



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ANÁLISIS TERMOLUMINISCENTE Y LUMINISCENCIA
FOTOESTIMULADA DE CASCARÓN DE HUEVO COMERCIAL
IRRADIADO CON Co-60 Y Cs-137**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

GIULIANA CAROLINA ORDUÑA AMADO

Director de tesis: Dr. Epifanio Cruz Zaragoza

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2016





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	Prof. Juan Manuel Navarrete Tejero
Vocal	Prof. Sofia Guillermina Burillo Amezcu
Secretario	Prof. Epifanio Cruz Zaragoza
1er. Suplente	Prof. Luis Orlando Abrajan Villaseñor
2º. Suplente	Prof. Carlos Cosio Castañeda

Esta Tesis se desarrolló en
Laboratorio de Luminiscencia y Dosimetría en la
Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica
del Instituto de Ciencias Nucleares UNAM

ASESOR

DR. EPIFANIO CRUZ ZARAGOZA

SUSTENTANTE

ORDUÑA AMADO GIULIANA CAROLINA

Contenido

RESUMEN.....	1
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	7
1.2 OJETIVO GENERAL.....	9
1.2.1 Objetivos particulares.....	9
1.3 HIPÓTESIS	10
CAPITULO 2. MARCO TEÓRICO	11
2.1 COMPOSICIÓN Y APORTE NUTRICIONAL DEL HUEVO.....	11
2.2 EL SÓLIDO MINERAL DEL CASCARÓN DE HUEVO: CARBONATO DE CALCIO (CALCITA)	17
2.3 ECONOMÍA DEL HUEVO (PRODUCCIÓN Y CONSUMO).....	24
2.4 HIGIENE Y SEGURIDAD SANITARIA (ASPECTO MICROBIOLÓGICO)	28
2.5 CAMBIOS FISICOQUÍMICOS EN EL HUEVO IRRADIADO.....	31
2.6 RADIACIÓN IONIZANTE PARA ALIMENTOS.....	33
2.6.1 Aceptación de la irradiación de alimentos	34
2.6.2 La radiación ionizante.....	37
2.6.3 Ventajas y desventajas de la irradiación de alimentos	39
2.6.4 Usos de la irradiación de alimentos.....	42
2.6.5 Efectos de la radiación en alimentos.....	46
2.7 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ALIMENTOS IRRADIADOS.....	50
2.7.1 Métodos Físicos.....	52
2.7.1.1 Sistemas Hidratados	53
2.7.1.2 Sólidos	54
2.8 PROPIEDAD LUMINISCENTE DE UN SÓLIDO	56
2.8.1 Teoría de bandas.....	56
2.8.2 Termoluminiscencia	59
2.8.3 Luminiscencia Fotoestimulada.....	63
2.8.4 Propiedades Luminiscentes del mineral del cascarón de huevo (calcita).....	64
2.9 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	65

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	67
3.1 MUESTRAS Y REACTIVOS	67
3.2 MATERIALES Y EQUIPOS	67
3.3 DIAGRAMA DE FLUJO PARA MEDIDAS TL Y PSL	68
3.4 METODOLOGÍA PARA LA SEPARACIÓN DE POLIMINERALES DEL CASCARÓN DE HUEVO	71
3.5 TRATAMIENTO DE RESIDUOS	72
3.6 FONDO TL_N DE MUESTRAS	73
3.7 FONDO PSL_N DE MUESTRAS	74
3.8 IRRADIACIÓN GAMMA DE LAS MUESTRAS	75
3.8.1 Irradiación con ⁶⁰ Co	75
3.8.2 Irradiación con ¹³⁷ Cs.....	78
3.9 MEDIDAS DE LA RESPUESTA TL	78
3.10 MEDIDAS DE LA RESPUESTA PSL	78
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	80
4.1 CARACTERIZACIÓN POR MICROSCOPIA DE LAS MUESTRAS	80
4.2 EMISIÓN TERMOLUMINISCENTE DE MUESTRAS SIN IRRADIAR	83
4.3 CURVAS DE BRILLO DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS	87
4.4 RESPUESTA TL Y LÍMITE DE DETECCIÓN DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS CON ⁶⁰Co y ¹³⁷Cs	96
4.5 REPRODUCIBILIDAD DE LA SEÑAL TL	102
4.6 PÉRDIDA DE LA SEÑAL O FADING DE LAS SEÑALES TL	104
4.7 BLANQUEO TÉRMICO DE LAS CURVAS DE BRILLO TL	107
4.7.1 Determinación de la energía de activación (<i>E</i>) y factor de frecuencia (<i>s</i>)	
109	
4.8 RESPUESTA E IDENTIFICACIÓN PSL DEL CASCARÓN BLANCO Y ROJO	113
4.8.1 DECAIMIENTO DE LA SEÑAL PSL	117
4.8.2 REPRODUCIBILIDAD DE LA SEÑAL PSL	118
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES	121
BIBLIOGRAFÍA	124
APENDICE DE FIGURAS Y DATOS DE LOS RESULTADOS	I
APENDICE I. Curvas de brillo del cascarón de huevo, irradiadas con fuentes de ⁶⁰ Co....	I
APENDICE II. Tablas con los límites de detección TL del cascarón blanco y rojo irradiadas con fuentes de ⁶⁰ Co y con ¹³⁷ Cs.....	VIII

APENDICE III. Tablas de decaimiento y blanqueo de la señal TL.....	XV
APÉNDICE IV. Resultados de la detección PSL de los cascarones blanco y rojo lavados	XVIII
APÉNDICE V. Tablas de decaimiento de la respuesta PSL	XX

RESUMEN

En esta tesis se presentan resultados de luminiscencia estimulada por calor llamada termoluminiscencia (TL) y por luminiscencia fotoestimulada (PSL) usando luz infrarroja, de muestras de cascarón de huevos de gallina blancos y rojos comerciales. Estos fueron adquiridos en el supermercado entre Octubre y Diciembre de 2015, en la Ciudad de México. Entre diversas pruebas, la utilización de ácido clorhídrico concentrado logró limpiar adecuadamente a los cascarones pulverizados y se identificó mediante microscopía electrónica de barrido, al carbonato de calcio (CaCO_3) como el compuesto principal en los dos tipos de huevo, rojo y blanco. Se seleccionaron dos tamaños de partícula (74 y $149\mu\text{m}$) de este mineral, y fueron expuestos a radiación gamma de ^{60}Co y ^{137}Cs . Se analizaron las propiedades TL que permitieron identificar la dosis mínima de irradiación gamma que se puede detectar, ya que ésta es usada en otros países para la sanitización comercial de los huevos. Las curvas de brillo obtenidas tienen picos en 110, 145, 270 y 315°C para los dos tipos de cascarones con el tamaño de partícula de $74\mu\text{m}$, en cambio, para el de $149\mu\text{m}$ se obtuvieron picos en 110, 270 y 315°C . En general, la respuesta TL fue lineal entre 500 y 10 000Gy. Además, se obtuvieron las señales PSL para la identificación de muestras irradiadas, sin embargo, los resultados mostraron que la emisión luminiscente del carbonato es baja pues la respuesta PSL no fue lineal con respecto a la dosis absorbida y fue identificada como positiva ($>5\ 000$ cuentas) hasta dosis muy altas del orden de kGy, siempre que éstas se iban acumulando y sensibilizando al mineral.

Se logró analizar el blanqueo térmico de las curvas de brillo TL para conocer los parámetros cinéticos que presenta la calcita, mostrándose que se requiere mayor energía de activación conforme los picos van apareciendo a mayor temperatura. Asimismo, se obtuvieron parámetros de reproducibilidad de las señales TL y PSL así como el decaimiento de las mismas durante el almacenamiento a temperatura ambiente de las muestras de ambos cascarones, irradiadas inicialmente a 3 000Gy. Se exhibe para el caso de la TL, que la variación de la reproducibilidad de la señal es relativamente alta (el coeficiente de variación CV fue 14.34% para $74\mu\text{m}$; y de

20.98% para $149\mu\text{m}$). La señal TL continúa siendo detectable al cabo de 330 días que duró el almacenamiento, pues las curvas de brillo siguen mostrando un pico que es característico del cascarón irradiado. El porcentaje de decaimiento con respecto a la señal inicial, para el tamaño de partícula de $74\mu\text{m}$ fue 10.99% para el huevo blanco, y 19.02% para el rojo. Las muestras identificadas por PSL tuvieron una respuesta intermedia cuando fueron irradiadas a 3 000Gy y al cabo de 7 días la señal ya no fue detectable. Así, se sugiere evitar el uso de PSL como método de detección para el cascarón puesto que se obtienen respuestas variables y poco reproducibles. En cambio, la TL como un método sensible resulta el más apropiado para la detección y el análisis de las muestras de los cascarones de huevo comercial.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El huevo es un ingrediente habitual en la alimentación, caracterizado por su alta densidad nutritiva y una relación calidad-precio aceptable. Es además, un alimento valioso por contener una proporción equilibrada de hidratos de carbono, grasas, proteínas, minerales y vitaminas.

También se ha discutido que el huevo contiene compuestos con actividades antimicrobianas, inmunomoduladores, propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antihipertensivas, entre otras (Kovacs-Nolan et al., 2005).

Es de destacar al menos dos aspectos importantes: es un alimento imprescindible en la dieta Mexicana gracias a su importancia alimenticia, siendo México uno de los principales países en el consumo de huevo a nivel mundial; por otra parte, es el sexto país en producción, destacando Jalisco y Puebla como los mayores Estados productores (Figura 1.1). Dada la importancia en el consumo y producción nacional, es necesario desarrollar e implementar metodologías, como la irradiación, que puedan garantizar un producto seguro con la preservación de sus propiedades principales y además desarrollar métodos de identificación del alimento irradiado para evitar su deterioro por acumulación de dosis altas. El huevo bien puede irradiarse con fotones gammas o rayos X para su preservación y sanitización.

El mayor riesgo alimentario que suele relacionarse con el consumo de huevos enteros, en polvo y/o sus derivados, es la toxiinfección por *Salmonella*. Ésta entra al organismo y se reproduce causando la enfermedad denominada salmonelosis. Esta enfermedad causa problemas que van desde episodios de gastroenteritis aguda entre 8 y 48h después de la ingestión del alimento contaminado, produciendo vómitos, diarrea y fiebre elevada que puede superar 40°C, hasta problemas más graves, incluso mortales. Tanto las personas enfermas como los animales que tienen *Salmonella* en su intestino son portadores de ésta durante meses e incluso años. En México, se cree que un alto porcentaje de la población la padece.

