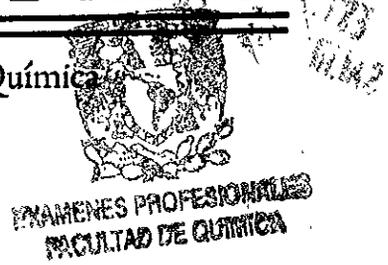




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química



"Evaluación del Empleo en México de la Irradiación como Método de Sanitización de Especies para uso en la Industria Cárnica"

T E S I S
para obtener el título de
QUIMICA DE ALIMENTOS
p r e s e n t a

María Eugenia Pérez Castro Ponce de León



México, D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

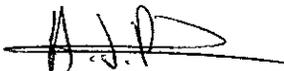
Presidente	Dra. Biserka Sveshtarova Pekarkova
Vocal	Ing. Eduardo Mendoza Martínez
Secretario	Dr. Antonio José Pérez Alonso
Primer Suplente	Ing. Hugo Rubén Carreño Ortiz
Segundo Suplente	Ing. Miguel Angel Hidalgo Torres

Lugar donde se desarrolló la tesis:

Laboratorio de Control de Calidad
Noris S.A. de C.V.,
Amores # 1734 Col. Del Valle C.P. 03100
México D.F.

Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares
Centro Nuclear de México, "Dr. Nabor Carrillo"
Departamento del Irradiador Gamma

Director de Tesis:



Dr. Antonio José Pérez Alonso

Asesora Técnica:



Dra. Ana O. Cañas Urbina

Sustentante:



María Eugenia Pérez Castro Ponce de León

AGRADEZCO

- Al Dr. Antonio José Pérez Alonso su apoyo y confianza durante la elaboración de este trabajo

- A la Dra. Ana Cañas su ayuda y consejo

- Al Ing. Gustavo Liceaga su apoyo y las facilidades brindadas para la realización de este trabajo experimental

- A Héctor e Imelda su alegría con la cual convirtieron las presiones en un ambiente cálido y agradable

- A la Dra. Biserka Sveshtarova su confianza, su cariño y por haber despertado en mi el gusto por la microbiología y la investigación

- Al QFB. Raúl Garza por el apoyo y consejo brindado a lo largo de mi carrera

Gracias a Dios por cada amanecer, por estar a mi lado y darme tantas oportunidades que me han permitido valorar, compartir, crecer y realizar mis sueños.

Papá y mamá, gracias porque con su amor, ejemplo y apoyo me han impulsado a enfrentar y a compartir los retos, disfrutando los pequeños detalles de los cuales esta hecha la vida.

Gracias Hermana, por compartir, apoyarme, tenerme paciencia, transmitirme tu alegría y hacerme reír. Te quiero mucho...

Carmen, gracias por impulsarme, ayudarme y darme tu mano durante toda mi carrera.

Gracias Abuelita Lourdes, Abue Carmen y a mi gran familia por su alegría y cariño.

Erika y Elsa, gracias por apoyarme incondicionalmente y por su cariño

Gracias Pancho, Jahel, Nohemi, Vero, Vane y Gaby por su amistad

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Especies: Definición e importancia	5
2.2 Microbiología de las especias	6
2.3 Métodos de sanitización de especias	8
2.3.1 Irradiación	9
2.3.1.1 Historia	9
2.3.1.2 Irradiación en México	9
2.3.1.3 Irradiación y radiactividad	10
2.3.1.4 Fuentes y niveles de irradiación	10
2.3.1.5 Efectos letales de la irradiación	12
2.3.1.6 Determinación deD ₁₀	13
2.3.1.7 Etiquetado	13
2.3.1.8 Irradiación de especias	14
2.3.1.9 Mitos relacionados con la irradiación	15
2.3.2 Óxido de etileno(ETO)	16
2.3.3 Tratamiento térmico	17
2.3.4 Comparación entre los métodos de sanitización	18
2.4 Usos generales de las especias estudiadas: cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo	19
2.4.1 Cilantro	21
2.4.2 Orégano	21
2.4.3 Pimentón español dulce	22
2.4.4 Chile guajillo	23

2.5 Almacenamiento de las especias	23
3. OBJETIVOS	25
4. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1 Equipos	26
4.2 Medios de cultivo	26
4.3 Preparación de la muestra	27
4.4 Análisis microbiológico	27
4.4.1 Microorganismos mesófilos aerobios	27
4.4.2 Mohos y levaduras	27
4.4.3 Enterobacterias	27
4.4.4 Coliformes totales	28
4.4.5 <i>Petrifilm</i> TM <i>E. coli</i> Plate Count	28
4.4.6 <i>Salmonella</i>	28
4.4.7 Análisis estadístico y D ₁₀	29
4.5 Análisis fisicoquímicos	30
4.5.1 Determinación de humedad por el método de secado en estufa	30
4.5.2 Determinación de cenizas totales	30
4.5.3 Determinación de aceites volátiles	31
4.5.4 Determinación del color extraíble	31
4.5.5 Análisis estadístico	32
4.6 Secuencia experimental	32
4.6.1 Irradiación de especias	32
4.6.1.1 Dosis promedio	32
4.6.2 Secuencia de análisis microbiológicos y fisicoquímicos	32
4.6.3 Efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en la carga microbiana y las propiedades fisicoquímicas del cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo	35

5. RESULTADOS	38
5.1 Dosis de irradiación	38
5.2 Efecto de la irradiación en los microorganismos y en las propiedades físicoquímicas de las especias estudiadas	38
5.3 Efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en la carga microbiana y en las propiedades físicoquímicas de las especias irradiadas estudiadas	43
6. DISCUSIÓN	49
6.1 Dosis de irradiación	49
6.2 Efecto de la irradiación en la carga microbiana y las propiedades físicoquímicas en las especias estudiadas	49
6.2.1 Cilantro	49
6.2.2 Orégano	51
6.2.3 Pimentón español dulce	52
6.2.4 Chile guajillo	54
6.3 Efecto de la temperatura de almacenamiento en la carga microbiana y las propiedades físicoquímicas de las especias irradiadas	56
7 CONCLUSIONES	58
8 RECOMENDACIONES	59
9 REFERENCIAS	60

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
TABLA 1 Valores máximos recomendados de microorganismos en especias de uso en la industria alimentaria	7
TABLA 2 Dosis de irradiación permitidas en hierbas secas, frutas secas, condimentos y hierbas de infusión	10
TABLA 3 Dosis de irradiación dependiendo del fin que persiga	12
TABLA 4 Comparación de los tres métodos de sanitización para especias	19
TABLA 5 Especias que se utilizan frecuentemente en México en la fabricación de productos cárnicos	20
TABLA 6 Dosis de irradiación promedio del cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo calculadas a partir de la dosis mínima y máxima registradas por el dosímetro.	38
TABLA 7 Efecto de diferentes dosis de irradiación en <i>E. coli</i> y de colonias presuntivas de <i>Salmonella</i> en las cuatro especias estudiadas	43
TABLA 8 Valores de D_{10} de los microorganismos mesófilos aerobios, mohos y levaduras de las cuatro especias estudiadas	43
TABLA 9 Efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en <i>E. coli</i> y en las colonias presuntivas de <i>Salmonella</i> en las cuatro especias estudiadas	48

INDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
FIGURA 1 Símbolo Internacional de Alimentos Irradiados (Radura)	14
FIGURA 2 Secuencia de irradiación y experimental de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos para cilantro y el orégano	33
FIGURA 3 Secuencia de irradiación y experimental de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos para pimentón español dulce y chile guajillo	34
FIGURA 4 Secuencia experimental de irradiación, de almacenamiento y de análisis microbiológico y fisicoquímico para cilantro y orégano	36
FIGURA 5 Secuencia experimental de irradiación, de almacenamiento y de análisis microbiológico y fisicoquímico para pimentón español dulce y el chile guajillo	37
FIGURA 6 Efecto de la irradiación a dosis de 0, 1.75, 5.1 y 7.75 kGy sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del cilantro	39
FIGURA 7 Efecto de la irradiación a dosis de 0, 5.15, 7.15 y 10.4 kGy sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del orégano	40
FIGURA 8 Efecto de la irradiación a dosis de 0, 5.05, 7.5, 10.5, 12 y 17.25 kGy sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del pimentón español dulce	41
FIGURA 9 Efecto de la irradiación a dosis de 0, 5.05, 7.25, 11.2, 12 y 17.25 kGy sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del chile guajillo	42

- FIGURA 10** Efecto de la temperatura de almacenamiento tiempo cero (control), temperatura ambiente y temperatura de refrigeración sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del cilantro irradiado a dosis de 7.75 kGy 44
- FIGURA 11** Efecto de la temperatura de almacenamiento tiempo cero (control), temperatura ambiente y temperatura de refrigeración sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del orégano irradiado a dosis de 10.4 kGy 45
- FIGURA 12** Efecto de la temperatura de almacenamiento tiempo cero (control), temperatura ambiente y temperatura de refrigeración sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del pimentón español dulce irradiado a dosis de 10.5 kGy 46
- FIGURA 13** Efecto de la temperatura de almacenamiento tiempo cero (control), temperatura ambiente y temperatura de refrigeración sobre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas del chile guajillo irradiado a dosis de 11.2 kGy. 47

RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo evaluar el proceso de irradiación como método de sanitización industrial en las siguientes especias: cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo.

Se utilizaron las siguientes dosis promedio de irradiación:

- Cilantro: 1.75, 5.1 y 7.75 kGy
- Orégano: 5.15, 7.15 y 10.4 kGy
- Pimentón español dulce: 5.05, 7.5, 10.5, 12.0 y 17.5 kGy
- Chile guajillo: 5.0, 7.25, 11.2, 12.0 y 17.5 kGy

El efecto de las diferentes dosis de irradiación utilizadas se analizó desde el punto de vista microbiológico y fisicoquímico. Los análisis microbiológicos que se realizaron fueron la determinación de: microorganismos mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales, enterobacterias, *Escherichia coli* y colonias presuntivas de *Salmonella*. Los análisis fisicoquímicos que se realizaron fueron la determinación de humedad, cenizas, aceites volátiles y color extraíble. Para el cilantro y el orégano se analizó el contenido de aceites volátiles mientras que para el pimentón español dulce y el chile guajillo, se determinó el contenido de color extraíble.

Se estudió también el almacenamiento a temperatura ambiente y de refrigeración por 50 días para las siguientes dosis promedio de irradiación:

- Cilantro: 7.5 kGy
- Orégano: 10.4 kGy
- Pimentón español dulce: 10.5 kGy
- Chile guajillo: 11.2 kGy

Los resultados obtenidos indican que la irradiación reduce la carga microbiana dependiendo de la especia y el tipo de microorganismo. Para el cilantro no es justificable el uso de la irradiación debido a su baja carga inicial de microorganismos. Para el orégano, si es justificable el empleo de la irradiación a una dosis promedio de

10.4 kGy dada la elevada carga microbiana inicial y la fuerte reducción de microorganismos mesófilos aerobios, mohos, levaduras y coliformes, así como el mantenimiento de aceites volátiles. Para el pimentón español dulce, es conveniente utilizar la irradiación a dosis promedio de 10.5 kGy debido a la fuerte carga microbiana inicial. Aunque en este caso el color extraíble disminuye hasta en un 10 %, la reducción de mesófilos aerobios, mohos, levaduras y enterobacterias la compensan ampliamente. Para el chile guajillo, también es recomendable irradiar a una dosis promedio de 11.2 kGy debido a la elevada población inicial de microorganismos y la reducción que se obtiene fundamentalmente en microorganismos mesófilos aerobios y enterobacterias. De manera semejante al pimentón español dulce la disminución del color extraíble se compensa con la obtención de una menor carga microbiana.

Con respecto al almacenamiento por 50 días los resultados demuestran que, el cilantro y el orégano no experimentan un aumento en la carga microbiana y tampoco una disminución en sus propiedades fisicoquímicas a temperatura ambiente con respecto al almacenamiento en refrigeración. En el caso del pimentón español dulce y del chile guajillo a pesar de que no hay un aumento en la carga microbiana sí se observa una disminución en la cantidad de color extraíble al ser almacenados a temperatura ambiente con respecto al almacenamiento en refrigeración.

1. INTRODUCCIÓN

México es un país que produce una gran variedad de especias, las cuales se utilizan para condimentar alimentos y como colorantes naturales, aplicándose tanto a nivel industrial como doméstico. Dentro de las aplicaciones industriales posiblemente los sectores más importantes sean el de botanas, el de confitería y el de cármicos.

Las especias, al igual que otros productos agrícolas, pueden funcionar como un inóculo de microorganismos en los productos alimentarios en los que se utilizan. Específicamente dentro del sector cármico, los productos más sensibles al desarrollo de microorganismos son los embutidos crudos, pues a pesar de que las especias se utilizan en cantidades moderadas (menor al 4%), no reciben ningún proceso térmico antes de su comercialización. Este tipo de productos cármicos son uno de los de mayor consumo en México, de tal modo que su producción es superior a las cuatro mil toneladas mensuales (Cacho, 1999).

Dentro de las especias que se utilizan comúnmente en las formulaciones de embutidos crudos están el cilantro, el orégano y el chile guajillo. Este último suele ser sustituido parcial o totalmente, por pimentón español dulce en productos de alto valor añadido.

Dados los problemas derivados del contenido de microorganismos, muchos industriales demandan que las especias comercializadas hayan sido sometidas a algún proceso de sanitización. En la actualidad uno de los procesos de sanitización más importantes es la irradiación, a tal grado, que muchos industriales consideran que irradiar a dosis de 10 kGy es un "certificado de esterilidad". Para constatar la magnitud que está adquiriendo este proceso, en 1999, se irradiaron en México más de 2500 toneladas de especias (Liceaga, 1999). A pesar de esto, existe poca información sobre los efectos de la irradiación en muchas especias mexicanas, tanto desde el punto de vista microbiológico como de sus propiedades fisicoquímicas.

En este sentido el presente trabajo tiene como objetivo contribuir a mejorar el conocimiento sobre el proceso de irradiación en México desde un punto de vista

práctico. De este modo se pretende favorecer la eliminación de concepciones erróneas como la de equiparar al producto irradiado a 10 kGy con un producto estéril y poner en manifiesto que la irradiación no puede servir para ocultar problemas derivados de unas malas prácticas de manufactura.

2. ANTECEDENTES

2.1 Especies. Definición e importancia

Desde hace más de 5000 años las especias se utilizan tanto como condimentos, como con propósitos medicinales (Castelman, 1994). Los chinos y egipcios las utilizaban para curar, hacer pócimas amorosas y embalsamar a los muertos. Durante el periodo de la Edad Media los árabes monopolizaron el mercado de las especias, dando lugar al establecimiento de rutas comerciales. Se considera que la búsqueda de las especias fue una de las principales causas del descubrimiento de América, pues se trataba de encontrar una ruta más corta para llegar a las Indias y evitar el monopolio existente (Kenneth, 1990; Ashurst, 1991).

El *Codex Alimentarius* (Codex Alimentarius, 1989) define la especia como la parte aromática de la hoja, flor o fruto de la planta, que se utiliza para proporcionar un aroma o sabor a los alimentos o bebidas. La *International Standard Organization* (ISO), la define como producto natural o mezclas de plantas, sin materias extrañas, que se utilizan para dar sabor, aroma y sazón a los alimentos, dicha denominación se aplica tanto en producto entero como en polvo (Nieto-Sandoval, 1998). En México se entiende por especia la planta o partes de ella que contienen sustancias aromáticas, sápidas o excitantes que se emplean para aderezar o mejorar el aroma o el sabor de los alimentos y bebidas, cuyo uso se autoriza por la Secretaría de Salud (Reglamento de la Ley de Salud, 1999).

En la actualidad las especias se usan en México como condimentos en productos cármicos, pescados, vegetales y productos de panadería (Coretti, 1986). Algunas de ellas como el pimentón, el chile guajillo y la cúrcuma poseen la capacidad de dar coloración a diversos alimentos (Albaleadejo y Costa-García, 1993). Otras poseen características antibacterianas asociadas a los aceites esenciales que contienen (Gray y Flatt, 1999).

Las especias, como otros productos agrícolas pueden estar acompañadas de microorganismos por lo que el estudio de su microbiología es de gran trascendencia.

2.2 Microbiología de las especias

La mayor parte de las especias provienen de plantas que tienen poca altura, por lo que el riesgo de contaminación con tierra es muy grande. Además, los procesos de riego, cosecha, secado, molienda, empaçado y transporte, generalmente no cumplen con las Buenas Prácticas de Manufactura (Lomeli, 1987).

Es por eso que las especias pueden funcionar como un inóculo de microorganismos en los alimentos en los que se utilizan, incluso aunque se usen en cantidades moderadas, como es el caso de los embutidos en donde mezclan de 1 a 4 kg de especia en 100 kg de pasta (Kenneth, 1990; ICGFI e IAEA 1995). Debido a esto los diferentes países han establecido normativas sobre el contenido microbiano en las especias.

En Estados Unidos de América la U.S. *Food and Drug Administration* (USFDA) en la sección 201, *Food Additive*, indica que una especia es considerada como un aditivo, por lo que debe de estar libre de microorganismos patógenos (FDA, 1999).

