manejo.

#### RECOMENDACION

En base a estas conclusiones, se recomienda el uso de este método en caso de publicarse alguna regulación gubernamental en contra del uso del OE; siempre con la premisa de utilizar un material de empaque que permita una mejor penetración y conservación del calor, para así poder reducir el tiempo de residencia del producto en la cámara, afectando lo menos posible el sabor del té.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS, Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 5th Ed., Cincinnati OH, U.S.A. 1986.
- 2) AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, AMA Department of Drugs, AMA Drugs Evaluations, 5th ed., Chicago U.S.A., 1983.
- 3) BURROWS WILLIAM, Tratado de Microbiología, 19a. edición, México, Nueva Editorial Interamericana, 1969.
- 4) Denial of Petition to Revoke Food Additive Regulations for Ethylene Oxide, Federal Register, Washington D.C. U.S.A., Environmental Protection Agency, August 1990, Vol. 55, p. 35347-35352.
- 5) DICK ROBERT & HOPKINS HAROLD, Putting Tea To The Taste, U.S.A., FDA Consumer, Sept. 1974, pag 18-27.
- 6) EPA Chemical Profile, Washington D.C. U.S.A., Environmental Protection Agency, 1987.
- 7) Ethylene Oxide, Product Information Bulletin., Somerset, NJ U.S.A., Union Carbide Corporation, Industrial Chemical Division.
- 8) 40 CFR 180.151 Ethylene Oxide, Tolerances for residues, Code of Federal Regulations, Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, Washington D.C. U.S.A., Environmental Protection Agency, July 1989.
- 9) 40 CFR 185.2850 Ethylene Oxide, tolerances for pesticides in food, Code of Federal Regulations, Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, Washington D.C. U.S.A., Environmental Protection Agency, July 1989.
- 10) Farm Chemicals Handbook 87, Willoughby Ohio, Meister Publishing Co., 1987, p. 110.
- 11) Gas Sterilants, Somerset U.S.A., Union Carbide Corporation, Linde Division.
- 12) IARC, Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man, Geneva, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 1976.

13) INTERNATIONAL TECHNICAL INFORMATION INSTITUTE, Toxic And Hazardous Industrial Chemicals Safety Manual, Tokyo Japan, 1982.

14) KRAMER AMIAUD & TWIGG BERNARD A., Quality Control For The Food Industry, 3rd. edition, Connecticut U.S.A., The AVI publishing company inc, 1979, cap 9.

15) LOEWENFELD CLAIRE Y BACK PHILIPPA., Gufa de las Hierbas y Especies, Barcelona España, Ediciones Omega S.A., 1980.

16) Nationwide Food Consumption Survey, Continuing Survey of Food Intakes by Individuals, Human Nutrition Information Service, Nutrition Monitoring Division, Maryland U.S.A., United States Department of Agriculture, 1985-1986.

17) NIOSH, Pocket Guide to Chemical Hazards, 5th ed., U.S. Department of Health and Human Services, Washington D.C., Sept. 1985.

18) Norma Oficial Mexicana NOM-F-293-1982. Alimentos Para Humanos - Manzanilla Para Infusiones., México D.F., Dirección General de Normas, Secretaria de Patrimonio y Fomento Industrial, 1982.

19) Norma Oficial Mexicana NOM-F-248-1975. Alimentos Para Humanos - Microbiológicos - Especies y condimentos - Determinación de microorganismos., México D.F., Dirección General de Normas, Secretaria de Patrimonio y Fomento Industrial, 1975.

20) OSHA, 48 CFR 17284, U.S.A., 1983.

21) PANGBORN ROSE M. Y PEDRERO F. DANIEL, Evaluación Sensorial de los Alimentos, México D.F., Editorial Alhambra Mexicana S.A. de C.V., 1989, pag. 72-77.

22) PELCZAR J. MICHAEL et al, Microbiología, 2da. edición, México, Ed. Mc.Graw Hill, Mayo 1990, cap. 6

23) PINTAURO D. NICHOLAS., Tea and Soluble Tea Products Manufacture., New Yersey U.S.A., Noyes Data Corporation, 1977, Food Technology Review No.38.

24) Plantas Medicinales, México 1987, Selecciones del Reader's Digest, cap. 7

25) REYNOLDS J.E.F. & PRASAD A.B., Martindale - The Extra Pharmacopoeia, 28th ed., London, The Pharmaceutical Press, 1982.

26) RICHMOND GW et al, Arch Environmental Health 40, U.S.A, 1985.

27) 21 CFR 182.10 Spices and other natural seasonings and flavorings, Code of Federal Regulations, Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, Washington D.C. U.S.A., Food and Drug Administration, July 1989.

28) UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY / CARCINOGEN ASSESSMENT GROUP, The Carcinogen Assessment Group's List of Carcinogens, Washington D.C. U.S.A, 1980.

29) VERSCHUEREN K., Handbook of Environmental Data of Organic Chemicals, 2nd ed., New York U.S.A., Van Nostrand Reinhold Co., 1983.