La consecuencia es que la materia fecal de los portadores tendrá una elevada concentración del microorganismo patógeno, por lo que se deben acentuar las medidas de higiene personal para evitar consumir más alimento contaminado. Las salmonelas patógenas para el hombre, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* principalmente, no suelen causar síntomas en las aves, aunque las convierte en portadoras (Instituto de Estudios del Huevo, 2009) y por lo tanto pueden esparcir el contagio en el humano.

A pesar de que se desarrollaron algunas metodologías en la producción moderna de productos avícolas, la incidencia de salmonelosis parece estar aumentando. Desde 1959 se ha venido investigando y demostrado que la irradiación es eficaz en la eliminación de patógenos transmitidos por los alimentos asociados con las aves de corral, tales como *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni*, y *Listeria monocytogenes* (CAC, 1994; Epifanio Cruz-Zaragoza, 2004; Yoon, 2003).

Una solución tecnológica y de proceso en frío, adecuada al problema de la preservación y esterilización del huevo, es la irradiación de este alimento. La irradiación se ha convertido en una de las técnicas exitosas para conservar los productos alimenticios con un cambio mínimo en sus propiedades funcionales, nutricionales y sensoriales. Este procesamiento implica la aplicación controlada de energía de radiación ionizante como los fotones gamma, rayos X y haz de electrones (e-beam) (Epifanio Cruz-Zaragoza, 2004).

No obstante, la irradiación plantea el dilema de cómo detectar a un alimento que ha sido procesado por radiación ionizante. Alimentos como el pollo, camarones, ancas de rana, especias, diferentes legumbres, patatas y frutos se irradian en un marco legal en muchos países y es probable que también se exporten a otros donde no está permitido la irradiación de cualquier alimento. Por lo tanto, todos los países deben contar con métodos analíticos para determinar si el alimento ha sido irradiado o no (ICGFI, 1999, 2002; Meier, 1991). En México, por el contrario, se derogó la norma (Aviso de cancelación de la NOM-033-SSA1-1993) que especificaba las

dosis necesarias para irradiar a los alimentos y tampoco existe la norma que especifique los métodos para detectar a los alimentos irradiados. A falta de esa legislación, a México no le es posible competir con exportaciones de frutas, legumbres, etc., al mercado norteamericano y mundial, donde se aceptan sólo frutas principalmente irradiadas puesto que los gases de óxido de etileno y bromuro de metilo están prohibidos porque son carcinogénicos.

Brevemente, se describe la irradiación de alimentos como el proceso de exponerlos a una fuente controlada de radiación ionizante con fines de reducción de la carga microbiana, la destrucción de patógenos, la extensión de la vida útil del producto, y/o la desinfestación de la producción.

La irradiación ha recibido la aprobación para su uso en varias categorías de alimentos tanto de la Comunidad Europea como también por parte de la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos, y otros países como Japón, China, Canadá, etc. Se ha demostrado que es una medida eficaz para la inocuidad de los alimentos, basado en más de 50 años de investigación (European Food Information Council, 2002; Farkas & Mohacsi-Farkas, 2011; WHO, 1984). Sin embargo, la irradiación de alimentos sigue generando controversias sobre todo de tipo político, debido a la falta de información principalmente del consumidor. Esta situación influye en la sociedad, haciendo lenta la amplia aceptación de esta tecnología y uso para mejorar las condiciones higiénico-sanitarias (Flores & Hough, 2007; Ibarra, Vargas, & Nayga, 2010; ICGFI, 1999; Taubenfeld, 2014).

Dentro del Codex Alimentarius, la irradiación de alimentos se clasifica como un aditivo, aunque en realidad es un proceso en frío que no eleva sustancialmente la temperatura, 1 o 2 °C, del alimento. El Comité de Expertos formados por la FAO, OIEA y la OMS informó que la irradiación de los alimentos hasta una dosis media total de 10kGy no presenta ningún peligro toxicológico, nutricional o microbiológico (CODEX STAN 106-1983, 2003; ICGFI, 1999). Desde 1960 se ha venido aceptando la irradiación en alimentos y desde entonces, el largo periodo de investigación ha incrementado la confianza en este método. Actualmente se permite la irradiación de

productos alimenticios, y se ha sugerido a los países que marquen como obligatorio el indicar en la etiqueta los alimentos que han sido irradiados, incluso cuando los ingredientes irradiados constituyen menos del 1% del producto final, como se realiza en Comunidad Europea (Ehlermann, 2009; European Food Information Council, 2002)

Para detectar un alimento irradiado, en general se utilizan varios métodos (químicos, biológicos y físicos) basados principalmente en las propiedades de cada tipo de alimentos. Los métodos físicos ampliamente utilizados son la termoluminiscencia (TL) y la luminiscencia fotoestimulada (PSL) (Bortolin et al., 2006; Calderón, 2000) para alimentos que contienen materia inorgánica como silicatos que generalmente contienen cuarzos y feldespatos. Estos métodos han sido aceptados en las normas europeas EN 1788 (2001) y EN 13751 (2002) como métodos físicos para detectar a los alimentos procesados por radiación ionizante en los países que importan o exportan productos alimenticios.

Actualmente en México no hay una norma vigente que regule las dosis a los alimentos irradiados (NOM-033-SSA1-1993) tanto nacionales como de importación, y tampoco de los métodos más adecuados para la detección, pues fue derogada en 2005. Esta falta de legislación también genera problemas en la exportación de calidad de los productos agrícolas que pueden ser bien recibidos en varios países con los que México tiene tratados comerciales. Afortunadamente existe cierta cantidad de minerales como los silicatos que están contenidos en los alimentos y que brindan información indirecta sobre la irradiación del alimento (Calderón, 2000; CODEX STAN 106-1983, 2003; Cruz-Zaragoza et al., 2012a; Delincée, 1998).

Los minerales, típicamente silicatos o materiales bioinorgánicos, tales como calcita que se originan a partir de conchas o exoesqueletos, o hidroxapatita de huesos y dientes, se pueden encontrar en la mayoría de los alimentos. Cuando estos materiales son expuestos a radiación, almacenan energía en forma de defectos electrónicos atrapados en sitios de la red, que pueden quedar en sitios intersticiales,

y con estimulación térmica o de fotones, se pueden recombinar para producir la luz o luminiscencia estimulada (TL o PSL) (Nollet & Toldra, 2009) La existencia de iones impurezas en la estructura del material puede complicar aún más la emisión luminiscente (Cruz-Zaragoza et al., 2012b; Marcazzó et al., 2015).



Figura 1.1 Principales Estados en México que produjeron huevo durante el 2015 (Tomado de Compendio de indicadores económicos del sector avícola 2016, Unión Nacional de Avicultores:<http://www.una.org.mx/index.php/component/content/article/2-uncategorised/19-indicadores-economicos>)

1.1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Dado que el huevo es muy importante en la dieta mexicana y comercialmente representa una fuente de ingreso alta para la industria avícola en México, es prioritario asegurar su calidad e higiene.

Se debe tener en cuenta que en México, cada año, hay un alto porcentaje de enfermedades transmitidas por los alimentos mal conservados y escasamente sanitizados. Se ha reportado en 2015 que la tasa de casos de incidencia de intoxicación alimentaria bacteriana fue de 49.82 para niños menores de 4 años (de una población de 8,833,779), y para mayores de 5-9 años la tasa fue de 40.55 (población de 11,179,408), ambos casos tasados por cada 100 000 habitantes, en

una población total de 121,005,822 de Mexicanos censados en 2010 por la CONAPO (Anuario de Morbilidad, 2015a). Además, las infecciones intestinales se encuentran como la segunda causa de enfermedad Nacional (Anuario de Morbilidad, 2015b);

Sin embargo, se desconoce la estadística en México de los costos de medicamentos y días de ausencia/año al trabajo, de enfermos por intoxicaciones alimentarias. Probablemente, los costos sean mucho más altos que la inversión que se requiere para adoptar la tecnología de irradiación y normas para el país.

Solamente en la Unión Europea se calcula que los casos por salmonelosis y campilobacteriosis ascienden a más de 300 000, y que como media, se producen unos 200 fallecimientos debidos a las salmonelas. A estos datos, de índole sanitaria exclusiva, hay que sumar los miles de millones de dólares de pérdidas de todo tipo que ocasionan estos microorganismos (Amagliani, Brandi, & Schiavano, 2012; Rodríguez Ferri, 2006). Por su parte, la FDA estima que hay 79 000 casos de enfermedades transmitidas por alimentos y 30 muertes cada año por comer huevos contaminados con Salmonella en Estados Unidos (FDA, 2016).

La irradiación de alimentos ha mostrado ser una tecnología exitosa en la eliminación de patógenos y microorganismos, previendo alimentos más seguros y duraderos para su consumo. Además, no agrega compuestos ni tampoco elimina nutrientes significativamente, es equiparable a la provocada por la cocción, razones por las cuales se podría implementar en la industria del huevo. No obstante, se deben crear metodologías de detección para su uso correcto y seguro.

Anteriormente, se han desarrollado métodos estándares como el de 2-alquilciclobutanona (método químico) en huevos o pruebas interlaboratorio que se llevan a cabo como la ESR (método físico) en cascarones de huevo (Stevenson & Stewart, 1995). Sin embargo, los métodos de luminiscencia (TL y PSL) han sido poco estudiados (Bhatti et al., 2008). Su uso después de irradiado este alimento,

permite obtener las dosis adecuadas para su identificación, el estudio de sus propiedades de emisión luminiscentes de TL y PSL.

La disponibilidad de técnicas analíticas para la correcta identificación entre muestras irradiadas de las que no lo son, es de vital importancia para la defensa de los controles reglamentarios, verificar el cumplimiento de los requisitos de etiquetado, facilitar el comercio internacional, dar la libertad de elección de productos irradiados o no y así, reforzar la confianza del consumidor en nuestro país (Cruz-Zaragoza et al., 2012b; European Commission, 2016; Kume et al., 2009)

1.2 OJETIVO GENERAL

Analizar las propiedades de termoluminiscencia (TL) y de luminiscencia fotoestimulada (PSL) que presenta la fracción polimineral del Cascarón blanco y rojo comercial Bachoco expuestas a radiación ionizante gamma. Las muestras en polvo y enteras del cascarón se ionizaron para obtener datos y una metodología adecuada para su detección. Para lo cual se establecen objetivos particulares.

