



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**REVISIÓN DE LOS MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN COMERCIAL DE ESPECIAS Y
OTROS INGREDIENTES ALIMENTARIOS (EN POLVO) DESHIDRATADOS Y SUS
IMPLICACIONES TOXICOLÓGICAS**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

JEANETTE LOERA RUBALCAVA



CIUDAD DE MÉXICO

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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: Profesor: Hugo Rubén Carreño Ortiz
VOCAL: Profesor: Juan Diego Ortiz Palma Pérez
SECRETARIO: Profesor: Esmeralda Paz Lemus
1er. SUPLENTE: Profesor: Carlos Alberto Almanza Rodríguez
2° SUPLENTE: Profesor: Ana Laura Ocampo Hurtado

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. HUGO RUBÉN CARREÑO ORTIZ

SUSTENTANTE (S):

JEANETTE LOERA RUBALCAVA

ÍNDICE

	Página
1. OBJETIVO.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	1
3. GENERALIDADES.....	2
3.1 Definición de especias, hierbas aromáticas y condimentos.....	2
3.2 Producción y consumo de especias, hierbas aromáticas y condimentos en México y el mundo.....	3
3.3 Procesamiento general de especias y hierbas aromáticas.....	5
4. MICROBIOLOGÍA DE LAS ESPECIAS, HIERBAS AROMÁTICAS Y CONDIMENTOS.....	7
4.1 Microorganismos patógenos y no patógenos presentes.....	7
4.2 Supervivencia de microorganismos en especias, hierbas aromáticas y condimentos.....	10
4.3 Riesgos microbiológicos asociados al uso de especias, hierbas aromáticas y condimentos.....	13
5. PRINCIPALES MÉTODOS COMERCIALES DE ESTERILIZACIÓN DE ESPECIAS, HIERBAS AROMÁTICAS Y CONDIMENTOS.....	15
5.1 IRRADIACIÓN: RADIACIÓN GAMMA, ELECTRON BEAM Y RAYOS X.....	15
5.1.1 Fundamentos.....	15
5.1.2 Eficiencia microbiológica.....	25
5.1.3 Implicaciones toxicológicas.....	31
5.1.3.1 Efectos toxicológicos generales de la irradiación de alimentos.....	31
5.1.3.2 Efectos toxicológicos de especias, hierbas y condimentos irradiados.....	32
5.1.3.3 Radioactividad inducida.....	34
5.1.3.4 Productos radiolíticos.....	35
5.1.3.4.1 2-alkilciclobutanonas.....	36
5.1.3.5 Materiales de envase.....	41
5.1.4 Legislación y uso de radiación en la esterilización de especias, hierbas aromáticas y condimentos.....	43

5.2 ÓXIDO DE ETILENO.....	48
5.2.1 Fundamentos.....	48
5.2.2 Eficiencia microbiológica.....	51
5.2.3 Implicaciones toxicológicas.....	52
5.2.3.1 Efectos toxicológicos generales del óxido de etileno.....	52
5.2.3.2 Efectos toxicológicos de la ingesta de alimentos esterilizados con óxido de etileno.....	55
5.2.3.2.1 Residuos de óxido de etileno.....	55
5.2.3.2.2 Productos de reacción del óxido de etileno.....	57
5.2.3.2.2.1 Etilenclorhidrina y etilenbromohidrina.....	57
5.2.3.2.2.2 Etilenglicol.....	59
5.2.4 Legislación y uso de óxido de etileno en la esterilización de especias, hierbas aromáticas y condimentos.....	61
5.3 TRATAMIENTO CON VAPOR.....	63
5.3.1 Fundamentos.....	63
5.3.2 Eficiencia microbiológica.....	66
5.3.3 Implicaciones toxicológicas.....	67
5.3.4 Legislación y uso de vapor en la esterilización de especias, hierbas aromáticas y condimentos.....	70
6. OTROS FACTORES RELEVANTES RESPECTO AL USO DE LOS PRINCIPALES MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN.....	72
7. CONCLUSIONES.....	73
8. REFERENCIAS.....	75

1 OBJETIVO

Con base en las implicaciones toxicológicas, establecer los criterios para la selección de los métodos comerciales de esterilización de especias, hierbas aromáticas, condimentos y diversos ingredientes deshidratados y sus mezclas, los cuales son utilizados con el fin de reducir la carga microbiana y así evitar el daño a la salud de los consumidores y el deterioro de los alimentos en los que se agregan estos productos.

2 INTRODUCCIÓN

Las especias, hierbas aromáticas, condimentos y otros ingredientes deshidratados en polvo son productos muy valiosos debido a su uso para aportar sabor a los alimentos. Debido a su naturaleza vegetal, estos ingredientes están altamente expuestos a microorganismos provenientes del entorno en el que se cultivan, pero que también pueden adquirir durante las etapas subsecuente de procesamiento y almacenamiento. Esto representa un problema económico debido a que los microorganismos pueden ocasionar el deterioro de los alimentos en los que se agregan las especias, hierbas o condimentos, y en el caso de los microorganismos patógenos representan un problema de salud pública pues muchas veces estos productos se utilizan para condimentar alimentos listos para consumo.

Debido a lo anterior, es importante la implementación de Buenas Prácticas de Agricultura, Buenas Prácticas de Fabricación y principios HACCP durante la producción de especias, hierbas y condimentos, las cuales ayudan a disminuir la carga microbiana. Sin embargo, para reducir la microbiota inherente a la materia vegetal es necesario la implementación de métodos de esterilización comercial, los cuales no provocan la ausencia total de microorganismos viables, sino solo de aquellos de importancia para la salud pública, así como de otros tipos de microorganismos que podrían reproducirse en el alimento bajo condiciones normales de almacenamiento y distribución (Sinha et al. ,2012).

En el presente trabajo se presentan los métodos más utilizados actualmente para la esterilización comercial de especias, hierbas aromáticas, condimentos y otros ingredientes deshidratados en polvo. Es importante señalar que la elección de un método debe hacerse principalmente con base en las implicaciones toxicológicas que

éste puede tener en los ingredientes, puesto que estas varían dependiendo de las características de la matriz a esterilizar, las condiciones de proceso, etc.

3 GENERALIDADES

3.1 Definición de especias, hierbas aromáticas y condimentos

Las especias son productos vegetales que son utilizados en alimentos no por su valor nutricional, sino para aportar sabor, pero también para darles aroma o color. Dentro de las especias se incluyen todas las partes deshidratadas de plantas aromáticas (semillas, bayas, frutos, raíces, corteza, rizomas, etc.), con excepción de las hojas, las cuales se denominan hierbas aromáticas, así como tampoco los vegetales que tradicionalmente se han considerado alimentos (ej. cebolla, ajo, apio) (Peter y Shylaja, 2012; FDA, 2016).

A estos productos vegetales no se les debe haber removido porción alguna de ningún aceite volátil o principio aromatizante, y pueden ser comercializados en forma entera, molida, partida y como mezclas de éstas (FDA, 2016).

Por otro lado, los condimentos son especias únicas o mezclas de ellas, combinadas con otros productos (sal, azúcar, aceite, vinagre, etc.) que se usan para aportar sabor a los alimentos. Estos condimentos pueden ser tan simples como los polvos o las sales de ajo y cebolla, o tan complejos como las salsas (NMX-FF-072-1990. Dirección General de Normas, 1990; ICMSF, 2006).

El presente trabajo se enfoca en la presentación en polvo de especias, hierbas aromáticas y condimentos debido a que ésta es la presentación más fácil de mezclar uniformemente con los ingredientes alimenticios, y que a menudo se añade a alimentos listos para consumo, por lo que someterlos a un método de esterilización es esencial. Además, los polvos son fáciles de transportar, almacenar, pesar y procesar.

La lista ISO 676: 1995 (Peter y Shylaja, 2012) es la más extensa respecto a la cantidad de hierbas, especias y vegetales que incluye; contempla 109 productos vegetales que comúnmente son utilizados en el mundo como aportadores de sabor, aroma o color; mientras que la FDA reconoce 83 (Title 21. Sec 182.10. FDA, 2016) y la ESA 86 (ESA, 2016). Algunos ejemplos se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Especies, hierbas y productos vegetales deshidratados en polvo comúnmente utilizados

Clasificación	Parte utilizada	Nombre común
Especias	Corteza	Canela, casia
	Capullo de flor	Clavo de olor
	Rizoma	Jengibre, cúrcuma
	Raíz	Rábano picante
	Pistilo de flor	Azafrán
	Semillas	Mostaza, sésamo (ajonjolí), fenogreco, nuez moscada
	Fruto	Pimienta negra, pimienta blanca, pimienta de Jamaica, anís estrella, vainilla, pimienta de Cayena (frutos de <i>Capsicum frutescens</i>), pimentón (frutos de <i>Capsicum annuum</i> y <i>Capsicum longum</i>), cardamomo ^a Semillas ^b : apio, eneldo, hinojo, cilantro, alcaravea, anís verde, comino
Hierbas	Hoja	Cilantro, eneldo, fenogreco, albahaca, hoja de laurel, menta piperita, hierbabuena, mejorana, salvia, eneldo, estragón, cilantro, orégano, perejil, romero, tomillo, fenogreco.
Vegetales aromáticos	Bulbo	Cebolla, ajo

^a El cardamomo como especia se clasifica dentro de los frutos debido a que usualmente se muele la vaina junto con las semillas que contiene. ^b A pesar de que a estas especias comúnmente se les llama semillas, debido a su apariencia, en realidad son frutos.

3.2 Producción y consumo de especias, hierbas aromáticas y condimentos en México y el mundo

India es el mayor productor, consumidor y exportador de especias en el mundo, contribuyendo al 86% de la producción global seguido de China (4%), Bangladesh (3%), Pakistán (2%), Turquía (2%) y Nepal (1%) (Peter y Shylaja, 2012). Sin embargo, el papel de México en la producción de especias también es relevante. En la tabla 2 se presentan las especias y vegetales aromáticos de mayor producción en el país en 2014 (FAO, 2014).

Tabla 2. Especies y vegetales aromáticos de mayor producción en México en 2014

Especia	Lugar en la producción a nivel mundial	Toneladas
Anís, anís estrella, hinojo y cilantro	2	53,546
Vainilla	4	420
Pimienta (<i>piper spp.</i>)	12	3,309
Semilla de sésamo	12	64,911
Cebolla deshidratada	14	1,368,184
Chiles y pimientos deshidratados	14	60,402
Ajo	25	54,724
Jengibre	25	673
Semillas de mostaza	25	5

Respecto a la exportación de especias, Estados Unidos de América es reconocido como el mayor mercado, importando más de 498,951.2 toneladas en 2009, las cuales, provienen de más de 140 países (FDA, 2013).

En valor, los principales países de los que U.S. importó especias en 2010 son India (\$161.8 millones), Indonesia (\$146.2 millones), China (\$109 millones), Canadá (\$70.9 millones) y México (\$64.3 millones). Estos países contribuyeron al 55.1% (en valor) del total de importaciones de especias en U.S., excluyendo el ajo y la cebolla deshidratados, mientras que la contribución individual de México fue de 6.4% (FDA, 2013).

Las principales especias importadas a U.S. en 2010 fueron *Capsicum*, semillas de mostaza, pimienta (blanca y negra), jengibre y semilla de sésamo, de las cuales se importaron 227.8, 169.3, 155.4, 97.4 y 81.6 millones de libras respectivamente (FDA, 2013).

Cabe destacar que algunos países, ej. Alemania, los cuales no son grandes productores de especias, son de los mayores exportadores a U.S. debido a que importan especias de países productores y las procesan, mezclan o reempaquetan antes de exportarlas a U.S. En 2010, las especias importadas a U.S. de Alemania representaron 1.6% del total, con un valor de importación de \$1.6 millones (FDA, 2013).

De acuerdo con un estudio sobre el uso doméstico de especias en U.S., el cual se llevó a cabo en 2009, un estimado de 86% de los hogares utilizan hierbas frescas o deshidratadas, especias, o mezclas sazonadoras. En 2010, el consumo anual per

cápita en dicho país, incluyendo la cebolla deshidratada, fue de aproximadamente 1653 g (FDA, 2013).

A nivel mundial, México también es uno de los principales países importadores de especias. En 2005, el valor de especias importadas fue \$99.335 millones de dólares, colocándose como el noveno país con mayor importación de estos productos (TIPS & AusAID, 2007).

México es el principal importador de canela a nivel mundial. En 2004 el valor de importación de la canela fue \$ 128.174 millones de dólares, y México importó el 21.0% de dicha cantidad (TIPS & AusAID, 2007).

En cuanto a exportación de especias, en 2005 México se ubicó en la posición número 20 a nivel mundial (TIPS & AusAID, 2007).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares realizada en 2016 (INEGI, 2017), en México el gasto corriente monetario promedio trimestral por hogar en especias y aderezos fue de \$79, lo que representó el 0.28% del gasto total en alimentos, bebidas y tabaco.

3.3 Procesamiento general de especias y hierbas aromáticas

En la producción de especias y hierbas aromáticas los métodos de procesamiento difieren en cierta medida debido a la heterogeneidad pronunciada de la materia prima; sin embargo, hay algunas operaciones básicas que se aplican comúnmente a la mayoría de las especias y hierbas (Fig. 1), las cuales se mencionan a continuación (Schweiggert et al., 2007).

La cosecha se realiza manual o mecánicamente una vez que la materia prima tiene las características deseadas, y en el caso de algunas especias va seguida de una etapa de fermentación la cual permite el desarrollo de color y sabor, tal es el caso de la vainilla y de la pimienta de Jamaica, mientras que en la casia la fermentación permite la eliminación de la capa externa de la corteza (Schweiggert et al., 2007; Farkas y Mohácsi-Farkas, 2014).

Posteriormente se lleva a cabo el secado de la materia prima hasta un nivel de humedad higiénicamente seguro; en la tabla 3 se presentan algunos límites máximos

de humedad establecidos en el informe de la 3ª Sesión del Comité del Codex sobre Especias y Hierbas Culinarias (2017). Esta operación comúnmente se realiza extendiendo el material vegetal en el suelo o en plataformas, donde se dejan secar al sol durante varios días, aunque también se ha implementado el uso de equipos de secado en los que la materia prima entra en contacto con una superficie o aire caliente (Schweiggert et al., 2007).

Tabla 3. Límite máximo de humedad en especias y hierbas aromáticas en polvo

Especia o hierba	% Humedad	Especia o hierba	% Humedad
Comino	10	Pimienta negra	12
Tomillo	12	Pimienta blanca	13

Después del secado, los contaminantes físicos de las especias (piedras, ramas, semillas, hojas o cualquier otro tipo de materia extraña procedente de la zona de cultivo) se separan mediante imanes, clasificadores de aire, separadores por gravedad, tamiz o clasificación manual. Posteriormente, la mayoría de las especias y algunas hierbas se someten a la reducción del tamaño de partícula, para lo cual se utilizan diferentes equipos de molienda, como puede ser el molino de martillo, molino de alfileres, molino de rodillos, etc. (Schweiggert et al., 2007)

Finalmente, las especias y hierbas son envasadas, transportadas y almacenadas. Las etapas de distribución y almacenamiento pueden tener lugar en múltiples puntos de la cadena de suministro e implicar largos periodos (Schweiggert et al., 2007; FDA, 2013).

A menudo son los intermediarios los que recolectan, acumulan, limpian, clasifican y envasan las especias y hierbas, antes de venderlas a comerciantes y exportadores (Sharma, 2012; FDA, 2013).

Los productores pueden vender a un comprador local o directamente a un procesador o empaquetador de especias. En la India, la pimienta negra a menudo se vende a un comprador local, a veces en lotes tan pequeños como un kilogramo. El comprador consolida pequeños lotes de decenas a cientos de fincas para crear un lote de 50-100 kilogramos, que luego se vende a un comprador regional. El comprador regional recolecta especias en un lote mucho más grande para vender en el NCDEX (National

Commodity and Derivatives Exchange Ltd.) o directamente a un procesador o embalador de especias (FDA, 2013).

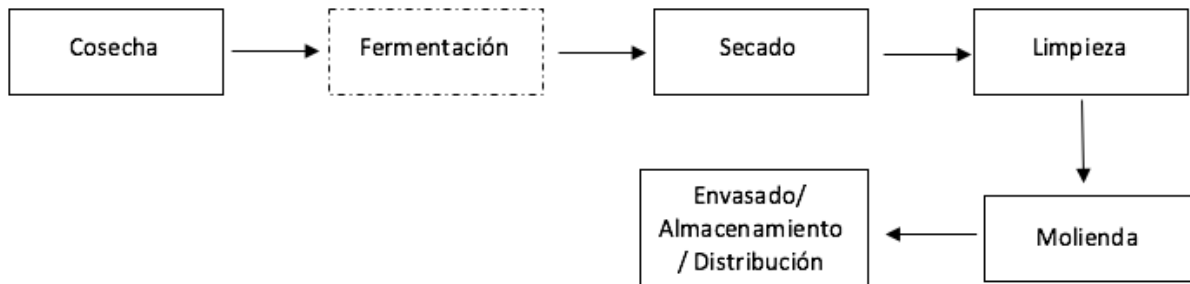


Fig.1. Proceso convencional para la producción de especias y hierbas aromáticas (Las etapas en líneas punteadas son opcionales) (Schweiggert et al., 2007)

4 MICROBIOLOGÍA DE ESPECIAS, HIERBAS AROMÁTICAS Y CONDIMENTOS

4.1 Microorganismos patógenos y no patógenos presentes

Debido al proceso general de producción, las especias y hierbas aromáticas están expuestas a una amplia gama de contaminación microbiológica antes, durante y después de la cosecha (Sagoo et al., 2009).

Dependiendo de la estructura vegetal de la que se derivan las especias, así como de su lugar de origen, éstas contienen diferentes tipos y concentraciones de microorganismos endógenos del suelo y de la planta.

La microbiota endógena comúnmente presente está formada por esporas bacterianas del género *Bacillus* (*B.subtilis*, *B.licheniformis*, *B. megaterium*, *B.pumilus*, *B. brevis*, *B. polymyxa*, *B. stearothermophilus* y *B. firmis*), así como mohos. Las cuentas de mohos pueden alcanzar 10^5 UFC /g, y *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger* y *Penicillium spp.* son los grupos normalmente prevalentes (Sharma,2006; Schweiggert et al., 2007; Atungulu y Pan, 2012; Farkas y Mohács-Farkas, 2014).

Generalmente, la microbiota endógena de las especias y hierbas no representa un riesgo a la salud de los consumidores; sin embargo, puede generar cambios en la textura, olor, sabor o apariencia de los alimentos a los que se agregan, disminuyendo su vida útil y ocasionando que éstos sean rechazados (Rawat,2005).

El deterioro de los alimentos representa un desperdicio de los recursos utilizados en la producción (energía, insumos, etc.), lo que resulta en enormes pérdidas económicas (Rawat,2005; Peter, 2006).

En el caso de las hierbas y especias, la disminución de su microbiota endógena es de particular importancia debido al elevado contenido de esporas, las cuales son estructuras producidas por células vegetativas como una estrategia de supervivencia en respuesta a condiciones ambientales adversas (pH, limitación de nutrientes, desecación, temperatura, etc.), y que tienen la capacidad de sobrevivir a procesos que regularmente matan a la mayoría de las células vegetativas. Las esporas no pueden desarrollarse en las especias y hierbas deshidratadas, pero pueden germinar en células vegetativas, las cuales se multiplican en los alimentos a los que se agregan si las condiciones son favorables, y generar el deterioro del alimento, pues muchos de estos microorganismos son proteolíticos, producen proteasas extracelulares, y amilolíticos, producen enzimas que hidrolizan el almidón (Soni et al., 2006; Pinkas et al., 2009).

Además, una presencia elevada de esporas en hierbas, especias y condimentos destinados a usarse en alimentos enlatados representa un problema. En el proceso de esterilización comercial de alimentos enlatados suele considerarse el valor D de las esporas de *C. botulinum* ($D_{121} = 0.21$ min) debido a que la toxina producida por este microorganismo representa un gran peligro para la salud humana; sin embargo, las condiciones del tratamiento térmico dependerán de la carga microbiana. Una elevada concentración de esporas cuyos valores D son mayores a los valores de las esporas de *C.botulinum* significa someter a los productos enlatados a condiciones de procesamiento térmico más severas con el fin de disminuir su concentración a niveles aceptables y así evitar el deterioro del producto, lo cual genera una disminución en su calidad organoléptica (Walker, 1990; Harrigan, 1998; ICMSF, 2006; ICMSF, 2011)

La presencia de microorganismos (células vegetativas y esporas) en especias y hierbas no solo afecta severamente la calidad sensorial de los alimentos en los que se utilizan como ingredientes, sino que también incrementa el riesgo de enfermedades transmitidas por éstos (Peter,2006).

Las especias y hierbas pueden contaminarse con microorganismos patógenos por medio del agua utilizada en los cultivos, si la higiene de los trabajadores es deficiente, o si en alguna de las etapas son expuestos a condiciones que les permitan entrar en contacto con insectos, roedores, aves o sus heces; lo cual es común en el método tradicional de secado al sol (Sagoo et al., 2009; Atungulu y Pan, 2012).

Los microorganismos patógenos aislados de especias, hierbas aromáticas y condimentos son *Salmonella spp.*, *Bacillus spp.*, *Clostridium perfringens*, *Cronobacter spp.*, *Shigella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, siendo *Salmonella enterica subsp. enterica* y *Bacillus spp.* los microorganismos más comúnmente asociados con brotes de enfermedades transmitidas por especias (FDA, 2013).

De acuerdo con Sagoo et al. (2009), *Bacillus cereus* puede estar presente en especias y hierbas, por lo general en cantidades inferiores a 10^3 UFC/g, mientras que *C. perfringens* se ha encontrado en varias especias usualmente en concentraciones menores a 500 UFC/g y rara vez mayores a 10^3 UFC/g; sin embargo, debido a que las esporas de estos microorganismos pueden sobrevivir a las elevadas temperaturas de cocción, lo que permite la multiplicación de las células vegetativas en alimentos mantenidos a temperatura ambiente, representan un riesgo para la salud de los consumidores.

Además de las bacterias patógenas ya mencionadas, la presencia de hongos en hierbas aromáticas, especias y condimentos crea problemas graves debido a la capacidad que tienen algunas especies para producir micotoxinas. Las micotoxinas más comúnmente encontradas en este tipo de productos son las aflatoxinas, producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, y la ocratoxina A, producida por varias especies del género *Aspergillus* y *Penicillium* (Arora, 2003; Schweiggert et al., 2007; Farkas y Mohácsi-Farkas, 2014; Codex Alimentarius, 2017).

La ocratoxina A es una potente nefrotoxina, ocasiona daño al riñón, así como necrosis de hígado y enteritis; mientras que las aflatoxinas dañan principalmente el hígado, provocando cirrosis y cáncer en muchos mamíferos. Debido a esto, se han fijado límites para el contenido de micotoxinas en alimentos, los cuales varían de acuerdo con cada país (Campos et al., 2017).

En Estados Unidos de América el límite total de aflatoxinas es 20 ppb para todos los alimentos de consumo humano, a excepción de la leche; mientras que en la Unión Europea los límites de aflatoxinas totales y de aflatoxina B1 para las especias derivadas de *Capsicum spp.*, pimienta blanca, pimienta negra, nuez moscada, jengibre y cúrcuma, así como condimentos que los contengan, se han fijado en 10 ppb y 5 ppb respectivamente. En la UE el límite de ocratoxina A para estas especias, a excepción de *Capsicum spp.*, y condimentos que los contengan es 15 ppb, mientras que para las especias derivadas de *Capsicum spp.* es 20 ppb (FDA, 2000; EC,2010; EC, 2015).

4.2 Supervivencia de microorganismos en especias, hierbas aromáticas y condimentos

La presencia de microorganismos patógenos como *Salmonella spp.* en especias y hierbas aromáticas deshidratadas puede ser sorprendente para algunos debido al bajo aw que tienen (< 0.6) y a la presencia de compuestos con actividad antimicrobiana; sin embargo, el efecto inhibidor depende del aceite esencial, su concentración y del tipo de microorganismo, entre otros factores (FDA,2013).

La composición y el contenido de aceites esenciales varían de especia a especia, pero incluso dentro de la misma especia dependen de las prácticas agrícolas y de las condiciones geográficas y climáticas durante su desarrollo. Las hierbas y especias que contienen los aceites esenciales con mayor actividad antimicrobiana son el clavo, tomillo, orégano, canela, pimienta de Jamaica y comino (Tabla 4). Sin embargo, la mayoría de las hierbas y varias especias muestran poca o ninguna actividad antimicrobiana (Beis et al. ,2000; Friedman, Henika y Mandrell, 2002; Burt, 2004; ICMSF, 2006; Farkas y Mohácsi-Farkas, 2014).

Además, la concentración de aceites esenciales en alimentos condimentados es generalmente muy baja para prevenir el desarrollo de microorganismos, pues en general, las concentraciones necesarias para lograr una inhibición eficiente frecuentemente impactan negativamente las características organolépticas del alimento (ICMSF, 2006).