En España, el Real Decreto 2242-1584 de 26 de Septiembre (BOE 22-12-84) aprueba la reglamentación técnico - sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de condimentos y especias especificándose: "que las especias y condimentos estarán libres de parásitos en cualquiera de sus formas. No contendrán microorganismos patógenos o sus toxinas, para *Escherichia coli* el límite es 25 UFC/g y para *Salmonella* Ausencia /25 g (Pardo-González, 1998).

En México, el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de 1999, en el título decimoquinto, Condimentos y Aderezos, el artículo 967 indica "que las especias deberán someterse a tratamientos aprobados sanitariamente, para abatir la flora microbiana que normalmente las acompaña". La Norma Oficial Mexicana (NOM)-F-1-1982 Alimentos-Especias y Condimentos-Pimentón, establece que "el producto no debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas ni otras sustancias tóxicas que puedan afectar la salud del consumidor o provocar deterioro del producto".

Dentro de la industria alimentaria se aceptan unos niveles máximos recomendados de carga microbiana que sin tener un carácter normativo son de gran utilidad ya que cubren no sólo a los microorganismos patógenos, sino también algunos

no patógenos. Estos valores recomendados (Pérez-Alonso, 1999a) se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Valores máximos recomendados de microorganismos en especias de uso en la industria alimentaria

MICROORGANISMO	VALORES MÁXIMOS RECOMENDADOS
Mesófilos aerobios	< 10 ⁶ UFC/g
Mohos y levaduras	< 10 ⁷ UFC/g
Coliformes totales	< 3 NMP/g
Colonias presuntivas de <i>Salmonella</i>	Ausencia /25 g
<i>E. coli</i>	< 25 UFC/g

Fuente. Pérez-Alonso, 1999 a

Mundialmente los principales grupos microbianos de interés en especias son: (ICGFI e IAEA 1995; Anderson, 1992)

- Los mesófilos aerobios
- Los mohos y levaduras
- Los coliformes
- Las enterobacterias
- *Escherichia coli* y *Salmonella*

A continuación se analizan con detalle.

Mesófilos aerobios. A través de los mesófilos aerobios se estima la flora total, sin especificar el género de los microorganismos. Esta determinación indica la calidad sanitaria de las especias, las condiciones higiénicas de la materia prima y la forma como fueron manipuladas durante la elaboración del producto. Los recuentos microbianos en especias oscilan entre 10⁴ a 10⁶ UFC/g (ICMSF, 1980 a). En general se ha encontrado que las cuentas son más bajas en especias enteras que en las especias quebradas o molidas (Anderson, 1992; Prakash, 1990).

Mohos y levaduras. Estos microorganismos deterioran la calidad de los alimentos con gran facilidad y afectan seriamente la vida de anaquel de los mismos. Así la presencia de levaduras provoca la fermentación (Anderson, 1992). Adicionalmente los mohos y levaduras son capaces de producir problemas en la salud del consumidor, ya que pueden generar micotoxinas que den lugar a intoxicaciones.

Microorganismos patógenos. Como su propio nombre lo indica son capaces de producir enfermedades en el hombre por lo que es necesario identificarlos. Dentro de los microorganismos patógenos uno de los grupos más importantes es el de las Enterobacterias cuya importancia radica en que pueden causar enfermedades gastrointestinales severas. (Anderson, 1992). Desde el punto de vista microbiológico son bacilos Gram negativos no esporulados, aerobios y anaerobios facultativos.

Las Enterobacterias se clasifican en dos géneros:

1. Las que no fermentan la lactosa como *Salmonella*
2. Las que fermentan la lactosa con producción de gas como los coliformes dentro de los cuales tiene especial interés: *Escherichia coli* (*E. coli*) (Mossel, Nieven y Thacher 1963).

Con el fin de reducir y/o eliminar las cargas microbianas en las especias es posible aplicar procesos de sanitización, los cuales pueden llegar a ser obligatorios (Pardo-Gonzalez, 1998)

2.3 Métodos de sanitización de especias

Sanitizar significa reducir, mediante agentes físicos o químicos, la carga microbiana presente en un material (IAEA, FAO y WHO, 1992; Kiss y Farkas, 1988; ICMSF, 1980a). En el *Food Code* (FDA, 1999), se define sanitización como la aplicación de calor o de sustancias químicas que reducen como mínimo 5 ciclos logarítmicos, lo cual es igual a reducir en 99.999 %, la cantidad de microorganismos dañinos para la salud. La sanitización de especias (Reglamento de la Ley General de Salud, 1999), es un proceso cada vez más extendido y necesario para dar respuesta a las crecientes demandas sociales de calidad y seguridad. Hoy en día, existen diversos métodos de sanitización para especias, pero los más importantes son: Irradiación, tratamiento con óxido de etileno y tratamiento térmico (Pardo-González, 1998).

2.3.1 Irradiación

2.3.1.1 Historia

Desde finales del siglo XIX, se conoce la irradiación, pero es a partir de la Segunda Guerra Mundial que se desarrolla tecnológicamente. En 1980, el ejército estadounidense transfiere a la *United States Department of Army* (USDA) el programa de irradiación. En 1983 la *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO)/ *World Health Organization* (WHO) aprueba las dosis de irradiación para diferentes productos alimenticios (Urbain, 1986).

El 9 de mayo de 1984, se forma un grupo, el *International Consultative Group on Food Irradiation* (ICGFI), bajo la vigilancia de FAO, *International Atomic Energy Agency* (IAEA) y WHO, integrado por 137 países, entre ellos México, quienes elaboraron un Codex Estándar y General para Alimentos Irradiados, donde se describen las " Buenas prácticas de irradiación " (ICGFI, 1991). En México la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SSAI-1993, establece las dosis autorizadas de irradiación. En la tabla 2 se indican las dosis de irradiación permitidas en hierbas secas, frutas secas, condimentos y hierbas de infusión (NOM-033-SSAI-1993).

Para tener una idea de la importancia que ha alcanzado la irradiación, durante 1997 en Norteamérica (Canadá, Estados Unidos y México), se han sanitizado por irradiación, aproximadamente 34 000 toneladas de especias, hierbas y condimentos (*Food Ingredients Council*, 1998).

2.3.1.2 Irradiación en México

Desde 1968 se iniciaron los trabajos en el área de irradiación de alimentos en México. Fue en 1980, cuando se instaló en la Planta de Irradiación Gamma del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), en el Estado de México, un irradiador modelo JS-6500 de manufactura canadiense. Con este equipo en 1985, el ININ inició la irradiación de alimentos con fines comerciales (ININ, 1999).

El 18 de enero de 1988 se publicó en el Diario Oficial de la Federación, el Artículo 36 de la Ley General de Salud, que permite utilizar la irradiación para tratar alimentos (Ley General de Salud, 1988). Durante el periodo de 1985 a 1999 la

demanda para la irradiación de alimentos aumentó progresivamente. Así a, principios del año 2000 una nueva empresa de carácter privado, *NGS Enterprise*, abrirá la primera planta de irradiación con fines absolutamente comerciales en nuestro país (Torres-Salazar, 1999).

Tabla 2. Dosis de irradiación permitidas en hierbas secas, frutas secas, condimentos y hierbas de infusión

PRODUCTO O GRUPO	PROPÓSITO	DOSIS MÍNIMA (kGy)	DOSIS MÁXIMA (kGy)
Hierbas secas Frutas secas Condimentos Hierbas de infusión	Asegurar la calidad sanitaria por reducción de microorganismos patógenos	5.0	10.0
	Controlar la infestación por insectos	0.15	1.0

Fuente: NOM-033-SSA1-1993. Bienes y servicios. Irradiación de alimentos. México

2.3.1.3 Irradiación y radiactividad

La irradiación de alimentos implica exponer al alimento a cantidades específicas y controladas de radiación ionizante por un tiempo determinado. Este proceso no aumenta la radiactividad natural de los alimentos, a no ser que la dosis absorbida sea mayor a 30 kGy (Doyle, Beuchat y Montville, 1997; Urbain, 1986).

A pesar de lo anterior existe un gran desconocimiento y confusión sobre los conceptos de irradiación y radiactividad, por lo que se considera conveniente definirlos a continuación (Doyle, Beuchat y Montville, 1997; Urbain, 1986; ICMSF, 1980a).

- **Radiactividad.** Es la emisión de rayos alfa, rayos beta o rayos gamma.
- **Irradiación.** Es someter a un material a cualquiera de las emisiones descritas en el apartado anterior, o a los rayos X.

2.3.1.4 Fuentes y niveles de irradiación

Las fuentes de irradiación que se utilizan actualmente pueden tener tres diferentes longitudes de onda (Urbain, 1986).

1. **Rayos X.** Su longitud de onda va de 10^{-11} a 10^{-9} metros. Poseen gran energía y un buen poder de penetración, pueden concentrarse como medida de protección. No se utilizan aún en el tratamiento de alimentos.
2. **Rayos beta (electrones acelerados o rayos catódicos).** Su longitud de onda depende de la energía de la fuente. Pueden producir efectos muy intensos sobre zonas de un área pequeña, pero su penetración se reduce a pocos centímetros. Por ello, se les utiliza más para tratamientos superficiales o de capas delgadas de alimentos. Las ventajas de este método sobre las radiaciones gamma, son que las instalaciones generadoras no son consideradas radiactivas, el aparato es menos costoso, la fuente de energía se puede apagar y se puede graduar la cantidad de energía que se quiere emitir (el nivel de energía puede llegar a ser el doble que el de Co^{60}), para que penetre a mayor profundidad. Este método está tomando fuerza y se piensa que puede llegar a reemplazar a la irradiación por rayos gamma (ICGFI e IAEA, 1995).
3. **Rayos gamma.** Es una radiación de muy alta energía, que se genera durante la desintegración de isótopos radiactivos fundamentalmente Cobalto 60 (Co^{60}) y Cesio 137 (Cs^{137}). Tiene un gran poder de penetración y su longitud de onda va de 10^{-10} a 10^{-14} metros.

El efecto sanitizante de la radiación está en relación con la energía absorbida por el alimento. La radiación se cuantifica en términos de dosis de radiación, la cual se puede expresar como dosis absorbida (más común en alimentos) o recibida (Doyle, Beuchat y Montville, 1997). Las unidades en las que se mide la irradiación son (Urbain, 1986).

- Gray (Gy) que es la unidad del Sistema Internacional de Unidades.
1Gy = 100 Joules/kg
- Rad, que es la unidad técnica cuyo múltiplo práctico es el Mrad donde
1 Mrad = 10 kGy
- Curio (Ci), que mide la actividad de la fuente de radiación donde
1 Ci = 3.7×10^{10} desintegraciones por segundo

Como se puede apreciar en la tabla 3, existen varios niveles de irradiación que pueden aplicarse en los alimentos según el fin que se persiga (Doyle, Beuchat y Montville, 1997; Farkas, 1980; Goresline y col. 1964). Concretamente, en especias, el

tratamiento más utilizado es la radiación, donde la dosis de irradiación que se utiliza varía entre 3 y 10 kGy.

Tabla 3 Dosis de irradiación dependiendo del fin que se persiga

NOMBRE	DOSIS REQUERIDA	FINALIDAD
Radapertización	25 - 60 kGy	Preparar productos alimenticios comercializados estériles destruyendo microorganismos y parásitos
Reducción o eliminación de microorganismos	3.0 - 20 kGy	Se utiliza para alimentos secos e ingredientes como especias, almidón, y preparaciones de enzimas
Radiación	3.0 - 10 kGy	Reducir el número de microorganismos viables y patógenos no esporulados
Radurización	0.5 - 10 kGy	Reducir considerablemente la población de ciertos microorganismos con el fin de mejorar la calidad final del alimento
Desinsectación	0.2 - 0.8 kGy	Eliminar insectos
Desinfestación de parásitos	0.1 - 3.0 kGy	Eliminar los parásitos presentes en carnes y otros alimentos
Inhibición de la germinación	0.03 - 0.12 kGy	Evitar que los tubérculos puedan germinar durante el almacenamiento.

Fuente Urbain. Food Irradiation 1986.

2.3.1.5 Efectos letales de la irradiación

Los efectos biológicos que produce la irradiación se derivan de que interacciona directa e indirectamente con los componentes críticos de la célula como el DNA y la membrana citoplasmática. El DNA se ve afectado al producirse cambios en su estructura. En la membrana citoplasmática se inducen daños irreparables en las células (Doyle, Beuchat y Montville 1997; IAEA, 1991). La sensibilidad de los organismos ante la irradiación es inversamente proporcional a su tamaño y a su complejidad (ININ, 1999; IAEA, FAO y WHO, 1992; Kiss y Farkas, 1988).

La resistencia de los microorganismos a la irradiación depende de varios factores, algunos de estos están relacionados tanto con el microorganismo, como con la edad de las células, con el daño ocasionado a la membrana citoplasmática y la capacidad para reparar los daños sufridos en su DNA. Otros factores son extracelulares (Doyle, Beuchat y Montville, 1997; Rubio, 1991).

1. **Atmósfera.** Los efectos letales aumentan en ausencia de oxígeno.

2. **Contenido de agua.** La letalidad aumenta con la presencia de agua. Los sustratos deshidratados requieren dosis dos a tres veces más altas para obtener efectos microbicidas equivalentes a los de los de sustratos hidratados.
3. **Composición del medio.** Cuanto más rico nutritivamente sea el medio, mayor será la resistencia a la irradiación.
4. **Temperatura.** El aumento en la temperatura durante la irradiación favorece su efectividad.

Desde el punto de vista industrial, existen algunos aspectos que hay que considerar:

1. **La naturaleza del empaque que NO influye en el proceso de irradiación.** Así el tratamiento se aplica a los productos ya envasados herméticamente: la acción de los rayos se efectúa sobre el producto a través del envase, lo que garantiza que no haya una recontaminación del producto tratado.
2. **El almacenamiento mejora el efecto de la irradiación.** Así se ha constatado, que muchos de los microorganismos dañados parcialmente son incapaces de recuperarse y mueren (Farkas, 1980; Pardo-González, 1998).

2.3.1.6 Determinación de D_{10}

El valor de D_{10} es la dosis de irradiación necesaria para destruir 90 % de los microorganismos iniciales. Este parámetro ha sido usado ampliamente para cuantificar el efecto de la irradiación (Doyle, Beuchat y Montville, 1997; Urbain, 1986). El valor de D_{10} se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$D_{10} = \text{dosis de radiación} / \log N_0 - \log N$$

donde:

N_0 : Es el número inicial de microorganismos

N: Número de microorganismos supervivientes a la dosis de radiación dada

2.3.1.7 Etiquetado

El alimento que fue tratado con irradiación debe tener en la etiqueta una leyenda que diga: "Producto Irradiado" y a su lado debe de tener el símbolo Internacional de Alimentos Irradiados (Radura) Figura 1, en colores contrastantes y en la misma

dimensión que la denominación del producto (Reglamento de la Ley General de Salud, 1999; ICGFI, 1991).



Figura 1: Símbolo Internacional de Alimentos Irradiados (Radura)

En la modificación del 9 de agosto de 1999 al Reglamento General de Salud, Art. 223, se menciona que para "la materia prima que recibió irradiación, debe de indicarse en la etiqueta del producto que fue tratada con irradiación". Por otro lado, la NOM-033-SSAI-1993, Bienes y Servicios. Irradiación de alimentos. Dosis permitidas en alimentos, materias primas y aditivos alimentarios, hace mención en términos generales de la necesidad de etiquetar el producto con el símbolo de Radura, cuando este fue irradiado como parte final de su proceso. El *Codex Alimentarius* hace mención que cuando un producto que es utilizado como ingrediente en otro alimento fue tratado con irradiación, debe de declararse en la lista de ingredientes como materia prima irradiada (*Codex Alimentarius*, 1989).

2.3.1.8 Irradiación de especias

Al igual que otros alimentos las especias suelen ser irradiadas con el fin de mejorar sus propiedades microbiológicas y/o eliminar la presencia de insectos. En la tabla 3 se presentan las dosis de irradiación permitidas en hierbas secas, frutas secas, condimentos y hierbas de infusión (NOM-033-SSAAI-1993). Dado que el principal propósito en el caso de las especias es asegurar su calidad sanitaria, las mismas suelen ser irradiadas a niveles de 10 kGy, esto se deriva de varias razones:

- La diferencia en el costo global (que incluye factores como el transporte) por irradiar a 5 o a 10 kGy no es sustancial. El empleo del mayor nivel autorizado proporciona mayor confianza sobre la calidad microbiana del producto final.

Algunas instalaciones de irradiación, como el ININ, están diseñadas para operar solamente a 10 kGy.

- Las únicas excepciones se plantean cuando alguna de sus propiedades tecnológicas puede reducirse. Este es el caso del cilantro (Urbain, 1986). Sin embargo, en general se suele admitir cierta pérdida en las propiedades tecnológicas siempre que la calidad microbiana final sea la requerida.

2.3.1.9 Mitos relacionados con la irradiación

Uno de los temas más discutidos sobre la irradiación es su seguridad y sus posibles efectos negativos. Muchas organizaciones se han dedicado a estudiar los efectos que la irradiación tiene sobre el alimento y el efecto que los alimentos irradiados tienen sobre los seres vivos (ICGFI, 1991; ICGFI e IAEA, 1995). A lo largo de estos estudios, no se han encontrado diferencias con otros métodos de sanitización que se han utilizado durante más tiempo. Adicionalmente hoy en día existen métodos para saber si el producto ha sido o no irradiado. Esto permite tener un control más estricto de la dosis a la que el producto es sometido. Este tipo de pruebas, impulsan las Buenas Prácticas de Manufactura, con el objeto de mejorar la calidad de los productos y no abusar de los métodos de sanitización (como la irradiación).