1.2.1 Objetivos particulares

- Caracterizar mediante microscopía electrónica de barrido (SEM-EDS) la composición de la fracción inorgánica separada de los cascarones blanco y rojo, considerando tamaños de partícula de 74 y 149 μ m.
- Analizar el Cascarón irradiado mediante las curvas de brillo termoluminiscentes (TL). Obtener el límite de detección, linealidad de la respuesta TL y reproducibilidad para ambos tamaños de partícula (74 y 149 μ m).
- Analizar la pérdida o fading de la señal TL en función del tiempo, debida al efecto de almacenamiento en oscuridad y a temperatura ambiente. Así también, la pérdida de la señal por calentamiento térmico (bleaching).

- Determinar la energía de activación (E) y el factor de frecuencia (s), parámetros cinéticos que describen la curva de brillo, mediante el método de levantamiento inicial (Initial Rise Method, IR).
- Analizar y detectar por PSL las muestras enteras del Cascarón irradiado. Determinar el límite de detección ante la dosis gamma.
- Analizar la reproducibilidad de la señal PSL de las muestras y su decaimiento por efecto del almacenamiento en condiciones de laboratorio.

1.3 HIPÓTESIS

El análisis por el método de luminiscencia (TL y PSL) se basa en que el polimineral carbonato de calcio (CaCO_3) que compone al cascarón blanco y rojo, se ioniza mediante la radiación gamma. Siendo así, este mineral podría almacenar información sobre este proceso en forma de defectos de tipo electrónico principalmente electrones atrapados en vacancias y huecos.

Si se considera al CaCO_3 como un material aislante, entonces debería adecuarse a un modelo de bandas de un sólido. Así, al irradiarse se deben generar defectos como pares electrones y huecos ($e^- - h$) que se retienen en las trampas metaestables como las vacancias y las generadas por impurezas en la red del CaCO_3 . Estos pares deben recombinarse cuando se les estimula por calor (TL) o luz (PSL) y emiten señales luminiscentes. Éstas a su vez, darán información de las muestras si fueron o no irradiadas, así como permitirán el análisis de su propiedad TL y PSL. Para la ionización del cascarón se puede usar fuentes radiactivas como de ^{60}Co y de ^{137}Cs que son emisores gamma.

Debido a que el método por PSL no necesita que la fracción mineral sea separada de la parte orgánica que compone el alimento, siendo así una técnica no destructiva para un alimento entero, aunado a que ofrece resultados en un corto lapso de tiempo, se esperaría fuera una alternativa al método de TL para la detección de huevos irradiados.

CAPITULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1 COMPOSICIÓN Y APORTE NUTRICIONAL DEL HUEVO

Un huevo está formado, básicamente, por una yema central (31%) rodeada por el albumen o clara (58%) y todo ello envuelto por una cáscara externa (11%) (Barroeta, 2008)

La clara está formada principalmente por agua y proteínas. La yema es la porción amarilla del huevo; está formada por lípidos y proteínas, y es la mayor fuente de vitaminas y minerales del huevo. Está recubierta por la membrana vitelina que la separa de la clara y la protege de una posible rotura. Las chalazas son dos filamentos helicoidales de color transparente-blanquecino, que se extienden desde la yema hasta los dos polos opuestos del cascarón y su función principal es la de fijar la yema al centro del huevo. Cuanto más prominente es la chalaza, más fresco es el huevo. Existen dos membranas que recubren el interior de la cáscara llamadas membrana testácea interna y externa, las cuales protegen la clara y proporcionan protección ante la penetración de microorganismos (Figura 2.1). Con el paso del tiempo, y muchas veces con la cocción, estas membranas se separan y dejan un espacio llamado cámara de aire. A medida que el huevo envejece (pierde frescura) el espacio se hace más grande (Di Marino, 2007).

El cascarón es una estructura mineralizada altamente especializada, su forma es hereditaria y contribuye al sistema de defensa frente a la contaminación microbiana del huevo. Además, es un excelente envoltorio natural que preserva el valor nutricional del huevo entero (Barroeta, 2008). Generalmente, el cascarón está compuesto por 94% de carbonato de calcio (en forma de cristales de calcita), además de otros compuestos en menor cantidad como carbonato de magnesio, fosfato de calcio, sodio potasio y otros componentes orgánicos (Antonio et al., 2011) dependiendo del tipo de aves o reptiles productores.

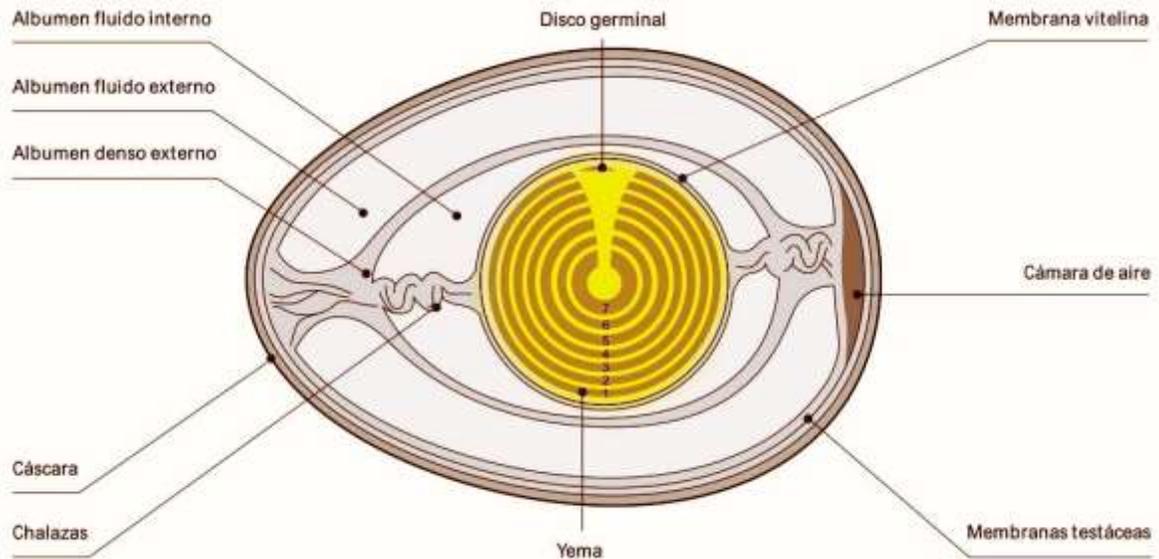


Figura 2.1. Estructura del huevo (Barroeta, 2002).

El cascarón está formado por varias capas: primero las membranas testáceas interna y externa, posteriormente una capa calcificada interna (capa mamilar), donde se encuentran los núcleos orgánicos sobre los cuales se iniciará la deposición de calcio, luego viene la capa de palizada que es la más gruesa, que representa 2/3 del grosor de cascarón. Se ha indicado que la organización de las placas de calcita que la conforman es lo que le brinda la rigidez al cascarón. La capa más externa es la cutícula, la cual tiene 10 micras que contiene la mayoría de los pigmentos orgánicos del cascarón (Barroeta, 2002).

El cascarón representa entre el 11 y 12% del peso total del huevo aunque se sabe que este valor disminuye conforme avanza la edad hasta representar entre el 8 y 9% de su peso. Es una estructura permeable: consta de 8 000 a 10 000 poros, los cuales no incrementan su número con la edad, pero sí su diámetro. Los poros están recubiertos por la cutícula, que los sella y dificulta así el paso de microorganismos (Antonio et al., 2011; Di Marino, 2007). La coloración del cascarón es dado por factores genéticos; cabe resaltar que el color no influye en la calidad o características nutritivas del huevo. El color marrón en sus diferentes tonalidades, está dado por las porfirinas, producto de la degradación de la hemoglobina en el

útero. Este fenómeno se da por la presencia de una enzima específica para este fin. La mayoría de los huevos con patrones de pigmento marrón o negro contienen protoporfirina. También se ha encontrado la presencia de biliverdina y de quelato de zinc de biliverdina en los cascarones azulados o verdosos. El pigmento proviene de la sangre y podría ser sintetizado por las células uterinas. En aves silvestres sirve como camuflaje o incluso ayuda en la regulación de temperatura. En gallinas comerciales, el pigmento tiene importancia económica por la preferencia de algunos sectores de la sociedad. Igualmente, se ha observado que los huevos marrones provenientes de gallinas comerciales son 2% más resistentes que los blancos (Antonio et al., 2011; Barroeta, 2002).

El cascarón de huevo, por sus características, no es un medio adecuado para el crecimiento bacteriano, en parte debido a sus propiedades físicas (como su estructura sólida con bajo contenido de humedad). Se han identificado también en él algunas proteínas conocidas por sus propiedades antimicrobianas (ovoalbúmina y ovotrasferrina), lo que puede explicar parte de la actividad antimicrobiana observada en los extractos del cascarón de huevo. Tales proteínas de la matriz del cascarón serían efectivas en el fluido uterino durante el período de calcificación del cascarón o en la ovoposición, cuando todavía está húmedo. La calidad del cascarón se juzga con base en la textura, color, forma, solidez y limpieza. Debe ser liso, limpio, libre de grietas, de color, forma y tamaño uniformes (Antonio et al., 2011).

El huevo es un ingrediente habitual en nuestra dieta que presenta una alta densidad nutritiva, es decir que aporta una alta proporción de las necesidades diarias de una persona en nutrientes esenciales acompañado de una baja proporción de sus necesidades en calorías. Un huevo de 60g contiene 85 kcal, lo que corresponde a 150 kcal/100g de huevo comestible (Barroeta, 2008). Se trata de un alimento valioso por la equilibrada proporción de proteínas, carbohidratos, grasas, minerales y vitaminas que contiene.

Un huevo aporta 6g de proteína, repartidos fundamentalmente entre la yema y la clara. El albumen consiste en una solución acuosa (88%) y proteica (11%). De las numerosas proteínas presentes en la clara, destacan la ovoalbúmina (54%) y ovomucina (11%) responsables de la consistencia del albumen, y la lisozima (3.4%) por sus propiedades antibacterianas. El resto de las proteínas del huevo se encuentran en la yema (16%), la cual consiste en una emulsión de agua (49%) y lipoproteínas.

Las proteínas del huevo son de alto valor biológico (94 en una escala de 100), ya que tienen una alta composición de aminoácidos esenciales que se encuentran en una proporción adecuada para cubrir las necesidades de las personas. Su calidad supera incluso a la proteína de la leche, a la del pescado y a la de la carne. Por ello, se utiliza como patrón de referencia para la evaluación de la calidad proteica de los alimentos (Millward, 2004).

El huevo contiene aproximadamente 11% de fracción grasa (6g por huevo de 60g) depositada únicamente en la yema, de la cual, 66% son triglicéridos, 28% fosfolípidos y 5% es colesterol. Destaca el alto contenido en ácidos grasos esenciales que presenta, así como un elevado nivel de fosfolípidos, aproximadamente 2g por huevo, y elevada presencia de fosfatidilcolina o lecitina. Las vitaminas liposolubles y los carotenoides forman 1% de los lípidos de la yema (Barroeta, 2008; Ortega, 2002).