Tabla 4. Concentración y actividad antimicrobiana de aceites esenciales presentes en especias y hierbas

Especia o hierba	Aceite esencial (%)	Principales compuestos con actividad antimicrobiana	% Compuesto antimicrobiano en aceite	Microorganismo	Valor BA50*
Pimienta de Jamaica	3.0-5.0	Eugenol	73-78	<i>Escherichia coli</i>	0.14
				<i>Salmonella enterica</i>	0.13
		Metil eugenol	9.6	<i>Campylobacter jejuni</i>	0.23
				<i>Listeria monocytogenes</i>	0.089
"Semilla" de comino	1.4-2.8	Cuminaldehído	27.60	<i>Escherichia coli</i>	0.30
				<i>Salmonella enterica</i>	0.36
				<i>Campylobacter jejuni</i>	0.099
				<i>Listeria monocytogenes</i>	0.37
Canela	0.5-1.0	Cinamaldehído	65-76	<i>Escherichia coli</i>	0.18
				<i>Salmonella enterica</i>	0.14
		Eugenol	4-10	<i>Campylobacter jejuni</i>	0.021
				<i>Listeria monocytogenes</i>	0.085
Clavo	16.0-19.0	Eugenol	75-85	<i>Escherichia coli</i>	0.13
				<i>Salmonella enterica</i>	0.13
		Acetil eugenol	8-15	<i>Campylobacter jejuni</i>	0.016
				<i>Listeria monocytogenes</i>	0.074
Orégano	0.2-0.8	Timol	Trazas-64	<i>Escherichia coli</i>	0.048
				<i>Salmonella enterica</i>	0.050
		Carvacrol	Trazas-80	<i>Campylobacter jejuni</i>	0.019
				<i>Listeria monocytogenes</i>	0.078
Tomillo	2.5	Timol	10-64	<i>Escherichia coli</i>	0.047
				<i>Salmonella enterica</i>	0.045
		Carvacrol	2-11	<i>Campylobacter jejuni</i>	0.022
				<i>Listeria monocytogenes</i>	0.091

* Valor BA50= Actividad bactericida definida como el porcentaje de aceite esencial en la mezcla de ensayo que dio lugar a una disminución del 50% de UFC respecto a un buffer control.

Respecto a los microorganismos, muchos de ellos, incluyendo patógenos, tienen la capacidad de sobrevivir a la etapa de secado; después de la cual se reduce en gran medida su metabolismo, no hay crecimiento, pero las células vegetativas y las esporas

pueden permanecer viables por periodos prolongados de tiempo, lo que permitiría su desarrollo al rehidratarse las especias, hierbas o condimentos (ILSI Europe, 2011).

Uno de los patógenos con esta capacidad es *Salmonella spp.* El mecanismo por el cual *Salmonella spp.* es capaz de sobrevivir a la desecación tan eficientemente se atribuye a los cambios morfológicos que sufre el microorganismo. Se cree que la formación de células filamentosas y la cápsula de polisacáridos son críticos para la supervivencia de *Salmonella* en ambientes secos (FDA, 2013).

También se ha propuesto que la producción de exopolisacáridos les permite a las especies de *Cronobacter* adaptarse a entornos fisiológicamente estresantes, lo que facilita su persistencia (ILSI Europe, 2011).

En el caso de *Staphylococcus aureus*, tiene el potencial de sobrevivir durante meses en alimentos de baja humedad debido a que requiere un valor de a_w de aproximadamente 0.83-0.86 para el crecimiento, mientras que la mayoría de los microorganismos está en el rango de 0.88-0.9. Thanh, et al. (2016) evaluaron la supervivencia de *S.aureus* en muestras de pimienta de Jamaica, albahaca, canela, nuez moscada, orégano, pimentón, perejil y pimienta; cuyos valores de a_w oscilaron entre 0.38 ± 0.02 (perejil) y 0.47 ± 0.02 (albahaca); y determinaron que los recuentos de este microorganismo fueron detectables durante al menos cinco semanas en pimienta de Jamaica, y por lo menos diez semanas en promedio en las otras especias y hierbas. Dependiendo del condimento, la cepa y el nivel de contaminación, *S. aureus* puede sobrevivir más de 20 semanas (Thanh, et al., 2016).

Sin embargo, *S. aureus* tiene una vida corta en comparación con las esporas de *Bacillus*, las cuales son altamente resistentes a condiciones de estrés ambiental como la baja actividad de agua, valores de pH excesivos o temperaturas elevadas. En el estudio de Than, et al. (2016), se determinó que en las ocho especias y hierbas analizadas no se produjo una reducción significativa de las esporas dentro de las 50 semanas de almacenamiento a temperatura ambiente.

4.3 Riesgos microbiológicos asociados al uso de especias, hierbas aromáticas y especias

Las especias, hierbas y condimentos se utilizan de varias maneras en los alimentos. En los hogares, estos productos suelen agregarse a sopas, ensaladas de frutas y vegetales, productos horneados, salsas, platillos cárnicos, bebidas (ej. malteadas, chocolate), etc.

Sin embargo, las especias, hierbas y condimentos también son de gran importancia para la industria de las botanas (papas fritas, palomitas de maíz, nueces, nachos, etc.), los productos cárnicos (salchichas, jamón, mortadela, chorizo, pepperoni, etc.), las salsas (para pizzas, pastas, etc.), crutones, aderezos para ensaladas, y algunos caramelos.

Existen compañías encargadas de proveer condimentos de uso específico a la industria de alimentos procesados, restaurantes y supermercados donde los consumidores pueden adquirirlos.

Las preocupaciones microbiológicas de estos productos se rigen por su uso final, representando un peligro potencial el agregarlos a los alimentos después de la etapa de cocción o en aquellos cuya preparación no involucra una etapa de procesamiento térmico apropiada para su eliminación. En estos casos, el uso de especias, hierbas o condimentos contaminados con patógenos o sus esporas representa un riesgo de salud pública de largo alcance debido a que son productos que se negocian internacionalmente y que se agregan típicamente en cantidades pequeñas en los alimentos, por lo que un solo lote tiene el potencial de contaminar muchos productos alimenticios, además de que es difícil implicarlos en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos pues las personas no recuerdan haberlos consumido.

En las últimas décadas han ocurrido varios brotes de enfermedades entéricas ocasionados por el consumo de especias contaminadas con patógenos. Algunos de los casos más relevantes se mencionan a continuación.

- Alemania, 1993. Más de mil personas, la mayoría menores de 14 años, contrajeron salmonelosis debido al consumo de *Capsicum annum* en polvo en

papas fritas. En este caso, el polvo de *Capsicum annum* estaba contaminado con varios serotipos de *Salmonella* (principalmente Saintpaul, Javiana y Rubislaw). La mezcla de especias se agregó a las papas después del freído, una vez que la temperatura había descendido a 60 °C (Zweifel y Stephan, 2012; FDA, 2013).

- Alemania, 2002-2003. 42 personas, en su mayoría infantes menores de 13 meses, contrajeron salmonelosis debido al consumo de infusiones de té elaborado con “semillas” de anís, hinojo y alcaravea. Se concluyó que las “semillas” de anís estaban contaminadas con *Salmonella* Agona, además de que en algunos casos las infusiones no fueron preparadas con agua hirviendo (Zweifel y Stephan, 2012; FDA, 2013).
- Nueva Zelanda, 2007. 54 persona contrajeron una intoxicación alimentaria debido al consumo de sopa de lentejas. Se concluyó que la cúrcuma que había sido utilizada como ingrediente estaba contaminada con esporas de *Bacillus cereus*, las cuales germinaron y produjeron toxinas diarrogénicas debido al lento enfriamiento del platillo después de su elaboración, y a un recalentamiento inadecuado del mismo (ESR,2008).
- Serbia, 2007-2008. 14 personas, en su mayoría infantes menores de 12 meses, contrajeron salmonelosis debido al consumo de infusiones de té elaborado con “semillas” de anís, hinojo y alcaravea. En este caso, las “semillas” de hinojo estaban contaminadas con *Salmonella* Senftenberg, y al igual que en el brote de Alemania, hubo casos en los que la infusión no se calentó a ebullición (FDA, 2013).
- Estados Unidos de América, 2009-2010. 272 personas contrajeron salmonelosis debido al consumo de productos de salami listos para comer. Se concluyó que la pimienta negra y el pimiento rojo utilizados en su elaboración estaban contaminados con *Salmonella* Montevideo (Zweifel y Stephan, 2012; FDA, 2013).

Los casos anteriores reflejan la importancia de someter a las especias, hierbas aromáticas y condimentos a procesos de esterilización eficaces, validados y apropiados de acuerdo con las características del producto.

5 PRINCIPALES MÉTODOS COMERCIALES DE ESTERILIZACIÓN DE ESPECIAS, HIERBAS AROMÁTICAS Y CONDIMENTOS

5.1 IRRADIACIÓN: RADIACIÓN GAMMA, ELECTRON BEAM Y RAYOS X

5.1.1 Fundamentos

La radiación es la propagación de energía a través del espacio y la materia. Hay varias formas de clasificar las radiaciones, sin embargo, las más comunes son por su composición y por la manera en la que interactúan con la materia (Calvo y Mendoza, 2012).

En cuanto a su clasificación por composición, son dos los tipos de radiación: radiación electromagnética y radiación corpuscular.

La *radiación electromagnética* es una forma de energía que consiste en perturbaciones eléctricas y magnéticas que se propagan por sí mismas en forma de ondas.

Conceptualmente puede considerarse como un movimiento ondulatorio que involucra vectores de campo eléctrico y magnético oscilatorios y perpendiculares entre sí. Se caracteriza por dos parámetros inversamente relacionados uno al otro; la frecuencia (ν), que es el número de ciclos por segundo, y la longitud de onda (λ), que es la distancia entre dos puntos sucesivos idénticos en la onda. Las radiaciones electromagnéticas poseen un carácter dual, ya que pueden considerarse como ondas con una frecuencia y longitud de onda característica, como ya se mencionó; pero también se considera que se comportan como una partícula que transporta energía, de tal manera que la energía está concentrada en haces llamados cuantos o fotones. Un fotón es una partícula sin masa y sin carga eléctrica (Urbain, 1986; Mahindru, 2009).

La radiación γ , los rayos X, los rayos ultravioleta, la luz visible, la radiación infrarroja, las microondas y las ondas de radio son ejemplos de radiación electromagnética. La longitud de onda o la frecuencia de las ondas de energía producidas por diferentes fuentes, distinguen los diferentes tipos y funcionalidad de las radiaciones; mientras menor sea λ o mayor sea ν , mayor será la energía de un fotón (Mahindru, 2009).

Por otro lado, la *radiación corpuscular* está formada por partículas, consiste en núcleos atómicos o partículas subatómicas, que se propagan a gran velocidad transportando

energía. Son ejemplos de radiación corpuscular la radiación α , así como la radiación β ; producidos en las desintegraciones radiactivas (Calvo y Mendoza, 2012).

Por su forma de interactuar con la materia, la radiación se divide en ionizante y no ionizante.

La expresión *radiación ionizante* se utiliza para calificar a todas las radiaciones con la energía suficiente para ser capaces de expulsar electrones de los átomos con los que inciden, lo cual resulta en la producción de partículas cargadas (iones) en el material con el que entran en contacto; este proceso ocurre sin importar si el átomo está libre o forma parte de una molécula. La ionización lleva a la formación de uno o más electrones “libres” desapareados, cada uno de los cuales tiene una carga eléctrica negativa, y de un ion, o más específicamente un catión, que es el residuo del átomo positivamente cargado (Urbain, 1986).

Cuando la cantidad de energía derivada de las radiaciones no es lo suficientemente alta para superar la energía de ionización de los átomos, las radiaciones se denominan como *no ionizantes* (Omaye, 2004).

Las radiaciones que se utilizan para tratar alimentos son las ionizantes, debido a que poseen varios atributos particulares que las hacen útiles para ello.

Considerando lo anterior, la *irradiación de alimentos* se puede describir como un proceso que implica exponer a los alimentos a dosis cuidadosamente controladas de radiación ionizante para lograr ciertos objetivos, siendo uno de ellos la reducción de la carga microbiana y la inactivación de patógenos en productos alimenticios (ACSH, 2007; y Hui, 2012). La dosis de radiación, definida como la cantidad de energía de radiación absorbida por el alimento; es el factor más importante en la irradiación de alimentos, puesto que para cada tipo de alimento, una dosis específica tiene que ser suministrada para lograr el resultado deseado. La unidad de dosis absorbida es el gray (Gy), el cual corresponde a la absorción de un joule de energía en una masa de un kilogramo ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg}$) (OMS y FAO, 1988; Wilkinson y Gould, 1996).

Si bien, son varios los tipos de radiación que tienen la habilidad característica de ionizar átomos individuales o moléculas, produciendo electrones e iones, no todas las radiaciones clasificadas como radiaciones ionizantes tienen propiedades apropiadas

para su uso en la irradiación de alimentos, y como consecuencia, se requieren restricciones definiendo que tipos son satisfactorias. De las diferentes radiaciones ionizantes solo los rayos X, la radiación γ y los haces de electrones, también denominado e-beam, son apropiados para el procesamiento de alimentos (Omaye, 2004; Molins, 2001).

La **radiación γ** se obtiene a partir de radionúclidos, también llamados isótopos radioactivos, estos son elementos con el núcleo inestable que transitan a estados energéticamente más estables emitiendo radiaciones; el mecanismo por el cual dichos elementos tienden a la estabilidad se llama decaimiento radioactivo (Cameán y Repetto, 2006).

La radiación γ empleada para uso en alimentos es la emitida por los radioisótopos ^{60}Co y ^{137}Cs durante su deterioro.

Para su uso como fuente de radiación, los gránulos de cobalto-60 se encapsulan en acero inoxidable y estos gránulos se cargan en tubos de acero inoxidable para formar un lápiz, varios de estos lápices se cargan en soportes verticales y planos que son conocidos como *fuentes*; cuando la instalación no está funcionando, la fuente se almacena en una cámara de agua subterránea, debido a que la columna de agua absorbe la radiación y actúa como un blindaje. Durante el procesamiento de un producto, el soporte de la fuente es llevado a la posición de irradiación, los productos en transportadores de aluminio o cajas de carga son mecánicamente posicionados alrededor de la fuente y se movilizan de modo que el contenido sea irradiado de ambos lados (Fig.2). La dosis absorbida se determina por el tiempo de permanencia del transportador o caja de carga en la posición de irradiación (Sommers y Fan, 2006; Sharma, 2006).

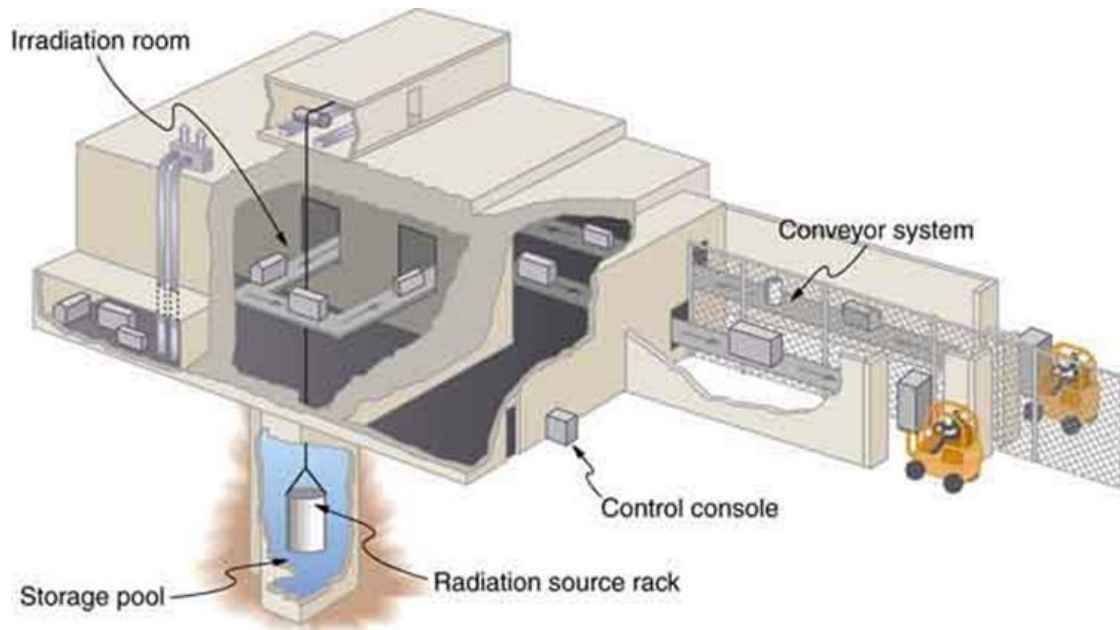


Fig. 2. Sistema de transporte en planta de irradiación de alimentos (Urone et al., 2012)

El **e-beam** consiste en un flujo de electrones de alta energía el cual se hace viajar en una dirección dada, dicho flujo de electrones se conoce como haz de electrones. Para producir haces de electrones de alta energía se utilizan aceleradores de electrones. El dispositivo consiste en un cátodo que al calentarse emite electrones de baja energía, dichos electrones son acelerados por un fuerte campo eléctrico en un largo tubo al vacío y después el haz de electrones acelerados emerge al aire a través de una delgada lámina de titanio, de manera que los electrones impactan los productos (Sommers y Fan, 2006).

En el tratamiento de irradiación los productos circulan sobre cintas móviles bajo el haz de electrones a una velocidad predeterminada para obtener la dosificación deseada (Fig.3) (Calvo y Mendoza, 2012).

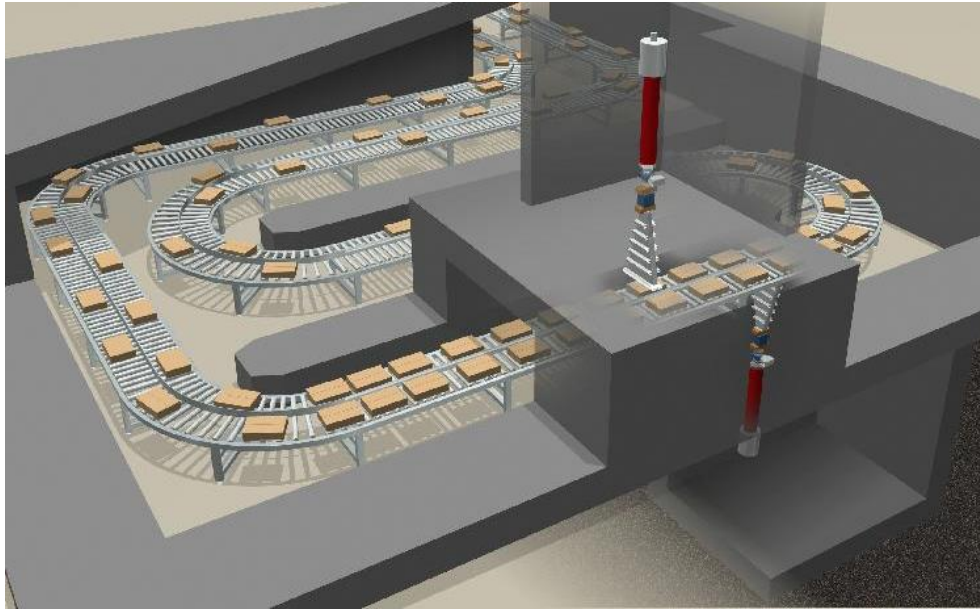


Fig.3. Equipo de tratamiento e-beam Titan Corp. (Rice, 1999)

Los **rayos X** son producto de la desaceleración rápida de electrones muy energéticos al chocar con un blanco metálico. Cuando un electrón (carga negativa) pasa por las proximidades del núcleo atómico (carga positiva) este es fuertemente atraído, pero como su velocidad es muy elevada se desvía de su trayectoria sufriendo una brusca desaceleración, la energía que pierde el electrón da lugar a la aparición de un fotón, es decir, se genera radiación electromagnética que es la que transporta parte de la energía cinética del electrón incidente, a este fenómeno se le conoce como *Bremstrahlung* o radiación de frenado. Los rayos X son generados usando la misma tecnología que produce los haces de electrones, sin embargo, en este caso se dirige un haz de electrones acelerados a una placa delgada de metal (tungsteno, tantalio u oro) que refleja un flujo de rayos X que pasan a través de los productos (Urbain, 1986; Miller, 2005; Reventós, 2005). No obstante, la eficiencia de conversión de este proceso es baja, puesto que la mayor parte de la energía necesaria para producir rayos X se pierde en forma de calor; en condiciones óptimas sólo entre 5-10 % de la energía total del haz de electrones se convierte en una corriente de rayos X, lo cual resulta en una fuerte desventaja en costo en comparación con la radiación gamma o el haz de electrones (Sommers, 2012; Gurtler et al., 2014).

En el tratamiento de irradiación con rayos X los productos en contenedores se exponen frente a las boquillas de dispersión de rayos X mediante un sistema transportador similar al de e-beam (Fig.4).

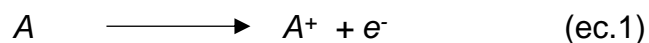


Fig.4. Contenedores listos a ser transportados frente a los objetivos de tantalio de 2 m (IAEA,2011)

Los rayos γ y los rayos X pueden penetrar en los productos alimenticios entre 30-40 cm, alcanzando hasta 60-80 cm cuando los productos se irradian por ambos lados, por otro lado, los haces de electrones no penetran tan profundamente en el material a tratar y alcanzan sólo alrededor de 3-4 cm, hasta 8 cm si se irradia por ambos lados. Excepto por las diferencias de penetración, los efectos de las radiaciones ionizantes electromagnéticas y los electrones son equivalentes en la irradiación de alimentos, por lo que la elección del método de irradiación dependerá del material que deba tratarse. Para tratar una capa delgada de un alimento, normalmente se elegirían electrones, mientras que, para tratar un producto voluminoso como un saco entero de especias, se escogería los rayos gamma o los rayos X (Farkas, 2006; Sharma, 2006; Fellows, 2009). Tomando en cuenta lo anterior, los haces de electrones son la forma de irradiación más rentable (costo-eficiencia), pero solo puede penetrar en los alimentos una profundidad

limitada; los rayos X son costosos, pero son una forma de radiación penetrante apropiada para las operaciones donde se tratan grandes cantidades; mientras que los rayos γ son relativamente económicos y altamente penetrantes, haciéndolos una alternativa rentable para la irradiación de alimentos (Ortega, 2012).

La radiación ha demostrado ser una medida efectiva para destruir tanto a bacterias patógenas como no patógenas. El mecanismo mediante el cual la radiación logra la inactivación de microorganismos se debe a la ionización que causa en átomos o moléculas (ec. 1) (Miller, 2005).

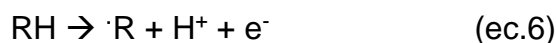


Los electrones expulsados del átomo llevan una proporción sustancial de la energía de la partícula o fotón incidente, y transfieren esa energía al medio en una serie de interacciones con otros átomos y moléculas a lo largo de su trayectoria, lo que da lugar a un gran número de ionizaciones y excitaciones en cadena, que cesan cuando la energía de los electrones desciende a niveles muy bajos (Molins, 2001; Bello, 2000).

Debido a que los iones y los átomos excitados formados tienen cantidades anormales de energía, ya sea que estén libres o como componentes moleculares, son inestables y químicamente reactivos.

Una molécula excitada (A^*) puede perder su energía mediante una serie de vías, incluyendo la emisión de energía como fotón, conversión interna a calor, transferencia a una molécula cercana, o mediante una serie de reacciones químicas (Urbain, 1986).

En el caso de las reacciones químicas, una molécula excitada puede disociarse en dos moléculas (ec. 2) o en dos radicales (ec.3). Las moléculas excitadas además de reacciones de disociación también pueden experimentar reacciones de isomerización formando moléculas estables o radicales libres (ec. 4 y 5); mientras que, en lo que se refiere a la ionización, en el caso de que el electrón desplazado forme parte de un enlace covalente, dicho enlace se puede romper y como consecuencia de los cambios moleculares se forman radicales libres (ec. 6).

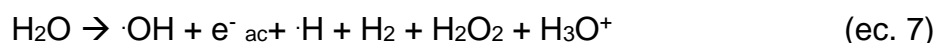


Las nuevas especies formadas pueden reaccionar con ellas mismas o con otras moléculas de la materia que hasta ahora no habían cambiado, de manera que se generan nuevas especies químicas, tales como otros radicales libres o iones. Dichas reacciones conducen eventualmente a la formación de moléculas estables (Urbain, 1986; Molins, 2001).

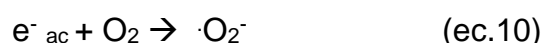
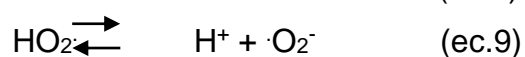
El proceso total mediante el cual se producen productos finales estables como resultado de la irradiación de la materia, se denomina “radiólisis”, y los productos así formados se denominan “productos radiolíticos”.

Dado que la fracción más grande de casi cualquier sistema biológico consiste en agua, representa 70-80% de una célula típica, la radiólisis del agua es de particular interés en la irradiación de los alimentos (Scott, 2014).

Cuando el agua pura es irradiada, una serie de productos altamente reactivos se forman (ec. 7).



Cuando el oxígeno molecular (O_2) disuelto está presente en el agua irradiada, también pueden generarse radicales hidroperoxilo (ec. 8), los cuales existe en equilibrio con el anión radical superóxido $\cdot O_2^-$ (ec. 9), aunque este anión radical también puede formarse mediante la reacción de electrones hidratados con el oxígeno (ec. 10).



El radical hidroxilo ($\cdot OH$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), así como el anión superóxido ($\cdot O_2^-$) son agentes fuertemente oxidantes, mientras que el electrón hidratado (e^-_{ac}) y el radical hidrógeno ($\cdot H$) son agentes reductores; por ello, la radiólisis del agua puede causar reacciones de oxidación y reducción en compuestos orgánicos de las

células, incluyendo las macromoléculas. Dichas reacciones son responsables de los procesos biológicos de importancia tecnológica (Madigan et al., 2009; Berk, 2013; Harder et al., 2016).

La radiación ionizante inactiva a los microorganismos dañando principalmente el material genético, el cual es un elemento crítico en la célula. Este daño impide la replicación y también puede interrumpir aleatoriamente funciones celulares causando la muerte celular.

Una razón importante para la alta sensibilidad del ADN a los efectos de la radiación ionizante, en términos de letalidad, es que su tamaño es mucho mayor al de otras estructuras moleculares en una célula, por lo que es más probable que la radiación lo dañe (Miller, 2005).

El daño al material genético puede ocurrir como resultado de una colisión directa entre una partícula ionizante o un fotón y el material genético, siendo los efectos directos, o también puede ocurrir indirectamente mediante la ionización de moléculas adyacentes, generalmente agua, que forman radicales libres y compuestos que reaccionan con el material genético.