Sin embargo, persisten las críticas y conceptos relativos al empleo de irradiación, que en cierta medida son erróneos, debido a los motivos que se analizan a continuación.

- a) **El proceso de irradiación no hace que el alimento sea radiactivo.** Los niveles de irradiación están controlados, regulados y el alimento como tal nunca entra en contacto directo con la fuente de radiación, por lo que es imposible que el alimento al ser irradiado se convierta en radiactivo (ICGFI, 1991; Kiss y Farkas, 1988).
- b) **Los alimentos irradiados no pierden de manera significativa su valor nutritivo.** Aunque estos sean sometidos a la dosis máxima permitida para el producto, las pérdidas nutrimentales son menores que cuando se somete el producto a un proceso térmico. La irradiación no produce un aumento en la temperatura del producto, por lo que no se generan cambios en la composición y textura del alimento mientras se mantenga en los límites establecidos (Urbain, 1986).

- c) **Los alimentos irradiados no presentan ningún daño para la salud.** La FDA/IAEA/WHO/FAO han evaluado desde hace 40 años la seguridad de este método y lo consideran seguro y efectivo. Este método no provoca cambios en el sabor, textura o apariencia del alimento siempre y cuando se someta a las condiciones apropiadas para el producto (FDA/CFSAN, 1998).
- d) **La irradiación no causa cambios químicos, ni produce compuestos que deterioren las características fisicoquímicas del producto.** Los radicales libres durante la irradiación se miden en partes por billón (ppb) debido a que es mínima la cantidad de estos compuestos que se presentan en el producto tratado. La presencia de radicales libres es similar a la que se produce por medio de otros tratamientos como el tostado, el freído, la congelación y el secado (Pardo-González, 1998).
- e) **El proceso de irradiación no enmascara olores y sabores de putrefacción, ya que el deterioro de un alimento va acompañado de una serie de cambios físicos y químicos, los cuales no son reversibles ni con la irradiación ni con ningún otro método.** La irradiación, utilizando la dosis adecuada, reduce el número de microorganismos que causan deterioro en el alimento y posiblemente enfermedad en el hombre (Urbain, 1986; Doyle, Beuchat y Montville, 1997).

2.3.2 Óxido de etileno (ETO)

Los gases esterilizantes, entre los que se incluye el ETO, empezaron a emplearse a finales del siglo pasado. Esta práctica se discontinuó hasta que en 1950 volvió a tener importancia (Rosenberg y Bogl, 1987).

El método de sanitización con óxido de etileno tiene dos ventajas importantes (Vadji y Pereira, 1973; Farkas, 1980; Kiss y Farkas, 1988):

1. Se puede realizar a temperatura ambiente
2. El gas puede evacuarse totalmente del producto una vez finalizado el tratamiento.

El ETO es un gas penetrante, aunque en ciertos casos su velocidad de penetración puede ser muy baja, tanto por la naturaleza del producto, como por el material del envase (Kiss y Farkas, 1988). Este gas penetra fácilmente a través de la mayor parte de los materiales que se emplean en el envasado de productos. Sin embargo, el uso

de ciertos materiales como los plásticos sí causa problemas, ya que son poco permeables (Pardo-González, 1998).

La sanitización con óxido de etileno está en función de la concentración del gas, temperatura, la humedad y tiempo de contacto (Saraza y col. 1993).

El óxido de etileno ha sido ampliamente utilizado en la sanitización de especias debido a su alta capacidad microbicida y a su facilidad de manipulación, sin embargo, produce alteraciones en las cualidades sensoriales de las especias, generando aromas extraños, pérdidas de aceites volátiles y alteraciones en el color (Kiss y Farkas, 1988) además de ser un tratamiento costoso y lento.

La Agencia *International Agency for Research in Cancer* (IARC), clasifica al óxido de etileno como clase I, probablemente carcinogénico para humanos. Se ha prohibido en España y en algunos países de Europa como esterilizante de alimentos o de productos que puedan estar en contacto con alimentos (Saraza y col. , 1993). Su uso se ha relacionado con cáncer de estómago, cerebro, leucemia, y en animales se han observado problemas reproductivos, mutaciones y abortos. La exposición a este gas causa daño a nivel de DNA.

Las legislaciones son cada vez más exigentes a este respecto. Así, la legislación alemana permite un límite máximo de 10 ppb de residuos de óxido de etileno (Ethylene Oxide User's Guide, 1995). En México, no existe una regulación para el uso de este gas como sanitizante en alimentos, pero se puede utilizar como fungicida y bactericida para especias, granos, semillas y otros productos de baja humedad. Estados Unidos de América permite su uso en especias, pero no en productos frescos debido a que el óxido de etileno se absorbe en el tejido y produce cambios en los compuestos químicos que lo componen, favoreciendo la presencia de compuestos carcinogénicos (FDA/CFSAN, 1998).

2.3.3 Tratamiento térmico

El tratamiento térmico es uno de los procesos tecnológicos utilizados mas ampliamente en la industria alimentaria (Silla, 1992). Existen dos métodos que eliminan y/o reducen los microorganismos presentes en el producto: la esterilización y la pasteurización. La esterilización es la eliminación total de microorganismos a

temperatura mayor a 100 °C y la pasteurización es la destrucción de microorganismos a temperatura de 65°C durante 30 min o de 72°C durante 15 min (Saraza y col. 1993).

Normalmente la pasteurización y la esterilización utilizan equipos que han sido desarrollados para productos alimentarios envasados, semisólidos o líquidos, pero no se utilizan para tratar productos sólidos de forma granular o molidos como lo son las especias (Silla, 1992).

Actualmente las especias se pueden tratar térmicamente por tres formas (Saraza y col 1993):

1. **Mediante choque térmico utilizando vapor saturado.** La especia se trata con vapor sobrecalentado a 160-200°C. Su mayor inconveniente radica en el aumento de la humedad de las especias, que puede perjudicar su estabilidad microbiológica.
2. **Preencapsulación y tratamiento por vapor.** La especie se recubre con una proteína animal comestible y luego se produce un calentamiento en autoclave a vapor, a 105-110°C de cuatro minutos a dos horas, según el tipo de especia.
3. **Empleo de intercambiadores de calor.** Se mueve el producto, con un tomillo sin fin, dentro de un intercambiador de calor que eleva la temperatura del producto durante el tiempo que sea necesario para conseguir la destrucción de microorganismos. A continuación se enfría rápidamente para evitar en lo posible alteraciones en la calidad de la especia.

2.3.4 Comparación entre los métodos de sanitización

Todos los métodos tienen ventajas y desventajas como se puede ver en la tabla 4 (Rubio, 1991; ICGFI, 1991).

Tabla 4. Comparación de los tres métodos de sanitización para especias

MÉTODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Irradiación con rayos gamma	No son necesarios procesos de manipulación después de la sanitización	Requiere instalaciones especiales Disminución del color
Tratamiento con óxido de etileno	Alta capacidad microbicida Fácil manipulación del gas	El ETO es un producto sumamente inflamable En algunos países está prohibido El ETO produce compuestos carcinogénicos Pérdida de color, aceites volátiles
Tratamiento térmico	Alto efecto microbicida No se pierden aceites volátiles	El producto sometido a este tratamiento puede presentar alteraciones organolépticas Disminución del color

Fuente: Nieto-Sandoval JM. Nuevas tecnologías en la esterilización del pimentón. Influencia en la calidad final (tesis). España: Universidad de Murcia; 1996

En este trabajo nos centraremos en el uso de la irradiación dado que es el método que posee más potencial de uso en el presente y el futuro.

2.4 Especies de importancia en la industria cárnica

En el sector cárnico mexicano se emplea un gran número de especias con el fin de proporcionar sabor a los diferentes productos. En la tabla 5 se muestran las especias que se utilizan frecuentemente en México en la fabricación de productos cárnicos (ICMSF, 1980 b; Pérez-Alonso, 1999 b). El uso de especias con problemas microbianos puede afectar a los productos cárnicos fabricados, especialmente a los embutidos crudos, tales como el chorizo, la longaniza y la chistorra.

Tabla 5: Especies que se utilizan frecuentemente en México en la fabricación de productos cárnicos

ESPECIA	PARTE DE LA PLANTA QUE SE UTILIZA COMO ESPECIA	PRODUCTO CÁRNICO	
		COCIDO	CRUDO
Ajo	Fruto	X	X
Canela	Tallo	X	
Cebolla	Fruto	X	
Chile guajillo	Fruto	X	X
Cilantro	Semilla		X
Clavo	Semilla	X	X
Comino	Semilla		X
Fior de macis	Piel de la semilla	X	
Laurel	Hoja	X	X
Mejorana	Hoja		X
Nuez moscada	Semilla	X	
Orégano	Hoja		X
Pimentón	Fruto	X	X
Pimienta	Semilla	X	X
Romero	Hoja	X	
Tomillo	Hoja		X

Fuente Adaptado del ICMSF, Ecología Microbiana de los Alimentos 2 1980b
 Kenneth TF, Spices, Condiments and Seasonings. 1990.
 Pérez-Alonso. 1999b.

Esto se deriva tanto de la falta de una fase de pasteurización durante su fabricación, como por el empleo directo de las especias en ellos y no como sucede en muchos cárnicos cocidos, donde habitualmente se utilizan los aceites y las oleorresinas.

Dentro de las especias que se utilizan comúnmente en las formulaciones de embutidos crudos están el cilantro, el orégano y el chile guajillo. Este último suele ser sustituido parcial o totalmente, por pimentón español dulce en los productos de alto valor añadido. En este trabajo se estudian estas cuatro especias por lo que se describen a continuación con más detalle.

2.4.1 Cilantro (*Coriandrum sativum*) Familia: *Umbelliferae*

El cilantro procede de la región mediterránea, actualmente se cultiva principalmente en Irán, Oriente Medio, Estados Unidos, México, América Central y América del Sur (Prakash, 1990). Durante el periodo de 1979 a 1983, México ha importado aproximadamente 33% del total de la producción mundial de cilantro (Ashurst, 1991).

En la planta de cilantro la parte utilizada como especia es la semilla, que es esférica, nervada y de 3 a 4 mm de diámetro. Dada su fragilidad se puede moler con facilidad hasta obtener un polvo fino. Su sabor, debido a los aceites esenciales, es suave, dulce y cítrico (Prakash, 1990; Castleman, 1994).

El aceite esencial del cilantro es un líquido fluido, de color verde oliva transparente, de olor aromático y dulce. Se llega a obtener hasta 0.8 g de aceite esencial en 100 g de especia. Este puede reemplazar de 12 a 15 veces el sabor de la especia de cilantro (Kalsec, 1986). Es importante destacar que el aceite esencial del cilantro es muy sensible a la irradiación gamma por lo que no se recomienda irradiar la especia a dosis superiores a 8 kGy (ASTM, 1998).

La semilla del cilantro (especia) y su aceite esencial se utilizan tanto para platos dulces como salados. Es un ingrediente fundamental en los platillos típicos mexicanos para condimentar salsas, quesadillas, guisados con carne. Se usa en condimentos, gomas de mascar, sazónador de carne y en embutidos crudos (ASTA, 1986). Normalmente se utiliza de 0.05 a 0.1 % del peso total del producto (Prakash, 1990).

2.4.2 Orégano (*Origanum vulgare* L. u *Origanum spp.*) Familia: *Labiatae*

El orégano es originario del Mediterráneo aunque en la actualidad se cultiva ampliamente en México (Ashurst, 1991). El orégano mexicano tiene un sabor más fuerte que el del mediterráneo, ya que contiene una mayor cantidad de aceite esencial (Prakash, 1990).

En la planta de orégano, las hojas secas y los tallos son las partes utilizadas como especia. El color de la hoja seca es verde pálido y tiene un aroma fuerte. Su sabor, generado principalmente por los aceites esenciales, es picante y un poco astringente (Prakash, 1990; Castleman, 1994).

El aceite esencial del orégano es un líquido fluido de color verde oscuro. Su aroma es penetrante y el sabor es fuerte, herbáceo y aromático con tonos amargos. El aceite puede reemplazar de 18 a 20 veces el sabor de la especia de orégano (Kalsec, 1986; Russo, Galletti, Bocchini y Camacini, 1998).

Se utiliza tanto la hoja (especia) como el aceite esencial en la preparación de salsas italianas para pizzas, como condimento en las mezclas de chile y en la elaboración de embutidos crudos fundamentalmente y de jamón. Tiene usos medicinales como remedio para la tos y expectorante, ya que su aceite volátil contiene dos sustancias químicas (carvacrol y timol), que ayudan a fluidificar las flemas y facilitar la tos.

2.4.3 Pimentón español dulce (*Capsicum annum L.*) Familia *Solanaceae*

El pimentón es originario de América del Sur, de la zona de Perú y Bolivia, donde el clima templado subtropical favorece el desarrollo del pimiento (Albaleadejo y Costa-García, 1993). En Hungría, hacia 1400 D.C. , se le dió el nombre de *Pimienta Paprika* (Albaleadejo y Costa-García, 1993). Aun en nuestros días se le sigue nombrando en todo el mundo como *Paprika*. Actualmente se produce en Hungría, Sudáfrica, España, Turquía y el norte de África (Prakash, 1990).

La especia proviene del fruto maduro, sano, seco y pulverizado del pimiento rojo. Es una especia dulce, no pungente, rica en vitamina C (Castleman, 1994). El pimentón español dulce contiene una mínima cantidad de aceites esenciales, la parte liposoluble de la especia es la oleoresina contiene todas las sustancias de carácter liposolubles, y los ceto-carotenoides, que contribuyen al color rojo característico de la especia (Albaleadejo y Costa-García, 1993; Mosquera-Minguez, Jaren-Galán, Garrido, 1993; Osuna-García, 1997).

La oleoresina que está presente en el pericarpio del pimentón español dulce, es muy delicada y disminuye su cantidad y calidad a medida que aumenta el tiempo y la temperatura de almacenamiento (Albaleadejo, 1993). El valor económico del pimentón español dulce está dado por la intensidad y estabilidad del color (Osuna-García 1997).

La especia y la oleoresina se utilizan como materias colorantes y también aportan aromas característicos (Osuna-García, 1997). Se utilizan como condimentos en

salchichas frankfurter, carne molida, longanizas, chorizos, para hacer salsa de tomate, mezclas de chiles, productos de panificación y confitería entre otros (Prakash, 1990).

2.4.4 Chile guajillo (*Capsicum frutescens L.*) Familia Solanaceae

El chile guajillo es originario de México y se cultiva en tierras templadas y calientes (Lomeli, 1987; Miller, 1991). Ha sido utilizado desde tiempos remotos como parte sustancial de todos los alimentos y rituales mexicanos (Wall, 1994). La palabra chile viene del náhuatl "chilli". Existen alrededor de 200 variedades de chile. El chile guajillo está relacionado con la *pulla*, uno de los chiles más cultivados en México (Lomeli, 1987).

El chile guajillo es el fruto de la planta, de color naranja o rojo intenso con tonos cafés. Es elongado y corto, mide de 10 a 15 centímetros de largo y 2.5 a 4 centímetros de ancho. Tiene un sabor picante y astringente (Miller, 1991). Prácticamente no contiene aceites esenciales. El extracto aceitoso que se obtiene del chile guajillo es la oleoresina que contiene todas las sustancias liposolubles como los ceto-carotenoides que contribuyen al color rojo característico y la capsaicina que es la responsable del sabor picoso intenso. (Daood, Huszka y Biacs, 1989)

El chile guajillo y su oleoresina se utilizan para dar color anaranjado (Minguez-Mosquera y Homero-Mendez, 1993 a.; Fisher y Kocis, 1987; Davies, 1976) y sabor picante a salsas, botanas, sopas y mole. Es el ingrediente principal de los dulces con chile (*Miguelitos*), tamarindos con chile (*Pulparindos*), entre otros dulces. También se usa en la elaboración de productos cármicos, especialmente en chorizos, longaniza y chistorra. Sus oleoresinas se usan también en la fabricación de productos cármicos cocidos.

2.5 Almacenamiento de las especias

Habitualmente las especias no se utilizan inmediatamente después de ser recogidas y procesadas. Así es normal, como en muchos otros productos alimentarios, su almacenamiento.

Generalmente las especias se almacenan enteras o con un molido grueso con el fin de reducir la oxidación de los componentes responsables de sus propiedades tecnológicas (aceites esenciales o colorantes). La oxidación es acelerada por la presencia de aire y la temperatura elevada y catalizada por la existencia de pequeñas cantidades de iones metálicos pesados y sustancias con actividades enzimáticas residuales (Nieto-Sandoval, 1998).

Normalmente, las condiciones de almacenamiento corresponden a un ambiente "fresco, seco y con poca luz" pero habitualmente sin un control de la temperatura y la humedad. Tampoco el empaque que se utiliza suele ser especial, pues normalmente se utilizan sacos de rafia o cuerda sin bolsa interna. Estas condiciones tan poco exigentes se derivan de que las especias se suelen consumir al año posterior a su cosecha por lo que la pérdida de propiedades tecnológicas, incluso en condiciones de almacenamiento no muy severas, no son críticas.