El porcentaje de ácidos grasos (AG) en el huevo entero comestible es el siguiente: 3% ácidos grasos saturados (AGS), 4% ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), 2% ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y 1.4% de ácido linoleico esencial. No sólo la cantidad sino también la relación entre AG tiene una importante repercusión positiva en la salud. La relación AGPI/AGS es de 0.56-0.73, situándose por encima de los valores mínimos recomendados (0.35) (Codony, 2002).

En cuanto respecta al colesterol, el contenido medio es de 210mg en un huevo de 60g (385mg por 100g de huevo entero). Esta cantidad contribuye de manera importante a la ingesta diaria de este compuesto, lo que crea el temor de padecer de enfermedades cardiovasculares y niveles altos de colesterol en la sangre. Sin embargo, el colesterol de la dieta no es el principal responsable de los niveles circulantes de colesterol, sino la cantidad y el tipo de grasa ingerida, la cual aumenta los niveles de colesterol integrado en lipoproteínas de baja densidad (LDL), también conocido como “colesterol malo”. Existen estudios que delatan la escasa influencia que presenta el incluir 1-2 huevos por día en la dieta, sobre el colesterol plasmático y la ausencia de impacto significativo sobre el riesgo cardiovascular. Más aún, compuestos del huevo como los AGPI, antioxidantes (carotenoides, vitamina E, selenio), fosfolípidos (lecitina y esfingomiélin), vitaminas del grupo B y folato pueden contribuir a contrarrestar el posible efecto negativo del consumo del colesterol. Aunado a esto, dado que los huevos son alimentos de elevado valor nutritivo, limitar su consumo puede asociarse con un perjuicio nutricional y sanitario peor al que se intentaba evitar (Applegate, 2000; Barroeta, 2008; Ortega, 2002). Los compuestos presentes en el huevo con valor funcional son colina, luteína y zeaxantina.

Un huevo contiene aproximadamente 250 - 300mg/ 100g de colina, siendo la fuente alimentaria más rica de este compuesto, que está mayoritariamente integrada en el fosfolípido fosfatidilcolina o lecitina de la yema. La colina es una amina terciaria esencial, imprescindible para mantener la integridad de la membrana. Tanto la colina como el ácido fólico son donadores de grupos metilo y, junto con la vitamina B12, evitan el aumento de la concentración de homocisteína en sangre (aumento que se relaciona con el incremento de riesgo cardiovascular), ya que facilitan la transformación de homocisteína en metionina. También es importante para el normal desarrollo y funcionamiento cerebral ya que está implicada en multitud de procesos metabólicos y de síntesis de componentes celulares nerviosos (Barroeta, 2008).

La luteína y zeaxantina son pigmentos carotenoides no provitamínicos que se encuentran en la yema del huevo y aportan la coloración de la misma. Se ha demostrado que estos carotenoides tienen un importante efecto antioxidante, antimutagénico y anticarcinogénico. Se ha demostrado que la ingestión de luteína y la zeaxantina reduce el riesgo de cataratas y previene la degeneración macular ya que estos compuestos están presentes en el cristalino y la región macular de la retina, donde ejercen una acción antioxidante. El huevo es el único alimento de origen animal que aporta luteína y zeaxantina, y aunque su contenido es inferior al de algunas fuentes de origen vegetal, la biodisponibilidad es superior (Chung et al., 2004; Curran-Celentano et al., 2003).

Cabe mencionar, que el huevo contiene todas las vitaminas a excepción de la vitamina C. Las vitaminas liposolubles como la A, E, D y K se encuentran en la yema, mientras que las vitaminas hidrosolubles se encuentran en el albumen principalmente y en la yema. Un huevo cubre entre el 10 y 15% de las necesidades diarias de vitaminas A, D, B2, niacina, B12, ácido pantoténico y biotina; del resto su aporte es menor del 3-5%.

Tanto la clara como la yema contienen una amplia variedad de minerales, destacando la contribución a la ingesta diaria recomendada de zinc (4.7%), siendo éste mejor absorbido en el organismo que el aportado por alimentos de origen vegetal; además también de selenio (9.7%), hierro (10.5%) y calcio (3.9%) (Barroeta, 2008).

Está claramente demostrado que la composición del huevo puede variar debido a distintos factores como la alimentación de las gallinas, su genética y edad. Sin embargo, cambios importantes con repercusión práctica a nivel nutricional, únicamente se han descrito en los lípidos (por ejemplo ácidos grasos omega-3, CLA), las vitaminas liposolubles, como la E, y algunos minerales (yodo, cromo y selenio) lo que permite la producción de huevos enriquecidos en diferentes componentes de interés nutricional y/o funcional (Barroeta, 2008).

Existen creencias que el huevo crudo tiene mayor valor nutricional, pero esto no es así, debido a que la clara cruda contiene cantidades elevadas de ovomucoide, lo que provoca trastornos digestivos, pues interfiere la acción de la tripsina, un enzima digestivo. Además, contiene un antinutriente, la avidina, que inhibe la acción vitamínica de la biotina. Al someter la clara a calentamiento se destruyen ambas sustancias (Ortega, 2002).

Si se respeta la variedad de la dieta, aconsejada por las guías alimentarias, y las normas higiénicas de manipulación, este alimento contribuye eficazmente a conseguir una dieta saludable. Además, la consideración de su valor nutricional, precio, comodidad de uso y valor gastronómico hacen del huevo un alimento digno de recibir una elevada valoración. Como ya se ha mencionado, se le conceden incluso la categoría de alimento funcional susceptible de contribuir a mejorar la salud de los individuos que lo consumen.

2.2 EL SÓLIDO MINERAL DEL CASCARÓN DE HUEVO: CARBONATO DE CALCIO (CALCITA)

Se conocen alrededor de 170 diferentes minerales de carbonato, quienes forman parte de las sales más estables del ácido carbónico (H_2CO_3), tales como la calcita (CaCO_3) y la dolomita ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$). Otros contienen aniones adicionales, por ejemplo, compuestos químicos mezclados (sulfato-carbonatos, fosfato-carbonatos, arseniato-carbonatos, borato-carbonatos, nitrato-carbonatos, silicato-carbonatos).

Muchos minerales de carbonato son incoloros o blancos, sin embargo, los que tienen manganeso son principalmente de color rosa (rodocrosita), y con cobre son principalmente verdes (malaquita) o azules (azurita). Los carbonatos que contienen hierro son a menudo de color amarillo (ankerita y siderita) y marrón debido a que el hierro se oxida en inclusiones de óxidos e hidróxidos de hierro.

Muchos carbonatos cristalizan en el sistema romboédrico, como es el caso de la calcita (Figura 2.2.), pero también existen carbonatos ortorrómbicos y monoclinicos (Tabla 2.1). Al menos a baja temperatura, los grupos triangulares de CO_3^{2-} , no tienen libertad de rotación. La calcita y dolomita ocupan planos paralelos en los que los triángulos de CO_3^{2-} apuntan en la misma dirección. Esta característica hace que las estructuras cristalinas de los carbonatos y sus propiedades físicas sean altamente anisotrópicas, con grandes diferencias entre las propiedades paralelas y perpendiculares al eje c.

La calcita se encuentra en drusas y en monocristales de hábitos diferentes (romboédrico, prismático, laminar, y más complejo). También forma masas granulares sólidas y venillas. Sin embargo, su estructura mineral más común es romboédrica, al igual que la magnesita, siderita, y dolomita. Los cristales de calcita son generalmente transparentes o translúcidos y de color blanco. Con una dureza de 3 en la escala de Mohs, se puede rayar con un cuchillo (Wenk & Bulakh, 2004).

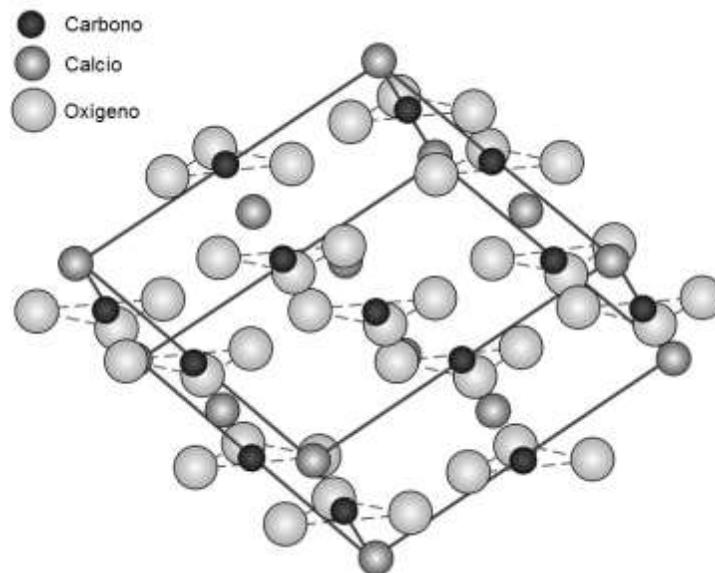
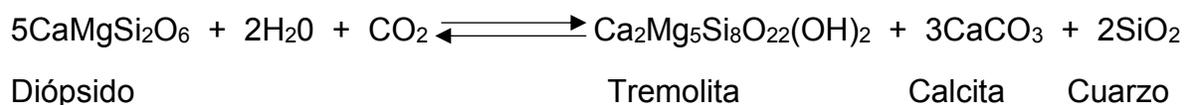


Figura 2.2. Red cristalina de la calcita (CaCO_3).

Una manera fácil de distinguir algunos carbonatos es observar su reacción con ácido clorhídrico y otras soluciones. Cuando se aplica una gota de HCl diluido, la calcita reacciona muy intensamente y se observa una "efervescencia" ($2\text{HCl} + \text{CaCO}_3 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 + \text{CaCl}_2$). La dolomita, por otra parte, sólo reacciona con ácido concentrado, mientras que la magnesita sólo reacciona cuando se calienta.

Los carbonatos más comunes, calcita y dolomita, comprenden casi 2.5% del volumen de la corteza terrestre. La calcita (CaCO_3) a menudo contiene pequeñas cantidades de magnesio, hierro y manganeso, y su fórmula química más completa sería $(\text{Ca}, \text{Mg}, \text{Fe}, \text{Mn})\text{CO}_3$, dependiendo de su origen.