En los efectos directos, la lesión puede ser la ruptura en una sola hebra del ADN, o si la orientación del ADN es apropiada, el fotón o el electrón puede romper ambas hebras del ADN. Las lesiones de una sola hebra pueden no ser letales por sí mismas, y pueden de hecho resultar en mutaciones. Sin embargo, la preponderancia de la evidencia es que esas mutaciones son debilitantes y más susceptibles a las agresiones del medio, además de que un gran número de lesiones de una sola hebra pueden exceder la capacidad de reparación de las bacterias, lo cual finalmente resulta en la muerte de la célula (Miller, 2005; Knechtges, 2012).

Una lesión de doble hebra ocurre cuando el fotón o el electrón golpea áreas adyacentes en ambas hebras del ADN, lo cual corta el ADN en dos piezas. Las lesiones de doble hebra son casi invariablemente letales, porque el mecanismo necesario para reparar una lesión de doble hebra está fuera de la capacidad de virtualmente todos los sistemas biológicos. Sin embargo, debido a la necesaria orientación del ADN en relación a la

fuentes de irradiación, las lesiones de doble hebra ocurren con mucha menos frecuencia que las lesiones de una sola hebra (Molins, 2001).

Por otro lado, cuando los efectos son indirectos, las especies generadas debido a la irradiación de las moléculas de agua reaccionan con los ácidos nucleicos y los enlaces químicos que los unen entre sí en una sola hebra, así como con los enlaces que unen los pares de bases entre ambas hebras. La acción indirecta también puede resultar en lesiones tanto de una sola hebra como de doble hebra, con los mismos efectos generales.

Las alteraciones en el ADN inducidas por los efectos de la irradiación pueden ser de varios tipos, entre los más frecuentes se encuentran el cambio o pérdida de una base, la disrupción de los puentes de hidrógeno entre las cadenas de ADN, la ruptura de una o ambas hebras de ADN y/o el entrecruzamiento de las cadenas de ADN en el interior de la hélice, con otras cadenas de ADN o con proteínas (Lett y Sinclair, 1993).

Además de los efectos sobre el material genético, la radiación tiene una variedad de efectos en otros componentes de la célula. La aplicación de radiación a una célula resulta en la interacción directa e indirecta con componentes celulares tales como membranas, enzimas, y plásmidos. Estas interacciones pueden tener el potencial de ser letales para la célula por sí mismas, pero en la mayoría de los casos no lo son a menos que también hubiese daño al material genético. Estas interacciones pueden tener un papel en la supervivencia de las bacterias dañadas, en el que una célula que no tiene daño genético letal sostenido puede ser dañada de otras maneras que compliquen o impidan la supervivencia de la célula dañada (Molins, 2001).

Un aspecto importante del mecanismo de inactivación de la radiación ionizante es que el daño que se produce es al azar y no está relacionado con un locus genético o a un componente celular específico. Este es un factor importante a considerar en relación con la capacidad de los microorganismos para desarrollar resistencia a la radiación, es decir, si bien los efectos de la radiación sobre el ADN pueden llegar a causar sólo mutaciones no letales, es probable que más daños en el ADN y a otros componentes celulares, derivados de los efectos primarios y secundarios de la ionización produzcan en conjunto daño suficiente para matar al microorganismo; los resultados de las

investigaciones han mostrado que los microorganismos sobrevivientes de las especias tratadas con radiación ionizante tienen menos resistencia al calor y a la sal, y son más exigentes en lo relativo a los requerimientos de pH, humedad, y temperatura de crecimiento en comparación con los microorganismos presentes en especias no tratadas, lo cual reduce su habilidad para sobrevivir y desarrollarse en los productos alimenticios (ICMSF, 2005).

5.1.2 Eficiencia microbiológica

La investigación en una gran variedad de especias y hierbas deshidratadas ha probado que la radiación ionizante es un tratamiento efectivo para su descontaminación microbiana, ya que puede eliminar microorganismos de importancia para la salud pública, tales como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, y mohos toxigénicos (ICMSF, 2005; Peter, 2006; Carvajal y Haghi, 2014).

Si bien la reducción en el número de células depende de la dosis total de radiación recibida, se debe tener en cuenta que la sensibilidad a la radiación varía entre diferentes especies de microorganismos (Fellows, 2009).

Las diferencias en sensibilidad a la radiación entre los microorganismos están relacionadas con las características propias de cada especie y cepa, por ejemplo, con su capacidad para reparar las lesiones producidas por la radiación o para formar esporas; además de las características inherentes, diversos factores tales como la composición del medio, el contenido de humedad, la temperatura durante la irradiación, la presencia o ausencia de oxígeno, así como la fase de desarrollo de las poblaciones, influyen en la resistencia a la radiación (Farkas, 2006).

En general, las bacterias Gram negativas son más sensibles que las Gram positivas, y las levaduras y los mohos tienden a ser más resistentes que las bacterias, mientras que las esporas bacterianas son las formas más resistentes. En el caso de las esporas bacterianas, la resistencia que presentan a la radiación es atribuible al bajo contenido de agua en la spora, a la saturación del ADN con pequeñas proteínas solubles ácidas (SASPs), y a sus sistemas de reparación de ADN específicos (Lund et al., 2000; Pillai y Shayanfar, 2015).

Las resistencias relativas de diferentes especies pueden compararse mediante el uso de los valores D_{10} , el valor D_{10} o la dosis de reducción decimal, es la dosis requerida (en kGy) para lograr una reducción 1-log (o del 90%) en números viables. Debido a que se obtienen diferentes valores D_{10} en diferentes productos y bajo diferentes condiciones, es necesario especificar las circunstancias particulares que aplican a un valor D_{10} dado (Urbain, 1986; Demirci y Ngadi, 2012).

El valor D_{10} para un microorganismo dado es mayor en alimentos con bajo a_w que en alimentos frescos o líquidos. En alimentos con bajo a_w , tales como las especias, la movilidad de las especies reactivas derivadas de la radiólisis del agua es limitada, por lo tanto, disminuyen las posibilidades de que los radicales causen daño indirecto al interactuar con los microorganismos objetivo y aumenta la posibilidad de simple recombinación, como consecuencia dosis más altas son requeridas para producir el efecto deseado de inactivación (Doyle et al., 2014; Varzakas y Tzia et al., 2015).

Los resultados del valor D_{10} para *Salmonella spp.* en algunos productos de baja humedad, que podrían considerarse representativos para las especias son 1.0 kGy (semillas de alfalfa, Thayer et al., 2003), 0.7 a 1.1 kGy (semillas de brócoli, Rajkowski et al., 2003) y 1.5 kGy (coco desecado, calculado por Ley et al., 1963); mientras que, los valores D_{10} para *Salmonella spp.* inoculada en frutos y carne son menores, oscilando entre 0.2 y 0.7 kGy aproximadamente (FDA, 2013).

Como ya se mencionó, los valores D_{10} se generan para una especie específica o cepa de organismo; sin embargo, en el caso particular de las especias tratadas con radiación, lo común es que se reporten las reducciones decimales alcanzadas para recuentos de grupos generales, por ejemplo, reducciones decimales para cuenta total en placa de mesófilos aerobios o recuentos de mohos y levaduras, a una dosis especificada. La Tabla 5 resume el trabajo de varios investigadores, y proporciona una visión general de los efectos microbiológicos del procesamiento de diversas especias, hierbas y condimentos, con radiación γ a diferentes dosis; la variabilidad en la respuesta para una misma especie y dosis se debe a factores adicionales los cuales influyen en la eficacia de la radiación γ , como ya se había mencionado, tales como el contenido de humedad y el tamaño de partícula.

Tabla 5. Reducciones decimales alcanzadas con radiación gamma para poblaciones microbianas de varias especias, hierbas y condimentos en polvo

Especia	Dosis (kGy)	Reducción decimal	Tipo de Recuento
Ajo en polvo	4	0.8-3.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	7	>4.7	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Anís, semilla	4	2.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	5	2.8-3.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		2.8	Mohos y Levaduras
	7	3.9	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	5.2	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>2.9	Mohos y Levaduras
Apio, semilla	8	3.7	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Canela	5	1.2-1.3	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>2.5	Mohos y Levaduras
<i>Capsicum</i>	5	2.3-4.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	5.0-6.3	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Cardamomo	5	1.5-1.6	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>3.0	Mohos y Levaduras
	7.5	2.7	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	>2.6	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Cebolla en polvo	4	1.8-2.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	5	2.9	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	8	2.3-3.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	3.1-4.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	13	4.6-4.8	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	15	4.8-5.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Cilantro	5	1.6-4.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>2.8	Mohos y Levaduras
	10	>4.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Clavo	5	0.35-1.4	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>3.0	Mohos y Levaduras
Comino	5	2.6-4.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	7	>5.4	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>3.2	Mohos y Levaduras
Cúrcuma	5	3.1-4.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>2.8	Mohos y Levaduras
	7.5	5.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Curry	4	2.3	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	>5.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Hinojo, semilla	5	2.7	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		3.3	Mohos y Levaduras
	10	4	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
>3.3		Mohos y Levaduras	

Jengibre	5	2.0-2.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	3.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Mejorana	5	1.7-4.6	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	2.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Nuez moscada	5	1.8 – 4.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>4.0	Mohos y Levaduras
	10	>3.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Orégano	5	5.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	6	3.2	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	5.4	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Pimentón	5	2.0-2.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>3.3	<i>Enterobacteriaceae</i>
		>3.7	Coliformes
	6.5	2.8	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	8	4.3	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	3.9	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		1.5	Mohos
Pimienta negra molida	4	2.6-3.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		2.3-3	<i>Enterobacteriaceae</i>
	5	1.1-4.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>3.0	Mohos y Levaduras
	6	3.6-4.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	7.5	5.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	8	4.3-5.9	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		> 4.2	<i>Enterobacteriaceae</i>
	9	5.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	3.3-6.8	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
>3.7		Mohos y Levaduras	
4.6		Coliformes	
Pimienta blanca	5	3.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	>6.8	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Pimiento rojo	5	3-5.7	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	10	4.8-6.0	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		2.3	Mohos y Levaduras
Romero	5	3.9	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	7	>4.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>4.4	Mohos y Levaduras
	10	4.1	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
Tomillo	4	1.8	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
	7	3.5- >4.5	Cuenta Total de Mesófilos Aerobios
		>2.58	Mohos y Levaduras

(Tabla construida con datos de ICMSF, 2005; Peter, 2006; Sterigenics, 2007; FDA, 2013; Carvajal y Hagh, 2014; Kirkin et al., 2014; Varzakas y Tzia, 2015; Molnár et al., 2017). *El símbolo ">" es utilizado cuando el recuento microbiano después del tratamiento está por debajo del límite detectable. El número representa la población antes del tratamiento basado en el método de enumeración.

En el caso de la irradiación con rayos X y haces de electrones, Van Calenberg et al. (1998) encontraron que las reducciones de los grupos microbianos de las especias eran similares para el haz de electrones y la radiación de rayos X. Para la cuenta total de mesófilos aerobios reportan reducciones decimales > 4.71 y >4.82 en pimienta blanca, 3.91 y 4.0 en pimentón, y 2.14 y 3.47 en nuez moscada a una dosis de 7.5 kGy, para la irradiación con rayos X y haces de electrones, respectivamente. Para la pimienta blanca, tanto el tratamiento con rayos X como el de haces de electrones a una dosis de 5 kGy fue suficiente para eliminar los coliformes (reducción >2.63 log), mientras que para la paprika se logró una reducción de 2.93 log con rayos X y de 2.76 con haces de electrones a una dosis de 7.5 kGy. Respecto a la reducción de esporas termofílicas, éstas fueron eliminadas de la pimienta blanca al tratarla con haces de electrones y rayos X a una dosis de 5 kGy (reducción >4.66 log), mientras que se necesitó una dosis de 7.5 kGy para eliminar las esporas de la nuez moscada (reducción >5.23 log), y para el pimentón una dosis de 7.5 kGy redujo la cuenta en 4.17 log con la irradiación de rayos X, y en 4.08 con la irradiación de haces de electrones.

En cuanto a inactivación microbiana, los rayos X, la radiación γ y los haces de electrones son equivalentes en la irradiación de alimentos (ICMSF, 2005).

De manera general, numerosas publicaciones individuales se refieren a un rango de dosis aproximadamente entre 3 y 10 kGy para reducir las poblaciones microbianas totales a concentraciones "aceptables" en especias. Sjöberg et al. (1991) informaron que el tratamiento de 35 especias con dosis entre 3 y 10 kGy, resultó en una reducción decimal de 3 en la cuenta total de mesófilos aerobios; mientras que el ICMSF (2005) indica que, dependiendo del número y tipo de microorganismos iniciales y de la composición química del producto, puede ser necesaria una dosis de hasta 20 kGy para alcanzar una cuenta total de células viables menor a 10 UFC /g en especias y hierbas, y lograr así la esterilidad comercial.

Generalmente, las levaduras y los mohos se controlan a una dosis mínima absorbida que oscila entre 3 y 6 kGy, mientras que las bacterias vegetativas se eliminan a una dosis mínima entre 4 y 7 kGy, y las bacterias formadoras de esporas se reducen a niveles aceptables en un intervalo de dosis mínimo de 8 a 15 kGy (ASTM, 2010). Las

dosis mínimas sugeridas para una variedad de especias se encuentran en la Guía de Estándares de la ASTM para la Irradiación de Especies Deshidratadas, Hierbas y Condimentos Vegetales para Controlar Patógenos y Otros Microorganismos (ASTM International, 2010). Estas dosis oscilan entre 3 a 8 kGy (para el comino, canela, pimentón, pimienta roja y cúrcuma) y 7 a 15 kGy (para la cebolla en polvo).

Sin embargo, la irradiación no puede destruir metabolitos tales como toxinas con las dosis comúnmente empleadas. Los resultados muestran que la radiación γ incluso a una dosis de 60 kGy no es efectiva en destruir completamente la ocratoxina y las aflatoxinas (Rosenthal, 1992; Jalili et al., 2010).

El uso de radiación ionizante para la descontaminación microbiana de especias también logra extender su vida útil (Venturi y D' Angelantonio, 2017). Hui (2012) reportó que el uso de especias irradiadas en salchichas redujo significativamente las cuentas de levaduras, mohos y esporas en éstas, en comparación con las salchichas control; además de que en el primer caso la vida útil de las salchichas se extendió considerablemente. Las salchichas a las que se agregaron especias sin tratar presentaron señales de descomposición después de 8 semanas de almacenamiento, lo cual no ocurrió en las salchichas en las que se usaron especias tratadas a una dosis de 10 kGy.

Resultados similares se obtuvieron en un estudio en el que se agregó una mezcla de especias a carne de cerdo enlatada. La vida útil de la carne de cerdo enlatada almacenada a 20 °C fue de 15 días para la muestra control, mientras que en las muestras en las que se utilizaron especias irradiadas a una dosis de 7.5 kGy y 10 kGy, su vida útil fue de aprox. 30 días y > 90 días respectivamente. Al almacenar el producto a 15 °C la vida útil fue de 96 días para la muestra control, y mayor a 180 días en las muestras en las que se utilizaron especias irradiadas a una dosis de 7.5 y 10 kGy (Peter, 2006).

5.1.3 Implicaciones Toxicológicas

5.1.3.1 Efectos toxicológicos generales de la irradiación de alimentos

A medida que la radiación ionizante pasa a través de los alimentos crea un rastro de transformaciones de carácter químico; aunque muchas de estas transformaciones son pequeñas, deben considerarse debido a la posibilidad de que algunos de los cambios en los alimentos puedan ser perjudiciales para la salud.

Por lo anterior, la inocuidad de los alimentos irradiados ha sido cuidadosamente evaluada con una amplitud sin precedentes de investigación y pruebas durante más de 60 años; tiempo en el cual cientos de estudios toxicológicos en una variedad de especies (ratas, ratones, pollos, perros, monos, hamsters, y cerdos) han sido conducidos con diversos alimentos irradiados a distintas dosis. Se han realizado estudios de mutagenicidad in vivo e in vitro, estudios teratológicos, de carcinogenicidad, de toxicidad crónica, reproductivos multigeneracionales, de genotoxicidad, etc. (Heijden et al., 1999; Stadler y Lineback, 2009; Song et al., 2014; Ehlermann, 2014).

En 1970, la FAO, el OIEA y la OMS, crearon el Proyecto Internacional en el Campo de la Irradiación de Alimentos (IFIP). Este proyecto se propuso traer uniformidad a los diversos estudios realizados en animales alrededor del mundo en los que los animales fueron alimentados con alimentos irradiados a una dosis igual o inferior a 10 kGy, y promovió el intercambio de información. Veinticuatro países participaron en el proyecto. Los estudios de alimentación se llevaron a cabo con harina de trigo, patatas, arroz, pescado congelado, mangos, papaya, fresa, cebolla, dátiles secos, cacao en polvo irradiado y especias. El proyecto fue terminado en 1982, estableciendo la inocuidad de los alimentos irradiados a 10 kGy o menos (OMS y FAO, 1988).

En las reuniones de 1976 y 1980, el JECFI examinó y evaluó los estudios de toxicidad entonces disponibles de varios productos alimenticios irradiados a dosis de hasta 10 kGy, entre ellos las especias, concluyendo de igual manera que no había evidencia que sugiriera que el consumo de alimentos irradiados representara un peligro toxicológico para la salud humana, a una dosis promedio de 10 kGy. En 1992, la OMS mediante un comité de expertos revisó todos los estudios relevantes sobre la seguridad de los alimentos irradiados llevados a cabo desde las reuniones del JECFI 1980, así como

muchos otros de los estudios anteriores que se habían considerado previamente, se tomaron en cuenta más de 500 estudios, y el grupo reafirmó los hallazgos anteriores, concluyendo que “la irradiación de alimentos es una tecnología probada exhaustivamente” y que “los estudios de seguridad no han mostrado hasta ahora efectos perjudiciales”. En 1997, un Grupo de Estudio Mixto FAO/OIEA /OMS sobre Irradiación a Altas Dosis (JSGHDI) fue convocado para revisar la literatura científica relacionada con alimentos irradiados a dosis superiores a 10 kGy; el reporte publicado en 1999 concluyó que “los alimentos irradiados a cualquier dosis apropiada para lograr el objetivo tecnológico deseado son seguros de consumir y nutricionalmente adecuados”, incluso los alimentos irradiado con dosis mayores a 10 kGy (Heijden et al., 1999; Stadler y Lineback, 2009; Ortega, 2010; Ehlermann, 2014; Song et al., 2014).

5.1.3.2 Efectos toxicológicos de especias, hierbas aromáticas y condimentos irradiados

En el caso particular de las especias y hierbas aromáticas, las pruebas de alimentación animal pueden llegar a ser difíciles y poco prácticas, particularmente cuando los niveles de ensayo son muy altos, debido a que se trata de productos pungentes. En numerosos casos, tanto en estudios a corto como a largo plazo, los investigadores han encontrado en los animales de prueba diversos efectos que son consecuencia de la falta de palatabilidad de dietas con un elevado contenido de especias; pues se ha reportado disminución de la ingesta de alimentos y del peso corporal, así como un aumento en el peso del hígado tanto en ratas alimentadas con dietas que contienen altos niveles de especias irradiadas como no irradiadas (Saul, 1985; Comisión de las Comunidades Europeas, 1989).

A pesar de lo anterior, se han llevado a cabo considerables estudios sobre la seguridad de las especias irradiadas, siendo la gran mayoría de estos estudios de mutagenicidad y haciendo uso de ensayos *in vivo* e *in vitro* (Saul, 1985).

Farkas y Andrassy (b. 1981 y 1982) evaluaron el posible efecto mutagénico de cebolla en polvo irradiada a 5 y 10 kGy utilizando la prueba de inducción del profago lambda (Inductest) y la prueba de Ames; para ello se usaron extractos y digestiones enzimáticas de cebolla en polvo, y ninguna de las pruebas demostró mutagenicidad

bajo las condiciones experimentales aplicadas; por otro lado Münzner y Renner (1981) lo evaluaron a una dosis de radiación de 13.6 kGy mediante la prueba de Ames y el ensayo de intercambio de cromátidas hermanas *in vivo*. Los extractos de cebolla en polvo irradiada no mostraron ningún efecto mutagénico con la prueba de Ames, y el intercambio de cromátidas hermanas fue negativo en hámster chino y en las tres cepas de ratones utilizadas; mientras que Mittler y Eiss (1982) evaluaron la capacidad de la cebolla irradiada, a niveles de dosis de 0.15, 9.5 y 15 kGy, para inducir mutaciones letales recesivas relacionadas con el sexo en *Drosophila melanogaster*. En este estudio, *Drosophila melanogaster* se alimentó con una mezcla que contenía 24.5% (peso seco) de cebolla en polvo durante toda su vida larvaria más 2 días como adulto, y como resultado no hubo aumento significativo de las mutaciones letales recesivas vinculadas al sexo a ninguna de las dosis probadas.

Chaubey et al. (1979) estudiaron el potencial mutagénico del pimentón irradiado a 30 kGy, utilizando la prueba de micronúcleos en ratones. El pimentón fue adicionado en un 20% a la dieta de ratones, los cuales se alimentaron durante 12 días. Los resultados no mostraron evidencia de clastogenicidad.

También se utilizó la prueba de Ames para extractos de pimentón y pimienta negra irradiados a niveles de 5, 15 y 45 kGy, siendo los resultados negativos para mutagenicidad. La pimienta negra irradiada a 15 kGy, tampoco mostró un efecto genotóxico en la prueba de inducción del profago lambda que se realizó utilizando sangre de ratas alimentadas durante 6 días con una dieta que contenía la especia en un 3.5% (a. Farkas y Andrassy, 1981; Farkas et al., 1981).

Respecto a los condimentos, una mezcla de especias utilizada en la industria cárnica (55% pimentón dulce, 14% pimienta negra, 9% pimienta de Jamaica, 9% cilantro, 7% mejorana, 4% comino y 2% nuez moscada) fue evaluada mediante la prueba de inducción del profago lambda, utilizando la sangre de ratas alimentadas durante 6 días con una dieta que contenía 25% de la mezcla de especias irradiada a una dosis de 15 kGy. Los resultados del estudio no indicaron que las especias irradiadas a esa dosis fueran modificadores potenciales de ADN. Con la mezcla de especias irradiada a dosis de 5, 15 y 45 kGy, también se realizó la prueba de Ames utilizando tanto los extractos

de la mezcla de especias, como la orina de ratas alimentadas durante 6 días con una dieta que contenía el condimento. Ni las muestras de los extractos de especias, ni las muestras de orina indujeron un aumento significativo en la frecuencia de revertientes.

Además, la alimentación de ratas macho durante 3 meses con una dieta que contenía 25% del condimento irradiado a 15 kGy, demostró que no es éste no era mutagénico en células germinales (a. Farkas y Andrassy, 1981; Farkas et al., 1981).

Sin embargo, algunos temas preocupantes en cuestión de la seguridad toxicológica de los alimentos irradiados son la radioactividad inducida y la formación de productos radiolíticos.

5.1.3.3 Radioactividad inducida

La energía de los fotones o de los electrones en movimiento debe ser suficientemente alta para superar la energía de ionización de los átomos o moléculas de los alimentos que van a ser irradiados; sin embargo, la interacción de la radiación ionizante con los núcleos de los átomos es posible y tales reacciones pueden inducir radioactividad en los alimentos. La radioactividad inducida principalmente es la consecuencia de la excitación del núcleo de un átomo, que luego emite un neutrón, protón, rayo γ , u otra radiación secundaria para deshacerse del exceso de energía y de masa que contiene, de ésta forma los elementos radiactivos emiten radiación de muy alta energía la cual puede dañar la materia (Urbain, 1986; Mendoza et al., 2012).

La energía de la radiación incidente es un factor principal en determinar si tendrán lugar o no reacciones con el núcleo, por ello existe un límite superior para la energía de radiación utilizada en el procesamiento de alimentos, de manera que no se excedan los valores que inducen reacciones nucleares y consecuentemente radioactividad. Para iniciar estas reacciones, la radiación incidente debe ser de una energía umbral mínima, la cual difiere de un elemento a otro; sin embargo, el límite superior para la inducción de reacciones nucleares para la mayoría de los átomos se sitúa en el rango de 13-16 MeV. Debido a esto, las fuentes de radiación permitidas se han restringido a aquellas cuyos niveles de energía son muy inferiores a los que inducen radioactividad, dichas fuentes son los rayos γ de ^{60}Co y ^{137}Cs , haces de electrones de hasta 10 MeV y rayos X de 5 MeV (hasta 7.5 MeV en US), mientras que algunas formas de radiación corpuscular

tales como las partículas α , neutrones, protones, y deuterones no son utilizadas por su potencial de inducir radioactividad (Urbain, 1986; OMS y FAO, 1988; Maraver et al., 2012).

A pesar de las medidas tomadas para evitar la radioactividad inducida, puede esperarse que la irradiación de alimentos con rayos γ , rayos X o haces de electrones induzcan un nivel muy bajo de radioactividad en los alimentos; no obstante, el incremento de radiactividad causado por la irradiación no es significativo puesto que la radiactividad ya presente en los alimentos de forma natural excede por mucho la inducida por cualquiera de las fuentes de radiación ionizante utilizadas a los niveles de energía permitidos. Por ejemplo, si consideramos el carbono, un constituyente químico principal de los alimentos, siempre está presente algo de ^{14}C , así como del isótopo ^{40}K ; por tanto, los alimentos sometidos a la radiación ionizante de ^{60}Co y ^{137}Cs o a electrones acelerados de 10 MeV o menos, y a rayos X de 5-7.5 MeV, no se vuelven radioactivos (Urbain, 1986; Heijden et al., 1999; Molins, 2001; Maraver et al., 2012; Ehlermann, 2014).

No se debe confundir el concepto de alimento irradiado y alimento radioactivo. El uso de radiación en la esterilización de alimentos no significa que éstos se vuelvan radioactivos (Repetto, 1995).

5.1.3.4 Productos radiolíticos

Si bien la irradiación de los productos alimenticios es un proceso controlado, éste induce algunos cambios en los componentes de los alimentos debido a que las moléculas excitadas y los radicales producidos durante la irradiación, así como otras especies reactivas, son capaces de reaccionar entre ellas o con otros componentes de los alimentos (lípidos, proteínas, carbohidratos, vitaminas, etc.), conduciendo eventualmente a la formación de productos radiolíticos estables (ACSH, 2007; Fellows, 2009; Heijden et al., 1999).