Sin embargo, hay excepciones, este es el caso del pimentón español dulce que se importa molido y que posee un precio relativamente alto. Esta especia se suele almacenar a temperaturas específicas es decir, en un cuarto acondicionado, donde la temperatura y la humedad están controladas (Pardo-González, 1998) y de ser posible, en grandes cantidades para que la superficie en contacto con el aire sea mínima. (Nieto-Sandoval, 1998)

Habitualmente poco antes de su venta o procesado, las especias son molidas y empacadas. Se empacan en sacos de papel kraft con bolsa de plástico interna y de esta manera suelen llegar al procesador de alimentos.

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la irradiación como método de sanitización en las siguientes especias: cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo.

Objetivos específicos

- I. Analizar el efecto de diferentes dosis promedio de irradiación sobre la carga microbiana y su relación con las propiedades fisicoquímicas de las especias estudiadas.
- II. Analizar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la carga microbiana y las propiedades fisicoquímicas de las especias irradiadas.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Equipos

- Irradiador Gammacell 220, con actividad de 485 Curios de Cobalto 60. Se adquirió de la empresa canadiense Nordion, en septiembre de 1974.
- Irradiador Nordion, modelo JS-6500. Actividad de 620,000 Curios de Cobalto 60. Normalmente se utiliza para irradiar a dosis de 10 y 15 kGy. Tiene un tiempo de exposición de aproximadamente 2.85 h con 558,000Ci para proporcionar una dosis de 10 kGy. Su capacidad anual de irradiación es de 6, 480 toneladas , para una dosis de 10 kGy.
- Dosimetro Harwell Red 4034, fabricado por Harwell Laboratory, U.K. Se utiliza para medir la dosis recibida en el rango de 5 a 50 kGy.

4.2 Medios de cultivo

- Peptona de caseína (Bioxon 153)
- Agar de bilis y rojo violeta (VRBA) (Bioxon 143)
- Caldo lauril sulfato de sodio (LST) (Bioxon 230)
- Caldo de verde brillante al 2% (CVB) (Bioxon 115)
- Agar bacteriológico (Bioxon 150),
- Petrifilm™ *E. coli plate count* (3M Health Care)
- Agar dextrosa y papa (PDA) (Bioxon 119)
- Agar extracto glucosa tripticaseína (ACE) (Bioxon 133)
- Caldo soya tripticaseína (CST) (OXOID, CM 129)
- Agar sulfito bismuto (SB) (Bioxon 212)
- Base caldo tetratoato (CT) (Bioxon 120)
- Agar hektoen (AH) (Bioxon 211)

Todos los medios de cultivo se prepararon siguiendo las indicaciones del fabricante y fueron documentados en forma de instructivos en Noris, S.A. de C.V.

4.3 Preparación de la muestra

Se suspendieron 25 g de cada una de las muestras en 225 ml de agua peptonada al 0.1 %. Se agitó durante un minuto y se hicieron diluciones decimales nuevamente en agua peptonada al 0.1 %.

Para la especia sin irradiar (control) y para cada dosis de irradiación se hicieron dos repeticiones (1 y 2) con dos duplicados cada una (1.A y 1.B; 2.A y 2.B). Para cada muestra se realizaron las siguientes determinaciones microbiológicas:

4.4 Análisis microbiológicos

4.4.1 Microorganismos mesófilos aerobios (IC-AC-001 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se sembraron 0.1 ml de la muestra en ACE. Las placas se incubaron a 35°C durante 48 h. Las colonias, incluyendo las colonias de hongos y levaduras se contaron después de este tiempo.

4.4.2 Mohos y levaduras (IC-AC-002 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se sembraron 0.1 ml de la muestra en PDA. Se ajustó el pH a 3.5 adicionando aproximadamente 1.4 ml de ácido tartárico al 10 % a cada 100 ml de agar esterilizado y temperado a 45°C. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante cinco días. Se contaron las colonias de mohos y levaduras.

4.4.3 Enterobacterias (IC-AC-003 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se manejó la técnica de doble capa; se agregaron primero 10 ml de VRBA, después se agregó la muestra y posteriormente se agregaron otros 10 ml de VRBA. Las placas se incubaron a 35°C durante 24 h. Se contaron las colonias rojas con precipitado.

4.4.4 Coliformes totales. Técnica del Número mas Probable (NMP) (IC-AC-004 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Medio de enriquecimiento: se sembraron tubos con 10 ml de LST y 1 ml de muestra, para las diluciones más bajas. A los tubos se les puso un tapón de agar al 2 %, con el objeto de detectar la formación de gas después de una incubación a 35°C de 24 a 48 h.

Medio selectivo para coliformes totales para NMP: a partir de los tubos con LST que mostraron gas se tomó una asada que se inoculó a un tubo que contenía 10 ml de CVB. A los tubos se les puso un tapón de agar al 2 %, con el objeto de detectar la formación de gas después de una incubación a 35°C de 24 a 48 h, para confirmar la presencia de coliformes en la muestra. Se contaron los tubos en donde se observó presencia de gas en el medio.

4.4.5 Petrifilm TM E. coli Plate Count (IC-AC-005 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se sembró 1 ml de la muestra en Petrifilm TM E. coli Plate Count, y se incubaron los Petrifilms a 35 ° C durante 48 h. Las colonias con coloración azul asociadas con una burbuja de gas fueron las que se contaron ya que pertenecen a E. coli.

4.4.6 Salmonella (IC-AC-006 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Preenriquecimiento: Se pesaron 25 g de muestra que se adicionaron a 225 ml de CST. Se incubó la muestra a 35 °C durante 24 h.

Enriquecimiento : A partir de las muestras preenriquecidas en CST se tomó 1 ml que se sembró en tubos con 9 ml de CSC y CT. Los tubos se incubaron a 35°C durante 24 h.

Aislamiento: Se utilizó ASB, que es altamente selectivo para *Salmonella* y AH, que es moderadamente selectivo para la misma. Se tomó una asada de cada uno de los medios de enriquecimiento y se sembró en AH y ASB por medio de la técnica de estría.

Se incubaron las cajas Petri a 35°C durante 24 h. En AH, las colonias que indican presencia de colonias presuntivas de *Salmonella* son azules-verdosas con o sin centro negro. En el ASB, las colonias presuntivas de *Salmonella* son negras con borde claro y brillo metálico alrededor de las colonias (ojo de pez o de conejo). Es importante destacar, que se habla de colonias presuntivas de *Salmonella*, ya que estas también pueden ser de otras Enterobacterias, es por eso que es necesario realizar pruebas confirmativas para *Salmonella* para identificarla y obtener resultados confiables (Anderson, 1992). Sin embargo, industrialmente, es un dilema hacer pruebas confirmativas en términos de tiempo, por ende para efectos de este estudio no se realizaron pruebas confirmativas.

4.4.7 Análisis estadístico y cálculo de D_{10}

Las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) se transformaron en Log_{10} para calcular la desviación estándar (σ) de cada dosis de irradiación (Montgomery, 1991).

El valor de dosis de reducción decimal D_{10} , se calcula de la siguiente manera:

$$D_{10} = \text{dosis de irradiación} / \log N_0 - \log N$$

donde:

N_0 : Es el número de inicial de microorganismos

N : Número de microorganismos supervivientes a la dosis de radiación dada

Los valores de Log_{10} (UFC/g) vs los valores de la dosis de irradiación fueron ajustados a una línea recta, por medio del método de mínimos cuadrados (Montgomery, 1991). A partir de la ecuación de la línea recta se obtuvo el inverso de la pendiente. El inverso de la pendiente fue tomado como valor de D_{10} . Los valores menores a 25 UFC/g no fueron considerados para el cálculo de D_{10} .

4.5 Análisis Fisicoquímico

4.5.1 Determinación de humedad por el método de secado en estufa (IC-AC-007 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se pesaron 10 g de muestra de cada especie en una charola de aluminio, previamente tarada, esta se colocó en la estufa a 100 ° C, durante 2 h. La charola se puso en el desecador hasta que se equilibró su temperatura con la del medio ambiente. Se pesó la muestra y se obtuvo el porcentaje de humedad utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = (P-P1) \times 100 / P2.$$

donde:

P= peso de la charola vacía + la muestra húmeda (g)

P1= peso de la charola con la muestra seca (g)

P2= peso de la muestra húmeda (g)

4.5.2 Determinación de cenizas totales (IC-AC-008 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se pesaron 2 g de muestra de cada especie en un crisol, previamente tarado, este se colocó en una parrilla y se quemó la muestra lentamente hasta que no había humo. Después se colocó el crisol con la muestra en la mufla y se dejó calcinar la muestra 5h a 550°C. El crisol se sacó de la mufla y se puso en el desecador hasta que se equilibró su temperatura con la del medio ambiente. Se pesó el crisol con las cenizas de la muestra y se obtuvo el porcentaje de cenizas por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cenizas} = (P-P1) \times 100 / M$$

donde:

P= peso del crisol con las cenizas en gramos (g)

P1= peso del crisol vacío (g)

M= peso de la muestra antes de quemar (g)

4.5.3 Determinación de aceites volátiles (IC-AC-009 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se pesaron aproximadamente 50 g de muestra de cilantro y orégano en un matraz bola de fondo plano. Se adicionaron 350 ml de agua destilada y antiespumante al matraz con la muestra. Se ensambló el destilador Clevenger, para aceites de baja densidad y se calentó la solución a temperatura de ebullición. Se mantuvo en calentamiento la muestra hasta que cesó la destilación de aceites volátiles en un tiempo aproximado de 6 horas. El volumen obtenido de aceites volátiles fue medido después del enfriamiento a 4°C.

4.5.4 Determinación del color extraíble (Unidades ASTA) (IC-AC-010 Instructivos de Noris S.A. de C.V., 1999)

Se pesaron 0.7 g de muestra de pimentón español dulce y chile guajillo y se aforó la muestra hasta 100 ml con acetona, se obtuvo la primera dilución. A partir de la primera dilución se tomaron 10 ml en el caso del pimentón y 30 ml en el caso del chile guajillo, para realizar la segunda dilución, Se volvió a aforar la muestra a 100 ml con acetona y se leyó la absorbancia a 460 nm, utilizando como blanco acetona. Para calcular las unidades ASTA se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Unidad de color extraíble ASTA} = A \times 164 \times I / P$$

donde:

A = absorbancia de la muestra

P = es el peso de la muestra en gramos (incluida en la primera dilución)

164 = es el factor que corrige la lectura

I = 507 / absorbancia leída del filtro estándar a 465 nm

507 = absorbancia nominal del filtro estándar a 465 nm. Este valor se obtuvo de la calibración del mismo patrón. El estándar utilizado para la calibración y la trazabilidad a NIST es: SRM 930d 3-571 (hoja de calibración del filtro Corion).

4.5.5 Análisis estadístico

Para las cuatro especias sin irradiar (control), irradiadas y almacenadas a diferentes dosis de irradiación se calculó la desviación estándar (σ) de los resultados obtenidos de cada dosis de irradiación en cada análisis fisicoquímico (Montgomery, 1991). Posteriormente se calculó el promedio de los resultados de cada dosis de irradiación, se obtuvo su \log_{10} y este fue el valor que se utilizó para graficar los resultados

4.6 Secuencia experimental

4.6.1 Irradiación de especias

Se seleccionaron cuatro especias de uso frecuente en México para la elaboración de productos cárnicos: cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo. Estas se sometieron a diferentes dosis de irradiación en el departamento del Irradiador Gamma, del ININ. Las dosis solicitadas de 10 y 15 kGy se irradiaron en el Irradiador JS 6500. Por otro lado las dosis solicitadas de 2.5, 5, 7 y 12 kGy se irradiaron en el irradiador Gammacell 220.

4.6.1.1 Dosis promedio

Debido a que el irradiador tiene un 20 % de error, antes de irradiar al producto se le colocó un dosímetro. Al finalizar el proceso de irradiación, el dosímetro se leyó en el espectrofotómetro a 640 nm, con lo que se obtuvieron los datos de la dosis mínima y máxima aplicada; a partir de dichos datos se calculó la dosis promedio:

$$\text{Dosis promedio} = (\text{Dosis mínima} + \text{Dosis máxima}) / 2$$

4.6.2 Secuencia de análisis microbiológicos y fisicoquímicos

Los análisis microbiológicos y fisicoquímicos se realizaron de acuerdo con los diagramas de flujo presentados en las Figuras 2 y 3.

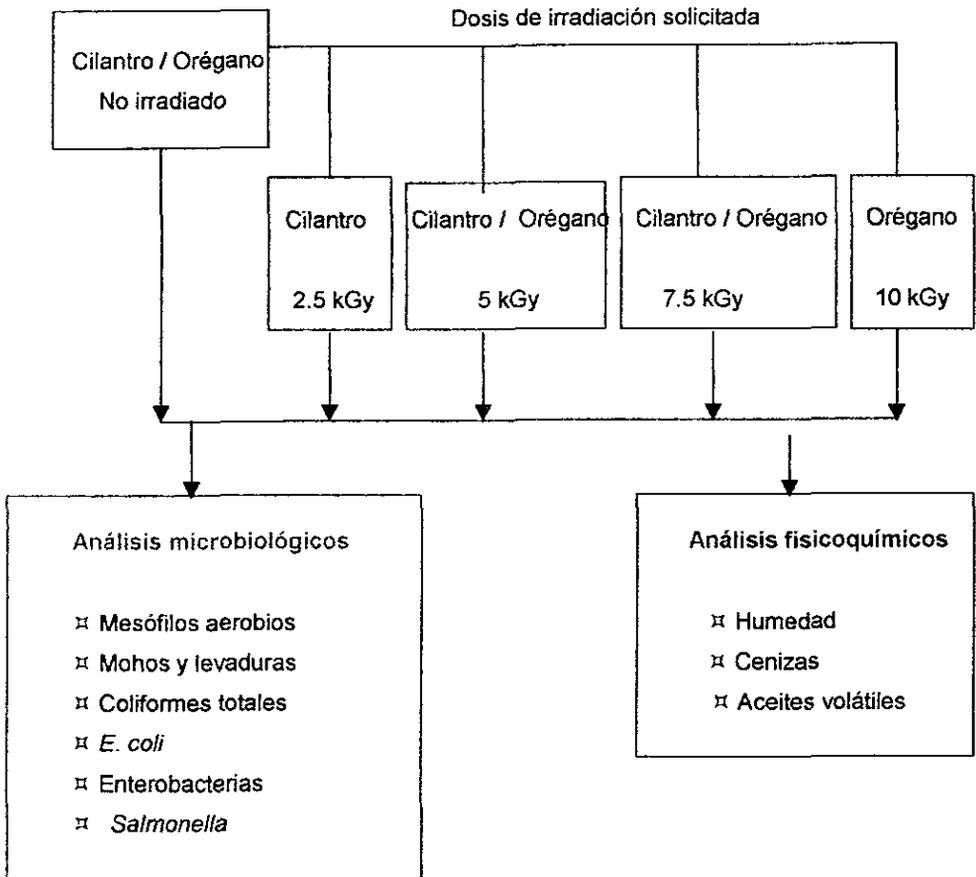


Figura 2: Secuencia de irradiación y experimental de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos para cilantro y orégano. Las especias sin irradiar, fueron el control microbiológico y fisicoquímico del experimento

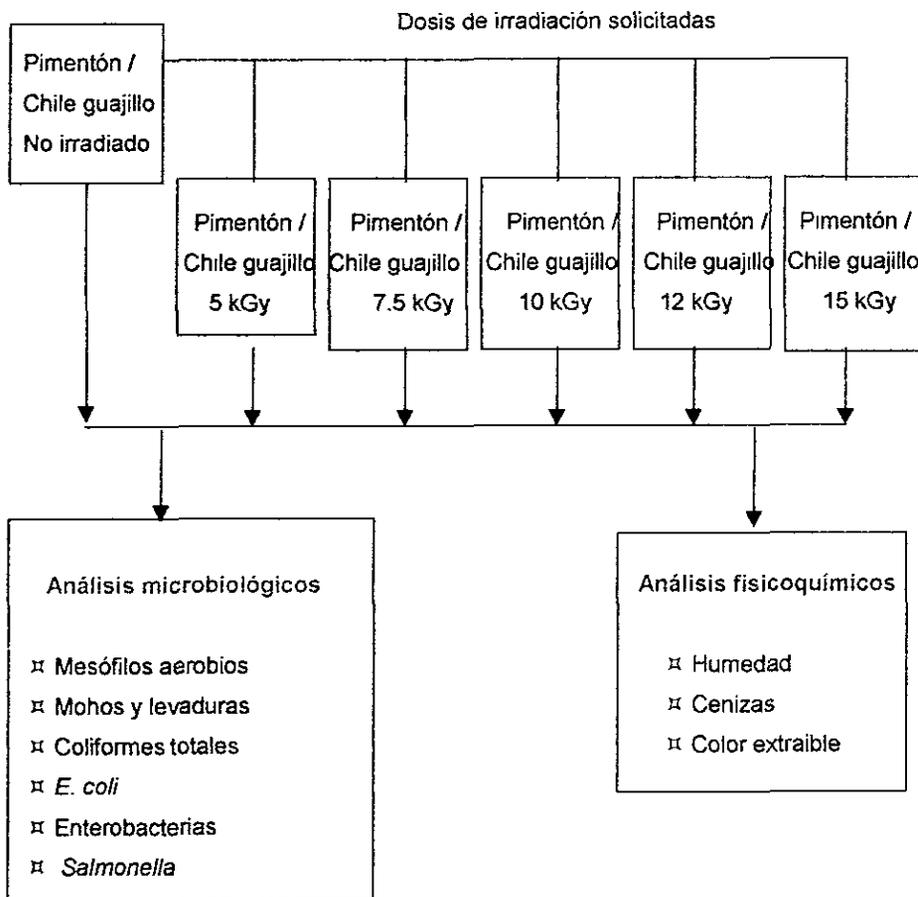


Figura 3: Secuencia de irradiación y experimental de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos para pimentón español dulce y Chile guajillo. Las especies sin irradiar, fueron el control microbiológico y fisicoquímico del experimento.