La calcita es el mineral de carbonato dominante en rocas sedimentarias más recientes, se encuentra principalmente en piedra caliza. También se puede formar en depósitos hidrotermales, tanto en condiciones de temperatura baja como media en un entorno neutro-alcalino. En general, la formación de los carbonatos como una alteración hidrotermal de temperatura media, de rocas ultramáficas es común y es causada por soluciones enriquecidas en CO_2 . La reacción que ilustra la formación de calcita es la siguiente:



En condiciones superficiales, la calcita y aragonita se forman en cuevas como estalactitas y estalagmitas, que cristalizan a partir de soluciones supersaturadas. En las rocas metamórficas los carbonatos son producto de la recristalización y la alteración metasomática de las rocas sedimentarias. Por ejemplo, si las piedras calizas consisten solamente de calcita, el aumento del grado metamórfico (es decir, el aumento de temperatura y presión) va a transformar estas rocas en mármoles puros. Pero si las rocas sedimentarias primarias no son puras y contienen dolomita

y cuarzo, además de la calcita, se forman nuevos minerales estables de silicato en diferentes condiciones metamórficas (calcita y cuarzo pueden formar wollastonita).

La calcita proveniente de océanos y ríos puede originarse tanto de material terrígeno (clástico) que se transporta desde la costa o vertientes submarinas, o también puede originarse de los restos de esqueletos de organismos vivos (proceso biogénico). Esta calcita es rica en magnesio y puede transformarse en agregados de calcita y dolomita pura durante la diagénesis (una forma de metamorfismo de baja temperatura que involucra las aguas subterráneas). Sin embargo, se puede disolver en las primeras etapas diagenéticas, por ejemplo, los esqueletos de calcita de aluvión reciente se encuentran en regiones húmedas, debido a que las aguas de los ríos frescos normalmente son ácidos ($\text{pH} < 7$). De forma similar, un alto contenido de CO_2 en el agua de mar fría hace que el carbonato de calcio se disocie, razón por la cual los carbonatos no pueden existir en el agua marina por debajo de 4.2 km en el océano Pacífico y 4.7 km en el océano Atlántico (Wenk & Bulakh, 2004):



Tabla 2.1. Minerales de Carbonato (Wenk & Bulakh, 2004)

Nombre	Fórmula	Sistema	Condiciones de formación
Calcita	CaCO_3	Romboédrico	Químico, biogénico (Mg-calcita)
Aragonita	CaCO_3	Ortorómbico	Biogénico
Siderita	FeCO_3	Romboédrico	Químico
Dolomita	$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$	Romboédrico	Diagénesis
Malaquita	$\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$	Monoclínico	Químico (secundario)
Mármol	CaCO_3	Rómbico	Metamorfismo

Si bien la calcita se puede formar de todas estas maneras, la calcita que compone al cascarón de huevo proviene directamente de la gallina. A esto se le llama

biomineralización, proceso mediante el cual los organismos vivos precipitan minerales bajo un estricto control biológico, mediante una extracción selectiva y absorción de iones de un ambiente local, para formar cristales que se incorporan a estructuras funcionales (Hernández y Hernández, 2009).

En el caso del huevo, éste tiene un periodo de formación de 25 horas (Figura 2.3), donde inicialmente se desprende el saco vitalino del ovario y paulatinamente el oviducto va agregando la albúmina y una vez que el producto llega a la región del istmo, agrega las **membranas testáceas** (Figura 2.4 a). Antes de abandonar esta región, comienza la calcificación: sobre la membrana testácea externa se depositan los **botones mamilares** (Figura 2.4 a, d, e). Éstos son pequeños agregados esféricos de aproximadamente 10 µm, formados de material orgánico, principalmente anhidrasa carbónica, queratán sulfato o mamilán y ácido siálico, quienes poseen una alta afinidad por el calcio. Sobre los núcleos mamilares empezará la mineralización del cascarón, gracias a la agregación de **esferulitos de calcita** (Figura 2.4, e). El número de estos núcleos mamilares es una cuestión hereditaria y tiene implicación en la cantidad de calcio depositado. Esta etapa inicial continúa hasta que los esferulitos adyacentes se funden y a partir de ellos surgen cristales columnares de calcita (de alrededor de 50 µm de ancho y 400 µm de alto en el huevo de gallina) que componen la **capa palizada** (Figura 2.4, a, b, c) (Antonio et al., 2011; Barroeta, 2002).

Posteriormente, en el útero, sigue la mineralización para formar el cascarón compacto, proceso que tarda unas 20 horas. Durante este proceso, hay cambios en el balance ácido-base de la gallina y se producen iones carbonato (CO₃²⁻). Esto es debido a que las glándulas epiteliales del útero, llamadas glándulas coquiliales, suministran anhidrasa carbónica, que produce una alta concentración de estos iones carbonato, a partir de bicarbonato o de dióxido de carbono metabólico. De esta forma, la enzima cataliza la reacción que produce carbonato de calcio y protones.



Como consecuencia de la producción de estos protones, las gallinas incrementan su actividad respiratoria por jadeo (acidosis metabólica), al tiempo que las glándulas coquiales excretan los protones hacia el riñón, haciendo que la orina del animal sea ácida durante el proceso de calcificación del cascarón (Hernández y Hernández, 2009).

Además, las glándulas coquiliares se encargan de transportar iones de calcio de la sangre a la luz del útero, con la ayuda de un transportador específico llamado calbindina. Este calcio proviene principalmente del duodeno y yeyuno, y de forma indirecta, del hueso medular mediante un proceso de reabsorción ósea. Durante el día se aprovecha el calcio de la dieta, mientras que durante la noche al escasear, se utiliza el proveniente del hueso medular (Antonio et al., 2011). El fluido uterino también contiene los precursores de las proteínas que constituyen la matriz orgánica de la cáscara. La parte orgánica representa un 2 % del total de la cáscara y está constituida por una mezcla de proteínas y glucoproteínas (70 %) con un 11 % de polisacáridos. Esta matriz se integra en el crecimiento de las columnas de calcita, dando elasticidad y consistencia a la cáscara (Barroeta, 2002).

Durante las primeras horas la tasa de deposición de carbonato es muy lenta, posteriormente incrementa hasta llegar a 330 mg/h. La calcificación del cascarón se da mientras el huevo se encuentra bañado en el fluido uterino. En este fluido, el calcio y los iones bicarbonatos se encuentran en concentraciones tan elevadas (sobresaturación) que el producto de solubilidad de la calcita es superado cien veces, lo que favorece su precipitación. No obstante, esta concentración elevada se mantiene en la fase terminal, superando hasta 60 veces el producto de solubilidad del carbonato cálcico. Por lo tanto, cuando ya está prácticamente formado el cascarón, las células del útero terminan la secreción de ovoglicanos y comienzan a secretar iones fósforo. Ambos procesos buscan detener la secreción de calcio por parte de las glándulas del útero al modificar el pH uterino (Antonio et al., 2011). Se tiene la hipótesis de que un compuesto orgánico fosforilado hace que sus grupos fosfato compitan por el ion calcio, produciendo hidroxapatito (fosfato de calcio), que

aparece en cantidades traza en la superficie externa de la cascara. Durante las dos últimas horas de formación del cascarón, se deposita la **cutícula** (Figura 2.4 a) que lo recubre, para finalmente expulsar el huevo hacia la vagina de la gallina (Hernández y Hernández, 2009).

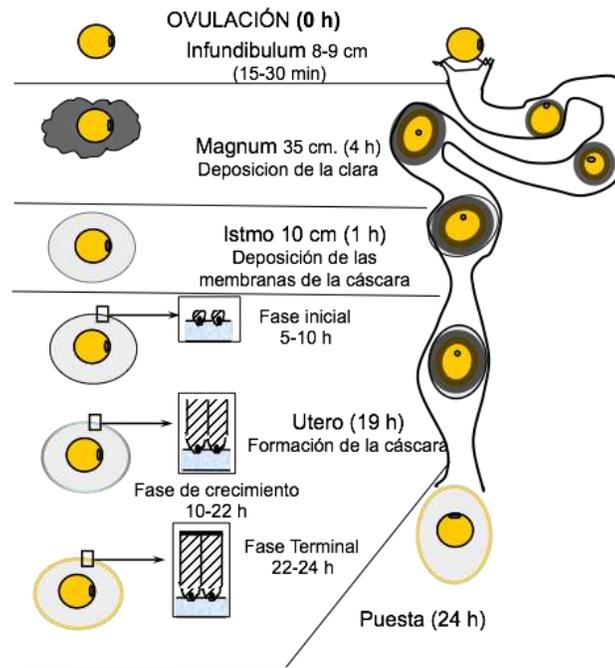


Figura 2.3. Esquema de la formación del huevo. (Obtenido de Cristales: <https://cristales.fundaciondescubre.es/?lang=es>)

La ultraestructura de la cáscara de huevo se caracteriza por estar formada por unidades columnares de cristales de calcita que tienen un cierto grado de orientación preferencial. Tanto la estructura columnar y la orientación preferencial de los cristales es el resultado de un proceso de crecimiento competitivo de cristales, debido a que estos crecen simultáneamente y compiten con los cristales adyacentes por el espacio disponible que tienen para crecer, con lo cual el crecimiento está restringido lateralmente y hace que los cristales crezcan sólo hacia arriba, desarrollándose una estructura columnar. Al mismo tiempo, el crecimiento de determinados cristales está favorecido por su orientación. Si éstos se encuentran orientados con las direcciones de máxima velocidad de crecimiento (el eje c en el

caso de la calcita) en vertical, avanzando más rápidamente y bloqueando el crecimiento de los cristales con una orientación más desfavorable. Esto hace que se desarrolle una orientación preferencial o textura fibrosa de los cristales que componen la cáscara de huevo o que se orientan con el eje c perpendicular a la superficie externa de la cáscara.