Debido a la complejidad de los alimentos, un gran número de productos radiolíticos puede ser formado, aunque en cantidades muy pequeñas (en el rango de partes por millón) y no significativamente diferentes, a las dosis normalmente utilizadas, de las reportadas en otros procesos de conservación convencionales, especialmente los basados en el tratamiento térmico. De hecho, las diferencias químicas entre los

alimentos procesados por radiación y los alimentos no irradiados son muy pequeñas para ser detectadas fácilmente, puesto que la composición de los alimentos permanece en gran parte sin cambios. La cantidad de productos radiolíticos formados en los alimentos irradiados depende de muchos factores, siendo el más importante la dosis absorbida, pero también influyen en su formación la composición, el estado de hidratación y el estado físico (congelado, fresco, sólido, líquido, etc.) del alimento, además de su temperatura al momento de la irradiación y la presencia o ausencia de oxígeno (OMS y FAO, 1988; Heijden et al., 1999; Sharma, 2006; EFSA, 2011).

A veces se plantean preguntas acerca de la toxicidad de los “radicales libres” en los alimentos irradiados, sin embargo, los radicales libres tienen una vida muy corta y desaparecen inmediatamente por recombinación o por reacción con otros compuestos del alimento en sistemas que contienen agua; mientras que en productos alimenticios deshidratados irradiados tales como las especias y condimentos, los radicales libres son mucho más estables y no se disipan tan rápidamente, pero la evidencia demuestra que los radicales libres que pueden estar presentes en los alimentos al momento de consumirlos decaen inmediatamente en contacto con la saliva, aunque, es poco probable que los radicales libres persistan o estén presentes en los alimentos irradiados en el momento en el que los alimentos llegan al consumidor puesto que desaparecen dependiendo de las condiciones de almacenamiento y de los tratamientos post-irradiación a los que son sometidos (Heijden et al., 1999; Sharma, 2006; ACSH, 2007; Ehlermann, 2014).

Durante los últimos años, unos de los productos radiolíticos a los que se les ha prestado mayor atención son las 2-alquilciclobutanonas (Delincée et al., 1998; Hartwig, 2007; Ehlermann, 2014).

5.1.3.4.1 2-alquilciclobutanonas

Las 2-alquilciclobutanonas (2-ACBs) son un grupo de compuestos derivados de los ácidos grasos y triglicéridos que constituyen la fracción grasa de los alimentos. Estos compuestos comprenden un anillo de cuatro miembros con un grupo cetona en la posición 1 y un grupo alquilo en la posición 2 (Crews y Driffield, 2011); contienen el mismo número de átomos de carbono que el ácido graso precursor. El primer paso en

la formación de 2-ACBs es la pérdida de un electrón de la capa exterior del átomo de oxígeno del grupo carbonilo del ácido graso, este catión radical luego abstrae un átomo de hidrógeno del átomo de carbono C4 a través de un estado de transición de 6 miembros conformacionalmente favorecido. El cambio formal de un par de electrones entre el C1 y C4 permite la formación del anillo de ciclobutano, y luego la escisión del enlace acilo y la transferencia de los protones, más la ganancia de un electrón conducen a la 2-ACB (Fig. 5). La formación de 2-ACBs a partir de ácidos grasos libres sigue esencialmente el mismo mecanismo.

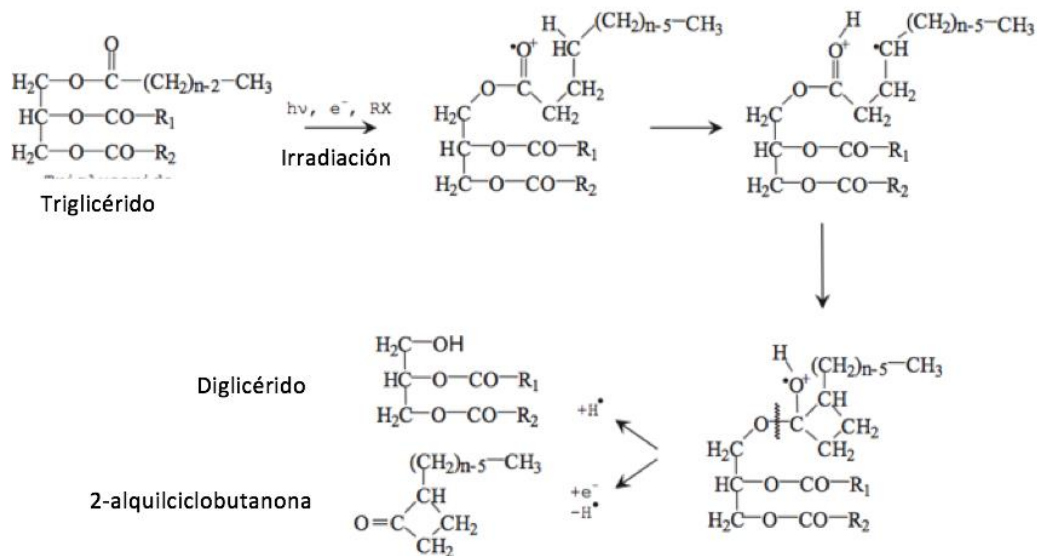


Fig.5 Formación de 2-ACB a partir de un triglicérido por irradiación (Song et al., 2014)

A partir de los ácidos grasos mirístico, palmítico, esteárico, oleico y linoleico, las correspondientes ciclobutanonas formadas son 2- decilciclobutanona (2-DCB), 2- dodecilciclobutanona (2-dDCB), 2-tetradecilciclobutanona (2-tDCB), 2-tetradeca-5'-enilciclobutanona (2-tDeCB) y 2-tetradeca-5',8'-dienilciclobutanona (2-tDdeCB), respectivamente (Song et al., 2014).

Las 2-ACBs pueden presentarse en las especias y hierbas aromáticas irradiadas puesto que contienen un porcentaje considerable de aceites. El contenido de aceite en algunas especias, así como el porcentaje de los principales ácidos grasos que dan lugar a la formación de 2-ACBs se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Contenido de aceite en especias, y concentración de algunos ácidos grasos precursores de 2-ACBs (Al-Jasass y Al-Jasser, 2012)

Especias	Aceite (%)	*Ácidos grasos
Semillas de mostaza	28-38.5	C _{16:0} 3.2%, C _{18:0} 1.18%, C _{18:1} 18.32%, C _{18:2} 23.57%
Comino negro	30-40	C _{14:0} 1.0%, C _{16:0} 10.5%, C _{18:0} 2.04%, C _{18:1} 16.23%, C _{18:2} 68.07%
Pimienta negra	1.2-5.3	C _{16:0} 3.15%, C _{18:1} 26.06%, C _{18:2} 33.03%
Clavo	16.6-20	C _{14:0} 1.29%, C _{16:0} 6.21%, C _{18:1} 19.2%, C _{18:2} 44.73%

*% Respecto al total de ácidos grasos

Al parecer, las 2-ACBs se forman exclusivamente mediante irradiación, por lo cual han sido utilizados como marcadores para alimentos irradiados.

Los estudios sobre el potencial toxicológico de las ciclobutanonas comenzaron a finales de los noventas, y han sido llevados a cabo extensamente con compuestos sintéticos (Stadler y Lineback, 2009; Song et al., 2014).

Delincée y Pool-Zobel (1998) evaluaron el potencial genotóxico de la 2-dDCB, utilizando células de colon de ratas y células humanas de muestras de biopsias usando el ensayo cometa. Este estudio determinó que la 2-dDCB a niveles de 0.3 – 1.25 mg/mL indujo rupturas en la cadena de ADN, así como un efecto citotóxico relacionado con la concentración. Posteriormente, Delincée et al. (2002) trataron líneas celulares tumorales de colon humano (HT29 y HT29 clon 19A) con 2-tDCB (6-100 µg/mL), y no encontraron indicios de ningún efecto citotóxico o genotóxico utilizando el ensayo de cometa.

Muchos investigadores han examinado la mutagenicidad de la 2-dDCB *in vitro* usando la prueba de Ames. Sommers (2003) evaluó la capacidad de la 2-dDCB de inducir mutaciones (0.05-1 mg) utilizando el ensayo de mutación inversa de triptófano de *E. coli* y los resultados mostraron que la 2-dDCB no induce mutaciones, un resultado similar al reportado por Gadgil y Smith (2004).

En otro estudio se expusieron células primarias, células preneoplásicas (células de adenoma LT97) y líneas celulares tumorales (HT29 clon 2A) de colon humano, las cuales representan diferentes etapas de desarrollo tumoral y tejidos sanos de colon, a

concentraciones crecientes de 2-dDCB (150-2097 μM , aprox. 40-500 $\mu\text{g}/\text{mL}$), y se observó que la 2-dDCB era citotóxica de una manera dependiente del tiempo y de la dosis en células de adenoma LT97 y en células primarias recién aisladas, pero no en la línea celular tumoral de colon humano. En el mismo estudio se evaluó la genotoxicidad de la 2-dDCB midiendo las rupturas de ADN (ensayo cometa) y la inducción de aberraciones cromosomales (técnica de hibridación *in situ* fluorescente), este último a concentraciones de 30-150 μM (aprox. 8-40 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La 2-dDCB indujo rupturas de ADN en las células primarias y preneoplásicas, e indujo aberraciones cromosomales en la línea celular preneoplásica las cuales están asociadas con el cáncer humano; los cromosomas dañados 5, 12 y 17, son los cromosomas que llevan los genes APC, KRAS y P53, que con frecuencia se alteran durante la carcinogénesis colorrectal. Los resultados mostraron que la 2dDCB es genotóxica en células epiteliales humanas sanas del colon y en células preneoplásicas de colon, además de que estos hallazgos proporcionaron pruebas de que el compuesto es un posible factor de riesgo para los procesos de carcinogénesis del colon relacionados con la iniciación y la progresión (Knoll et al., 2006).

Por otro lado, Hartwig et al. (2007) llevaron a cabo un estudio sobre la potencial cito- y genotoxicidad de 2-ACBs de longitud de cadena variable (2-DCB, 2-dDCB, 2-tDCB y 2-tDeCB) en bacterias (cepas de *S. typhimurium*) y líneas celulares humanas (células HeLa y células tumorales de colon HT29). Los resultados indicaron que las 2-ACBs tienen propiedades citotóxicas, tanto en bacterias como en células humanas, sin embargo, los efectos citotóxicos varían con la naturaleza del compuesto y las células investigadas. Como tendencia común, pero más pronunciada en bacterias, se observó que cuanto más corta es la cadena de carbono de la 2-ACBs, mayor es el efecto tóxico. En las células humanas los compuestos mostraron efectos crecientes de la siguiente manera: 2-tDCB < 2-tDeCB ~ 2-dDCB < 2-DCB; la 2-tDeCB, que tiene un enlace insaturado, exhibió una toxicidad aumentada (1.5 veces) en comparación con su contraparte saturada (2-tDCB). No fue detectado potencial mutagénico para ninguna de las 2-ACBs mediante la prueba Ames; sin embargo, en las líneas celulares humanas los datos derivados de la prueba de Desenrollamiento Alcalino demuestran un potencial genotóxico de todos los compuestos investigados, debido a la inducción de lesiones

basales de ADN (daño oxidativo), aquí la intensidad del daño del ADN dependió de la longitud de la cadena, el grado de insaturación y la línea celular aplicada.

En cuanto a estudios de toxicidad *in vivo*, Raul et al. (2002) adicionaron en el agua de bebida de ratas Wistar, 2-tDCB o 2-tDeCB (0.005% m/v equivalente a una ingesta diaria de 1.6 mg/rata durante todo el procedimiento experimental), mientras que a un tercer grupo se suministró azoximetano (AOM), que es un carcinógeno. Después de un periodo inicial de dos semanas, todas las ratas fueron inyectadas con OMA (15 mg/kg p.c), una vez por semana durante dos semanas (semana 3 y 4). A los 3 y 6 meses después del último tratamiento con OMA, se sacrificaron 6 animales de cada grupo. A los 3 meses, no se observaron cambios significativos en el número total de lesiones preneoplásicas en el colon de los animales control y de aquellos tratados con 2-ACBs; mientras que a los 6 meses, se observaron diferencias en el número total y tamaño de los tumores entre los controles AOM y las ratas tratadas con 2-ACBs; el número total de tumores en el colon fue tres veces mayor en los animales tratados con 2-ACBs que en los control de OMA, y el tamaño de los tumores en el grupo control nunca excedió los 6 mm³, mientras que en los animales tratados con 2-tDCB o 2-tDeCB los tumores presentaron tamaños medianos (6-25 mm³) y grandes (> 25 mm³). Los datos reportados en este estudio sugieren que las 2-ACBs pueden no iniciar la carcinogénesis del colon per se, pero a largo plazo, pueden ser promotoras de la formación de tumores. Sin embargo, los resultados de este estudio fueron limitados por la falta de un control negativo comparable, es decir, sin tratamiento con AOM.

Yamakage et al. (2014) evaluaron la genotoxicidad de la 2-dDCB y la 2-Tdcb mediante la prueba de micronúcleos de médula ósea de ratón, en este estudio se administró a ratones durante dos días por vía oral una dosis de hasta 2000 mg/kg pc/día de 2-dDCB o 2-tDCB, no se observaron incrementos estadísticamente significativos en la frecuencia de los eritrocitos policromáticos micronucleados y se concluyó que la 2-dDCB y 2-tDCB no inducen aberraciones cromosómicas *in vivo*. Estos autores también investigaron la formación de aductos de ADN derivados de la 2-dDCB y 2-tDCB en los tejidos de colon, mediante el uso de la técnica de post-marcaje con 32P, para ello utilizaron los ratones que recibieron 2000 mg/ kg pc/día de 2-dDCB o 2-tDCB en la prueba de micronúcleos, tejidos de colon de ratas que fueron alimentadas con 2-tDCB

al 0.025% en la dieta durante 25 semanas o 2-tDCB al 0.03% en la dieta durante 90 días. Los resultados no mostraron la formación de aductos.

Teniendo en cuenta lo anterior, hasta el momento se considera que la ingesta de 2-ACBs a través de alimentos irradiados es poco probable que afecte a la salud humana debido a la concentración tan baja de estos compuestos en los alimentos irradiados que contienen lípidos (Ehlermann, 2014). Estudios han demostrado que la formación de las 2-ACBs en los alimentos irradiados cuando se expresa como una función de la dosis de irradiación absorbida sigue una tasa de producción lineal de aproximadamente 1.0-1.6 nmol mmol⁻¹ de ácido graso precursor • KGy⁻¹, independientemente del ácido graso precursor y del tipo de alimento irradiado (Hartwig et al., 2007). En el caso de la nuez moscada, cuyos principales ácidos grasos son el ácido mirístico y palmítico, se realizó un estudio en el cual fueron detectadas la 2-DCB y 2-dDCB en nuez moscada molida irradiada a 5 kGy y 10 kGy; a 5 kGy se reportó un contenido de 2-DCB y 2-dDCB de 1.52 ± 0.18 µg/g de muestra y 0.21 ± 0.02 µg/g de muestra, respectivamente, mientras que a 10 kGy el contenido de 2-DCB fue de 2.52 ± 0.25 µg/g de muestra y el de 2-dDCB de 0.41 ± 0.04 µg/g de muestra (Chen et al., 2012).

5.1.3.5 Materiales de envase

Dado que la mayoría de los productos alimenticios se irradian ya envasados, con la finalidad de prevenir la recontaminación y mantener la calidad del alimento, es importante desde el punto de vista de seguridad alimentaria considerar la influencia de la irradiación sobre los materiales del envase (AESAN, 2010).

La mayoría de los materiales de envase de alimentos están compuestos de polímeros que pueden ser susceptibles a cambios químicos inducidos por la radiación ionizante, y que son el resultado de dos posibles reacciones competitivas, entrecruzamiento (polimerización) y escisión de cadena (degradación). El entrecruzamiento de los polímeros inducido por la radiación, domina bajo condiciones de vacío o en una atmósfera inerte; mientras que la escisión de cadena domina durante la irradiación de polímeros en presencia de oxígeno o aire, y como consecuencia, al romperse las cadenas poliméricas se originan productos de degradación o sustancias de peso molecular más bajo. Por otro lado, a los polímeros se añaden aditivos destinados a

modificar ciertas características y/o conseguir determinados efectos técnicos, por ejemplo, cargas iónicas, colorantes, antioxidantes, estabilizantes, etc., a su vez los polímeros también presentan otras sustancias de bajo peso molecular, tales como residuos de las reacciones de polimerización, productos de descomposición o productos intermedios de reacción que se han originado durante el proceso de síntesis o la manufactura del material plástico; todos estos compuestos pueden sufrir reacciones químicas inducidas por la radiación ionizante que alteren su naturaleza y den lugar a la formación de nuevos compuestos (AESAN,2010).

Los productos radiolíticos que se forman como consecuencia del proceso de irradiación pueden migrar desde el envase al alimento. Esta migración está influenciada por varios factores, incluyendo la composición y estructura química del polímero, la dosis de radiación absorbida, las condiciones de irradiación (atmósfera y temperatura), el tiempo durante el cual el alimento está en contacto con el material del envase, etc. (Barrett et al., 2005; Hui, 2005).

En general, las dosis bajas causan únicamente modificaciones insignificantes de las propiedades físicas de los plásticos. Con dosis de hasta 10 kGy casi todos los materiales comúnmente utilizados para el envasado de alimentos son apropiados porque los efectos de la radiación son menores en este rango; sin embargo, algunos materiales son más susceptibles a la radiación ionizante y no se recomiendan para la irradiación de alimentos preenvasados. Los polímeros más estables incluyen los derivados de vinilo PS y de poliéster PET, con las poliamidas (Nylons) que tienen estabilidad intermedia y las poliolefinas (HDPE, LDPE, PP) como los polímeros menos estables (Deshpande, 2002; Barrett et al., 2005; Hui, 2005).

Bajo condiciones de vacío, los principales productos volátiles de radiólisis producidos son hidrógeno, metano y cloruro de hidrógeno en los polímeros que contienen moléculas de cloro; mientras que en la presencia de O₂, los productos gaseosos también contendrán CO₂, CO así como H₂, CH₄ y otros hidrocarburos (olefinas). La formación de especies reactivas de oxígeno como radicales libres puede resultar en la oxidación del polímero, resultando en la formación de peróxido, alcohol y compuestos carbonilo (aldehídos, ácidos carboxílicos, cetonas, etc.).

Cuando muestras de PS han sido expuestas a dosis de radiación de 25 o 50 kGy, se han reportado productos de radiólisis tales como benzaldehído, acetofenona (30-50 ppm), 1-fenil etanol (<10 ppm) y fenol; y para muestras de Nylon se ha reportado pentanamida (aprox. 75 ppm) y caprolactama. La exposición del PP al calor, luz o radiación ionizante es conocida por resultar en la generación de radicales alquilo (PP·), los cuales pueden interactuar posteriormente con oxígeno molecular para formar radicales peroxilo (PP-OO·) y finalmente, productos que contienen grupos hidroxilo, carbonilo o carboxilo. Estos compuestos volátiles pueden dar lugar a cambios adversos de sabor a los alimentos irradiados envasados en estos polímeros (Hui, 2005).

Si bien, la irradiación de distintos materiales a dosis de 10 kGy no ha mostrado que provoque cambios sustanciales, el hecho es que en la actualidad se sabe poco sobre la toxicidad de los productos de radiólisis de los materiales de envase; lo anterior se debe a que en los últimos años han surgido nuevos materiales multicapa cuya seguridad es más difícil de evaluar, ya que hay muchos más componentes procedentes de los adhesivos, tintas y del propio sustrato (material de cada capa) susceptibles de degradación, sin embargo, su potencial toxicidad está siendo valorada y la migración de sus productos radiolíticos trata de restringirse para garantizar la seguridad de los alimentos (Hui, 2005; y AESAN, 2010).

5.1.4 Legislación y uso de radiación en la esterilización de especias, hierbas aromáticas y condimentos

En México, el 7 de marzo de 1995, se publicó la *Norma Oficial Mexicana NOM-033-SSA1-1993, Bienes y servicios. Irradiación de alimentos. Dosis permitidas en alimentos, materias primas y aditivos alimentarios*; dicha norma establecía las dosis permitidas con propósitos definidos para la irradiación de alimentos, materias primas y aditivos alimentarios, además de que regulaba lo relativo a etiquetado y envase de alimentos irradiados. La cancelación de ésta norma se publicó en el Diario Oficial de la Federación el 6 de septiembre de 2005; sin embargo, el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (1999) establece diversas disposiciones que regulan la irradiación de productos alimenticios en el país.

En dicho reglamento se decreta la posibilidad de utilizar radiaciones ionizantes en productos, materias primas y aditivos cuando respondan a una necesidad tecnológica o cuando contribuya a alcanzar uno objetivo de higiene alimentaria como lo es la descontaminación, esterilización, prolongación de la vida útil, etc. La radiación ionizante aplicable deberá provenir de rayos gamma cuya fuente sea Cobalto 60 o Cesio 137, haces de electrones generados por un acelerador de electrones a niveles de energía que no excedan 10 Mev, y rayos X generados por máquinas que trabajen a energías de 5 Mev o inferiores.

En los artículos 215 a 224 se especifica que el proceso sólo podrá llevarse a cabo en instalaciones que cumplan con los requisitos establecidos; los niveles de radiación utilizados en el tratamiento de los productos alimenticios no deberán producir sustancias nocivas a la salud en los envases primarios, que ocasionen la contaminación del producto; además de que éstos no deben ser sometidos a una irradiación repetida, y deberán ostentar la leyenda "Producto irradiado" y el símbolo internacional de irradiación en su etiqueta (Fig.6).

En el marco internacional, de acuerdo con el Código de Prácticas de Higiene para Especies y Hierbas Aromáticas Desecadas del Codex Alimentarius (1995), la radiación se acepta como un método para controlar la contaminación microbiológica en hierbas y especias, y el proceso debe cumplir con las especificaciones establecidas en la *Norma General del Codex Alimentarius para los Alimentos Irradiados* (CODEX STAN 106-1983, Rev. 1-2003). De acuerdo con esta norma, los tipos de radiación que pueden utilizarse para la irradiación de alimentos son: los rayos gama procedentes de los radionucleidos ^{60}Co o ^{137}Cs , rayos X generados por máquinas que funcionen con una energía igual o inferior a 5 MeV, y electrones generados por máquinas con una energía igual o inferior a 10 MeV. En cuanto a la dosis máxima total absorbida transmitida a un alimento, se establece que no se debe exceder de 10 kGy, excepto cuando ello sea necesario para lograr una finalidad tecnológica legítima.

De acuerdo con el Codex Alimentarius, la re-irradiación de los alimentos está prohibida, excepto para los alimentos de bajo contenido de humedad (cereales, legumbres, alimentos deshidratados y productos análogos), los cuales pueden ser re-irradiados

únicamente con el propósito de controlar reinfestación por insectos; sin embargo, los alimentos no se consideran sometidos a una irradiación repetida cuando éstos contienen ingredientes que ya han sido irradiados a dosis de bajo nivel con fines distintos de la inocuidad de los alimentos (ej. evitar la brotación en ajo). Tampoco se considera re-irradiación el tratamiento de un alimento que contenga un ingrediente irradiado en menos del 5% o cuando la dosis total de radiación ionizante requerida para conseguir el efecto deseado se aplica a los alimentos en más de una dosis como parte de un proceso destinado a lograr una finalidad tecnológica específica.

La *Norma General del Codex para el Etiquetado de los Alimentos Preenvasados* (CODEX STAN 1-1985, Rev. 1-1991) requiere que la etiqueta de un alimento que haya sido tratado con radiación ionizante lleve una declaración escrita indicativa del tratamiento cerca del nombre del alimento, mientras que, el uso del símbolo internacional (“Radura”) indicativo de que el alimento ha sido irradiado (Fig. 6) es facultativo, pero cuando se utilice debe estar situado cerca del nombre del producto. Por otro lado, cuando un producto irradiado se utiliza como ingrediente en otro alimento, debe declararse esta circunstancia en la lista de ingredientes.



Fig. 6. Símbolo internacional de irradiación de alimentos “Radura”

En la Unión Europea, la irradiación de alimentos está regulada por medio de dos directivas. La Directiva 1999/2/CE regula los aspectos técnicos y generales para llevar a cabo el proceso, etiquetado de los alimentos irradiados y las condiciones para autorizar la irradiación de alimentos; y la Directiva 1999/3/CE establece una lista positiva comunitaria de alimentos e ingredientes alimentarios autorizados para el tratamiento con radiación ionizante. Hasta el momento, esta lista contiene una única categoría de alimentos: hierbas aromáticas secas, especias y condimentos vegetales, y la dosis máxima absorbida autorizada es de 10 kGy. Las fuentes de radiación ionizante permitidas son las mismas que las permitidas por la norma general del Codex.

En el caso de Estados Unidos las fuentes de radiación utilizadas en los alimentos se incluyen en la definición de aditivos alimentarios; por lo tanto, el uso de radiación ionizante está sujeta a revisión y aprobación por la FDA antes de su utilización. La legislación establece que un alimento está adulterado si ha sido irradiado, a menos que la irradiación se lleve a cabo de conformidad con la normatividad que establezca condiciones seguras de uso (21 CFR 179).

La FDA tiene las mismas regulaciones que la UE y la Norma del Codex en cuanto a fuentes gamma y haces de electrones; sin embargo, permite una energía máxima de 7.5 MeV para fuentes de rayos X. Además, permiten la irradiación hasta una dosis máxima absorbida de 30 kGy de las siguientes sustancias vegetales aromáticas secas o deshidratadas cuando se utilizan como ingredientes en pequeñas cantidades únicamente para condimentar o aromatizar: hierbas culinarias, semillas, especias, condimentos vegetales que se usan para impartir sabor pero que no se presentan, ni parecen ser, un vegetal que se come por sí mismo, y mezclas de estas sustancias vegetales.