4.6.3 Efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en la carga microbiana y las propiedades fisicoquímicas del cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo

Las muestras irradiadas de las cuatro especias estudiadas se almacenaron a temperatura ambiente y a refrigeración durante 50 días. Para esta parte del trabajo se utilizaron las especias irradiadas a la dosis máxima permitida (10 kGy), excepto para el cilantro en el cual se usó el producto irradiado a una dosis solicitada de 7.5 kGy. Se considera como tiempo cero de almacenamiento, a las especias irradiadas, con las dosis antes mencionadas analizadas inmediatamente después de la irradiación.

En este estudio de almacenamiento se manejaron las siguientes temperaturas:

- Temperatura ambiente: La temperatura ambiente con un mínimo de 15 °C y un máximo de 30 °C (FEUM, 2000).
- Temperatura de refrigeración de 4 ± 2 °C (Refrigerador General Electric).

De acuerdo con los diagramas presentados en las figuras 4 y 5, después del almacenamiento se realizaron los análisis microbiológicos y fisicoquímicos.

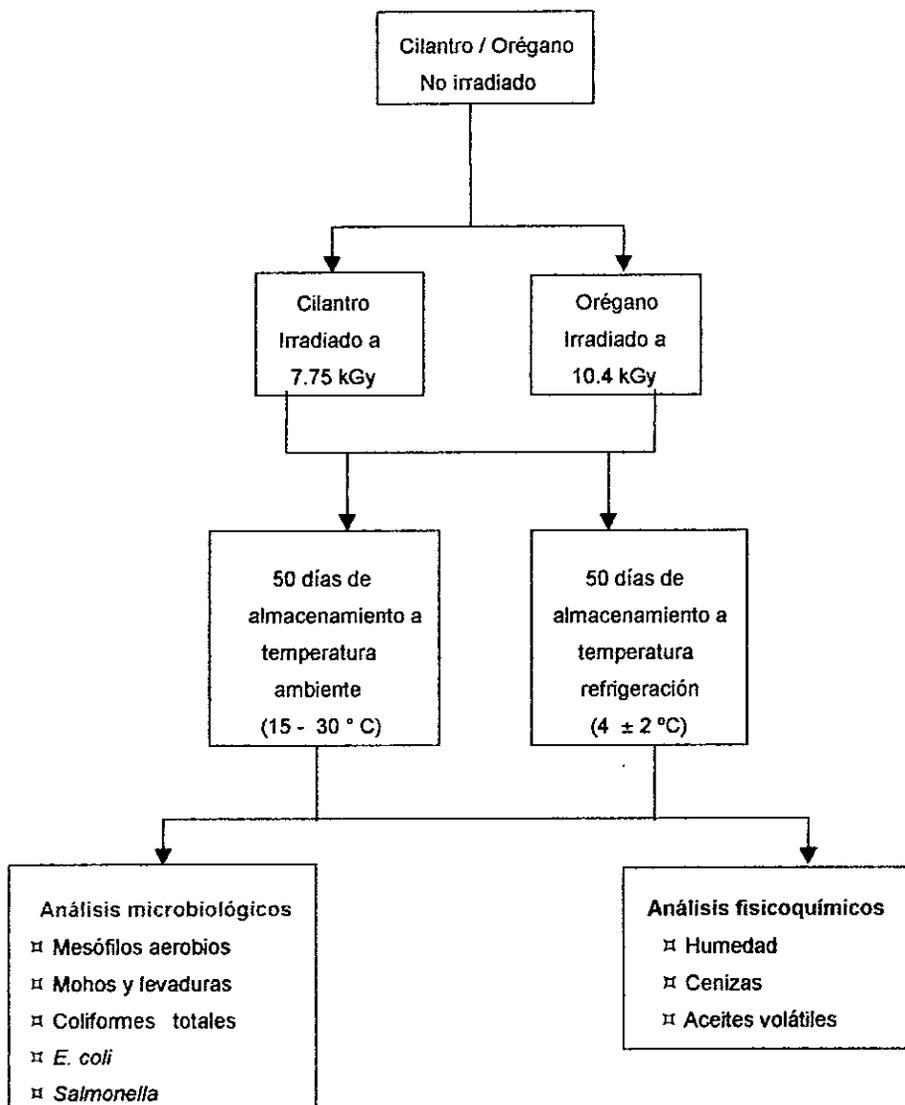


Figura 4: Secuencia experimental de irradiación, de almacenamiento y de análisis microbiológicos y fisicoquímicos para cilantro y orégano.

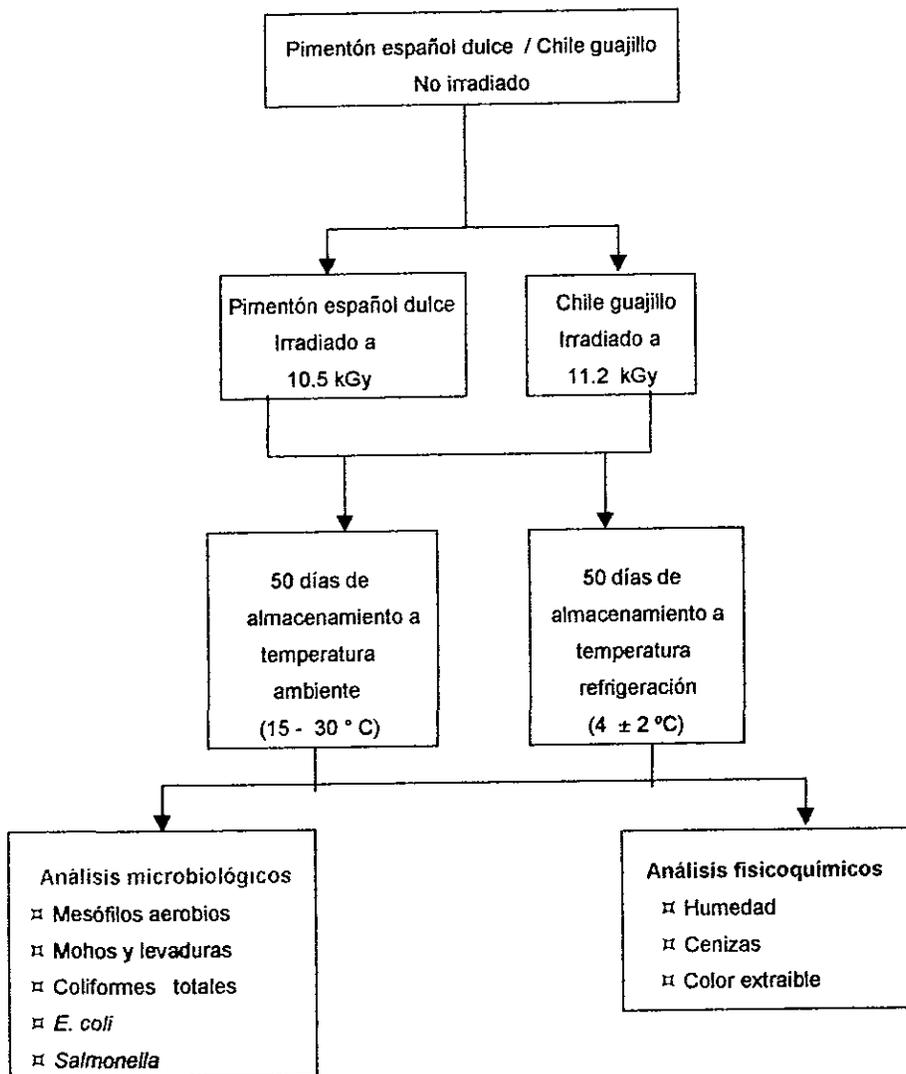


Figura 5: Secuencia experimental de irradiación, de almacenamiento y de análisis microbiológicos y fisicoquímicos para pimentón español dulce y Chile guajillo.

5. RESULTADOS

5.1 Dosis de irradiación

Las dosis de irradiación promedio del cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo calculadas a partir de dosis mínima y máxima registradas por el dosímetro se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Dosis de irradiación promedio del cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo calculadas a partir de las dosis mínimas y máximas registradas por el dosímetro

CILANTRO				ORÉGANO			
Dosis solicitada (kGy)	Dosis real			Dosis solicitada (kGy)	Dosis real		
	mínima	máxima	promedio		mínima	máxima	promedio
2.5	1.6	1.9	1.7	5.0	4.9	5.4	5.1
5.0	4.3	5.9	5.1	7.5	6.6	7.9	7.1
7.5	6.6	8.9	7.7	10	10.1	10.7	10.4

PIMENTÓN ESPAÑOL				CHILE GUAJILLO			
Dosis solicitada (kGy)	Dosis real			Dosis solicitada (kGy)	Dosis real		
	mínima	máxima	promedio		mínima	máxima	promedio
5.0	4.3	5.8	5.05	5.0	4.1	5.9	5.0
7.5	6.5	8.5	7.5	7.5	6.1	8.4	7.2
10.0	10.4	10.6	10.5	10.0	10.9	11.5	11.2
12.0	11.6	12.4	12.0	12.0	11.6	12.4	12.0
15.0	14.3	20.2	17.2	15.0	14.3	20.2	17.2

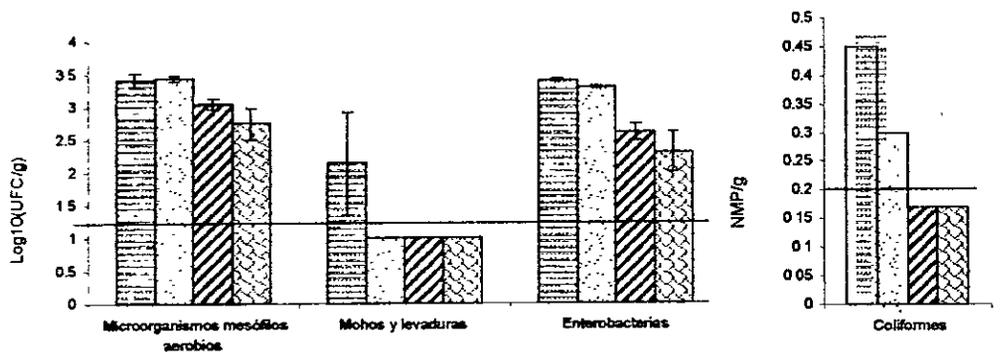
5.2 Efecto de la irradiación en los microorganismos y en las propiedades fisicoquímicas de las especias estudiadas

El efecto de la irradiación en los microorganismos mesófilos aerobios, mohos y levaduras, enterobacterias y coliformes se presentan en las figuras 6A, 7A, 8A y 9A; las propiedades fisicoquímicas se presentan en las figuras 6B, 7B, 8B y 9B para cilantro, orégano, pimentón español dulce y chile guajillo respectivamente. En las figuras antes mencionadas se presenta la desviación estándar (σ) para cada dosis de irradiación.

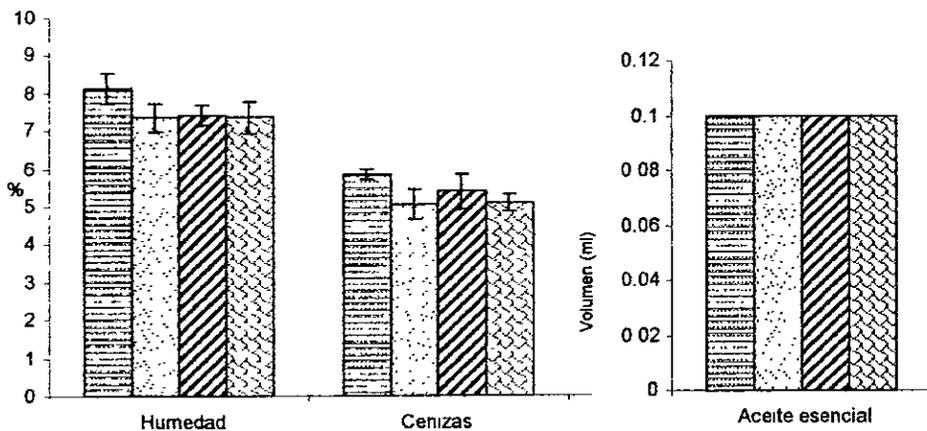
El efecto de la irradiación en *E. coli* y en las colonias presuntivas de *Salmonella* en las cuatro especias estudiadas se muestra en la tabla 7.

En la tabla 8, se presentan los valores de D_{10} de microorganismos mesófilos aerobios y mohos y levaduras para las cuatro especias estudiadas.

CILANTRO



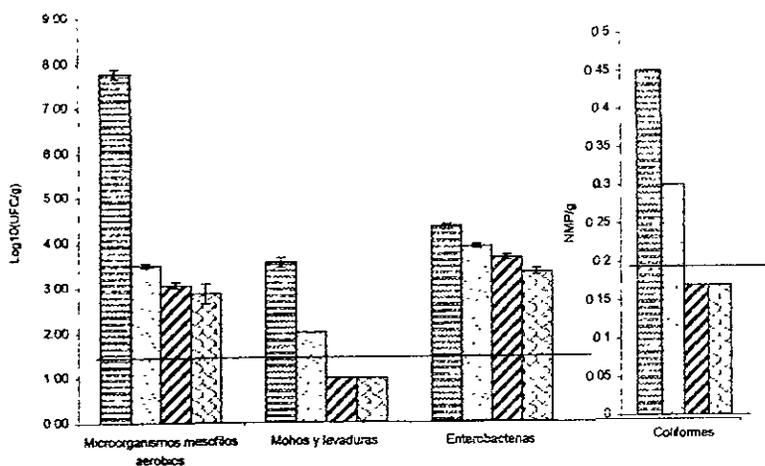
A



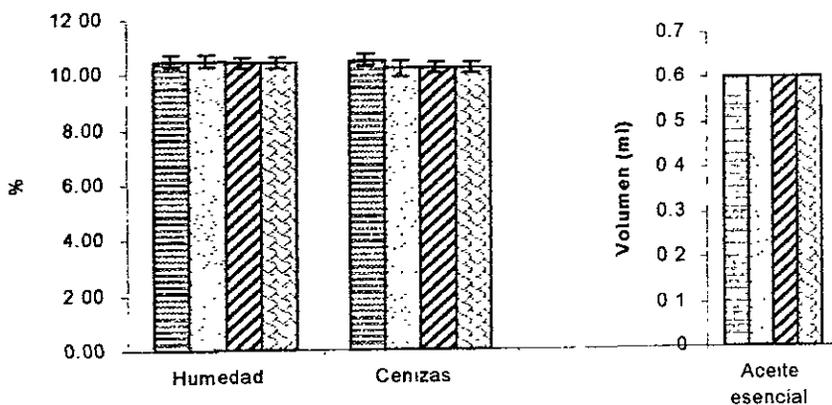
B

Figura 6 Efecto de la irradiación a dosis de 0 kGy, 1.75 kGy, 5.1 kGy, 7.75 kGy, sobre los microorganismos (A) y las propiedades fisicoquímicas (B) del cilantro. Se presenta la desviación estándar (σ) para las diferentes determinaciones salvo cuando la misma es cero. También se incluye una línea (A) que muestra el límite inferior de detección de microorganismos. (<math>< 25 \text{ UFC/g}</math>).

ORÉGANO



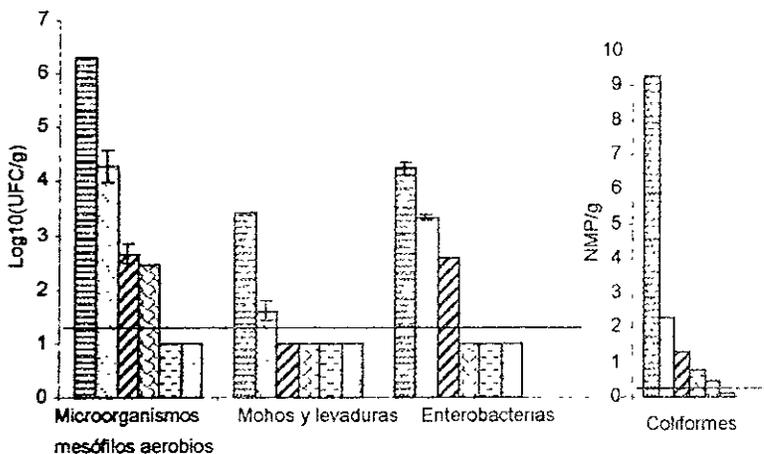
A.