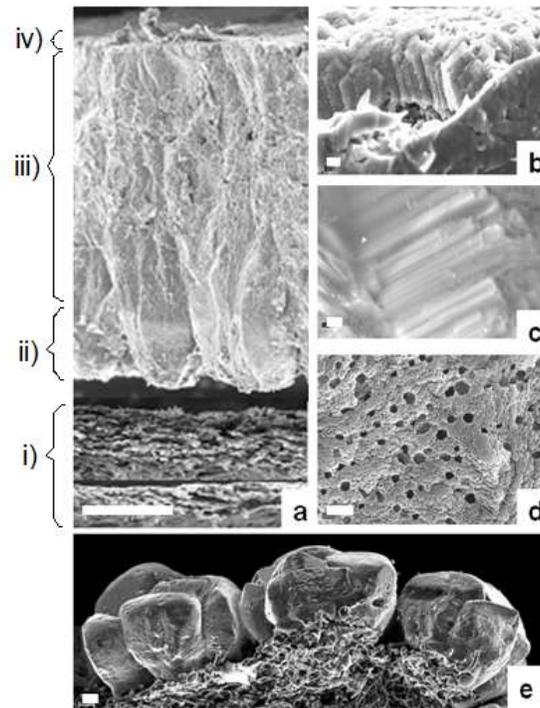


Figura 2.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de una sección transversal de cáscara de huevo de gallina. **a)** partes estructurales que componen el cascarón: (i) membranas testáceas, (ii) capa mamilar y esferulitos, (iii) capa de cristales columnares de calcita (capa palizada), (iv) cutícula; **b)** capa de cristales columnares depositados sobre la capa palizada; **c)** detalle de la capa palizada; **d)** detalle de un núcleo mamilar; **e)** inicio de la calcificación, donde se miran los esferulitos formando la capa mamilar depositada sobre las membranas testáceas (Rodríguez-Navarro & García-Ruíz, 2000).

2.3 ECONOMÍA DEL HUEVO (PRODUCCIÓN Y CONSUMO)

De acuerdo con datos del primer estimado elaborado por la Dirección de Estudios Económicos de la Unión Nacional de Avicultores, al final de 2015 la avicultura en

México produjo 5'824,393 toneladas de alimento (Tabla 2.2), de las cuales 2'637,581 toneladas corresponden a la producción de huevo para plato (Figura 2.5 a). La avicultura participó con 63.6% de la producción pecuaria en el país, 34.7% de la cual fue aportada por el pollo, casi 29% por la producción de huevo y 0.1% por la de pavo (Tabla 2.3).

La reacción oportuna nacional en el tema de producción de huevo obedece a la oportunidad que se abre para ocupar un puesto privilegiado en los países abastecedores de este producto en el mercado internacional, negocio cuyo valor mundial se estima en 100 000 millones de dólares (Bezies, 2016). A nivel mundial México ocupa el sexto lugar (Figura 2.5 b) en la producción de huevo (4.7%), detrás de China (45.2%), Estados Unidos (9.5%), India(8.2%), Rusia (5.0%) y Japón (4.9%) (Isaías & Lozano, 2014). Los estados productores de huevo son: Jalisco 55%, Puebla 15%, Sonora 8%, La Laguna 5%, Yucatán 4%, Sinaloa 3%, Nuevo León 3% y Guanajuato con 2% (Barroeta, 2008).

Además, nuestro país es el principal productor de huevo en Latinoamérica. El desarrollo de la producción en América del Sur, liderada por Brasil y seguido por Colombia, Argentina, Perú y Chile, se hace evidente al consolidarse en países emergentes en la producción avícola de huevo para plato que abastece esta región. El mercado Europeo ha sido satisfecho por los países productores cercanos, principalmente Turquía, que aprovechando su ubicación ha mantenido un crecimiento importante de esta actividad (Bezies, 2016).

La comercialización de huevo para consumo humano se realiza de tres maneras: 80% se comercializa a granel en los mercados tradicionales y centrales de abasto, 14% en tiendas de autoservicios en envases cerrados y el 6% restante se destina al uso industrial (Isaías & Lozano, 2014).

Por otra parte, México se mantiene como el primer consumidor de huevo fresco a nivel mundial. Al cierre del año 2015, el consumo per cápita de huevo llegó a 22.3 kg (Figura 2.6).

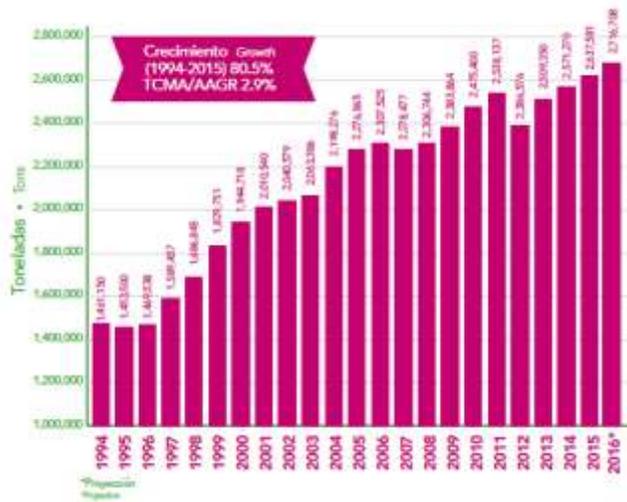
La comunidad económica europea es el mercado destino más importante de las exportaciones de huevo, en el cual se lleva a cabo 58% de las mismas, siendo Alemania el principal importador, que durante el 2013 importó 373 000 toneladas, seguido por Holanda e Italia. La comercialización de huevo en estos países mantiene implícitos beneficios de arancel cero que permiten un desplazamiento más eficiente y rentable de la producción hacia el mercado destino. No obstante, medidas restrictivas con enfoque a regular la producción con un fundamento proteccionista de maltrato animal han hecho que estos niveles de producción y comercialización se retraigan de origen.

En el contexto internacional, la producción de huevo se ha caracterizado por una mayor participación de países que han adoptado la avicultura para la producción de huevo para plato como una alternativa alimenticia importante.

En este panorama, los países desarrollados se han retirado paulatinamente de la actividad, lo cual propicia una oportunidad adicional para países que cuentan con las condiciones para incrementar su capacidad instalada, sustentando una actividad económica que aporte huevo para su consumo interno y, en su momento, participen en el mercado internacional (Bezies, 2016).

Tanto en la incubación como en el huevo para plato su calidad desempeña un papel preponderante. Los problemas de cascarón provocan grandes pérdidas económicas a nivel mundial: cerca del 10% de la producción total de huevos se descarta por esta causa y de esta cifra, 7 u 8% corresponden a ruptura. Estas pérdidas se produjeron solo entre la puesta y el empaque, sin contar las pérdidas durante el transporte al consumidor final.

a)



b)

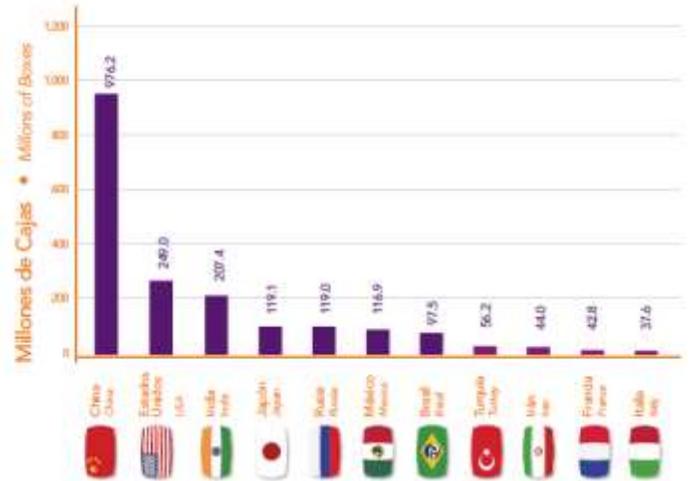
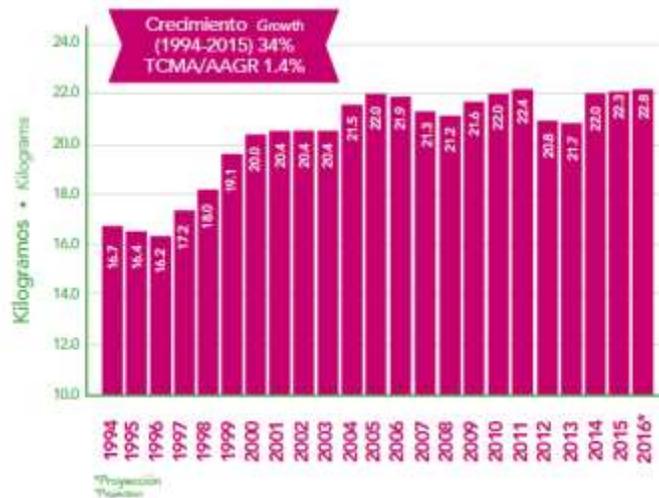


Figura 2.5. Producción de huevo (Unión Nacional de Avicultores, 2014): a) en México, b) Principales países productores en 2015.

a)



b)

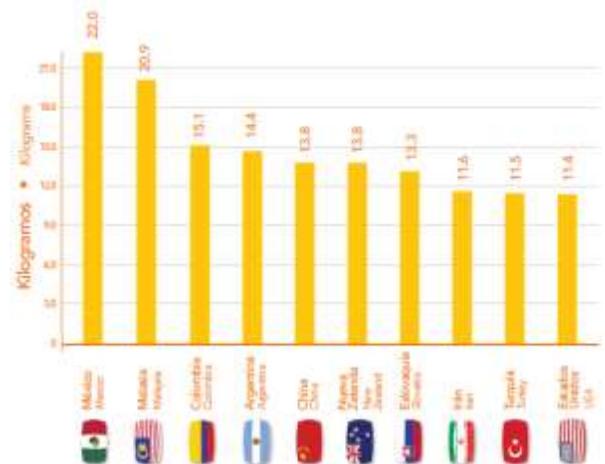


Figura 2.6. Consumo de Huevo(Unión Nacional de Avicultores, 2014): a) Consumo per cápita en México, b) Principales países consumidores en 2015.

Tabla 2.2. Producción industrial avícola 2015 en México

<i>Producto</i>	<i>Volumen (Toneladas)</i>	<i>Valor (Millones Pesos MXN)</i>
<i>Huevo</i>	2,637,581	52,085
<i>Pollo</i>	3,175,010	78,428
<i>Pavo</i>	11,802	602
Total	5,824,393	131,115

Tabla 2.3. Producción pecuaria 2015 en México

Producto	Producción (%)
Huevo	28.8
Pollo	34.7
Pavo	0.1
Res	20.2
Puerco	14.4
Ovino	0.6
Caprino	0.4
Miel	0.7

2.4 HIGIENE Y SEGURIDAD SANITARIA (ASPECTO MICROBIOLÓGICO)

El huevo, como ya se ha mencionado, es un alimento rico en nutrientes, pero no sólo para el ser humano sino lo es también para los microorganismos, especialmente bacterias como *Salmonella*, quienes eligen medios apropiados para desarrollarse.

Las salmonelas son bacterias Gram negativas pertenecientes al género *Salmonella* de la familia *Enterobacteriaceae*. Su hábitat es el intestino de los animales vertebrados (mamíferos, incluyendo el hombre, y aves). En la actualidad se conoce que existen 2 especies, *S. entérica* y *S. bongori*, dentro de la primera hay 6

subespecies. *S. entérica entérica*, *S. entérica salamae*, *S. entérica arizonae*, *S. entérica diarizonae*, *S. entérica houtenae* y *S. entérica indica*. En la subespecie *S. e. entérica*, se incluyen más de 2,400 serotipos o serovariedades que con frecuencia, se confunden con la especie y se designan como tales.