Las regulaciones de la FDA también especifican los tipos de materiales de envase permitidos para el tratamiento de irradiación de alimentos.

En cuanto a las 2-alquilciclobutanonas, no se ha establecido un límite de estos compuestos en los productos irradiados, debido a que las cantidades en las que se encuentran en alimentos irradiados no se consideran de riesgo para la salud pública (Codex Alimentarius, 2002).

En México existen cuatro plantas que irradian alimentos y brindan servicio a diversas empresas. Estas plantas se encuentran en San Luis Potosí (planta BENEION), Hidalgo (planta Sterigenics), Estado de México (Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares), y en la Ciudad de México está el Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM, dedicado tanto a la investigación como a la irradiación de material industrial (DGDCUNAM, 2013).

Las especias y los condimentos vegetales deshidratados, constituyen el mayor volumen de alimentos irradiados (ACSH, 2007). La cantidad estimada de alimentos irradiados en el mundo en 2005 fue de 405 000 toneladas, de las cuales las especias y vegetales

deshidratados comprendieron 186 000 toneladas (46%), lo que representó casi la mitad de los alimentos irradiados, seguido por la inhibición de brotes de ajo y papa (88 000 toneladas, 22%), y la desinfestación de granos y frutas (82 000 toneladas, 20%). En este año los principales países en utilizar la irradiación para la desinfección de especias y vegetales deshidratados fueron Estados Unidos (80 000 toneladas), China (52 000 toneladas), Brasil (20 000 toneladas) y Sudáfrica (16 000 toneladas) (Kume et al., 2009).

En los Estados Unidos la cantidad de alimentos irradiados en 2010 se estimó en 103 000 toneladas, de las cuales el 77.7% (80 000 toneladas) fueron especias y hierbas deshidratadas (Kume y Todoriki, 2013; Gurtler et al, 2014).

De acuerdo con la FDA (2013), la irradiación ha permitido en varias ocasiones reacondicionar lotes de especias que por su carga microbiana han sido rechazados para ingresar en US. Entre enero de 2007 y diciembre de 2012, el CFSAN (Center for Food Safety and Applied Nutrition) aceptó 50 de 155 propuestas de reacondicionamiento para especias procedentes de diferentes partes del mundo. Treinta y ocho de las propuestas aceptadas (76%) estaban relacionadas con la contaminación con *Salmonella*; de esas 38 propuestas 5 fueron especias procedentes de México, y el tipo de reacondicionamiento aplicado en los 5 casos fue irradiación γ . Estas especias fueron pimienta negra en 2008, semillas de sésamos en 2009, chile en polvo en 2011 y 2012, y hojuelas de chiles en 2012 (FDA, 2013).

5.2 ÓXIDO DE ETILENO

5.2.1 Fundamentos

El óxido de etileno es un gas incoloro, tiene un punto de ebullición de 10.7 °C a 760 mmHg. Es un compuesto soluble en agua, alcohol, acetona, benceno, éter, tetracloruro de carbono, hidroc fluorocarburos y en la mayoría de los solventes orgánicos (Agalloco y Carleton, 2007).

La molécula de óxido de etileno (C₂H₄O) consiste en dos átomos de carbono y un átomo de oxígeno que forman un anillo de tres miembros (Fig.7); es un epóxido. Este compuesto es un fuerte agente alquilante, lo cual le da su acción antimicrobiana (Jay, Loessner y Golden, 2006).

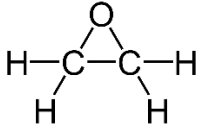


Fig.7. Estructura química del óxido de etileno

En las reacciones de alquilación se introduce un grupo alquilo en una molécula orgánica, en el caso del óxido de etileno este grupo alquilo es [HO-CH₂-CH₂-] (Fraise, Maillard y Sattar, 2012). Comúnmente estas reacciones ocurren con grupos amino, carboxilo, sulfhidrilo e hidroxilo, como se muestra a continuación:



Al bloquear estos grupos reactivos presentes en proteínas, ADN y ARN, se evita el metabolismo celular normal y la replicación de los microorganismos. Estas alteraciones son las causantes del efecto letal del óxido de etileno; sin embargo se plantea que las reacciones del óxido de etileno con el ADN son las reacciones críticas en la inactivación de los microorganismos (Jay, Loessner y Golden, 2006; Agalloco y Carleton, 2007).

En las bases nitrogenadas del ADN el principal sitio de alquilación es la posición N-7 de la guanina, aunque la adenina y la citosina también pueden ser alquiladas en menor medida. Después de la alquilación, los nucleótidos se hidrolizan, desestabilizando la cadena de ADN y rompiendo la macromolécula (Agalloco y Carleton, 2007; Hugo, 2012).

En el proceso de esterilización, debido al riesgo explosivo del óxido de etileno, éste suele aplicarse como una mezcla con CO₂ o N₂; utilizándose comúnmente el CO₂ en la práctica comercial, usualmente 80-90%; sin embargo, también puede utilizarse óxido de etileno al 100%. En ambos casos el proceso es fundamentalmente el mismo, la diferencia principal radica en que el proceso con óxido de etileno al 100% se lleva a cabo a presión negativa, mientras que en las mezclas con gases inertes se utiliza presión positiva (Sherman, 1998; Sullivan y Krieger, 2001; Ravindran, Nirmal y Sivaraman, 2007).

Típicamente la esterilización con óxido de etileno consiste en tres etapas básicas: pre acondicionamiento, esterilización y aireación.

El **pre acondicionamiento** usualmente se lleva a cabo en un cuarto especialmente diseñado para mantener el producto ya envasado a una temperatura y humedad definidas antes de entrar a la cámara de esterilización. Esto asegura que el proceso de esterilización sea reproducible a pesar de las influencias externas. Posteriormente los productos son colocados en la cámara de esterilización (Fig.8) (STERIS, 2016).

En la etapa de **esterilización** primeramente se aplica un vacío inicial en la cámara para remover el aire, y así reducir el potencial de ignición del óxido de etileno al inyectarlo. Después de que el vacío se ha completado, se inyecta vapor en la cámara para reemplazar la humedad perdida durante la fase inicial de vacío. Posteriormente se introduce óxido de etileno en la cámara a una concentración predeterminada, y el producto permanece en contacto con éste bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad durante un periodo definido de tiempo (US EPA, 2004; STERIS, 2016).

El rango de concentración de óxido de etileno utilizado en tratamientos para microorganismos en productos alimenticios secos es 400- 1000 mg/mL (ICMSF, 2006).

Al terminar el tiempo de mantenimiento, el óxido de etileno se evacua de la cámara mediante la aplicación de una serie de vacíos, cada uno seguido de un lavado con N₂ (Sullivan y Krieger, 2001; STERIS, 2016).

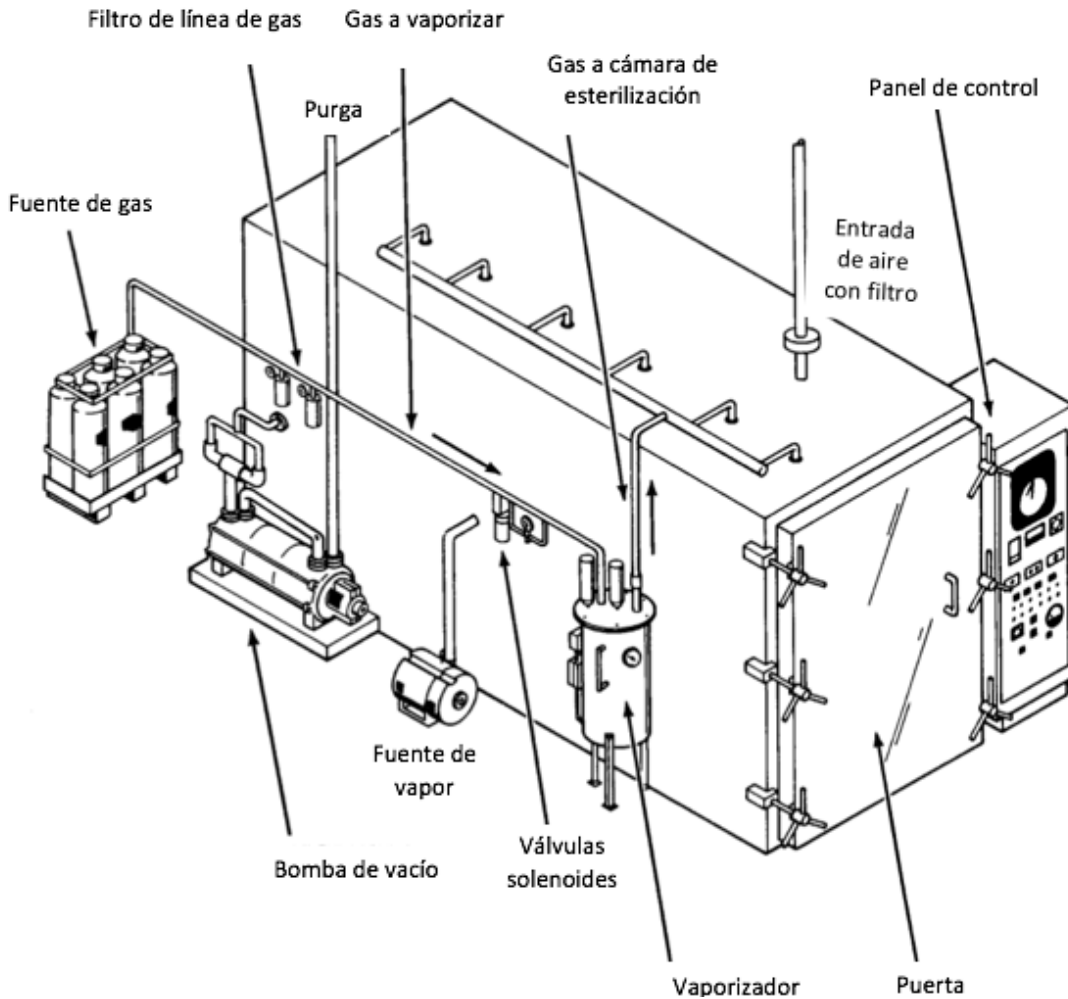


Fig.8. Cámara de esterilización de óxido de etileno (US EPA, 2004).

Finalmente, en la etapa de **aireación** los productos se colocan en un cuarto donde permanecen varios días con aire recirculado para que se libere de forma segura el óxido de etileno residual presente en ellos (Sullivan y Krieger, 2001; US EPA, 2004).

El proceso toma generalmente 12-18 h, sin considerar el tiempo de aireación (Reineccius, 2016).

5.2.2 Eficiencia microbiológica

El uso de óxido de etileno es un tratamiento efectivo para reducir significativamente la carga microbiana presente en especias. Sin embargo, dicha eficiencia dependerá de las condiciones de tratamiento (concentración del gas, tiempo de exposición, temperatura, humedad relativa y presión en la cámara), el tipo de especia y de microflora presente, la permeabilidad del material de envase donde se encuentra el producto, y de la humedad de éste (ICMSF, 2006; FDA, 2013).

La humedad de la especia tratada debe ser tan elevada como sea posible, pero compatible para mantener la calidad del producto debido a que la desecación de varios microorganismos incrementa su resistencia al tratamiento con óxido de etileno (ICMSF, 2006; FDA, 2013).

De acuerdo con la FDA (2013), las reducciones decimales en la cuenta total en placa de mesófilos aerobios en especias, hierbas y vegetales deshidratados en polvo van de 1.3 log a más de 6 log; mientras que la ICMSF (2006) establece que dicha reducción puede ser de 1 a 4 log por gramo, y que las esporas bacterianas son solo marginalmente más resistentes que las células vegetativas.

La reducción en las cuentas de mohos son usualmente de 2 a 3 log por gramo (ICMSF, 2006).

En la Tabla 7 se presentan algunos ejemplos de reducciones decimales en especias, hierbas y vegetales deshidratados en polvo (FDA, 2013).

Tabla 7. Reducciones decimales en la cuenta total en placa de mesófilos aerobios en especias, hierbas y vegetales deshidratados en polvo tratados con óxido de etileno

Especia, hierba o vegetal	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Condiciones de gas	Aw o % Humedad	Reducción decimal
*Pimienta de Jamaica	12	57	10% OE+90% CO ₂ (p/p) / 4500 L	150 mL H ₂ O/4530.688 L	4.6
Canela	5	80	15 mL /11.4 L	NR	2.9
*Ajo	5	57	10% OE+90% CO ₂ (p/p) / 4500 L	150 mL H ₂ O/4530.688 L	3.5
*Orégano	16	57	10% OE+90% CO ₂ (p/p) / 4500 L	150 mL H ₂ O/4530.688 L	>3.5
*Pimentón	16	57	10% OE+90% CO ₂ (p/p) / 4500 L	150 mL H ₂ O/4530.688 L	>6
Pimentón	3	54	470 mg/L	23% HR	1.7
*Pimienta negra	16	57	10% OE+90% CO ₂ (p/p) / 4500 L	150 mL H ₂ O/4530.688 L	3.4
Pimienta negra	5	80	15 mL /11.4 L	NR	3
Pimienta negra	6	22	600 mg/L	0.25 Aw; 8.5%	2.1
Pimienta negra	6	22	600 mg/L	0.50 Aw; 11.0%	3.8
Pimienta negra	6	22	600 mg/L	0.75 Aw; 15.0%	3.8

* Dichos estudios describen las condiciones de gas y humedad con base en el volumen de la cámara de 4530.688 L
 OE= Óxido de etileno
 NR= No reportado

5.2.3 Implicaciones toxicológicas

5.2.3.1 Efectos toxicológicos generales del óxido de etileno

A pesar del gran efecto esterilizante del óxido de etileno, existen preocupaciones sobre la toxicidad de este compuesto y sus productos de reacción.

Se ha demostrado que el óxido de etileno tiene actividad genotóxica y mutagénica en numerosos ensayos tanto en células somáticas como en células germinales, y organismos procariontas y eucariotas (IARC, 2012).

La inhalación de óxido de etileno induce un aumento relacionado con la dosis en la frecuencia de aductos de hemoglobina en humanos y roedores expuestos, induce un aumento relacionado con la dosis en la frecuencia de aductos de ADN en roedores expuestos, actúa como un mutágeno y clastógeno a todos los niveles filogenéticos,

induce translocaciones heredables en las células germinales de los roedores expuestos e induce un aumento relacionado con la dosis en la frecuencia del intercambio de cromátidas hermanas, aberraciones cromosómicas y formación de micronúcleos en los linfocitos de los trabajadores expuestos (IARC, 2012).

Los estudios sobre la exposición humana al óxido de etileno se han centrado en personas empleadas en procesos de esterilización en hospitales o en fábricas, y en trabajadores que estuvieron involucrados en la producción de óxido de etileno (IARC, 2012).

Se cree que la reacción directa del óxido de etileno con el ADN inicia la cascada de eventos genéticos que conducen al cáncer (IARC, 2012).

En animales, hay pruebas suficientes sobre la carcinogenicidad del óxido de etileno. Los estudios de inhalación en ratones han demostrado una incidencia significativamente elevada de tumores pulmonares en hembras y machos, así como un aumento en tumores uterinos y mamarios en hembras; mientras que en ratas se ha demostrado que se producen tumores mesoteliales, subcutáneos y cerebrales, así como en la glándula harderiana y en el sistema linfático (Fowles, Mitchell y McGrath, 2001; IARC, 2008).

En humanos, las pruebas de carcinogenicidad del óxido de etileno son limitadas debido a que en muchos casos el óxido de etileno no fue el único agente al que los trabajadores estuvieron expuestos. Sin embargo, la evidencia indica que existe asociación entre la exposición al óxido de etileno y los cánceres linfáticos y hematopoyéticos, específicamente los tumores linfoides (linfomas no Hodgkin, mieloma múltiple y leucemia linfocítica crónica) (Sullivan y Krieger, 2001; IARC, 2008; IARC, 2012).

Con base en lo anterior, la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) clasificó al óxido de etileno en el Grupo 1 (carcinogénico para los seres humanos). Sin embargo, la evidencia de esta decisión se relaciona principalmente con la exposición por inhalación (IARC, 2008; Fraise, Maillard y Sattar, 2012).

Respecto a la exposición oral al óxido de etileno, se ha reportado que la DL₅₀ por administración oral forzada del compuesto en solución acuosa a ratas es 72- 330 mg/kg

(Lück y Jager, 2012; Lewis, 1989; Pohanish, 2014). Sobre los efectos que tiene la administración oral prolongada del óxido de etileno en animales de experimentación, existen pocos estudios.

Uno de estos estudios es el realizado por Dunkelberg (1982), en el cual se administró óxido de etileno (99.7% pureza) por gavaje a dos dosis (Grupo I: 30 mg/ kg p.c. y Grupo II: 7.5 mg/ kg p.c.) a grupos de 50 ratas hembras Sprague-Dawley con el estómago vacío. La administración se realizó dos veces por semana durante 107 semanas, usando aceite de ensalada como disolvente; mientras que los controles comprendían un grupo de 50 ratas hembras no tratadas y un segundo grupo de 50 ratas hembras tratadas solo con aceite vegetal.

La dosis total promedio de óxido de etileno para el grupo I y el grupo II fue 5112 y 1186 mg/kg p.c. respectivamente.

El tratamiento con óxido de etileno dio como resultado un aumento dependiente de la dosis en la incidencia de tumores en la región anterior al estómago (Tabla 8), principalmente carcinomas de células escamosas, y raramente en el estómago glandular. Tales tumores no se encontraron en los animales control no tratados o en los que se administró únicamente el vehículo.

Tabla 8. Incidencia de tumores y cambios del epitelio escamoso en la región anterior al estómago en ratas del estudio Dunkelberg (1982)

Tipo de tumor	Grupo I	Grupo II
Carcinomas de células escamosas	29/50	8/50
Fibrosarcoma	1/50	0/50
Carcinomas in situ	4/50	4/50
Papilomas, hiperplasia o hiperqueratosis	11/50	9/50

En el estómago glandular únicamente se presentó un fibrosarcoma en una de las ratas del grupo I, el cual se infiltró en el hígado y en el mesenterio. En 10 ratas del mismo grupo los tumores revelaron metástasis y crecieron de forma invasiva en órganos vecinos.

En este estudio no se observó aumento en la incidencia de tumores en sitios alejados del punto de administración en los animales tratados con óxido de etileno respecto a los controles.

5.2.3.2 Efectos toxicológicos de la ingesta de alimentos esterilizados con óxido de etileno

5.2.3.2.1 Residuos de óxido de etileno

A pesar de los efectos adversos para la salud que se ha demostrado son generados por la exposición directa al óxido de etileno, no existe evidencia de dichos efectos al consumir alimentos esterilizados con óxido de etileno.

Lo anterior se atribuye a que el óxido de etileno no permanece por periodos prolongados en los productos esterilizados debido a su bajo punto de ebullición. Usualmente, el residuo de óxido de etileno se reduce a menos de una décima después de una semana de almacenamiento (Hirasa y Takemasa, 1998).

Fowles, et al. (2001) llevaron a cabo un estudio en el que se monitoreó la tasa de pérdida de óxido de etileno durante el almacenamiento de pimienta negra molida después de su tratamiento con óxido de etileno (16 h a 50-55 °C con óxido de etileno al 10% en CO₂, aproximadamente a 3 atm). Los niveles de óxido de etileno, que eran de 90.2 ppm en las primeras dos horas después del tratamiento, ya no eran detectables (< 5 ppm) para el día catorce (Tabla 9).

En estudios animales, Bär y Griepentrog (1969) alimentaron durante dos años a un grupo de 50 ratas con una dieta estándar que había sido expuesta a óxido de etileno. Los lotes de alimento fueron tratados semanalmente con óxido de etileno a una concentración de 490-710 ppm (900-1300 mg/m³), y los niveles del compuesto en la dieta eran de 500-1400 ppm el primer día, disminuyendo a 53-400 ppm después del sexto día. En el estudio no se observó un aumento en la incidencia de tumores en relación con el grupo control, y tampoco hubo otros hallazgos patológicos relacionados con el tratamiento en los animales expuestos (European Commission, 2012).

Respecto al riesgo específico que representa para los humanos el consumo de especias y condimentos esterilizados con óxido de etileno, Fowles et al. (2001)

evaluaron el riesgo de cáncer con base en la exposición a concentraciones de óxido de etileno encontradas en estos productos. En el estudio se tomaron 200 muestras de venta al por menor en Nueva Zelanda entre marzo y junio de 1999. Las muestras incluían pimienta negra (80), canela/casia (22), chile (12), curry (15), pimentón (13), entre otras especias/mezclas (58).

De las 200 muestras, únicamente se detectó óxido de etileno en dos muestras de canela en niveles de 6 y 15 ppm. Sin embargo, 31 muestras tenían niveles detectables de etilenclorhidrina, lo que se consideró un indicador de que las muestras fueron esterilizadas con óxido de etileno.

Considerando los datos de importación de las aduanas neozelandesas (período octubre 1997 - septiembre 1998), se determinó que el consumo de especias en dicho país era de 0.364 kg/persona/año, alrededor de 1g/día. A modo de comparación, en US el consumo total de especias en el 97.5% de los adultos era de 2.8 kg/persona/año (7.7 g/día).

Una estimación conservadora de la ingesta de óxido de etileno en Nueva Zelanda, basada en el consumo promedio de cada especia y en el nivel de óxido de etileno presente en éstas, fue 0.21 $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$; mientras que la estimación de consumo en US fue de 1.6 $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{día}$ (asumiendo que la distribución del tipo de especias consumidas era similar a la de Nueva Zelanda).

En el estudio se determinó un factor de pendiente de cáncer de $0.55 (\text{mg}/\text{kg}/\text{día})^{-1}$ con base en los datos de Dunkelberg (1982). También se consideró el valor de pendiente de cáncer estimado por la Junta de Recursos de Aire de California (1987), $0.29 (\text{mg}/\text{kg}/\text{día})^{-1}$, con el fin de establecer un rango de riesgo de cáncer. Se estimó que el rango de riesgo de cáncer en Nueva Zelanda era de $8.0 \times 10^{-7} - 1.7 \times 10^{-6}$, mientras que en el peor de los casos de consumo de especias (basado en el consumo de US) era de $6.2 \times 10^{-6} - 1.3 \times 10^{-5}$.

A pesar de que el riesgo de cáncer estimado es prácticamente despreciable, para las personas promedio este riesgo sería aún menor debido a los supuestos utilizados para estimar la exposición al óxido de etileno. Se asumió que las especias no participan en un proceso de cocción, lo que reduciría sustancialmente la cantidad de óxido de etileno,

y que no hay pérdida de óxido de etileno durante el almacenamiento después de la compra.

Sin embargo, se ha propuesto que en los alimentos fumigados con óxido de etileno el riesgo toxicológico se deriva menos del óxido de etileno por sí mismo que de sus productos de reacción (Lück y Jager, 2012).

5.2.3.2.2 Productos de reacción del óxido de etileno

Los tres principales productos de reacción del óxido de etileno son la etilenclorhidrina, etilenbromohidrina y etilenglicol (US EPA, 2008).

5.2.3.2.2.1 Etilenclorhidrina y etilenbromohidrina

La etilenclorhidrina (2-cloroetanol) y la etilenbromohidrina (2-bromoetanol) resultan de la interacción del óxido de etileno con cloruros y bromuros naturalmente presentes en especias y hierbas (Fig.9).

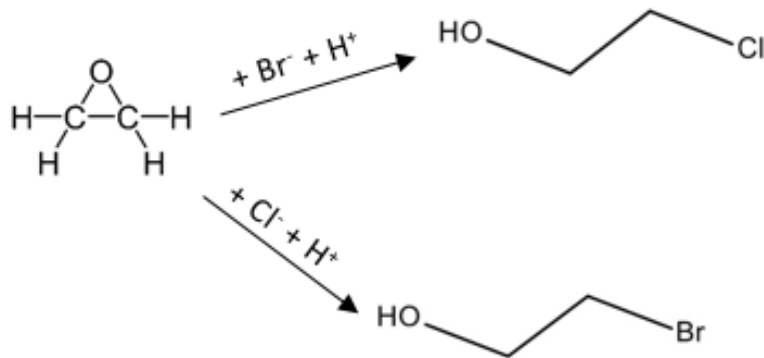


Fig.9. Reacciones del óxido de etileno con cloruros y bromuros

La preocupación acerca de estos compuestos es que, a diferencia del óxido de etileno, persisten en el producto durante periodos prolongados; aunque la cocción resulta en la pérdida de ambas halohidrinas. (Ravindran, Nirmal y Sivaraman, 2007; Fennema, 1996). La comparación de los niveles de óxido de etileno residual, etilenclorhidrina y etilenbromohidrina durante el almacenamiento de pimienta negra molida tratada con óxido de etileno se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Óxido de etileno residual, etilenclorhidrina y etilenbromohidrina en pimienta negra molida (Fowles, et al., 2001)

	Concentración al tiempo desde la fumigación (ppm)		
	1-2 horas	7 días	14 días
Óxido de etileno	90.2	6.3	No detectable
Etilenclorhidrina	702	446	456
Etilenbromohidrina	29.6	38.2	36.4

De acuerdo con el estudio de Fowles, et al. (2001), de las 200 muestras de especias analizadas 31 tenían niveles detectables de etilenclorhidrina (> 5 ppm), y solo 8 fueron positivas a etilenbromohidrina. De las muestras positivas a etilenclorhidrina 18 eran pimienta negra (6-840 ppm), 5 canela/casia (110-840 ppm), 2 pimentón (1070 ppm), 1 nuez moscada (240 ppm) y 5 mezclas de especias (12-190 ppm); mientras que de las muestras positivas a etilenbromohidrina 4 eran pimienta negra (5-55 ppm), 3 canela/casia (12-28ppm) y 1 nuez moscada (7 ppm). Con base en esta información y en el consumo individual de especias en Nueva Zelanda, se determinó que la ingesta de etilenclorhidrina y etilenbromohidrina era de 48 y 0.5 µg/persona/día respectivamente; mientras que con base en el consumo de US era de 370 y 3.9 µg/persona/día.