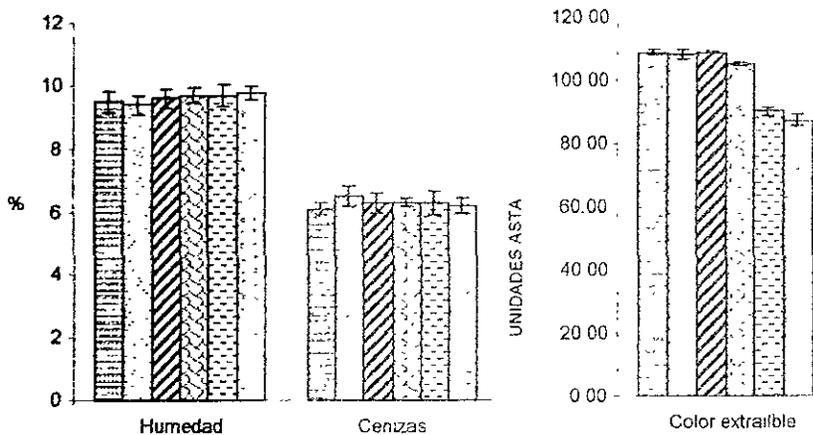
B.

Figura 7: Efecto de la irradiación a dosis de 0 kGy, 5.15 kGy, 7.15 kGy, 10.4 kGy sobre los microorganismos (A) y las propiedades fisicoquímicas (B) del orégano. Se presenta la desviación estándar (σ) para las diferentes determinaciones salvo cuando la misma es cero. También se incluye una línea (A) que muestra el límite inferior de detección de microorganismos (<25 UFC/g).

PIMENTÓN ESPAÑOL DULCE



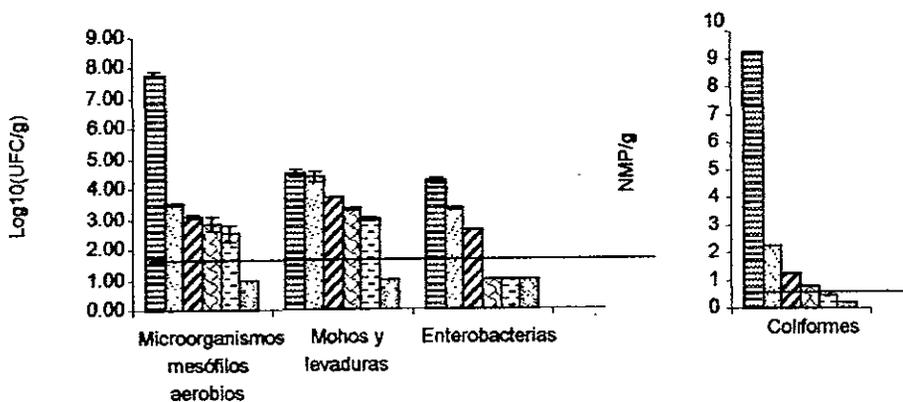
A.



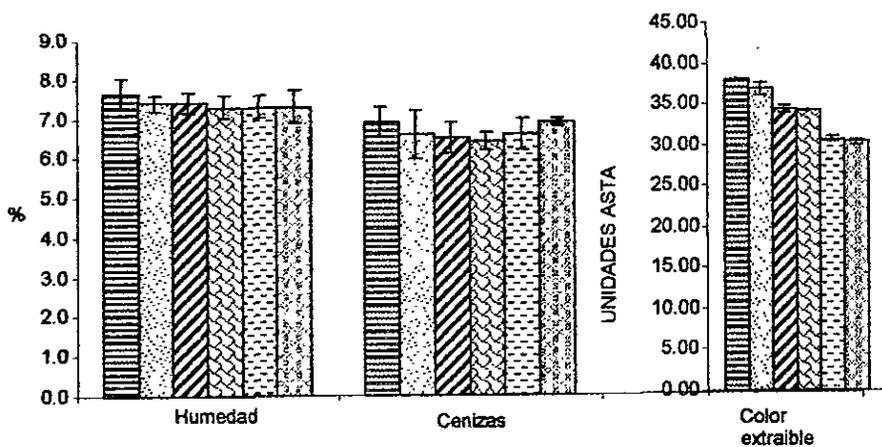
B.

Figura 8 Efecto de la irradiación a dosis de 0 kGy, 5.05 kGy, 7.5 kGy, 10.5 kGy, 12 kGy y 17.25 kGy sobre los microorganismos (A) y las propiedades fisicoquímicas (B) del pimentón español dulce. Se presenta la desviación estándar (σ) para las diferentes determinaciones salvo cuando la misma es cero. También se incluye una línea (A) que muestra el límite inferior de detección de microorganismos (<25 UFC/g).

CHILE GUAJILLO



A.



B.

Figura 9: Efecto de la irradiación a dosis de 0 kGy, 5.0 kGy, 7.25 kGy, 11.2 kGy, 12 kGy y 17.25 kGy sobre los microorganismos (A) y las propiedades fisicoquímicas (B) del chile guajillo. Se presenta la desviación estándar (σ) para las diferentes determinaciones salvo cuando la misma es cero. También se incluye una línea (A) que muestra el límite inferior de detección de microorganismos ($< 25 \text{ UFC/g}$).

Tabla 7 Efecto de diferentes dosis de irradiación en *E. coli* y de colonias presuntivas de *Salmonella* en las cuatro especias estudiadas

Especia	Dosis promedio (kGy)	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<i>Salmonella</i> en 25 g	Especia	Dosis promedio (kGy)	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<i>Salmonella</i> en 25 g
Cilantro	0	<25	A	Orégano	0	<25	A
	1.75	<25	A		5.15	<25	A
	5.1	<25	A		7.15	<25	A
	7.75	<25	A		10.4	<25	A
Pimentón español dulce	0	<25	P	Chile guajillo	0	<25	P
	5.05	<25	P		5	<25	P
	7.5	<25	P		7.25	<25	P
	10.5	<25	P		11.2	<25	P
	12	<25	A		12	<25	A
	17.25	<25	A	17.25	<25	A	

25 UFC/g: Nivel mínimo de detección de microorganismos. En este trabajo no se detectó presencia de colonias típicas de *E. coli*

A: Ausencia de colonias presuntivas

P: Presencia de colonias presuntivas

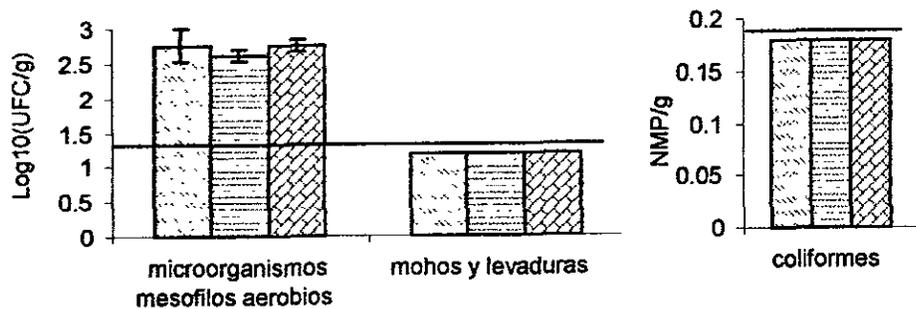
Tabla 8. Valores calculados de D_{10} para los microorganismos mesófilos aerobios y mohos y levaduras de las cuatro especias estudiadas

Especia	D_{10} (kGy)	
	microorganismos mesófilos aerobios	mohos y levaduras
Cilantro	11.0	2.3
Orégano	2.0	3.3
Pimentón español dulce	2.5	3.5
Chile guajillo	3.0	5.6

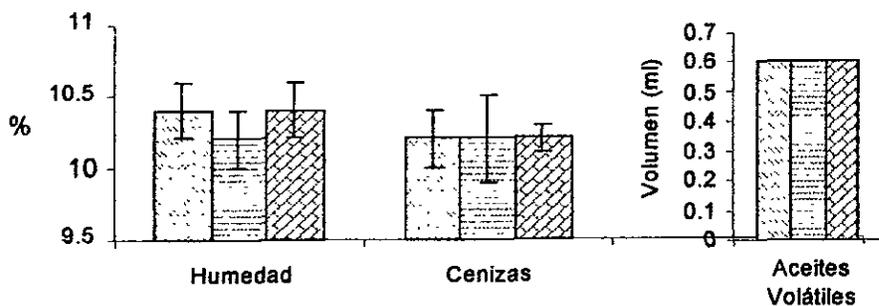
5.3 Efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en la carga microbiana y en las propiedades fisicoquímicas de las especias irradiadas estudiadas

Los resultados del estudio sobre el efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en la carga microbiana y en las propiedades fisicoquímicas se muestran en las figuras 9 a la 13 para cilantro irradiado a 7.75 kGy, en orégano irradiado a 10.4 kGy, en pimentón español dulce irradiado a 10.5 kGy y en chile guajillo irradiado a 11.2 kGy.

ORÉGANO



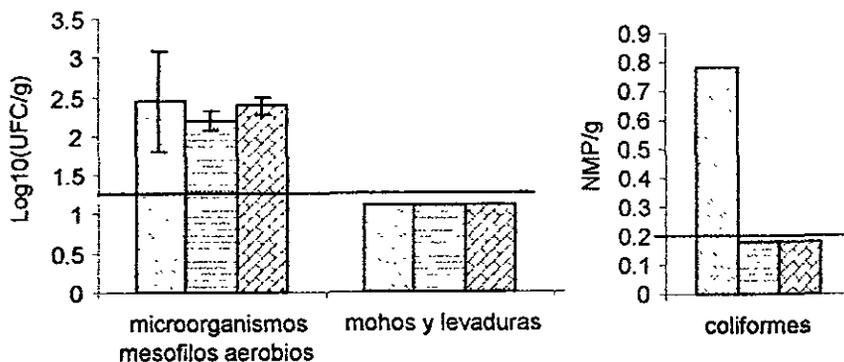
A



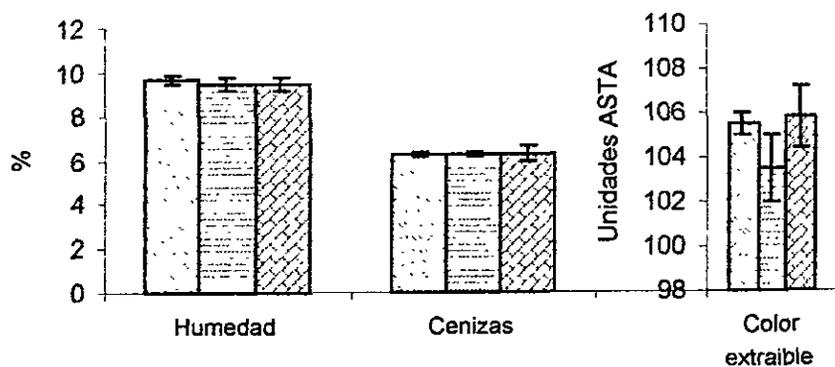
B.

Figura 11: Efecto de la temperatura de almacenamiento (□ tiempo cero (control), ▨ temperatura ambiente y ▩ temperatura de refrigeración) sobre los microorganismos (A) y las propiedades fisicoquímicas (B) del orégano irradiado a dosis de 10.4 kGy. Se presenta la desviación estándar (σ) para las diferentes determinaciones salvo cuando la misma es cero. También se incluye una línea (A) que muestra el límite inferior de detección de microorganismos (<25 UFC/g).

PIMENTÓN ESPAÑOL DULCE



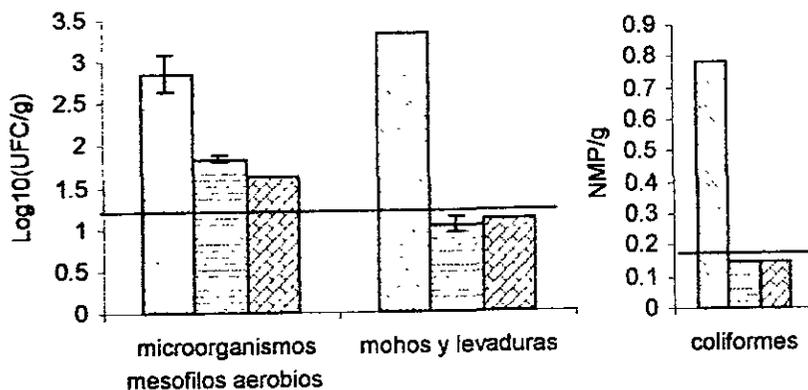
A.



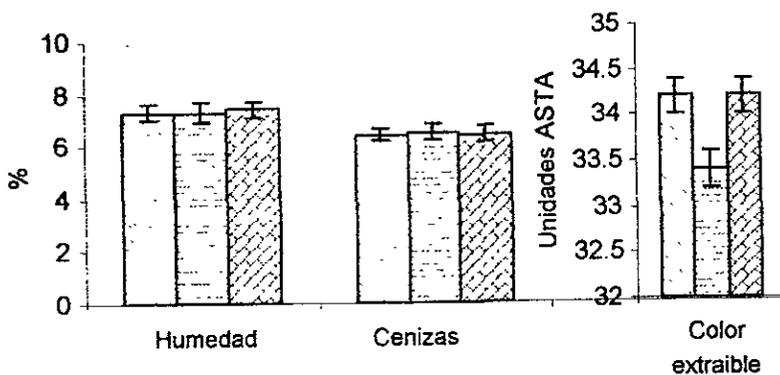
B.

Figura 12. Efecto de la temperatura de almacenamiento (□ tiempo cero (control), ▨ temperatura ambiente y ▩ temperatura de refrigeración) sobre los microorganismos (A) y las propiedades fisicoquímicas (B) del pimentón español dulce irradiado a dosis de 10.5 kGy. Se presenta la desviación estándar (σ) para las diferentes determinaciones salvo cuando la misma es cero. También se incluye una línea (A) que muestra el límite inferior de detección de microorganismos ($< 25 \text{ UFC/g}$).

CHILE GUAJILLO



A.



B.

Figura 13: Efecto de la temperatura de almacenamiento (□ tiempo cero (control), ▨ temperatura ambiente y ▩ temperatura de refrigeración) sobre los microorganismos (A) y las propiedades fisicoquímicas (B) del chile guajillo 11.2 kGy irradiado a dosis de 10.5 kGy. Se presenta la desviación estándar (σ) para las diferentes determinaciones salvo cuando la misma es cero. También se incluye una línea (A) que muestra el límite inferior de detección de microorganismos ($<25 \text{ UFC/g}$)

En la tabla 9, se observa el efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en *E. coli* y en las colonias presuntivas de *Salmonella* en las cuatro especies estudiadas.

Tabla 9 Efecto de la temperatura de almacenamiento por 50 días en *E. coli* y en las colonias presuntivas de *Salmonella* en las cuatro especies estudiadas

Especa irradiada		Almacenamiento a temperatura ambiente	Almacenamiento a temperatura de refrigeración	Especa irradiada		Almacenamiento a temperatura ambiente	Almacenamiento a temperatura de refrigeración
Cilantro 7.75 kGy	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<25	< 25	Orégano 10.4 kGy	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<25	< 25
	<i>Salmonella</i> en 25 g	A	A		<i>Salmonella</i> en 25 g	A	A
Pimentón Español Dulce 10.5 kGy	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<25	<25	Chile Guajillo 11.2 kGy	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<25	<25
	<i>Salmonella</i> en 25 g	P	P		<i>Salmonella</i> en 25 g	P	P

< 25 UFC/g: Límite mínimo de detección de microorganismos. En este trabajo no se detectó presencia de colonias típicas de *E. coli*.

A= Ausencia de colonias presuntivas

P= Presencia de colonias presuntivas

6. DISCUSIÓN

6.1 Dosis de irradiación

Aunque en muchos estudios sobre irradiación se presenta un valor único como indicativo de la dosis recibida, en este trabajo y con el fin de contribuir a una mejor comprensión de este proceso, se presentan los valores correspondientes a las dosis mínimas, máximas y promedio (Tabla 6). Sin embargo, como valor de referencia para la variable se utiliza la dosis promedio.

El proceso industrial de irradiación puede llegar a presentar desviaciones de hasta un 20% en las dosis reales con respecto a las dosis solicitadas (Liceaga, 1999). Así, cuando la dosis solicitada fue de 10 kGy y la dosis real presentó variaciones mayores a 20 % se procedió a repetir la irradiación. No así para dosis solicitada de 2.5 kGy ya que en este caso una variación mayor del 20 % no implicaba rebasar el límite máximo permitido (10 kGy) y por tanto no tenía un carácter tan crítico.

6.2 Efecto de la dosis de irradiación en la carga microbiana y las propiedades fisicoquímicas en las especias estudiadas

El planteamiento que se ha seguido en este apartado consiste en determinar la validez práctica (industrial) de los resultados con base en los criterios de calidad (microbiológica y/o fisicoquímica) que se consideran deseables para las especias y en base a ello recomendar una dosis aplicable.

6.2.1 Cilantro

Para el cilantro, se observa que el número inicial de microorganismos mesófilos aerobios se encuentra medio ciclo logarítmico por debajo del nivel recomendado para especias ($< 10,000$ UFC/g) (Fig 6.A) (Pérez-Alonso, 1999 a). Como consecuencia de la irradiación la carga de microorganismos mesófilos aerobios se reduce de 2630 UFC/g a 549 UFC/g al ser irradiada con una dosis de 7.75 kGy. Se observa también que, de las dosis de irradiación probadas (1.75, 5.1 y 7.75 kGy) 1.75 kGy no tuvo un efecto significativo, mientras que las dosis de 5.1 y 7.75 kGy pueden considerarse como de igual efecto en la reducción de microorganismos mesófilos aerobios. En

términos económicos no parece conveniente recomendar el uso de irradiación. Sin embargo, se deberá tomar en cuenta el resto de los grupos microbianos estudiados.