Se presentan en forma de bacilos cortos, no esporulados y móviles debido a la presencia de flagelos numerosos que rodean totalmente la bacteria (flagelos periféricos), aunque algunos serotipos son inmóviles. Son microorganismos anaeróbios facultativos, se cultivan a 37°C por 24h, y forman colonias pequeñas, convexas y brillantes (Rodríguez Ferri, 2006).

Existen salmonelas que están adaptadas a cierto tipo de hospedador, como es el caso de los serotipos móviles *S. e. Gallinarum* y *S. e. Pullorum*, que afectan a las aves. Ambas colonizan el íleon distal y el ciego de estos animales. Solamente el primero causa enfermedad grave en aves de 3 semanas o más. El biotipo *Pullorum* produce alta mortalidad en pollitos mientras que en adultos, que raramente produce síntomas, puede producir caída de puesta, pérdida de peso, diarrea, lesiones y anomalías del tracto reproductor, lo que permite que se transmita verticalmente a través del huevo a los pollitos.

Desde el punto de vista de la salud pública, son mucho más importantes las salmonelas que se consideran inespecíficas y son responsables de cuadros de gastroenteritis transmitidas por alimentos, como el huevo, en el que se encuentran *S. e. Enteritidis*, *S. e. Typhimurium*, *S. e. Newport*, etc. Estos serotipos son invasivos y móviles, y utilizan a las aves como vehículo principal, aunque el primero es el que más se relaciona con las toxiinfecciones alimentarias humanas debidas al consumo de carne de pollo y especialmente huevos contaminados. El contagio sucede por vía oral (contagio oral-fecal) implicándose, el consumo de agua o alimentos contaminados, siendo críticos, la dosis infecciosa (valores de 10^3 a 10^6 UFC son suficientes para causar una infección), el estado inmune del hospedador, entre otros.

Los efectos que *S. e. Enteritidis* y *S. e. Typhimurium* producen en las aves dependen de su edad. En los pollitos son causa de enfermedad sistémica, con alta mortalidad, pero en aves de más edad y adultas, la infección es persistente, asintomática, de portadores subclínicos, con fuerte colonización intestinal y eventuales situaciones transitorias sistémicas de carácter leve. Los ciegos son los lugares principales de colonización y el origen de la contaminación horizontal, siendo causa de la contaminación superficial de la cáscara de los huevos durante la puesta, sin que se descarte la retrocontaminación del tracto reproductor, lo que produciría huevos ya contaminados (Rodríguez Ferri, 2006).

Como ya se ha dicho, esta bacteria vive en la cloaca de la gallina (el lugar por donde sale el huevo) y/o en los ovarios del ave. En el primer caso la salmonella puede infectar la cáscara pero no el interior del huevo. En el segundo caso ese huevo ya viene con la salmonella adentro. Pero en nuestro país, los productores de huevo tienen la obligación (determinada por una ley del SENASA) de tener en sus granjas el control de un veterinario, que es el responsable de la salud de las aves, el lugar donde se crían, etc. (Di Marino, 2007).

La primera intervención de la industria del huevo para mejorar la seguridad microbiológica de los huevos líquidos es la pasteurización, la cual proporciona una reducción de 5 a 12 log en *S. enteritidis* y *S. typhimurium*, pero alcanzaría menos de una reducción de 4 log en cepas de Salmonella resistentes al calor tal como *S. senftenberg*

Por otra parte, la irradiación, proceso de exponer un material a una fuente controlada de radiación ionizante (fotones gamma, rayos x, haces de electrones o llamados electron-beam), puede ser una alternativa atractiva en lugar de la pasteurización de los productos del huevo. Es una tecnología segura y eficaz que puede ser utilizada para inactivar patógenos que se encuentran contaminando los alimentos y reducir la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos en las

poblaciones en riesgo, sin aumentar la temperatura del medio irradiado (Arvanitoyannis & Stratakos, 2010)

La contaminación microbiana de los huevos genera un gran problema en la industria avícola, ya que produce mermas importantes y por lo tanto tiene implicaciones económicas. Por todo lo anterior, es necesario desarrollar y aplicar metodologías que garanticen un producto seguro con la preservación de sus principales propiedades.

2.5 CAMBIOS FISICOQUÍMICOS EN EL HUEVO IRRADIADO

La irradiación de los huevos con 2 o 3kGy reduce la contaminación bacteriana a niveles no detectables tanto en el cascarón como en las membranas internas (Tellez et al., 1995). Fengmei y colaboradores (2000) reportaron que una dosis de 2kGy no tuvo efecto significativo en los componentes nutrientes del huevo líquido congelado. También hay estudios que señalan que la irradiación gamma en combinación con calentamiento podría ser un método eficaz para reducir las propiedades alergénicas de huevos derivados de ovomucoide y ovoalbúmina (Lee et al., 2002).

En lo que se refiere a la viscosidad, una dosis de 2 kGy, es suficiente para reducir la contaminación a niveles no detectables. Parece tener los mismos efectos sobre los productos de la clara de huevo que la pasteurización térmica, pues en ambos tratamientos, la viscosidad de las claras se ve muy reducida. Más aún, se ha reportado que las claras de huevo irradiadas tienen una viscosidad más estable que las muestras pasteurizadas térmicamente (Wong et al., 1996). Altas y bajas dosis de radiación (0.5 y 5 kGy) no parecen afectar la viscosidad de productos de yema de huevo (Pinto et al., 2004).

Por otro lado, Pinto y colaboradores (2004) señalaron que la irradiación del cascarón de huevo parece no tener ningún efecto en el patrón de proteínas de la yema, independiente de la dosis de irradiación. En lo que se refiere a la clara, parece que

hay una ligera degradación de las proteínas de mayor peso molecular con una dosis de irradiación de 5 kGy. Sin embargo, no hay degradación de la principal proteína (albúmina) de la clara. Estos resultados concuerdan con las investigaciones de Hajós y colaboradores (1990), quienes estudiaron el efecto de dosis de irradiación de 1, 5, 6 y 12kGy en el patrón del polipéptido de huevo. Los autores observaron sólo ligeros cambios con respecto a las masas moleculares de las zonas de proteínas y que la escisión de las cadenas de proteínas no es significativo.

También, Pinto y coautores (2004) indican que la pasteurización de los productos de la clara de huevo no induce la degradación de proteínas, ni tampoco lo hacen dosis de irradiación de hasta 2 kGy, pero se observó una ligera degradación con una dosis de 5 kGy. La pasteurización o irradiación de los ovoproductos no induce la degradación de proteínas en los productos de yema de huevo. Además, no encontraron diferencias en los fosfolípidos de los productos de yema de huevo pasteurizados, irradiados y no irradiados, lo que sugiere que los fosfolípidos no se ven afectadas por la irradiación.

En cuanto a la evaluación visual de las yemas y claras de huevos con cascarrón y productos de huevo, observaron que la irradiación induce cambios de color, debido a que el color de la yema se apagó (amarillo pálido) y la clara de huevo se modificó a un amarillo turbio. Estas alteraciones eran dependientes de la dosis de irradiación y fueron más significativos para una dosis de irradiación superior a 2 kGy. Por su parte, Serrano y colaboradores (1997) informaron que una dosis de 1.5kGy no afectó el color y las características térmicas de huevos líquidos o completos. Un estudio más reciente, en el que se evaluó el efecto de la radiación gamma (1 a 4 kGy) combinado con almacenamiento en refrigeración por 14 días (Badr, 2006), mostró que a pesar de que se vio una ligera disminución en la coloración de la yema a una dosis de 4 kGy, debida al decremento significativo de carotenoides totales, no hubo una disminución en su aceptabilidad hasta el final de la prueba. Con respecto al olor de las muestras, la irradiación no afectó a la clara de huevo; tampoco la yema se vio afectada hasta una dosis de 3 kGy, sino hasta 4 kGy, aunque seguía siendo

aceptable. Por otra parte, no hubo diferencia significativa en el olor y sabor de muestras de clara de huevo revuelto, tanto irradiadas como no irradiadas. De igual forma resultó para muestras de yema de huevo revuelto, excepto a 4 kGy, donde su olor y sabor si difirieron, pero seguían siendo igual de aceptables que las muestras irradiadas a menor dosis o las no irradiadas.

Finalmente, Badr también indicó que la irradiación de la yema de huevo a dosis altas (4 kGy) causó un aumento en el contenido de ácidos grasos libres, además, la refrigeración tanto de muestras irradiadas como de no irradiadas también provoca el incremento de ácidos grasos libres. Sin duda todavía se requiere mayor investigación en las propiedades químicas del huevo.

2.6 RADIACIÓN IONIZANTE PARA ALIMENTOS

La palabra irradiación produce en las personas asociaciones a hechos no muy agradables. Para entender este proceso es preciso definir antes lo que es la radiación.

La radiación es la emisión y propagación de energía a través del espacio o de un medio material. Generalmente el término radiación o energía radiante se refiere a la radiación electromagnética; dicha radiación se clasifica de acuerdo a la frecuencia o longitudes de onda de radiación comprendida entre límites en una escala dividida en distintas regiones (Calderón, 2000).

Así por ejemplo, la región de microondas se utiliza ampliamente para calentar alimentos o bebidas, la región del ultravioleta se usa para esterilizar o minimizar efectos microbiológicos, los rayos X vienen siendo utilizados en medicina como una forma de examen menos agresiva (Figura 2.7).

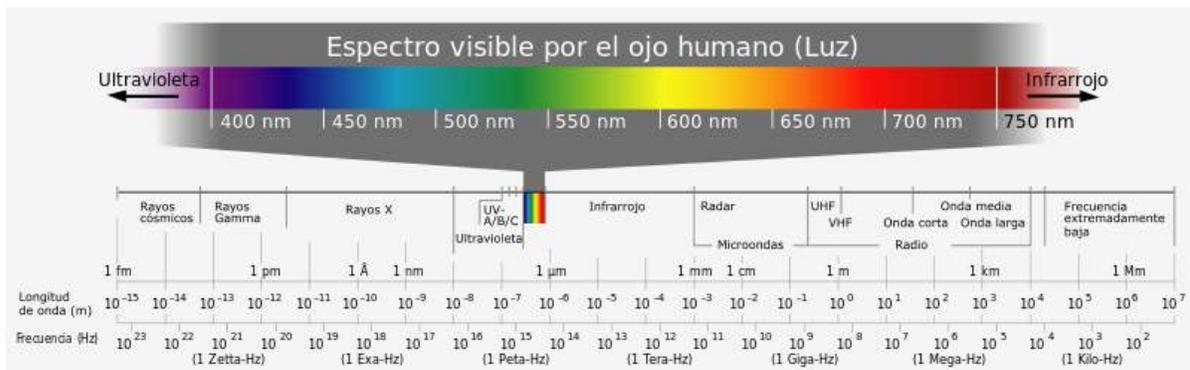


Figura 2.7. Espectro electromagnético de la radiación. La radiación gamma se estima entre 10^{-13} y 10^{-11} m de longitud de onda, y frecuencia de 10^{22} - 10^{20} Hz por lo que interacciona y logra atravesar la materia sólida.