Lo anterior refleja que la exposición a la etilenclorhidrina y a la etilenbromohidrina es respectivamente, 200 y 2 veces mayor que al óxido de etileno. Sin embargo, la toxicidad de ambos compuestos no está bien caracterizada en términos de estudios crónicos, por lo que su contribución precisa a la estimación del riesgo de cáncer es incierta.

Se sabe que la etilenclorhidrina induce la síntesis no programada de ADN en fibroblastos humanos y causa aberraciones cromosómicas en células de médula ósea de rata (Fowles, Mitchell y McGrath, 2001). Respecto a su carcinogenicidad, existen algunos estudios que evidencian que la exposición a la etilenclorhidrina es cancerígena. Uno de estos estudios es el de Benson y Teta (1993), en el que se encontró un incremento significativo de cáncer pancreático, linfopoyético y hematopoyético en 278 trabajadores dedicados a la producción de etilclorhidrina y propilenclorhidrina durante un promedio de 5.9 años, y a quienes se les dio un seguimiento promedio de 36.5 años.

En animales, el único estudio sobre carcinogenicidad de la etilenclorhidrina por vía oral es el realizado por Johnson (1967), en cual a cuatro grupos de seis ratas se les suministró 0,4,8 o 16 mg etilenclorhidrina/kg en agua potable durante dos años. El estudio no demostró efectos generales adversos ni histológicos aparentes; sin embargo, se considera limitado para establecer un factor de pendiente de cáncer.

En el caso de la etilenbromohidrina, Fowles, et al. (2001) determinaron un factor de pendiente de cáncer de $0.03 \text{ (mg / kg / día)}^{-1}$ con base en el estudio de Van Duuren et al. (1985), en el cual se expusieron 29 ratones machos y 29 ratones hembras B6C3F1 a 75 mg etilenbromohidrina/ kg/día en agua potable durante 1.5 años. En el estudio se encontraron papilomas escamosos del estómago en 10 hembras y 9 machos, pero no se informó de incidencia significativa de tumores en algún otro sitio.

El factor de pendiente de cáncer de la etilenbromohidrina permitió estimar que el riesgo de cáncer debido a la presencia de este compuesto en las especias era $<1 \cdot 10^{-6}$ en Nueva Zelanda y $1 \cdot 10^{-6}$ en US, mientras que el riesgo combinado con el óxido de etileno era $8.0 \cdot 10^{-7} - 1.7 \cdot 10^{-6}$ y $7.2 \cdot 10^{-7} - 1.4 \cdot 10^{-5}$ en Nueva Zelanda y US respectivamente.

5.2.3.2.2 Etilenglicol

En el caso del etilenglicol, el compuesto se genera cuando el óxido de etileno reacciona con la humedad del producto (Fig.10). La reacción ocurre cuando se utilizan elevadas concentraciones de óxido de etileno en el proceso de esterilización y en el alimento hay un gran exceso molar de agua (US EPA,2008; Kent, 2010).

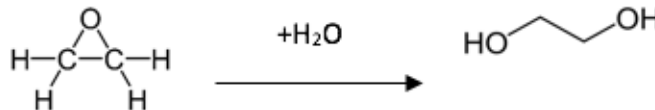


Fig.10. Reacción de formación de etilenglicol a partir de óxido de etileno

La DL₅₀ del etilenglicol por administración oral en ratas varía de 4000 a 10 020 mg/kg p.c., mientras que los valores reportados en cuyos y ratones son 6610 mg/kg p.c. y 5500-8350 mg/kg p.c., respectivamente (WHO,2002).

Los estudios realizados hasta ahora han determinado que el etilenglicol no es carcinogénico ni genotóxico. Sin embargo, es teratogénico, induce principalmente malformaciones esqueléticas (WHO,2002).

Una de las preocupaciones principales es que la ingesta de etilenglicol genera daño renal caracterizado por la deposición de oxalato de calcio y la degeneración de los túbulos (WHO,2002).

En el estudio de Melnick (1984), en el cual se administró a ratas Fischer 344 (hembras y machos) 165, 325, 640, 1300 y 2600 mg etilenglicol/ kg p.c./ día en la dieta durante 13 semanas; se observó crecimiento disminuido, incremento en el peso del riñón e histopatología renal (dilatación, necrosis, fibrosis y deposición de cristales de oxalato de calcio en túbulos renales) en machos a los que se administró 1300 mg / kg p.c./ día. En la dosis de 2600 mg / kg p.c./ día la mortalidad se incrementó en machos, y en hembras hubo un incremento en los cambios microscópicos en el riñón (infiltración de células inflamatorias, vacuolación incrementada y núcleos ampliados en túbulos renales) (WHO,2002).

Efectos similares se observaron en el estudio de Schladt et al., (1998), en el que se administró por gavaje 2000 mg etilenglicol/ kg p.c./ día a ratas Wistar durante 4 semanas. En ratas machos y hembras se presentó daño al riñón (decoloración, tubulopatía, hiperplasia y depósitos cristalinos de oxalato de calcio), cambios en parámetros urinarios e incremento en el peso de riñón (WHO,2002).

Aunque varios autores han reportado la presencia de etilenglicol en especias y hierbas esterilizadas con óxido de etileno (ej. Chaigneau y Muraz, 1993); hay pocos datos disponibles de las concentraciones típicas en las que se encuentra. Sin embargo, la EPA determinó que no era necesario establecer un límite para este residuo debido a que tanto su toxicidad aguda como el riesgo de consumo crónico en especias y hierbas es muy bajo (US EPA, 2006).

El tipo y la cantidad de residuos en el producto tratado dependerán del contenido de haluro y humedad en éste, la dosis de óxido de etileno utilizada, así como la temperatura y ventilación durante el almacenamiento subsecuente (Ravindran, Nirmal Babu y Sivaraman,2007).

5.2.4 Legislación y uso de óxido de etileno en la esterilización de especias, hierbas aromáticas y condimentos

Varios países han prohibido el uso de óxido de etileno en la esterilización de especias y otros alimentos debido a la preocupación que genera su toxicidad y la de sus productos de reacción. Algunos de estos países son: Belice, China, 25 países miembros de la Unión Europea (entre ellos Alemania, Austria, Bélgica, Dinamarca, Eslovenia, España, Finlandia, Francia, Grecia, Irlanda, Italia, Países Bajos, Portugal, Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte y Suecia), Australia y Japón (EC,1999; Rotterdam Convention, 2001; US EPA,2008; ESA,2015; NTP,2017).

Sin embargo, en U.S. se permite el uso de óxido de etileno para la esterilización de ciertos productos de acuerdo con lo establecido por la EPA en 40 CFR 180.151. El límite permisible de óxido de etileno residual y etilenclorhidrina en vegetales deshidratados, especias y hierbas (excepto albahaca) es 7 ppm y 940 ppm respectivamente (CFR,2012). Esta legislación no hace mención a los condimentos; pero su versión del 2002 (CFR, 2002) especificaba que el óxido de etileno también podía ser utilizado para el control de microorganismos en condimentos procesados naturales, excepto en mezclas a las que se les haya agregado sal.

La albahaca no puede ser tratada con óxido de etileno debido a que se generan altos niveles de etilenclorhidrina por la presencia natural de cloruros (Gurtler, Doyle y Kornacki, 2014).

Se estima que cada año en U.S. el 32% de todas las especias y hierbas aromáticas cultivadas e importadas al país son esterilizadas con óxido de etileno.

Aproximadamente se utilizan anualmente 800,000 libras de óxido de etileno en la esterilización de estos productos (US EPA,2008).

En U.S. hay aproximadamente 9 instalaciones de esterilización que tratan tanto material médico como especias y hierbas, y 6 instalaciones que únicamente tratan especias y hierbas (US EPA,2008).

En Canadá, el Food and Drugs Act permite el uso de óxido de etileno en especias enteras o molidas (excepto mezclas que contengan sal) siempre que los residuos de etilenclorhidrina no excedan 1500 ppm; mientras que bajo el Pest Control Products Act

el óxido de etileno puede ser utilizado para esterilizar alimentos similares, sobre todo especias enteras o molidas y otros condimentos procesados naturales que no contengan sal, con excepción de la albahaca. Actualmente se tiene la intención de que el óxido de etileno solo se encuentre regulado por el Pest Control Products Act, además de que se ha propuesto adoptar los LMR que figuran en el Título 40 CFR 180.151 para los residuos de óxido de etileno y etilenclorhidrina (Health Canada, 2017).

De acuerdo con el Código de Prácticas de Higiene para Especies y Hierbas Aromáticas Desecadas del Codex Alimentarius (1995), el uso de óxido de etileno se reconoce como un método apropiado para controlar la contaminación microbiológica en especias y hierbas aromáticas, siempre que se controle la concentración del compuesto, el tiempo de exposición, el vacío y/o la presión, la densidad del producto y la permeabilidad del gas en el material del envase, de manera que se asegure que el producto está expuesto al gas durante todo el periodo requerido. Sin embargo, hasta ahora el Codex Alimentarius no ha establecido un límite máximo de residuos para el óxido de etileno o la etilenclorhidrina en ningún producto (Health Canada, 2017).

En México, el artículo 156 del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (Cofepris, 1999) señala que las especias deberán someterse a un tratamiento que abata la flora microbiana hasta los límites que se establezcan en las normas correspondientes; sin embargo, no hay una legislación referente a los métodos que pueden ser utilizados para dicho fin. Debido a esto, los métodos utilizados en el país son los señalados por el Codex Alimentarius.

De acuerdo con la investigación realizada, en México solo existen cuatro empresas dedicadas a la esterilización de especias y hierbas aromáticas utilizando óxido de etileno (Tabla 10).

Tabla 10. Empresas en México que esterilizan especias y hierbas aromáticas con óxido de etileno

Empresa	Estado donde se ubica
Servicios de Esterilización, Procesos y Validación, S.A. de C.V.	Estado de México
Sterigenics International LLC	Estado de México
Procesadora Verduzco S.A. de C.V.	Puebla
Laboratorios CIDEST, S.A. de C.V.	Nuevo León

5.3 TRATAMIENTO CON VAPOR

5.3.1 Fundamentos

Aunque parece contraintuitivo utilizar vapor de agua para esterilizar ingredientes alimenticios deshidratados, los cuales pueden ser dañados por la humedad y las elevadas temperaturas; actualmente varias formas de tratamiento con vapor se usan comúnmente para esterilizar especias, hierbas y condimentos en polvo (Clark,2007; ASTA,2017).

En la esterilización de estos productos se puede utilizar vapor saturado, vapor seco saturado o vapor sobrecalentado (ASTA,2017).

El vapor saturado es aquel que existe en el punto de ebullición del agua correspondiente a una presión específica, y este vapor se encuentra a la misma temperatura que el agua que lo generó. A menudo el vapor acarrea pequeñas gotas de agua con él, pero si éste no contiene agua en suspensión se le llama “vapor seco saturado”. Si el vapor seco saturado se calienta adicionalmente, su temperatura aumenta por arriba del punto de ebullición, y éste se comporta como cualquier otro gas caliente, calentando el material con el que entra en contacto, y se denomina “vapor sobrecalentado” (McCauley, 1995; Clark,2007; Sehrawat, Nema y Pal Kaur, 2016).

La esterilización con vapor sobrecalentado se asemeja a la esterilización con calor seco, en donde la inactivación de los microorganismos es resultado de procesos de oxidación (Reichert y Young, 1997; Aulton y Taylor, 2017). El uso de vapor sobrecalentado evita que los productos se humedezcan demasiado, debido a que, a diferencia del vapor saturado y el vapor seco saturado, el vapor sobrecalentado no condensa fácilmente en las superficies que estén a menor temperatura, sino hasta que se alcance la temperatura de saturación. Sin embargo, la velocidad a la que fluye la energía del vapor sobrecalentado es menor a la que se puede alcanzar con vapor saturado debido a que la conductancia térmica es menor en gases que en líquidos (McCauley, 1995; Reichert y Young, 1997; Merritt, 2015).

La rápida transferencia de calor al producto a ser esterilizado por condensación del vapor es necesaria para la rápida destrucción de los microorganismos mediante la desnaturalización de proteínas esenciales para su supervivencia; ésta es una de las

mayores razones por la que el vapor saturado y seco saturado se prefiere sobre otros métodos de esterilización (Tortora, Funke y Case, 2007; Madigan et al.,2009; Dion y Parker, 2013).

Debido al incremento en la humedad, es necesario implementar medidas para evitar el desarrollo de mohos y otros microorganismos durante el almacenamiento subsecuente (Underriner, 1994).

En el tratamiento con vapor, la temperatura, la presión y el tiempo de permanencia del producto dentro de la cámara de esterilización son parámetros altamente controlados. Se utilizan únicamente los valores mínimos para alcanzar la tasa de inactivación microbiana deseada, sin que se vean afectadas de manera importante las características sensoriales de los productos tratados.

Actualmente existen varios diseños de sistemas de vapor, entre los que se incluyen el procesamiento por lotes y continuo, los cuales apuntan a reducir la condensación en los productos (Fig.11). Los ciclos típicos de esterilización con vapor consisten en tres fases: (Dion y Parker, 2013; FDA,2013).

1. Pre acondicionamiento. En esta fase, la temperatura de los productos se incrementa utilizando calor seco. Esto evita la condensación excesiva de vapor debido a la diferencia de temperatura entre el producto y el vapor (Sehrawat, Nema y Pal Kaur, 2016; Van Alfen, 2014).
2. Exposición. El producto es transferido a una cámara en la que se induce vapor a elevada temperatura, durante un periodo de tiempo que garantice la inactivación deseada de microorganismos (Dion y Parker, 2013; Van Alfen, 2014).
3. Post acondicionamiento. Finalmente, la presión del sistema se reduce con el fin de evaporar la humedad excesiva. Con esto, el alimento regresa a sus condiciones iniciales, y se evita el desarrollo de mohos y otros microorganismos durante el almacenamiento posterior (Gurtler, Doyle y Kornacki, 2014; Van Alfen, 2014).

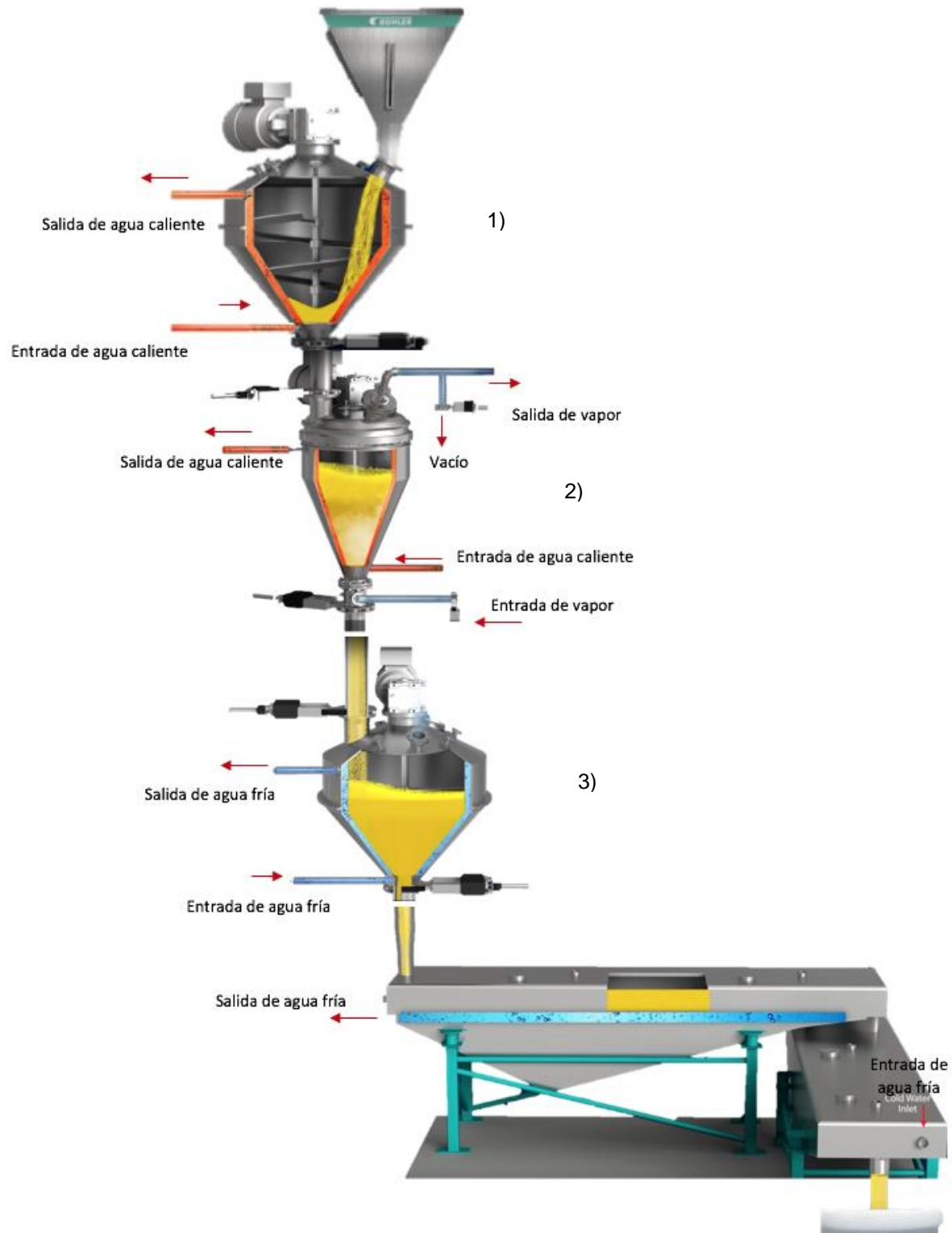


Fig.11. Proceso de condensación controlada para disminuir la carga microbiana en especias y hierbas aromáticas: 1) Pre acondicionamiento, 2) Exposición al vapor, seguido de aplicación de vacío, y 3) Enfriamiento (Buhler Group, 2016).

5.3.2 Eficiencia microbiológica

Los tratamientos con vapor pueden reducir significativamente las poblaciones microbianas en especias, hierbas y condimentos deshidratados; sin embargo, esta reducción depende del tipo de vapor, la temperatura y el tiempo de exposición utilizados (FDA,2013).

En la Tabla 11 se presentan reducciones decimales en las poblaciones microbianas de especias sometidas a distintos tratamientos con vapor (Waje et al., 2008; Rico et al., 2010; FDA,2013; Molnár et al.,2017).

Tabla 11. Reducciones decimales en poblaciones microbianas de especias tratadas con vapor

Especia	Tiempo (min)	Temp (°C)	Microorganismos	Tipo de vapor	Reducción decimal
Pimiento rojo	16	~100	Cuenta total de mesófilos aerobios en placa	Vapor saturado	1.3
Pimiento rojo	16	~100	Mohos y levaduras	Vapor saturado	2.7
Pimienta negra	16	~100	Cuenta total de mesófilos aerobios en placa	Vapor saturado	2.6
Pimienta negra	16	~100	Mohos y levaduras	Vapor saturado	2.3
Pimienta negra	16	~100	Coliformes totales	Vapor saturado	4.2
Pimentón	0.33-2	108-125	Cuenta total de mesófilos aerobios en placa	Vapor seco saturado	2.5

De manera general, el calor húmedo es mucho más eficiente en la eliminación de microorganismos que el calor seco. Spicher et al. (1999) determinaron que las esporas de *G. stearothermophilus* son 4.1 veces más resistentes (expresado como el tiempo necesario para destruir el 50% de la población inicial) al vapor sobrecalentado (temperatura de saturación 120 °C y 22 °C de sobrecalentamiento) que al vapor saturado (Head et al., 2008).

5.3.3 Implicaciones toxicológicas

De manera general se considera que el uso de vapor para esterilizar especias, hierbas aromáticas y condimentos tiene ventajas respecto al tratamiento con óxido de etileno y la irradiación, debido a la ausencia de residuos químicos derivados del proceso y a la mayor aceptación por parte de los consumidores.

Sin embargo, a pesar de que hay poca información al respecto, se ha propuesto que el proceso promueve el aumento de compuestos que tienen efectos adversos en la salud humana. De acuerdo con el estudio de Rozentale et al. (2017), el tratamiento con vapor podría estar asociado con un mayor contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

En el estudio se comparó el contenido de cuatro HAP (benzo[a]pireno, criseno, benzo[b]fluoranteno y benzo[a]antraceno, Fig.12) en muestras de albahaca tratadas con vapor, y en muestras no sometidas a este tratamiento. La concentración media de Σ HAP4 en las muestras no tratadas fue inferior a la de las muestras tratadas con vapor, 7.96 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 12.31 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. Del mismo modo, la concentración media de Σ HAP4 en muestras de tomillo tratadas fue significativamente mayor en comparación con las muestras no tratadas, 18.47 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 6.88 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. No obstante, en el estudio no se especifican las condiciones de proceso, y ninguna de las muestras superó el límite establecido por la UE para Σ HAP4 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

Los HAP son un gran grupo de contaminantes químicos, que generalmente se presentan en mezclas complejas y consisten en aproximadamente 10,000 compuestos. Los HAP están constituidos por dos o más anillos aromáticos fusionados; son compuestos lipofílicos con alto punto de fusión y ebullición (EFSA, 2008; Abdel-Shafy y Mansour, 2016; Rozentale et al., 2017).

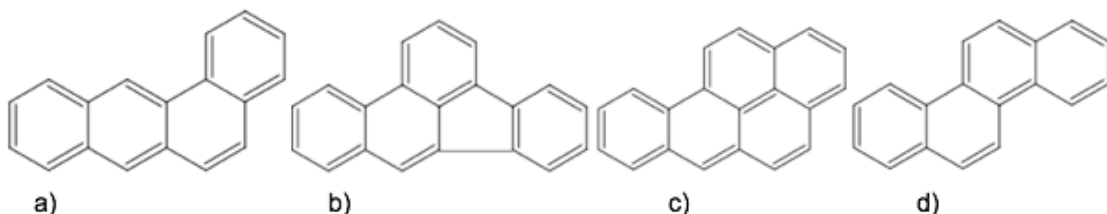


Fig. 12. Estructura de algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos: a) benzo[a]antraceno, b) benzo[b]fluoranteno, c) benzo[a]pireno, d) criseno

Los HAP se forman principalmente por combustión incompleta o pirólisis de materia orgánica durante diversos procesos naturales (incendios forestales y erupciones volcánicas) y antropogénicos (quema de madera, petróleo, gas y carbón; así como la producción de aluminio, hierro, acero, asfalto y alquitrán). La composición de las mezclas de HAP varía con el proceso de generación (EFSA, 2008; Rozentale et al., 2017)

El uso de aguas y suelos contaminados durante las etapas de producción de cultivos, la quema agrícola, así como la deposición de partículas de aire (exposición a emisiones de vehículos y asfalto) en los productos alimenticios durante las fases post-cosecha y de procesamiento son las principales vías para la formación de HAP y la contaminación de alimentos. A mayor contacto superficial con el aire, mayor deposición de contaminantes; por lo que las especias y hierbas a menudo están contaminadas con HAPs a niveles muy elevados (EFSA, 2008; IARC, 2010; Rozentale et al., 2017).

Sin embargo, también se pueden formar HAP en alimentos debido a técnicas de procesamiento como el ahumado, asado, freído, secado y cocción al vapor (Motarjemi et al., 2014).

Los HAP tienen una baja toxicidad oral aguda para los seres humanos; sin embargo, el riesgo de cáncer ha sido ampliamente aceptado como la principal preocupación de salud asociada a la contaminación de alimentos con HAP (Motarjemi et al., 2014).

Los HAP cuantificados en el estudio de Rozentale et al. (2017) muestran clara evidencia de mutagenicidad/ genotoxicidad, además de claros efectos carcinógenos en diversos tipos de bioensayos con animales de experimentación. En estudios humanos, la exposición laboral a HAP vía inhalación se ha relacionado con una mayor prevalencia de cáncer de pulmón, laringe y vejiga (EFSA, 2008; IARC, 2010).

De acuerdo con la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), el benzo [a] antraceno, benzo [b] fluoranteno, y criseno han sido clasificados como posiblemente carcinógenos para los seres humanos (2B), mientras que el benzo [a] pireno se ha clasificado como carcinógeno para los seres humanos (1) (Singh et al., 2015).

En el gran número de estudios donde se ha evaluado la carcinogenicidad de los HAPs por distintas vías, se ha observado que en la mayoría de éstos el sitio de desarrollo del tumor está relacionado con la vía de administración; aunque también se han observado tumores en sitios distintos al de aplicación (EFSA, 2008).

Se ha informado que el benzo [a] pireno, cuando se administra por vía oral, produce tumores del tracto gastrointestinal, hígado, pulmones y glándulas mamarias de ratones y ratas (EFSA, 2008).

En el estudio de Culp et al. (1998), en el cual grupos de 48 ratones hembra B6C3F1 fueron alimentados con dietas que contenían benzo [a] pireno a una concentración de 0, 5, 25 ó 100 mg / kg de dieta (equivalente a dosis de 0, 0.7, 3.6 o 14 mg / kg pc / día) durante 2 años, se observaron papilomas y carcinomas en el estómago, esófago y lengua. En otro estudio, la administración oral de benzo [a] pireno a dosis de 0, 3, 10 ó 30 mg / kg de peso corporal por día por gavaje a grupos de 104 ratas Wistar macho y hembra, 5 días a la semana durante 2 años resultó en una gran variedad de tumores, siendo los más prominentes los de hígado y estómago (Kroese et al., 2001). Se observaron papilomas y carcinomas en el estómago anterior; así como adenomas y carcinomas en el hígado de ratas hembra y macho. Además de estos tumores, el tratamiento también indujo sarcomas de tejidos blandos (piel, mamario) y tumores del conducto auditivo, la cavidad oral, el intestino delgado y el riñón (EFSA, 2008).

Además de la carcinogenicidad, datos de estudios animales muestran que ciertos HAPs tienen efectos reproductivos, del desarrollo, inmunotóxicos, cardiovasculares y neurológicos (Motarjemi et al., 2014).

Sin embargo, se ha establecido que el contenido de HAP en especias no influye de manera relevante en la ingesta dietética general, a pesar de que pueden tener altos niveles de HAP, debido a su consumo en pequeñas cantidades (EFSA, 2008).