En el caso de los mohos y las levaduras el número inicial encontrado en cilantro fue de 10^2 UFC/g. Aunque la desviación estándar para el análisis fue muy alta esta carga inicial no parece justificar el empleo de la irradiación. Los mohos y levaduras son grupos microbianos de mucho interés en las especias ya que pueden ser los causantes de una descomposición visible. En el presente trabajo se observó que aun la dosis de irradiación mas baja probada (1.75 kGy) reduce la cuenta de este grupo microbiano a niveles por abajo del límite de detección (< 25 UFC/g) (Fig. 6A). Tomando en cuenta que la dosis solicitada para este valor promedio de 1.75 kGy fue de 2.5 kGy (Tabla 6), se observa que los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los informados por otros autores (Eiss, 1984; ASTA, 1986; IAEA, FAO y WHO, 1992) que indican que valores del orden de 3 kGy son suficientes para eliminar los mohos y las levaduras en especias como cilantro. Los resultados obtenidos para D_{10} (2.3 kGy) (Tabla 8) permiten llegar a la misma conclusión.

Las enterobacterias no se suelen considerar, a nivel industrial, para la caracterización microbiológica de las especias en México. Sin embargo, como varios autores (Farkas, 1986; Nieto-Sandoval, 1998) indican que dentro de este grupo existen microorganismos muy resistentes a la irradiación, se decidió estudiar su evolución. Para el cilantro, con base en los resultados obtenidos (figura 6A), se observó que efectivamente este grupo microbiano se mantuvo por arriba de los límites mínimos de detección (< 25 UFC/g). Sin embargo, los coliformes totales en el cilantro se redujeron por abajo del límite de detección (< 0.18 NMP/g) con una irradiación de 5.1 kGy.

En cuanto a *E. coli* y las colonias presuntivas de *Salmonella* en cilantro se encontró que la carga inicial de *E. coli* estaba por debajo del nivel de detección (en realidad no se detectó) y que hay ausencia/25 g de colonias presuntivas de *Salmonella* (Tabla 7).

Las mediciones de cenizas, humedad y aceites volátiles en cilantro no presentaron variación significativa a diferentes dosis de irradiación (Fig. 6B). Esto coincide con los resultados obtenidos por Yang, Chyau, Horng y Yang (1998) quienes tampoco observaron variaciones en el contenido en aceites volátiles en el hongo Shiitake, una especia, irradiada a una dosis de 10 kGy. Desde un punto de vista práctico los resultados fisicoquímicos obtenidos implican, por lo menos, un

mantenimiento de la calidad de la especia, por lo que el interés de irradiar o no depende de los resultados microbiológicos.

Con base en todo lo anterior resulta difícil de justificar, desde un punto de vista económico, el gasto que implica la irradiación como método de sanitización para el cilantro. Posiblemente el único argumento a favor de emplearla es la reducción por debajo del nivel de detección en mohos y levaduras pues estos son unos de los principales microorganismos responsables de las bajas vidas de anaquel ya que producen un "enlamado" en embutidos crudos.

6.2.2 Orégano

En el orégano, se observó que antes de irradiar el número de microorganismos mesófilos aerobios era de 10^8 UFC/g existiendo, por ende, un exceso de 4 ciclos logarítmicos en el límite recomendado para especias (<10,000 UFC/g) de acuerdo a Pérez-Alonso (1999 a).

Con las dosis de irradiación utilizadas se alcanza a reducir la carga de microorganismos mesófilos aerobios de 4 a 5 ciclos logarítmicos (Fig. 7A), con dosis de irradiación utilizadas (5.15, 7.15 y 10.4 kGy) por ello podría recomendarse cualquiera de las tres dosis. De cualquier manera, la justificación de una de estas dosis tendrá que estar soportada por los resultados obtenidos en los demás grupos microbianos estudiados. Cabe señalar que, los resultados obtenidos son similares a los de un estudio de Eiss (1984) sobre este mismo tipo de especia, en el que se encontró una reducción del 99.99% para una dosis de 10 kGy.

En el caso de los mohos y levaduras se observó que para reducir por debajo del nivel de detección (< 25 UFC/g) fue preciso llegar a dosis de 7.15 kGy, explicable no tanto por una baja sensibilidad de los mismos a la irradiación (D_{10} es de 3.3 kGy) (Tabla 8), sino por la relativa alta carga inicial. La dosis requerida encontrada en este trabajo es superior a la informada por Eiss (1984) de 2.5 kGy. Desde el punto de vista industrial la carga inicial y el comportamiento de los mohos y levaduras con la irradiación es una buena razón para justificar el empleo de este proceso.

Respecto a las enterobacterias en orégano la reducción es moderada (fig. 7A) solo de 90% (un ciclo logarítmico) para una dosis de irradiación de 10.4 kGy. Esto

coincide con lo indicado por otros autores (Farkas, 1980; Nieto-Sandoval, 1998) sobre la resistencia de estos microorganismos a la irradiación.

Las coliformes totales, que presentaron una carga inicial baja, se reducen por debajo del límite de detección (< 0.18 NMP/g) con una dosis de irradiación de 7.15 kGy. En el orégano la carga microbiana inicial de este tipo de microorganismos no supone una razón para emplear la irradiación.

Respecto a *E. coli* y a las colonias presuntivas de *Salmonella* se constató que la primera estaba por debajo del nivel de detección y se encontró ausencia de la segunda, en todas las muestras (Tabla 7). Estos resultados concuerdan con lo informado por IAEA (1992) en su estudio con orégano mexicano, en el que no se informa la presencia de ninguno de los dos patógenos antes mencionados.

Los resultados de cenizas, humedad y aceites volátiles en el orégano irradiado no mostraron variaciones significativas respecto al no irradiado (Fig. 7B). Estos resultados son similares a los encontrados por IAEA, FAO, WHO (1992) que informan una disminución relativa de tan solo un 1% en el contenido de aceites volátiles, al irradiar orégano a 10 kGy. De este modo, los resultados obtenidos implican un mantenimiento de la calidad fisicoquímica de la especia, por lo que el interés de irradiar o no depende de los resultados microbiológicos.

En general, con base en todo lo anterior, en el caso del orégano sí pudiera resultar justificable desde un punto de vista económico, el gasto que implica la irradiación, dadas las altas cargas iniciales de microorganismos mesófilos aerobios, hongos y levaduras y su fuerte reducción al ser irradiados. La dosis recomendable desde un punto de vista industrial es de 10 kGy, debido a que se brinda mayor seguridad (ver en los antecedentes el punto 2.3.1.8 Irradiación de especias).

6.2.3 Pimentón español dulce

En el pimentón español dulce se observó que el número inicial de microorganismos mesófilos aerobios fue ligeramente superior a 10^6 UFC/g existiendo, por ende un exceso de 2 ciclos logarítmicos en el límite recomendado para especias ($<10,000$ UFC/g) de acuerdo con Pérez-Alonso (1999 a) (Fig. 8A)

Este exceso de microorganismos mesófilos aerobios fue reducido en más de 3 ciclos logarítmicos (a 10.5 kGy) y por debajo del nivel de detección a 12 kGy (Fig. 8A).

Entre 0 y 7.5 kGy cuando se da una reducción de microorganismos mesófilos aerobios más notoria (superior a 2 ciclos logarítmicos), lo que concuerda con el valor de D_{10} obtenido (2.5 kGy) (Tabla 8). Para seleccionar la dosis de 7.5 o 10.5, se deberán considerar los resultados obtenidos en los demás grupos microbianos estudiados. Cabe señalar que los resultados obtenidos son similares a los de un estudio de Nieto-Sandoval (1998) donde se informa una destrucción total de estos microorganismos en la misma especie para dosis de 12.5 kGy. El comportamiento de este tipo de bacterias, la elevada carga inicial y la fuerte reducción que genera la irradiación contribuyen a justificar el empleo de la irradiación para esta especie.

En el caso de los mohos y levaduras se reducen por debajo del nivel de detección para dosis de 7.5 kGy (Fig. 8A), explicable no tanto por una baja sensibilidad de los mismos a la irradiación (D_{10} es de 3.5 kGy) (Tabla 8), sino por la alta carga inicial. La dosis requerida encontrada en este trabajo coincide con los resultados de IAEA, FAO y WHO (1992) citados anteriormente. La relativa alta carga inicial de este tipo de microorganismos (mayor a 10^3 UFC/g) junto con la fuerte reducción que experimentan al ser irradiados es una buena razón para justificar el empleo de este proceso de irradiación.

Respecto a las enterobacterias fue preciso emplear dosis de 10.5 kGy para poder reducir su población por debajo del nivel de detección (<25 UFC/g) (Fig. 8A). Esto coincide con lo indicado por Nieto-Sandoval (1998), quien llegó a niveles similares con 10.0 kGy.

Los coliformes totales iniciales son relativamente altos, pero aunque es preciso llegar a dosis de 17.25 kGy para reducirlos a niveles menores de 0.18 NMP/g, ya con dosis de 5.05 kGy se consigue bajar a 3 NMP/g. Esta reducción es una buena razón para el empleo del proceso de irradiación

Respecto a *E. coli* en pimentón español dulce no se detectó ni antes ni después de irradiar, pero sí se detectaron colonias presuntivas de *Salmonella* en 25g tanto en la muestra original como en las muestras irradiadas incluso a niveles de 10.5 kGy (Tabla 6). Así, aunque se observó una disminución cualitativa al aumentar el nivel de irradiación, fue preciso llegar a dosis de 12 kGy para obtener la ausencia de estas colonias presuntivas. Estos resultados son similares a los informados por Farkas (1980) quien señala que dosis de irradiación de 5 a 10 kGy son suficientes para eliminar la mayor parte de las enterobacterias excepto a *Salmonella* que requiere

dosis mayores. Cabe señalar que para la industria no es necesario en muchas ocasiones realizar pruebas confirmativas para *Salmonella* ya que el obtener resultados con colonias presuntivas es suficiente desde un punto de vista de seguridad para que se considere al producto contaminado. Las razones se encuentran relacionadas con el carácter patógeno de los microorganismos que dan positivo en las pruebas presuntivas.

Los resultados de cenizas y de humedad en el pimentón español dulce prácticamente no se modifican como consecuencia de la irradiación (Fig. 8B). Por el contrario, el color extraíble sí muestra una reducción del 10% para una dosis de 10.5 kGy y del orden del 20% para dosis de 12 - 17.5 kGy. Este hecho se justifica por la sensibilidad a la irradiación de los compuestos cromóforos responsables del color. Estos resultados son similares a los informados por Farkas (1980) quien observó una disminución del 20 % en el color extraíble del pimentón español dulce al irradiarlo a 16 kGy.

En esta especie el proceso de irradiación a la máxima dosis autorizada (10 kGy) resulta prácticamente imprescindible. Esto se deriva de la fuerte carga microbiana (incluyendo patógenos) que contiene y por su inclusión en cantidades significativas en alimentos tales como los embutidos crudos. La reducción del color extraíble (una merma en la calidad del producto) es un sacrificio aceptable en términos económicos para obtener la gran mejora en la calidad microbiológica, pues la reducción puede manejarse adquiriendo originalmente un producto con mayor cantidad de color extraíble.

6.2.4 Chile guajillo

En el chile guajillo, se observó que el número inicial de microorganismos mesófilos aerobios fue ligeramente superior a 10^7 UFC/g, por ende un exceso de más de 3 ciclos logarítmicos en el límite recomendado para especias (<10,000 UFC/g) de acuerdo a Pérez-Alonso (1999 a).

Este exceso de microorganismos mesófilos aerobios fue reducido en más de 3 ciclos logarítmicos mediante las diferentes dosis de irradiación utilizadas (5, 7.25, 11.2, 12 y 17.25 kGy) (Fig. 9A). Con base en estos resultados la dosis solicitada recomendada estaría en el rango de 5 a 10 kGy pues debe tenerse presente la

limitación legal. Superado este nivel, se sigue produciendo una reducción, de tal modo que a 17.25 kGy la carga ya es inferior al límite de detección (<25 UFC/g). Dada la alta carga inicial y la sensibilidad de la misma a la irradiación (su D_{10} es de 3.0 kGy) (Tabla 7) se podría justificar el empleo de la irradiación para esta especie.

Los mohos y levaduras muestran una significativa resistencia a la irradiación para el chile guajillo. Así apenas se logra una reducción del 93 % para una dosis de 11.2 kGy, siendo preciso emplear dosis de 17.25 kGy (Fig. 9A) para poder llevarlos por debajo del nivel de detección (<25 UFC/g). El D_{10} fue de 5.6 kGy (Tabla 8), todo lo cual podría sugerir la presencia de mohos resistentes (ICMSF, 1980 a). Para este tipo de microorganismos la carga inicial justifica el empleo de la irradiación pero la baja reducción obtenida al máximo nivel autorizado podría ponerlo en duda.

Las enterobacterias se redujeron por debajo del nivel de detección con una dosis de irradiación de 11.2 kGy (Fig. 9A). Esto coincide con lo indicado por Nieto-Sandoval (1998), quien llegó a niveles similares con 10.0 kGy.

Para reducir las coliformes totales hasta un valor menor a 0.18 NMP/g, fue preciso llegar a dosis de 17.25 kGy en ambas especies, pero ya con niveles del orden de 5 kGy se consigue bajar a 3 NMP/g. La relativamente alta carga inicial y esta reducción justificaría el empleo de la irradiación (figura 9A)

Es importante señalar que no se detectó *E. coli*, ni antes ni después de irradiar. Sin embargo, sí se detectó presencia de colonias presuntivas de *Salmonella* y aunque se observó una disminución cualitativa al aumentar el nivel de irradiación, fue preciso llegar a dosis de 12 kGy para informar su ausencia en 25 g (Tabla 7). Estos resultados concuerdan con lo encontrado para el pimentón español dulce y lo indicado por Farkas (1980).

Los resultados de cenizas y humedad (Fig. 9B) del chile guajillo no se modifican como consecuencia de la irradiación. Por el contrario, el color extraíble sí muestra una ligera reducción del 10 % a dosis de 11.2 kGy y del 20 % a dosis de 12 - 17.5 kGy. Este hecho se justifica por la sensibilidad a la irradiación de los compuestos cromóforos responsables del color. Estos resultados son similares a los informados por Farkas (1980) quien observó una disminución del 20 % en el color extraíble del pimentón español dulce al irradiarlo a 16 kGy.

En esta especie el proceso de irradiación a la máxima dosis autorizada (10 kGy) resulta prácticamente imprescindible. Esto se deriva de la fuerte carga microbiana

(incluyendo patógenos) que contiene y por su inclusión en cantidades significativas en alimentos tales como los embutidos crudos. La reducción del color extraíble (una merma en la calidad del producto) es un sacrificio aceptable en términos económicos para obtener la gran mejora en la calidad microbiológica, pues la reducción puede manejarse adquiriendo originalmente un producto con mayor cantidad de color extraíble.

6.3 Efecto de la temperatura de almacenamiento en la carga microbiana y las propiedades fisicoquímicas de las especias irradiadas.

Desde el punto de vista microbiológico se observó que las cargas microbianas se mantenían o reducían como consecuencia del almacenamiento por 50 días respecto al producto a tiempo cero (Fig. 10A, 11A, 12A, 13A). Similares resultados fueron encontrados por Farkas (1980) en su estudio de almacenamiento de pimentón a temperatura ambiente. También la IAEA (1992), encontró para pimentón almacenado por cuatro meses, que no había desarrollo de mohos ni siquiera a un porcentaje de humedad elevado.

Cuando se comparan los resultados microbiológicos obtenidos para las diferentes especias al ser almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración no se observan variaciones significativas (superiores al 3%) al hacerlo en unas condiciones o en otras (Fig. 10A, 11A, 12A, 13A). La única excepción corresponde a los microorganismos mesófilos aerobios del orégano donde el producto almacenado en refrigeración muestra una menor carga bacteriana que el almacenado a temperatura ambiente (Fig. 11A).

En relación con las propiedades fisicoquímicas no se observaron variaciones en los porcentajes de cenizas, humedad y aceites volátiles, de tal modo que se obtienen resultados semejantes en el producto irradiado a tiempo cero y en los almacenados independientemente de su temperatura (Fig. 10B, 11B, 12B, 13B).

No obstante, el color extraíble para pimentón español dulce y chile guajillo sí muestra variaciones con la temperatura de almacenamiento (Fig. 12B y 13B). Así se encontró una disminución del color extraíble de aproximadamente el 10% en el que se conservó a temperatura ambiente respecto al control y al almacenado en refrigeración, tanto en pimentón español dulce como en chile guajillo. La pérdida del color se debe a

la degradación oxidativa de los carotenoides, que se lleva a cabo durante el almacenamiento (Osuna-García, 1997). Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Nieto-Sandoval (1998), quien encontró que el color extraíble del pimentón español (almacenado a temperatura ambiente) disminuyó 5.9 % con respecto al control y al almacenado en refrigeración.

En general es factible almacenar cilantro y orégano irradiados a temperatura ambiente por 50 días sin que experimenten pérdidas en sus propiedades microbiológicas ni fisicoquímicas. En el caso del pimentón español dulce y del chile guajillo cada empresa deberá evaluar la relación costo/beneficio de almacenarlo o no en refrigeración, en relación con la pérdida de color que puedan experimentar al almacenarlos a temperatura ambiente.