5.3.4 Legislación y uso de vapor en la esterilización de especias, hierbas aromáticas y condimentos

De acuerdo con el Código de Prácticas de Higiene para Especias y Hierbas Aromáticas Deshidratadas del Codex Alimentarius (1995), el uso de vapor se reconoce como un tratamiento típico para reducir la carga microbiana de especias y hierbas deshidratadas, siempre que se controle el tiempo de exposición y la temperatura, de manera que se asegure que todo el producto alcance la temperatura deseada durante el tiempo requerido, y pudiendo ser necesaria una fase de secado para eliminar la humedad añadida. De igual modo, el tratamiento con vapor es recomendado por la ASTA (2017); siempre que las condiciones permitan alcanzar una reducción igual o mayor a 5 log de la forma más termoresistente de *Salmonella*.

Los miembros de la ESA (2015), respaldan el tratamiento con vapor como un proceso no tóxico para la reducción microbiana en especias y hierbas.

En México, al igual que con el óxido de etileno, no existe una legislación específica que apruebe el uso de vapor u otro proceso térmico para disminuir la carga microbiana en especias, hierbas o condimentos, por lo que el uso de vapor en estos productos se encuentra regulado por el Codex Alimentarius.

Aunque el Codex Alimentarius ha establecido una serie de medidas para evitar la contaminación de alimentos con HAP (Código de Prácticas para la Reducción de la Contaminación de los Alimentos con Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos debido a Procesos de Ahumado y Secado Directo), los únicos límites de HAP fijados para especias y hierbas aromáticos son los de la UE.

La UE ha establecido un límite máximo de 10 µg /kg de benzo [a] pireno y 50 µg / kg HAP4 (suma de benzo [a] pireno, benz [a] antraceno, benzo [b] fluoranteno y criseno) en hierbas y especias deshidratadas (a excepción del cardamomo y *Capsicum spp.* ahumados) (EC. 2015).

Respecto al uso de vapor en la esterilización de especias, hierbas aromáticas y condimentos, no hay información precisa acerca de las cantidades tratadas mediante este método; sin embargo, se sabe que el proceso es utilizado extensivamente en

Japón donde se prohíbe el uso de óxido de etileno y la irradiación para tratar estos productos (Tainter y Grenis, 2001; NIIR Board of Consultants & Engineers, 2006; Raghavan, 2006).

Por otro lado, el tratamiento con vapor es el método de elección para especias, hierbas aromáticas y condimentos orgánicos, los cuales deben ser producidos sin el uso de radiación ionizante ni sustancias sintéticas no autorizadas, como lo es el óxido de etileno (Raghavan, 2006; SENASICA, 2013; USDA, 2013).

Además, McCormick & Company, una de las mayores empresas dedicada a la comercialización de especias, hierbas aromáticas y condimentos, ha afirmado que no irradia ninguno de sus productos, a menos que sea específicamente solicitado por un cliente de la industria alimentaria, sino que los trata con vapor y mediante otros métodos (Ross, 2010).

6 OTROS FACTORES RELEVANTES RESPECTO AL USO DE LOS PRINCIPALES MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN

El óxido de etileno tiene una influencia mínima en los aromas y sabores de las especias; aunque de manera general se ha establecido que su apariencia no se altera significativamente, algunos reportes indican que el pimentón tratado con óxido de etileno puede tornarse un poco más oscuro. También se sabe que el OE reacciona con ciertas vitaminas, particularmente con el ácido ascórbico y la riboflavina, lo que conlleva a su pérdida (Hirasa y Takemasa, 1998; Gurtler, Doyle y Kornacki, 2014).

Respecto al tratamiento con vapor, las elevadas temperaturas pueden impactar negativamente el color de las hierbas y especias (adquieren un color pardo), así como el contenido de compuestos volátiles, lo que produce una disminución remarcable de su olor y sabor general. Además, la humedad añadida debe ser removida lo más pronto posible para evitar apelmazamientos, y el desarrollo de microorganismos después del tratamiento (Hirasa y Takemasa, 1998; Tainter y Grenis, 2001; Peter, 2006; FDA, 2013).

De acuerdo con la FDA (2013), la evaluación de los estudios científicos acerca del tema sugiere que de los tres principales tipos de tratamiento (irradiación, óxido de etileno y vapor), la radiación gama es el método más eficiente para la eliminación de patógenos ocasionando los menores cambios en los parámetros de calidad fisicoquímicos y sensoriales de las especias. Aunque se puede presentar la pérdida de algunas vitaminas (vitaminas A, B₁, E y K), éstas a menudo son menores y podrían ser compensadas por otras fuentes (OMS/FAO, 1988; Peter, 2006).

La irradiación también puede provocar ligeras modificaciones en las propiedades antioxidantes de las especias tratadas. Sin embargo, la mayor desventaja de la radiación gamma es la falta de aceptación pública. Los resultados de varias encuestas demuestran consistentemente que muchos consumidores tienen conceptos erróneos sobre la tecnología, pero que una vez que el proceso se les es explicado son mucho más propensos a aceptarlo (Urbain, 1986; Tainter y Grenis, 2001; Atungulu y Pan, 2012).

En cuanto a costos, de manera general, éstos disminuyen de la siguiente manera: vapor saturado/seco saturado > óxido de etileno > vapor sobrecalentado > irradiación (Hui, 2005).

En el caso de la esterilización con vapor, la necesidad de una etapa posterior para eliminar la humedad añadida hace que se incremente el costo, mientras que en el caso del óxido de etileno dicho incremento es resultado de la etapa de aireación. (Chmielewski y Migdal, 2005; Peter, 2006).

7 CONCLUSIONES

Con base en la investigación realizada acerca de las implicaciones toxicológicas que tienen distintos tratamientos de esterilización comercial (irradiación, óxido de etileno y tratamiento con vapor) de especias, hierbas aromáticas y condimentos, se determinó que el contenido de cloruros y bromuros en los productos, es un parámetro que debe resaltarse y darle la mayor atención a su control, puesto que un contenido elevado de éstos hace inadmisibles los tratamientos con óxido de etileno debido a la formación de etilenclorhidrina y etilendibromohidrina, compuestos que ocasionan cáncer. Los condimentos que contienen cloruro de sodio no deben ser esterilizados comercialmente con óxido de etileno.

A excepción del criterio ya mencionado, no hay evidencia de que alguno de los métodos de esterilización revisados represente un riesgo toxicológico elevado o mayor al de los otros métodos; siempre que los procesos se lleven a cabo de manera apropiada y la concentración de compuestos de importancia toxicológica se mantengan dentro de los límites permitidos por la normatividad vigente.

Si bien, estos procesos ocasionan cambios en la composición química de los productos tratados; hay que considerar que cualquier otro tipo de procesamiento al que un alimento es sometido también los causa, incluso tratamientos convencionales como la cocción.

El bajo consumo de especias, hierbas aromáticas y condimentos, en comparación con otros productos alimenticios, hace que los riesgos toxicológicos derivados de su tratamiento sean prácticamente despreciables, además de que las pérdidas

nutricionales que puedan llegar a darse no representan un problema debido a que éstas son compensadas por otras fuentes.

En cambio, el no someter a las especias, hierbas aromáticas y condimentos a un tratamiento de esterilización representa un riesgo a la salud de los consumidores debido a la presencia de microorganismos patógenos y/o sus esporas, pero también un riesgo económico elevado para la industria de alimentos; pues, incluso si se toman medidas durante las etapas básicas de producción (cultivo, cosecha, secado, molienda, envasado, etc.) para evitar la contaminación con microorganismos patógenos, la cuenta microbiana inherente a la materia vegetal, la cual no puede ser reducida sin la aplicación de un método de esterilización comercial, puede ocasionar el deterioro de los alimentos en los que estos productos son utilizados como ingredientes, haciéndolos inaceptables para su comercialización debido al rechazo por parte de los consumidores. Pues aún cuando los productos alimenticios a los que se agreguen las hierbas, especias o condimentos sean sometidos a un tratamiento térmico, la resistencia y concentración de esporas presentes puede hacer que se requieran condiciones de proceso más severas a las normalmente utilizadas para su eliminación, lo que puede dañar las características organolépticas del alimento y representar un mayor gasto energético. La calidad e inocuidad del producto final, dependen en gran medida de la calidad microbiológica de los ingredientes que se utilizan en su elaboración.

Lo anterior tiene consecuencias de largo alcance debido al comercio internacional de estos productos; y a que, al ser utilizados en pequeñas cantidades, un solo lote tiene la capacidad de contaminar una gran cantidad y variedad de alimentos.

Debido a lo que ya se mencionó, es indispensable someter a las especias, hierbas aromáticas y condimentos a un proceso de esterilización comercial con alguno de los tres métodos analizados, los cuales se consideran seguros, y cuya elección dependerá de factores como el impacto que tienen en las características sensoriales de los productos, la aceptación de los consumidores, la eficiencia en la reducción de la carga microbiana, entre otros.

8 REFERENCIAS

- Abdel- Shafy, H. y Mansour, M. 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. Egyptian Journal of Petroleum, 25, 107-123.
- AESAN. 2010. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre las directrices generales respecto a las condiciones que deben cumplir los materiales poliméricos de envasado de alimentos para ser sometidos a radiaciones ionizantes. Revista del comité científico nº 12, 115-123.
- Agalloco, J. y Carleton, F. 2007. Validation of Pharmaceutical Processes. 3a ed. Florida: CRC Press. p. 242.
- Al-Jasass, F. y Al-Jasser, M. 2012. Chemical composition and Fatty Acid Content of some Spices and Herbs under Saudi Arabia Conditions. Scientific World Journal.
- American Council on Science and Health. 2007. Irradiated foods. USA: ACSH. p.p. 15-17, 32, 71.
- Arora, D. 2003. Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications. Nueva York: CRC Press. p.p. 325-329.
- ASTA. 2017. Clean, Safe Spices. Guidance from the American Spice Trade Association. [En línea]. Disponible en: <http://www.astaspice.org/food-safety/clean-safe-spices-guidance-document/> [Último acceso el 21 de julio de 2017].
- ASTM International. 2010. Standard Guide for Irradiation of Dried Spices, Herbs, and Vegetable Seasonings to Control Pathogens and Other Microorganisms. [En línea]. Disponible en: <http://editorbar.com/upload/ReBooks/2013-4/196877d5a42229c26036410a5ab04ef5.pdf> [Último acceso el 13 de mayo de 2017].
- Atungulu, G. y Pan, Z. 2012. Microbial decontamination of nuts and spices. Woodhead Publishing, 125-162.
- Aulton, M. y Taylor, K. 2017. Aulton's Pharmaceutic E-Book: The Design and Manufacture of Medicines. 5ª ed. China: Elsevier Health Sciences. p.p. 271-272.

- TIPS & AusAID. 2007.SADC Trade. Trade Information Brief: Spices. [En línea]. Disponible en: <http://www.sadctrade.org/TIB/spices> [Último acceso el 19 de octubre de 2017].
- Bagchi, D. y Swaroop, A. 2017. Food Toxicology. USA: CRC Press. p.p. 421.
- Barna, J. 1986. Genotoxicity test of irradiated spice mixture by dominant lethal test. *Acta Alimentaria*, v. 15(1), p.p. 47-56.
- Bär F. y Griepentrog F. 1969. Long-term diet study in rats with feed fumigated with ethylene oxide (Ger.). *Bundesgesundheitsblatt*, 11, 106–112.
- Barrett, D., Somogyi, L. y Ramaswamy, H. 2005. Processing Fruits: Science and Technology. 2ª ed. USA: CRC Press. p.p. 247
- Beis, S., et.al. 2000. The production of essential oil from cumin seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(3), 265-268.
- Bello, J. 2000. Ciencia Bromatológica: Principios generales de los alimentos. Madrid: Díaz de Santos. p.p. 450-453
- Benson, L. y Teta, M. 1993. Mortality due to pancreatic and lymphopietic cancers in chlorohydrin production workers. *British Journal of Industrial Medicine*, 50, 710–716.
- Benítez, A. 2014. Preparación y venta de pescados. INAJ0109. Málaga: IC Editorial.
- Berk, Z. 2013. Food Process Engineering and Technology. 2ª ed. USA: Academic Press. p.p. 607-620.
- Bewley, J., Black, M. y Halmer, P. 2006. The Encyclopedia of Seeds: Science, Technology and Uses. Londres: CABI. p. 58.
- Block, S. 2001. Disinfection, Sterilization, and Preservation. 5a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p.p. 42-43.
- Bolander, C., Toma, R., Davis, R. y Medora, N. 1995. Irradiated versus fumigated spices in sausage. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 46 (4), 319-325.

- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, 94, 223-253.
- Calvo, M. y Mendoza, E. 2012. Toxicología de los alimentos. México: Mc Graw Hill. p.p 307-312.
- Cameán, A. y Repetto, M. 2006. Toxicología alimentaria. Madrid: Díaz de Santos. p.p. 609,623,624, 630.
- Campos, W. et al. 2017. Extended validation of a sensitive and robust method for simultaneous quantification of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in Brazil nuts by HPLC-FLD. Journal of Food Composition and Analysis, 60, 90-96.
- CARB (California Air Resources Board), 1987. Staff Report: Initial Statement of Reasons for Rulemaking in the Identification of Ethylene Oxide as a Toxic Air Contaminant. Sacramento, California, 25 September.
- Carvajal, E. y Haghi, A. 2014. Food Composition and Analysis: Methods and Strategies. FL: CRC Press. p.p. 236-242.
- Chaubey, R. et al. 1979. Cytogenetic studies with irradiated ground paprika as evaluated by the micronucleus test in mice. Acta Alimentaria Academiae Scientiarum Hungaricae, v. 8(2), p.p. 197-201.
- Chaubey, R., Aravindakshan, M. y Chauhan, P. 1999. Studies on Assessment of Health Effects of Radiation Processed Foods, Part 1: Genetic Toxicological Evaluation in Somatic and Germ Cells of Laboratory Animals. [En línea]. Disponible en: http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/31/034/31034491.pdf [Último acceso el 19 de julio de 2017].
- Chen, S. et al. 2012. Identification of 2-alkylcyclobutanones in nutmeg (*Myristica fragans*). Food Chemistry 134, 359-365.
- Chmielewski, A. y Migdal, W .2005. Radiation decontamination of herbs and spices. NUKLEONIKA, 50 (4), 179-184.
- Clark, P. 2007.Using superheated steam in drying and sterilization. Food Technology,61(4),91-93.

- Code of Federal Regulations. 2002. Title 40 Protection of Environment. [En línea]. Disponible en: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2002-title40-vol20/pdf/CFR-2002-title40-vol20.pdf> [Último acceso el 26 de octubre de 2017].
- Code of Federal Regulations. 2012. Title 40 Protection of Environment. [En línea]. Disponible en: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2013-title40-vol25/pdf/CFR-2013-title40-vol25-chapl-subchapE.pdf> [Último acceso el 7 de julio de 2017].
- Codex Alimentarius. Código de Prácticas de Higiene para Especies y Hierbas Aromáticas Desecadas (CAC-RCP 42-1995, Rev 2014). [En línea]. Disponible en: http://www.fao.org/input/download/standards/27/CXP_042e_2014.pdf [Último acceso el 20 de agosto de 2017].
- Codex Alimentarius. Código de Prácticas para el tratamiento de los Alimentos por Irradiación (CAC/RCP 19-1979). [En línea]. Disponible en: www.fao.org/input/download/standards/18/CXP_019s.pdf [Último acceso el 20 de agosto de 2017].
- Codex Alimentarius. Norma General del Codex para los Alimentos Irradiados (CODEX STAN 106-1983, Rev. 1-2003). [En línea]. Disponible en: www.fao.org/input/download/standards/16/CXS_106s.pdf [Último acceso el 20 de agosto de 2017].
- Codex Alimentarius. Norma General del Codex para el Etiquetado de los Alimentos Preenvasados (CODEX STAN 1-1985, Rev. 1-1991). [En línea]. Disponible en: www.fao.org/docrep/005/y2770s/y2770s02.htm. [Último acceso el 20 de agosto de 2017].
- Codex Alimentarius. Programa Conjunto sobre Normas Alimentarias de la FAO/OMS Comisión del Codex Alimentarius (17-22 Julio 2017). Informe de la 3ª Sesión del Comité del Codex sobre Especies y Hierbas Culinarias (6-10 Febrero 2017). [En línea]. Disponible en: <http://ccsch.in/pdf/reports/CCSCH3reportSpanish.pdf> [Último acceso el 19 de octubre de 2017].
- Codex Alimentarius. 2002. Draft Revised Codex General Standard for Irradiated Foods. [En línea]. Disponible en:

ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/CCFAC/CCFAC34/fa02_11e.pdf [Último acceso el 27 de octubre de 2017].

- Codex Alimentarius. 2009. Code of Practice for the Reduction of Contamination of Food with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) from Smoking and Direct Drying Processes. [En línea]. Disponible en: http://www.codexalimentarius.org/download/standards/11257/CXP_068e.pdf [Último acceso el 20 de agosto de 2017].

- Codex Alimentarius. 2017. Discussion Paper on the Establishment Maximum Levels for Mycotoxins Spices. [En línea]. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-11%252FWD%252Fcf11_11e.pdf [Último acceso el 27 de abril de 2017].

-Cofepris. 1999. Reglamento Sanitario de Productos y Servicios. [En línea] (Actualizado al 12 de febrero de 2016). Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/MJ/Documents/Reglamentos/prodyser060409.pdf> [Último acceso el 26 de octubre de 2017].

- Buhler Group. 2016. Controlled Condensation Process (CCP): Designed to sterilize/pasteurize the seed and powder spices like coriander, chilli and pepper. [En línea]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=gXJS2iTqs1g> [Último acceso el 16 de septiembre de 2017].

-Comisión de las Comunidades Europeas. 1989. Ciencias y técnicas de la alimentación humana: Informes del Comité Científico de Alimentación, Informe sobre alimentos irradiados. Informe EUR 10840 ES. Bélgica. p.p. 44.

-Crews, C. y Driffield, M. 2011. Literature review and practical investigation of the potential formation of 2-alkylcyclobutanones in non- irradiated food. [En línea]. Disponible en: https://www.food.gov.uk/sites/default/files/755-1-1291_FS231029_Final_report.pdf. [Último acceso el 18 de julio de 2017].

- Culp, S. et al. 1998. A comparison of the tumours induced by coal tar and benzo[a]pyrene in a 2-year bioassay. *Carcinogenesis*, 19, 117-124.
- Delincée, H. y Pool-Zobel, B. 1998. Genotoxic Properties of 2-Dodecylcyclobutanone, a compound Formed on Irradiation of Food Containing Fat. *Radiation Physics and Chemistry*. Vol. 52, 39-42.
- Demirci, A. y Ngadi, M. 2012. *Microbial decontamination in the food industry: Novel methods ad applications*. Cambridge: Woodhead Publishing. p.p. 331-332.
- Deshpande, S. 2002. *Handbook of Food Toxicology*. USA: CRC Press. p.p. 66-67, 307.
- Dion, M. y Parker, W. 2013. Steam Sterilization Principles. *Pharmaceutical Engineering*, 33 (6), 1-8.
- Dirección General de Divulgación de la Ciencia de la UNAM. 2013. Rayos gamma para alargar la vida de frutas y hortalizas. [En línea].
<http://www.swagger.mx/natural/rayos-gamma-para-alargar-la-vida-de-frutas-y-hortalizas>
Disponible en: Último acceso el 3 de agosto de 2017.
- Dirección General de Normas. 1982. NMX-F-001-1982. Alimentos. Especies y Condimentos. PIMENTON. Foods. Spices and Condiments. Paprika. Normas Mexicanas. [En línea]. Disponible en:
<http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-001-1982.PDF> [Último acceso el 19 de marzo de 2017].
- Dirección General de Normas. 1990. NMX-FF-072-1990. Alimentos. Especies y Condimentos. Terminología. Foods. Spices and Condiments. Terminology. Normas Mexicanas. [En línea]. Disponible en:
<http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-072-1990.PDF> [Último acceso el 19 de marzo de 2017].
- Doyle, M., Gurtler, J. y Kornacki, J. 2014. *The Microbiological Safety of Low Water Activity Foods ans Spices*. New York. p.p. 390.
- Dunkelberg, H. 1982. Carcinogenicity of ethylene oxide and 1,2-propylene oxide upon intragastric administration to rats. *Cancer*, 46, 924-933.

- EC.1999. Directive 1999/3/EC of the European Parliament and of the Council of 22 February 1999 on the establishment of a Community list of foods and food ingredients treated with ionizing radiation. [En línea]. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A31999L0003> [Último acceso el 26 de octubre de 2017].
- EC. 2010. Commission Regulation (EU) No 165/2010 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. [En línea]. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32010R0165> [Último acceso el 29 de abril de 2017].
- EC. 2015. Commission Regulation (EU) No. 2015/1933 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in cocoa fibre, banana chips, food supplements, dried herbs and dried spices. [En línea]. Disponible en: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg2015_1933.pdf [Último acceso el 01 de septiembre de 2017].
- EC. Employment, Social Affairs & Inclusion.2012. Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for ethylene oxide. [En línea]. Disponible en: <http://ec.europa.eu/social/main.jsp?advSearchKey=ethylene+oxide&mode=advancedSubmit&catId=22&policyArea=0&policyAreaSub=0&country=0&year=0> [Último acceso el 10 de junio de 2017].
- EC. 2015. Commission Regulation (EU) No 2015/1137 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards the maximum level of Ochratoxin A in *Capsicum* spp. spices. [En línea]. Disponible en: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg2015_1137.pdf [Último acceso el 29 de abril de 2017].
- EFSA. 2008. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. The EFSA Journal, 724, 1-114.
- Ehlermann, D. 2014. Safety of Food and Beverages: Safety of Irradiated Foods. En Encyclopedia of Food Safety, Volume 3 (p.p. 447-452).

- Erdogdu, S., Eliasson, L., Erdogdu, F., Isaksson, S. y Ahrné, L. 2015. Experimental determination of penetration depths of various spice commodities (black pepper seeds, paprika powder and oregano leaves) under infrared radiation. *Journal of Food Engineering*, 161, 75-81.
- ESA.2015. European Spice Association. Quality Minima Document. [En línea]. Disponible en: <https://www.esa-spices.org/download/esa-qmd-rev-5-september-2015-sc-update-as-per-esa-tc-27-10-15.pdf>. [Último acceso el 18 de octubre de 2017].
- ESA. 2016. ESA List of Culinary Herbs and Spices. [En línea]. Disponible en: <https://www.esa-spices.org/download/esa-list-of-culinary-herbs-and-spices.pdf>. [Último acceso el 18 de octubre de 2017].
- ESR. 2008. New Zealand Public Health Surveillance Report. March 2008: Covering October- December 2007. [En línea]. Disponible en: https://surv.esr.cri.nz/PDF_surveillance/NZPHSR/2008/NZPHSR2008March.pdf [Último acceso el 18 de octubre de 2017].
- European Food Safety Authority. 2011. Scientific Opinion on the Chemical Safety of Irradiation of Food. *EFSA Journal* 2011;9(4):1930.
- FAO. 2014. FAOSTAT. [En línea] (Actualizado al 13 de febrero de 2017). Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> [Último acceso el 14 de abril de 2017].
- Farkas, J. y Andrassy, E. 1981 (a). Prophage lambda induction (Inductest) of blood of rat fed irradiated spices. *Acta Alimentaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, v. 10(2), p.p. 137-142.
- Farkas, J. y Andrassy, E. 1981 (b). A study of posible mutagenicity of irradiated onion powder by salmonella/mammalian-microsome tests. *Acta Alimentaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, v. 10(3), p.p. 209-213.
- Farkas, J., Andrassy, E. e Incze, K. 1981. Evaluation of posible mutagenicity of irradiated spices. *Acta Alimentaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, v. 10(2); p. 129-136.

- Farkas, J. y Andrassy, E. 1982. Investigation on the posible genotoxic effect of irradiated onion poder by means of prophage induction (inductest). *Acta Alimentaria*, v. 11(3); p.p. 245-251.
- Farkas, J. 1984. Radiation Decontamination of Dry Food Ingredients and Processing Aids. *Journal of Food Engineering* 3 (1984), 245-264.
- Farkas, J. 2006. Irradiation for better foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 148-152.
- Farkas, J. y Mohácsi-Farkas, C. 2014. Safety of Food and Beverages: Spices and Seasonings. En: Y. Motarjemi, G. Moy, E. Cameron y D. Todd eds. *Encyclopedia of Food Safety*. Volume 3. Michigan: Elsevier 324-330.
- Farrell, K. 1998. *Spices, Condiments and Seasonings*. 2ª ed. Maryland: Springer Science & Business Media. p.p. 49-182.
- FDA.2000. Guidance for Industry: Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed. [En línea] (Actualizado al 23 de junio de 2016). Disponible en:
<https://www.fda.gov/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/chemicalcontaminantsmetalsnaturaltoxinspesticides/ucm077969.htm#afla> [Último acceso el 29 de abril de 2017].
- FDA. 2013. Draft Risk Profile: Pathogens and Filth in Spices. [En línea]. Disponible en:
<https://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/UCM367337.pdf> [Último acceso el 02 de abril de 2017].
- FDA. 2016. Title 21. Chapter 1, subchapter B. 101.22 Foods; labeling of spices, flavorings, colorings and chemical preservatives. [En línea] (Actualizado al 21 de septiembre de 2016). Disponible en:
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=101.22> [Último acceso el 20 de marzo de 2017].
- FDA. 2016. Title 21. Chapter 1, subchapter B. 182.10 Spices and other natural seasonings and flavorings. [En línea] (Actualizado al 21 de septiembre de 2016). Disponible en:

<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.10>
[Último acceso el 20 de marzo de 2017].