7. CONCLUSIONES

- 7.1 Para el cilantro la baja carga inicial de microorganismos hace que no se justifique el empleo de la irradiación.
- 7.2 Para el orégano, si es justificable el empleo de una dosis máxima autorizada en México. Las razones son: la elevada carga microbiana inicial y su fuerte reducción, así como el mantenimiento del contenido de aceites volátiles.
- 7.3 Para el pimentón español dulce es conveniente utilizar la irradiación al menos a la dosis máxima autorizada en México, debido a la elevada carga inicial de microorganismos y a la presencia de colonias presuntivas de *Salmonella*. Con dosis promedio de 10.5 kGy se consigue que los microorganismos mesófilos aerobios se reduzcan a menos de 10^4 UFC/g y los mohos y levaduras por debajo del nivel de detección (<25 UFC/g), aunque a costa de una disminución del orden de 10 % del color extraíble.
- 7.4 Para el chile guajillo, es recomendable utilizar la irradiación a una dosis máxima autorizada en México, debido a la presencia de colonias presuntivas de *Salmonella* y a la elevada carga inicial de microorganismos mesófilos aerobios (10^7 UFC/g). A la dosis promedio de 11.2 kGy se presenta una reducción del 10% en color extraíble que se compensa con la obtención de una menor carga microbiana, especialmente en cuanto a los microorganismos mesófilos aerobios se refiere.
- 7.5 No se constatan claras diferencias entre las cargas microbianas de las cuatro especias estudiadas en el almacenamiento por 50 días a temperatura ambiente y en refrigeración. Sin embargo, dentro de las propiedades fisicoquímicas el color extraíble en pimentón español dulce y chile guajillo muestra una reducción del 10 % al ser almacenados a temperatura ambiente con respecto al almacenamiento en refrigeración.

8. RECOMENDACIONES

- 8.1 Evaluar el efecto de utilizar especias irradiadas a 10 kGy, que presentaron colonias presuntivas de *Salmonella* en embutidos crudos, con el fin de conocer su supervivencia en el producto final.
- 8.2 Aislar e identificar las especies de mohos y levaduras presentes en chile guajillo para conocer si estos microorganismos pertenecen a géneros que presentan mayor resistencia a la irradiación.
- 8.3 Hacer una evaluación sensorial en los productos cárnicos elaborados con especias irradiadas y sin irradiar.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

9. REFERENCIAS

1. Albaleadejo F, Garcia-Costa J. **La oleoresina de pimentón**. Primera ed. España: Universidad de Murcia; 1993.
2. Anderson P. **Microbiología Alimentaria, Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas**. Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III. Madrid (Es.); 1992.
3. ASTA, **Official Analytical Methods of the American Spice Trade Association**, 2nd ed; 1986.
4. ASTM, **American Society for Testing and Materials. Standard Guide for Irradiation of Dried Spices, Herbs, and Vegetable Seasonings to Control Pathogens and other Microorganisms**, Annual Book of ASTM Standards, 1998: V. 12.02 and 15.09.
5. Ashurst, PR. **Food Flavorings**. First ed. Published by AVI; 1991.
6. Bachman S, Grezczynska J, IAEA editors **Studies on Some Microbiological and Chemical Aspects of Irradiated Spices**. In: Aspects of Introduction of Food Irradiation in Developing Countries; 1991 Vienna, Austria; 1991.
7. BOE, **Boletín Oficial del Estado, Madrid España**. 22-12-84 (1984).
8. **British Standard Methods for Microbiological examination of food and animal feeding stuff BS 5763: Part 0: ISO 7218-1985; (1986)**.
9. Buchanan RL, Edelson SG, Boyd G. **Effects of pH and Acid Resistance on the Radiation Resistance of Enterohemorrhagic *Escherichia coli***. Journal of Food Protection 1999; 62(3): 219 – 228.
10. Cacho RR. **La industria empacadora de carnes frías y embutidos, una buena opción de inversión en el futuro**. Industria12(18)11-21.1999.
11. Castelman M. **Remedios para mas de 200 enfermedades, Hierbas Curativas**. Primera edición: Editorial Diana;1994.
12. Codex Alimentarius, CAC/PR 4 (1989).
13. Codex Alimentarius Food Labelling-Complete Texts Revised 1999, Issued by the Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme. FAO/WHO, Rome (1999).
14. Coretti K. **Embutidos: elaboración y defectos**. Primera ed. España; 1986.
15. Correcher V, et. al. **Dose Dependence and Fading Effect of the Thermoluminescence Signals in gamma irradiated paprika**. Journal Science of Food Agriculture 1998; 76:149-155.
16. Daood HG, Pavis A, Haydu F. **Studies on the carotenoid pigments of paprika (*Capsicum annuum L vare Sz. 20*)**. J. Agric. Food Chem 1989, 37: 350-353.

17. Daood HG, Huszka TT, Biacs PK. **Caroteoids and caroteoid esters from new cross cultivars of paprika.** J. Agric. Food Chem 1993; 41:1864-1867.
18. Davies BH. **Carotenoids.** In **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments - 2.** Goodwin, T.W., Ed., Academic Press: London; 1979; Chapter 19.
19. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. **Proposed Rules, Irradiation of Meat and Meat Products** (9CFR Parts 317, 318 and 981), 64(36):9089-9105 (1999).
20. Diario Oficial de la Federación. México. Artículo 36. 18 de enero de 1988.
21. Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. **Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers.** First ed. ASM Press, Washington D.C.1997; p. 509-515.
22. Eiss MI. **Irradiation of spices and Herbs.** Food Technology in Australia:1984; 36 (8)362-363, 366,370.
23. Ethylene Oxide User's Guide, 1995 from: URL: <http://www.ethyleneoxide.com/contents.htm>
24. Farkas J. **Principles of food irradiation.** In Handouts of IFIT International Training Course on Food Irradiation. International Facility for Food Irradiation Technology. 1980 Wageningen, The Netherlands. 1980 p. 1-7.
25. FDA/CFSAN **FDA Consumer: A Safe Measure For Safer Food** May – June 1998. From: <http://www.vn.cfsan.fda.gov/~dms/>
26. FDA, **Food Code**, U.S. Public Health Service. Sect. 1-201.10.72 (1999).
27. FEUM, **Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos**, Séptima edición. Ed. Secretaría de Salud. México. Tomo I, p. 125 (2000).
28. Fisher C, Kocis JA. **Separation of Paprika Pigments by HPLC.** J. Agric. Food Chem. 1987; 35: 55-57.
29. Food and Drug Administration. **Bacteriological Analytical Manual.** Revisión A, 8TH ed. (USA): AOAC International, 1998.
30. Food Ingredients Council, A Committee of the American Spice Trade Association, **The New Focus on Food Irradiation;**1998.
31. Gerwen SJC. **A data Analysis of the Irradiation Parameter D10 for Bacteria and Spores under Various Conditions,** Journal of Food Protection 1999; 62(9): 1024-1032.
32. Goresline HE, Ingram M, Macuch P, Mocquot G, Mossel DH, Niven CF, Tatcher FS. **Tentative classification of Food Irradiation processes with microbiological objectives.** Nature 1964; 204: 237-238.

33. Gray AM, Flatt RP. **Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant *Coriandrum stivum* (coriander).** British Journal of Nutrition, 1999; 81: 203-209.
34. Harris DC. **Análisis Químico Cuantitativo.** Primera ed. Grupo Editorial Iberoamericana; 1992.
35. Hart FL, Fisher HJ. **Análisis Moderno de los Alimentos.** Primera ed. Zaragoza, (Esp.)Acribia.; 1984.
36. Health Protection Branch. **"Determination of Coliforms, Faecal Coliforms and of *E. coli* in foods."** 1997 Compendium of Analytical Methods, Ottawa, Canada from <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/publications/compendium/volume-2/>
37. Health Protection Branch. **"Determination of The Aerobic Colony count in foods,"** 1998 Compendium of Analytical Methods, Ottawa, Canada from <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/publications/compendium/volume-2/>.
38. Health Protection Branch.. **"Isolation and identification of *Salmonella* from food"**, 1998 Compendium of Analytical Methods, Ottawa, Canada from <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/publications/compendium/volume-2/>
39. Health Protection Branch. **"Enumeration of yeasts and molds in foods,"** 1998. Compendium of Analytical Methods, Ottawa, Canada from: <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/publications/compendium/volume-2/>
40. Hygienic Quality of Food, Vienna, 14-18 July 1986.
41. IAEA, FAO, WHO, editores. **Irradiation of spices, herbs and other vegetable seasonings.** A compilation of technical data for its authorization and control, IAEA-TECDOC-639, 1992.
42. Instructivos de Noris S.A. de C.V IC-AC-001 -009., 1999.
43. ICGFI, IAEA editors **"Quality Maintenance and Safety in Spices and the Role of Irradiation"** Kerala, India ; 1995.
44. ICGFI, International Consultative Group on Food Irradiation, **Code of Good Irradiation Practice for the Control of Pathogens and Other Microflora in Spices, Herbs, and Other Vegetable Seasonings,** ICGFI, Document No. 5, Issued by the Secretariat of ICGFI, Joint FAO/IAEA División of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Vienna, Austria 1991.
45. ICMSF (US). **Ecología Microbiana de los Alimentos 1, Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos,** Primera ed. Editorial ACRIBIA; 1980 a. p. 48 – 73.
46. ICMSF (US). **Ecología Microbiana de los Alimentos 2, Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos,** Primera ed. Editorial ACRIBIA; 1980 b.

47. ININ, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares Departamento de Irradiador Gamma. **Servicio de esterilización, desbacterización y sanitización por radiación gamma en México: IG-01-99, 1999.**
48. Kalsec. **Natural as nature intended**, Technical Data. Code 33-01; 02-(color)-02; 30-01 (1986).
49. Karpouhtsis I, Pardali E. *et. al.* **Insecticidal and Genotoxic Activities of Oregano Essential Oils**, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1998, 46, 1111.
50. Kenneth TF, **Spices, Condiments and Seasonings**. 2nd. Ed. AVI Book; 1990.
51. Kiss I, Farkas J. **Irradiation as a method for descontaminating spices**. Food Revolution International. 1988; 4: 77-92
52. Lambert AD, *et. al.* **Microbiological changes and shelf life of MAP, irradiated fresh pork**. Food Microbiology. 1992; 9:231-244.
53. Liceaga G. Comunicación personal. 1999.
54. Lomeli A. **El chile y otros picantes**, 2da. Ed. Editorial Prometeo Libre Mexico 1987; 9-30.
55. López-Gonzalez V, Murano PS, Brennan-Murano E. **Influence of Various Commercial Packaging Conditions on Survival of *Escherichia coli* 0157:H7 to Irradiation by Electron Beam Versus Gamma Rays**. Journal of Food Protection, 1999; 62(1): 10-15
56. Maxcy RB. **Significance of residual organisms in foods after substerilizing doses of gamma radiation: A review**. Journal of Food Safety 1983; 5:203.
57. Montgomery DC. **Diseño y Análisis de Experimentos**. Primera Ed. Grupo Editorial Iberoamerica. 1991.
58. Miller M. **Chile Book**. First ed. Ten Speed Press 1991.
59. Minguez-Monsquera MI, Homero-Mendez D. **Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC**. J. Agric. Food Chem. 1993 a.; 41:1616-1620.
60. Minguez-Mosquera MI, Jaren-Galán M, Garrido-Fernandez. **Effect of processing of paprika on the main carotenes and esterified xantophylls in fresh fruit**. J. Agric. Food Chem. 1993 b.; 41, 2120 - 2124.
61. Mossel DA, Nieven CF, Thacher FS. **Tentative classification of food irradiation processes with microbiological objectives**. Nature (London). 1963; 204, 237.
62. Nieto-Sandoval JM. **Actividades Enzimáticas relacionadas con la degradación de pigmentos en frutos de *Capsicum annuum* L.**, España, Universidad de Murcia, 1995.
63. Nieto-Sandoval JM. **Nuevas tecnologías en la esterilización del pimentón. Influencia en la calidad final** (tesis). España: Universidad de Murcia; 1998.

64. Nieto-Sandoval JM, Fernandez-López JA, Almela L, Muñoz JA. **Dependence Between Apparent Color and Extractable Color in Paprika**. *Color Research and Application*. 1999; 24 (2): 93-97.
65. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-033-SSAI-1993. **Bienes y servicios. Irradiación de alimentos. Dosis permitidas en alimentos, materias primas y aditivos alimentarios.**
66. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. **Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.**
67. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. **Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.**
68. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. **Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos**
69. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. **Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable**
70. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. **Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.**
71. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. **Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.**
72. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-F-1-1982, Alimentos – Especies y Condimentos - **Pimentón**
73. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-F-66-1978. **Determinación de cenizas en alimentos. Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas**
74. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-F-83-1986. **Alimentos - Determinación de humedad en productos alimenticios. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas**
75. Official Analytical Methods of the American Spice Trade Association. Method 20.1., **Extractable Color in Capsicums and Their Oleoresins**, Procedure C 3rd. Ed. ASTA Englewood Cliffs, N.J. 1985.
76. Official Analytical Methods of the American Spice Trade Association. Method 5.0, **Steam Volatile Oil (Modified Clevenger Method) Procedure C.**, 3rd. Ed. ASTA Englewood Cliffs, N.J. 1985
77. Onyenekwe PC, Ogbadu GH. **Radiation Sterilization of Red Chili Pepper**. *Journal of Food Biochemistry*. 1995; 19: 121 –137.
78. Osuna-Garcia JA. **Natural Antioxidants for Preventing Color Loss in Stored Paprika**. *Journal of Food Science* 1997; 62(5): 1017-1021.
79. Pardo-Gonzalez JE. **La industria cárnica, El sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos**, Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha –Cuenca; 1998.

80. Pearson D. **Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos**. Primera ed. Editorial Acribia. 1986.
81. Pérez-Alonso AJ. Comunicación personal. 1999 a.
82. Pérez-Alonso AJ. Comunicación personal. 1999 b.
83. "Petition of Food Directorate, Health Protection Branch, Health and Welfare Canada for Irradiation Processing of Spices," 1983, private communication.
84. Prakash V. **Leafy Spices**, First ed. CRC Press, 1990.
85. Price JF, Schweigert BS. **The Science of meat and meat products**, 3rd. Ed. Food and nutrition Press, INC 1987.
86. Radomyski T, *et al*. **Elimination of pathogens of significance in food by low dose irradiation: a review**. Journal of Food Protection. 1994; 57 (1): 73-86.
87. Reglamento de la Ley General de Salud. Materia de Control. Título decimoséptimo. **Condimentos y Aderezos**. (1999).
88. Riquelme CR. **La industria empacadora de carnes frías y embutidos, una buena opción de inversión en el futuro**, *Industria* 1999; 12; 11-21.
89. Rosenberg U, Bogl W. **Microwave pasteurization, sterilization, blanching and pest control in the food industry**. *Food Technology*. 1987; 26: 36-40-55.
90. Rubio T. **Aplicaciones de la irradiación de alimentos**, Comisión Chilena de Energía Nuclear 1991; 50-57.
91. Russo M, Galletti GC, Bocchini P, Carnacini A. **Essential Oil Chemical Compositon of Wild Populations of Italian Oregano Spice (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* (Link) *lestwaart*): A Preliminary Evaluation of Their Use in Chematoxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences**. J. Agric. Food Chem. 1998; 46: 3741-3746.
92. Saraza MR, González T, Salas J. **Condimentos y especias, estado actual en el control de calidad**. *Microbiología y esterilización*. Alimentación 1993; Enero –Febrero 85-89.
93. Silla MH. **Resistencia térmica bacteriana. Parámetros de medida y su control**. Alimentación 1992; Junio: 57-61.
94. Snyder OP, Poland DM. **Food Irradiation Today**, Hospitality Institute of Technology and Management 1995. From: <http://www.hi-tm.com/Documents/Irrad.html>
95. Torres-Salazar A. **Irradiación Gamma Realidad Industrial en Nuestro País**, Alimentos 1999; 34(11): 26-29.
96. Urbain WM. **Food Irradiation**, Primera ed. Academic Press, 1986.

97. USDA, **Food Safety and Inspection Service, Irradiation of Meat and Meat products, Proposed Rules**, Federal Register 64(36) 9089-9105 (1999).
98. Vadji M, Pereira R. Comparative effects of ethylene oxide, gamma irradiation and microwave treatments on selected spices. *J. Food Science* 1973; 38:893-895.
99. Van Gerwen SJC, Rombouts FM, Van't Riet K, Zwietering MJ. **A Data Analysis of the Irradiation Parameter D_{10} for Bacteria and Spores under Various Conditions**, *Journal of Food Protection*, 1999; 62(9): 1024-1032.
100. Variyar PS. **Effect of gamma irradiation on phenolic acids of some indian spices**, *Journal of Food Science and Technology*: 1998; 33; 533-537.
101. Wall MM. **A Color Analysis for Dehydrated Caspicums**. New Mexico Coop. Ext. Service. Circular #546; 1994.
102. Wall MM. **Postharvest handling of dehydrated chiles**. New Mexico State Univ. Coop. Ext. Guide H-236; 1994.
103. World Health Organization editors. **Foodborn disease surveillance, outbreak of *Salmonella oranienburg* infection**. *Weekly Epidemiology Rec.*, World Health Organization, Geneva. 57:329; 1982.
104. Yang MS, Chyau CC, Horng DT, Yang JS. **Effects of Irradiation and Drying on Volatile Components of Fresh Shiitake (*Lentinus edodes* Sing)**, *J. Sci. Food Agric.* 1998; 76: 72-76.