- Fellows, P. 2009. Food processing technology: Principles and practice. 3ª ed. USA: CRC Press. p.p. 274, 277, 281, 283.
- Fennema, O. 1996. Food Chemistry. 3ª ed. Nueva York: CRC Press. p. 791.
- Fowles, J., Mitchell, J. y McGrath, H. 2001. Assessment of cancer risk from ethylene oxide residues in spices imported into New Zealand. Food and Chemical Toxicology, 39, 1055-1062.
- Fraise, A., Maillard, J. y Sattar, S. 2012. Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. 5a. ed. UK: John Wiley & Sons.
- Friedman, M., Henika, P. y Mandrell, R. 2002. Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of Their Isolated Constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. Journal of Food Protection, 65 (10), 1545-1560.
- Gad, S. y Gad-McDonlad, S. 2015. Biomaterials, Medical Devices, and Combination Products: Biocompatibility Testing and Safety Assessment. Florida: CRC Press. p.p. 360-361.
- Gieraltowski, L., Julain, E., Pringle, J., et.al. 2013. Nationwide outbreak of Salmonella Montevideo infections associated with contaminated imported black and red pepper: warehouse membership cards provide critical clues to identify the source. Epidemiology and Infection, 141 (6), 1244-1252.
- Gobierno de España. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado.1984.Real Decreto 2242/1984, de 26 de septiembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de condimentos y especias. [En línea] (Actualizado al 29 de marzo de 2013). Disponible en:
<https://www.boe.es/buscar/pdf/1984/BOE-A-1984-27961-consolidado.pdf> [Último acceso el 20 de marzo de 2017].
- Gobierno de España. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado. Orden de 1 de septiembre de 1983 sobre Normas de Calidad para el Comercio Exterior de Pimentón.

[En línea] (Actualizado al 15 de octubre de 1983). Disponible en:

https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-1983-27282 [Último acceso el 20 de marzo de 2017].

- Gurtler, J., Doyle, M. y Kornacki, J. 2014. The Microbiological Safety of Low Water Activity Foods and Spices. Nueva York: Springer. p.p. 103, 390-392, 407, 416-418.

- Hampikyan, H., Bingol, E., Colak, H. y Aydin, A. 2009. The evaluation of microbiological profile of some spices used in Turkish meat industry. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7, 111-115.

- Han, J. 2007. Packaging for Nonthermal Processing of Food. USA: Blackwell Publishing. p.p. 94-110.

-Harder, M., Arthur, V. y Arthur, P. 2016. Irradiation of Foods: Processing Technology and Effects on Nutrients: Effect of Ionizing Radiation on Food Components. En: *Encyclopedia of Food and Health*, 476-481.

- Harrigan, W. 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology. 3ª ed. Londres: Gulf Professional Publishing. p. 143.

-Hartwig, A. 2007. Toxicological potential of 2-alkylcyclobutanones-specific radiolytic products in irradiated fat-containing food- in bacteria and human cell lines. *Food and Chemical Toxicology* 45, 2581-2591.

- Head, D. et al. 2008. Effects of superheated steam on *Geobacillus stearothermophilus* spore viability. *Journal of Applied Microbiology*, 104 (4), 1213-1220.

- Health Canada. 2017. Proposed Maximum Residue Limit. Ethylene Oxide. [En línea]. Disponible en: https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/cps-spc/alt_formats/pdf/pest/part/consultations/_pmrl2017-22/pmrl2017-22-eng.pdf [Último acceso el 9 de junio de 2017].

- Heath, H. 1981. Source Book of Flavors: (AVI Sourcebook and Handbook Series). Nueva York: Springer Science & Business Media. p.203.

-Heijden, K., Younes, M., Fishbein, L., y Miller, S. 1999. International Food Safety Handbook. USA: Marcel Dekker. p.p. 288-290, 293-295.

- Hirasa, K. y Takemasa, M. 1998. Spice Science and Technology. Nueva York: CRC Press. p.p. 36-44.
- Hugo, W. 2012. Inhibition and Destruction of the Microbial Cell. Nottingham: Academic Press. p.p. 226-236.
- Hui, Y. 2005. Handbook of Food Science, Technology and Engineering: Volume 4. FL: CRC Press p.p. 72
- Hui, Y. 2007. Handbook of Food Products Manufacturing, 2 Volume Set. Nueva Jersey: John Wiley & Sons. p. 219.
- Hui, H. 2012. Handbook of Meat and Processing. 2ª ed. FL: CRC Press. p.p. 383,390
- IAEA. 2011. Industrial Radiation Processing with Electron Beams and X-rays. [En línea]. Disponible en:
<http://www.cirms.org/pdf/Industrial%20Radiation%20Processing%20-%20May%202011%20-%20Revision%206.pdf> [Último acceso el 16 de septiembre de 2017].
- IAEA. 2017. Manual de buenas prácticas para la irradiación de alimentos: Aplicaciones sanitarias, fitosanitarias y de otro tipo; Colección de Informes Técnicos No. 481. [En línea]. Disponible en: http://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/D481_S_web.pdf [Último acceso el 2 de agosto de 2017].
- IARC. 2008. 1,3-Butadiene, Ethylene Oxyde and Vinyl Halides (Vinyl Fluoride, Vinyl Chloride and Vinyl Bromide. Volume 97. Ethylene oxide. [En línea]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK321408/> [Último acceso el 9 de junio de 2017].
- IARC. 2010. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 92. Some Non- heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. [En línea]. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol92/mono92.pdf> [Último acceso el 11 de agosto de 2017].

- IARC. 2012. Chemical Agents and Related Occupations. Volume 100 F. A review of human carcinogens. Ethylene oxide. [En línea]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304417/> [Último acceso el 9 de junio de 2017].
- ICMSF. 1986. Microorganisms in Foods 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2ª ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications. p. p. 127-278.
- ICMSF. 2006. Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities. 2ª ed. Nueva York: Springer Science & Business Media. p. p. 360-370.
- ICMSF. 2011. Microorganisms in Food 8: Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance. Nueva York: Springer Science & Business Media. p. 198.
- ILSI Europe. 2011. Persistence and Survival of Pathogens in Dry Foods and Dry Food Processing Environments. [En línea]. Disponible en: <http://ilsi.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/Persistence-and-survival-report.pdf> [Último acceso el 05 de mayo de 2017].
- INEGI, 2014. Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares. [En línea] (Actualizado al 17 de septiembre de 2015). Disponible en: <http://www.beta.inegi.org.mx/proyectos/enchogares/regulares/enigh/nc/2014/default.htm> [Último acceso el 14 de abril de 2017].
- INEGI, 2017. Presenta INEGI los Resultados de una Nueva Serie de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares (ENIGH) 2016. [En línea] (Actualizado al 28 de agosto de 2017). Disponible en: http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/boletines/2017/enigh/enigh_08.pdf [Último acceso el 19 de octubre de 2017].
- Institute of Food Science Technology. 2015. Food Irradiation. [En línea]. Disponible en: <https://www.ifst.org/knowledge-centre/information-statements/food-irradiation> [Último acceso el 1 de agosto de 2017].
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods Staff (ICMSF). 2012. Micro-Organisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities. 2ª ed. Nueva York: Springer Science & Business Media. p. 278.
- Jalili, M., Jinap, S., y Noranizan, A. 2010. Effect of gamma radiation on reduction of

mycotoxins in black pepper. *Food Control*, 21(10), 1388–1393.

- Jay, J., Loessner, M. y Golden, D. 2006. *Modern Food Microbiology*. 7 ed. USA: Springer Science & Business Media. p.331.

- Jensen, K. 1988. Determination of ethylene oxide residues in processed food products by gas-liquid chromatography after derivatization. *Z Lebensm Unters Forsch*, 187,535-540.

- Johnson, M.1967. Detoxication of ethylene chlorohydrin. *Food and Cosmetics Toxicology*, 5, 449.

-Jongen, W. 2005. *Improving the safety of fresh fruit and vegetables*. USA: CRC Press. p.p. 389.

- Kent, J. 2010. *Kent and Riegel's Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology*. 11^a ed. Nueva York: Springer Science & Business Media. p.356.

- Kirkin, C., Mitrevski, B., Gunes, G. y Marriot, P. 2014. Combined effects of gamma-irradiation and modified atmosphere packaging on quality of some spices. *Food Chemistry*, 154,155, 255-261.

-Knechtges, P. 2012. *Food Safety: Theory and Practice*. USA: Jones & Bartlett Learning. p.p. 259-261.

-Knoll, N. et al. 2006. 2-Dodecylcyclobutanone, a radiolytic product of palmitic acid, is genotoxic in primary human colon cells and in cells from preneoplastic lesions. *Mutation Research* 594, 10-19.

-Kotsonis, F. y Mackey, M. 2002. *Nutritional Toxicology*. 2^a ed. New York: Taylor & Francis. p.p. 363.

- Kroese, E.D., Muller, J.J.A., Mohn, G.R., Dortant, P.M. and Wester, P.W. 2001. Tumourigenic effects in Wistar rats orally administered benzo[a]pyrene for two years (gavage studies). Implications for human cancer risks associated with oral exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. National Institute of Public Health and the Environment, RIVM Report no. 658603 010, November 2001, Bilthoven.

- Kume, T., Furuta, M., Todoriki, S., Uenoyama, N. y Kobayashi, Y.2009. Status of food irradiation in the world. *Radiation Physics and Chemistry*, 78 (2009), 222–226.
- Kume, T. y Todoriki, S. 2013. Food Irradiation in Asia, the European Union, and the United States: A Status Update. *Radioisotopes*, 62 (5), 291-299.
- Lett, J. y Sinclair, W. 1993. *Advances in Radiation Biology. Volume 17: DNA and Chromatin Damage Caused by Radiation*. USA: Academic Press. p.p. 53-55.
- Lewis, R. 1989. *Food Additives Handbook*. Nueva York: Springer Science & Business Media. p.p. 205-206.
- Lück, E. y Jager, M. 2012. *Antimicrobial Food Additives: Characteristics-Uses-Effects*.2ª ed. Berlin: Springer & Science Business Media. p.p. 231-233.
- Lund, B., Baird, T. y Gould, G. 2000. *The Microbiological Safety and Quality of Food: Volume 1*. USA: Aspen. p.p. 69
- Madigan, M. et al. 2009. *Brock. Biología de los microorganismos*. 12ª ed. Madrid: Pearson.p.p.187, 320, 867-869.
- Maga, J. y Tu, A. 1995. *Food Additive Toxicology*. New York: Marcel Dekker. p.p. 492
- Maraver, J., Moreno, I., Jos, A. y Cameán, A. 2012. Cap. 35 Irradiación de Alimentos. En Cameán y repetto (Ed.), *Toxicología Alimentaria* (p.p. 623-637). Madrid: Díaz de Santos.
- Marchioni, E. et al. 2004. Toxicological study on 2-alkylcyclobutanones-results of a collaborative study. *Radiation Physics and Chemistry* 71 (2004), 145-148.
- McCauley, J. 1995. *The steam trap handbook*. Georgia: The Fairmont Press, Inc. p.p. 42-41.
- McKeen, L. 2012. *The Effect of Sterilization on Plastics and Elastomers*. 3a ed. Gran Bretaña: William Andrew. p.p. 31-33.
- Mendoza, E., García, X., Sosa, D. y Vanegas, E. 2012. Cap. 20 Irradiación de Alimentos. En Calvo y Mendoza (Ed.), *Toxicología de los alimentos* (p.p. 317-335). México: McGraw-Hill.

- Merritt, C. 2015. Process Steam Systems: A Practical Guide for Operators, Maintainers and Designers. Nueva Jersey: John Wiley & Sons. p.p. 46-48.
- Miller, R. 2005. Electronic Irradiation of Foods: An Introduction to the Technology. USA: Springer Science + Business Media. p.p. 2-6.
- Mittler, S. y Eiss, M. 1982: Failure of irradiated onion powder to induce sex-linked recessive lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. Mutation Research, 104, 113-115.
- Molins, R. 2001. Food Irradiation: Principles and Applications. USA: John Wiley & Sons. p.p. 23,24, 37-45, 60, 61.
- Molnár, H. et al. 2017. The effect of different decontamination methods on the microbial load, bioactive components, aroma and colour of spice paprika. Food Control, 30, 1-10.
- Motarjemi, Y., Moy, G. y Todd, E. 2014. Encyclopedia of Food Safety. Volume 1. Michigan: Academic Press.
- Münzner, R. y Renner, H. 1981. Mutagenicity Testing of Irradiated Onion Powder. Food Science, v. 46 (4), p.p. 1269-1270.
- Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. 2015. Medical Microbiology. 8a ed. Canada: Elsevier Health Sciences. p.13.
- NASP. Medical Manufacturing and Sterilization. Sterilization. [En línea]. Disponible en: <http://naspco.com/sterilization/> [Último acceso el 21 de mayo de 2017].
- Navarro, F. y Costa, J. 1993. La oleorresina de pimentón. Murcia: EDITUM.
- NIIR Board of Consultants & Engineers. 2006. The Complete Book on Spices & Condiments (with Cultivation, Processing & Uses). 2ª ed. Delhi: ASIA PACIFIC BUSINESS PRESS Inc. p.p. 35-95, 159-160.
- NTP. 2017. Chemical Properties. CAS Registry Number: 75-21-8. [En línea]. Disponible en: https://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntpviews/index.cfm?action=testarticle.properties&cas_number=75-21-8#Uses [Último acceso el 6 de julio de 2017].

- Omaye, S. 2004. Food and Nutritional Toxicology. USA: CRC Press. p.p. 264-266.
- OMS/FAO. 1988. Food Irradiation: A technique for preserving and improving the safety of food. Ginebra.
- Ortega, E. 2010. Processing Effects on Safety and Quality of Foods. USA: CRC Press. p.p. 359-365.
- Ortega, E. 2012. Non-thermal Food Engineering Operations. New York: Springer. p.p. 241.
- Parthasarathy, V., Chempakam, B. y Zachariah, T. 2008. Chemistry of Spices. Londres: CABI. p. 191.
- Pascual, M. y Calderón, V. 2000. Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. 2ª ed. Madrid: Ediciones Díaz de Santos. p. 357.
- Peter, K. 2006. Handbook of herbs and spices: Volumen 3. England: CRC Press. p. p. 60-67.
- Peter, K. y Shylaja, M. 2012. Introduction to herbs and spices: definitions, trade and applications. En: K. Peter ed. Handbook of herbs and spices. Cornualles: Woodhead Publishing, 1-24,250.
- Pillai, S. y Shayanfar, S. 2015. Electron Beam Pasteurization and Complementary Food Processing Technologies. UK: Woodhead Publishing. p.p. 113,114.
- Pinkas, J. et al. 2009. Microbiological Spoilage of Spices, Nuts, Cocoa and Coffe. En: W. Sperber, M. Doyle eds. Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. Food Microbiology and Food Safety. Nueva York: Springer. p.p. 325-350.
- Pohanish, R. 2014. Sittig's Handbook of Pesticides and Agricultural Chemicals. 2ª ed. Nueva York: William Andrew. p. 373.
- Raghavan, S. 2006. Handbook of Spices, Seasonings, and Flavorings. 2ª ed. Florida: CRC Press. p. 60.

- Rangel, W. Aplicación de la irradiación gamma. [En línea]. Disponible en: <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/Aplicacion%20de%20la%20irradiacion.pdf> [Último acceso el 5 de agosto de 2017].
- Raul, F. et al. 2002. Food-Borne Radiolytic Compounds (2-Alkylcyclobutanones) May Promote Experimental Colon Carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*, 44(2), 188–191.
- Ravindran, P., Nirmal, K. y Sivaraman, K. 2007. *Turmeric: The genus Curcuma*. Florida: CRC Press. p.p. 212-217.
- Rawat, S. 2005. Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5 (4), 47-56.
- Reichert, M. y Young, J. 1997. *Sterilization Technology for the Health Care Facility*. 2^a ed. Maryland: Jones & Barlett Learning. p.p. 124-126.
- Reineccius, G. 2016. *Flavor Chemistry and Technology*. 2a ed. Florida: CRC Press. p. 215.
- Repetto, M. 1995. *Toxicología avanzada*. Madrid: Díaz de Santos. p.p. 285,286
- Reventós, M. 2005. *Industria alimentaria: Tecnologías emergentes*. Barcelona: UPC. p.p. 104.
- Rice, J.1999. Electron-Beam Irradiation of Packaged Foods. [En línea]. Disponible en: <https://www.packagingnetwork.com/doc/electron-beam-irradiation-of-packaged-foods-0001> [Último acceso el 16 de septiembre de 2017].
- Rico, C. et al. 2010. The comparative effect of steaming and irradiation on the physicochemical and microbiological properties of dried red pepper (*Capsicum annum* L.). *Food Chemistry*, 119, 12012-1016.
- Rosenthal, I. 1992. *Electromagnetic Radiations in Food Science*. Springer-Verlag. p.p. 203.
- Ross, R. 2010. *Salmonella* outbreak may spark interest in irradiated spices. CIDRAP. [En línea]. Disponible en: <http://www.cidrap.umn.edu/news->

perspective/2010/01/salmonella-outbreak-may-spark-interest-irradiated-spices [Último acceso el 20 de agosto de 2017].

- Rotterdam Convention.2001. Aplicación del procedimiento de consentimiento fundamentado previo aplicable a ciertos plaguicidas y productos químicos peligrosos objeto de comercio internacional. Documento de orientación para la adopción de decisiones. Óxido de etileno. [En línea]. Disponible en: http://www.pic.int/Portals/5/DGDs/DGD_Ethylene%20oxide_ES.pdf [Último acceso el 6 de julio de 2017].

- Rozentale, I. et al. 2017. The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons and spices. *Food Control*, XXX, 1-9.

- Sagoo, S. et.al. 2009. Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. *Food Microbiology*, 26, 39-43.

- Saul, C. 1985. Irradiation of Spices and Herbs. [En línea]. Disponible en: http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/18/027/18027484.pdf [Último acceso el 19 de julio de 2017].

- Schaarschmidt, S., Spradau, F., et.al. 2016. Public and private standards for dried culinary herbs and spices-Part II: Production and product standards for ensuring microbiological safety. *Food Control*, 70, 360-370.

- Schweiggert, U. et al. 2007. Conventional and alternative processes for spice production- a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 260-268.

- Scott, B. 2014. Radiation Toxicology, Ionizing and Nonionizing. En: *Encyclopedia of Toxicology*, Volume 4, 29 -43.

- SENAISCA. 2013. Acuerdo por el que se dan a conocer los Lineamientos para la Operación Orgánica de las actividades agropecuarias. [En línea]. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/171419/Lineamientos.pdf> [Último acceso el 20 de agosto de 2017].

- Serna, S. 2016. Snack Foods: Types and Composition. En: B. Caballero, P. Finglas y F. Toldrá eds. *Encyclopedia of Food and Health*. Oxford: Elsevier, 13-18.

- Sehrawat, R., Nema, P. y Pal Kaur, B. 2016. Effect of superheated steam drying on properties of foodstuffs and kinetic modeling. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 34, 285-301.
- Sharma, A. 2006. Irradiation to decontaminate herbs and spices. En: K. Peter ed. *Handbook of herbs and spices*. Volumen 3. Florida: Woodhead Publishing, 60-73.
- Sherman, M. 1998. *Medcial Device Packaging Handbook*. 2^a ed. Nueva York: CRC Press. p.p. 157-172.
- Singh, L. et al. 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons formation and occurrence in processed food. *Food Chemistry*, 199, 768-781.
- Sinha, N. et al. 2012. *Handbook of Fruits and Fruit Processing*. 2^a ed. Oxford: John Wiley & Sons.
- Singhal, R. y Kulkarni, P. 2003. Herbs and spices. En: M. Lees ed. *Food authenticity and traceability*. Cambridge: Woodhead Publishing, 386-414.
- Sommers, C. y Fan, X. 2006. *Food Irradiation Research and Technology*. USA: Blackwell. p.p. 11-20.
- Sommers, C. 2012. Cap. 11 Microbial decontamination of food by irradiation. En Demirci y Ngadi (Ed.), *Microbial decontamination in the food industry: Novel methods and applications* (p.p. 322-328). UK: Woodhead Publishing.
- Song, B. et al. 2014. A critical review on toxicological safety of 2- alkylcyclobutanones. *Radiation Physics and Chemistry*. 103 (2014), 188-193.
- Soni, A. et al. 2006. *Bacillus* Spores in the Food Industry: A Review on Resistance and Response to Novel Inactivation Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15 (6), 1139-1148.
- Spicher, G., Peters, J. and Borchers, U. 1999. Microbiological efficacy of superheated steam. I. Communication: results with spores of *Bacillus subtilis* and *Bacillus stearothermophilus* and with spore earth. *Zentralbl Hyg Umweltmed*, 201 (6), 541–553.
- Stadler, R. y Lineback, D. 2009. *Process-Induced Food Toxicants: Occurrence, Formation, Mitigation, and Health Risks*. New Jersey: John Wiley & Sons. p.p. 397-407.

- Sterigenics. 2007. The sterilisation of spices, herbs and vegetable seasonings: Understanding the options. [En línea]. Disponible en: http://www.sterigenics.com/services/food_safety/global_food_safety_brochure.pdf [Último acceso el 13 de mayo de 2017].
- STERIS. Applied Sterilization Technologies. 2016. Anatomy of an ethylene oxide sterilization process. [En línea]. Disponible en: <http://www.steris-ast.com/tech-tip/anatomy-ethylene-oxide-sterilization-process/> [Último acceso el 21 de mayo de 2017].
- Sullivan , H. y Krieger, G. 2001. Clinical Environmentak Health and Toxic Exposures. 2ª ed. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins. p.p. 1134-1137.
- Tainter, D. y Grenis, A. 2001. Spices and Seasonings: A Food Technology Handbook. 2ª ed. Nueva York: John Wiley & Sons. p. p. 58-65, 86,180-225.
- Thanh, M., et al. 2016. Tenacity of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in dried spices and herbs. Food Control, 30, 1-10.
- Tortora, G., Funke, B. y Case, C. 2007. Introducción a la microbiología. 9ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana. p.p. 166, 191-195.
- Underriner, E. 1994. Handbook of Industrial Seasonings. Maryland: Springer Science & Business Media. p. 132.
- Urbain, W. 1986. Food Irradiation. Florida: Academis Press. p.p. 1-10, 14-19, 23-29, 90.
- Urone, P. 2012. College Physics. Texas: Openstax. p. 1291.
- USDA. 2010. Commercial Item Description Spices and Spice Blends. [En línea] (Actualizado al 05 de abril de 2010). Disponible en: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/CID%20Spices%20and%20Spice%20Blends.pdf> [Último acceso el 06 de mayo de 2017].
- USDA. 2013. USDA Organic Standards 7 CFR 205. [En línea] Disponible en: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/NOP-ReglamentosOrganicosEstadounidenses.pdf> [Último acceso el 20 de agosto de 2017].

- US EPA. 2004. Ethylene Oxide Commercial Sterilization and Fumigation Operations Neshap. Implementation Document. [En línea] (Actualizado al 04 de marzo de 2004). Disponible en: https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-03/documents/ethylene_oxide_2004guide.pdf [Último acceso el 21 de mayo de 2017].
- US EPA. 2006. Report of the Food Quality Protection (FQPA) Tolerance Reassessmente and Risk Management Decision (TRED) for Ethylene Oxide. [En línea]. Disponible en: https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/ethylene_oxide_tred.pdf [Último acceso el 9 de julio de 2017].
- US EPA. 2008. Reregistration Eligibility Decision for Ethylene Oxide. [En línea]. Disponible en: <https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/ethylene-oxide-red.pdf> [Último acceso el 6 de julio de 2017].
- Van Alfen, N. 2014. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. California: Elsevier. p.p. 300-301.
- Van Calenberg, S., Vanhaelewyn, G., Van Cleemput, O., Callens, F., Mondelaers, W. y Huyghebaert, A. 1998. Comparison of the Effect of X-ray and Electron Beam Irradiation on Some Selected Spices. Academic Press, 31 (3), 252-258.
- Vanderheijden, K. 1999. International Food Safety Handbook: Science, International Regulation, and Control. Nueva York: CRC Press. p.p. 331-332.
- Van Duuren, B., Seidman, I., Melchionne, S., Kline, S. 1985. Carcinogenicity bioassays of bromoacetaldehyde and bromoethanol potential metabolites of dibromoethane. Teratogenicity, Carcinogenicity, and Mutagenicity, 5, 393–403.
- Varzakas, T. y Tzia, C. 2015. Food Engineering Handbook: Food Engineering Fundamentals. USA: CRC Press. p.p. 435-438, 453, 477,478.
- Venturi, M. y D' Angelantonio, M. 2017. Applications of Radiation Chemistry in the Fields of Industry, Biotechnology and Environment. Springer. p.p. 263.
- Walker, A. 1990. Human Nutrition. Cambridge: CUP Archive. p. 88.

- Waje, C. et al. 2008. Physicochemical and Microbiological Qualities of Steamed and Irradiated Ground Black Pepper (*Piper nigrum L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4592-4596.
- WHO. 2002. Concise International Chemical Assessment Document 45. Ethylene Glycol: Human Health Aspects. [En línea]. Disponible en: <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad45.pdf> [Último acceso el 8 de julio de 2017].
- Wiley, R. 1994. Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables. Boston: Springer Science & Business Media. p.p. 111-113.
- Wilkinson, V. y Gould, G. 1996. Food Irradiation: A reference guide. Great Britain: Butterwoth- Heinemann
- Wilson, L. 2016. Spices and Flavoring Crops: Fruits and Seeds. En: B. Caballero, P. Finglas y F. Toldrá eds. *Encyclopedia of Food and Health*. Oxford: Elsevier, 73-83.
- Yamakage, K. et al. 2014. Genotoxic potential and in vitro tumour-promoting potential of 2-dodecylcyclobutanone and 2-tetradecylcyclobutanone, two radiolytic products of fatty acids. *Mutation Research* 770, 95-104.
- Yuliani, S. y Nurdjannah, N. 2013. Culinary powders and speciality products. En: B. Bhandari, N. Bansal, M. Zhang y P. Schuck eds. *Handbook of food powders*. Cambridge: Woodhead Publishing, 576-592.
- Zweifel, C. y Stephan, R. 2012. Review. Spices and herbs as source of Salmonella-related foodborne diseases. *Food Research International*, 45, 765-769.