Los rayos gamma proveniente de los isótopos ^{60}Co y ^{137}Cs , los electrones acelerados o los rayos X, se utilizan para irradiar alimentos con el fin de esterilizarlos y/o alargar su vida de anaquel. Pueden retrasar procesos de maduración, aniquilando microorganismos encargados de la putrefacción, causando la muerte o esterilización sexual de insectos, huevos y larvas, destruyendo parásitos en la comida, etc. (Calderón, 2000). Sin embargo, aún no en todos los países está permitida la irradiación o se deben cumplir ciertas normas y por ello, existen diferentes métodos de detección como lo son químicos, físicos y biológicos, para identificar si un alimento fue expuesto a la radiación ionizante.

2.6.1 Aceptación de la irradiación de alimentos

La irradiación de alimentos surgió a finales del siglo XIX cuando se descubrieron las radiaciones ionizantes, teniendo un periodo de gestación, que abarca la mitad del siglo XIX hasta finales de la Segunda Guerra Mundial.

En 1896 Minck y en 1905 Lieber, sugieren el uso de radiaciones ionizantes para destruir microorganismos en alimentos; por su parte Ludwing & Hope (1925) y Narat (1927) iniciaron los primeros estudios en dietas destinadas al consumo animal con alimentos irradiados, pero sólo se realizaba como curiosidad intelectual. En 1905

Appleby y Banks proponen la irradiación de cereales y derivados, mediante una exposición de los mismos a las radiaciones procedentes del radio o cualquier otra sustancia radiactiva. Esto ofrecía la ventaja de sustituir cualquier compuesto químico utilizado en la conservación de un alimento, además de ser un método natural, al ser considerado como una simple imitación de la naturaleza, recordando que en esa época el uso del elemento químico radio era del dominio público en toda Europa gracias al Premio Nobel de Madame Curie (Calderón, 2000; Epifanio Cruz-Zaragoza, 2004) (Calderón, 20

En 1947 Brasch & Huber, coinventores de un acelerador de electrones, citan la posibilidad de utilizar este tipo de energía para irradiar carnes, huevos, leche y artículos de uso común, aunque reconocen que pueden desarrollarse algunos cambios organolépticos, éstos podrían ser evitados combinando la irradiación con la ausencia de aire y baja temperatura.

Entre los años 1950-1960, se inician formalmente programas de investigación tanto militar como civil en esta área en Estados Unidos, la URSS, Bélgica, Canadá, Francia, Países Bajos, Polonia, República Federal Alemana y España.

En 1970, gracias al patrocinio de la IAEA (International Atomic Energy Agency) en Viena, la FAO (Food and Agriculture Organization), la OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) y más tarde la WHO (World Health Organization), se crea el "I Proyecto en el Área de la Irradiación de Alimentos" con el fin de promover la investigación en este tema en el mayor número de países posible. Es así como 24 países unen sus esfuerzos para comenzar estudios serios que permitan establecer los horizontes y límites de dosis de irradiación con esta tecnología, entre los que participó México. Los resultados de este proyecto internacional fueron evaluados a lo largo de numerosas reuniones científicas por diversos Comités de Expertos de las organizaciones ya mencionadas, concluyendo en 1980 que "*la radiación de cualquier tipo de alimento hasta una dosis máxima de 10 kGy no presenta riesgo para la salud humana*", además "*tal tratamiento no*

plantea especiales problemas nutricionales y/o microbiológicos". Algunos de los puntos citados en la serie de informes técnicos No 659 del Comité mixto FAO/OIEA/OMS de expertos (1981), que respaldan esta conclusión, se citan:

- a) Todos los estudios toxicológicos llevados a cabo en un gran número de alimentos distintos no han mostrado la existencia de efectos adversos como resultado de la irradiación.
- b) Los estudios de la química de la radiación han mostrado que los productos radiolíticos de los principales componentes de los alimentos son idénticos, sean cuales fueran los alimentos de que se deriven. Es más, para los principales componentes de los alimentos, la mayoría de los productos radiolíticos se habían identificado también en alimentos sujetos a otros tipos aceptados de procesamiento alimentario. Conocida la naturaleza y la concentración de estos productos radiolíticos, nada indica que exista un peligro toxicológico.
- c) También son dignos de tenerse en cuenta la ausencia de todo tipo de efecto adverso resultante de alimentar con piensos irradiados a los animales de laboratorio, el uso de alimentos irradiados en la producción de ganado y la práctica de mantener a pacientes inmunológicamente bajos con dietas irradiadas.

En 1969, 1976 y 1980 el Comité Mixto de Expertos sobre la comestibilidad de alimentos irradiados (CMEAI) evaluó la información existente. Las conclusiones definitivas del Comité de Expertos constituyen el resultado de años de discusiones sobre la seguridad de alimentos irradiados. La Comisión del Código Alimentario (Codex Alimentarius Commission) adoptó en 1983, en forma de una norma de carácter mundial, las conclusiones del CMEAI y elaboró un Protocolo General para Alimentos Irradiados y un Código de Recomendaciones Internacionales sobre la Práctica para la Operación en el Uso de Radiación para Tratamiento de Alimentos. De esta manera, comienza su existencia la base legal para la aceptación de alimentos irradiados.

2.6.2 La radiación ionizante

Debido a la gran confusión que hay en los términos utilizados en este campo y a la poca información que tienen los consumidores sobre el tema, se ha generado el rechazo hacia este proceso de conservación de los alimentos.

Irradiar supone la exposición de un objeto frente a una fuente emisora, con una energía tal, que puede arrancar los electrones más externos de los átomos y moléculas convirtiéndolos en iones. Cuando esto sucede, se habla de ionización y a las radiaciones que las provocan se denominan radiaciones ionizantes. Por lo tanto, la ionización de los átomos y moléculas es uno de los fenómenos que tienen lugar cuando se irradia un alimento.

Se utiliza la palabra radiación para referirnos a una de las formas de energía, que procede de alguna fuente, mientras que irradiar supone la acción de exponer algo a una fuente que proyecta o emite una cierta cantidad de energía sobre un cuerpo.

Un material o alimento podría ser radiactivo cuando en su composición intervienen radioisótopos, lo cual no se genera al exponerse a radiación gamma o rayos-X. Un alimento se dice irradiado cuando sólo viene tratado con radiación ionizante.

Es posible convertir elementos estables, en isótopos radiactivos mediante una irradiación de muy alta energía. No obstante, en las fuentes más comúnmente utilizadas para irradiar alimentos ^{60}Co (1.17 MeV¹ y 1.33 MeV) y ^{137}Cs (0.66 MeV) las respectivas energías de la radiación gamma emitida son demasiado bajas y no pueden inducir radiactividad en un compuesto. Por otro lado, los electrones o cualquier otra partícula cargada, procedente de un acelerador con energías superiores a 16 MeV, pueden inducir radioisótopos de vida corta en los alimentos

¹ El electronvoltio (eV) es la unidad de energía utilizada para medir y describir la energía de los electrones u otro tipo de radiación. Un eV es equivalente a la energía cinética adquirida por un electrón que está siendo acelerado por una diferencia de potencial de 1 voltio



(Diehl, 1990), pero está controlado. Por lo tanto el Comité de Expertos sobre irradiación de Alimentos (FAO/OIEA/OMS), establecido a instancias de la OMS en 1980 y el Codex Alimentarius (1984, vol XV), declara en su apartado 2 de Requerimientos generales para el proceso, que los tipos de radiación ionizante que pueden ser utilizados son los siguientes:

- a. Rayos gamma procedentes de los radionúclidos ^{60}Co y ^{137}Cs .
- b. Rayos-X generados por aceleradores de energías menores o iguales a 5MeV
- c. Electrones, con energías hasta 10 MeV, generados en aceleradores especiales.

Sin embargo, hoy día los aceleradores cada vez mejor diseñados y disponibles en el mercado internacional, hacen que en un futuro cercano reemplacen paulatinamente a los irradiadores con material radiactivo con la ventaja en la seguridad ante la radiación de fuentes radiactivas (Cruz-Zaragoza, 2004).

Cuando los rayos X o gamma inciden en la materia, parte de esta energía es absorbida; a ésta se le conoce con el nombre de dosis absorbida. La unidad de medida es el Gray (Gy), y representan la absorción de un Joule por kg de materia. La radiación emitida por una o varias fuentes radiactivas por unidad de tiempo, se conoce con el nombre de tasa o razón de dosis. Así, para irradiar un producto a una dosis determinada debemos, en principio, conocer la razón de dosis de la fuente, de modo que podamos calcular el tiempo necesario de exposición para alcanzar la dosis absorbida.

Algunos de los problemas que hay al momento de controlar la dosis exacta que se aplica a un alimento son: el tamaño del producto a irradiar, su densidad, el tipo de radiación utilizada y factores externos (presión, temperatura, humedad, etc.). Independientemente de esto, la dosis absorbida por un alimento se determinará utilizando sustancias naturales o sintéticas, sólidas o líquidas, cuya respuesta a la radiación es conocida, éstas son denominadas dosímetros. Los dosímetros representan la variación, idealmente lineal, de una propiedad física (como la carga, corriente, radicales, etc.) con la dosis absorbida, y este concepto (de variación de

una propiedad) suele ser un criterio para su clasificación (Albarrán et al., 2016; Calderón, 2000).

2.6.3 Ventajas y desventajas de la irradiación de alimentos

Una de las ventajas principales de la irradiación es la sustitución de tratamientos químicos y físicos como medidas de defensa contra la invasión de ciertos insectos (y las epidemias que causan) en productos, sobre todo aquellos que son importados.

Los tratamientos químicos suponen el uso de fumigantes en superficie para controlar plagas, sin embargo, la mayoría de estos agentes químicos están prohibidos o en vías de serlo, tanto en países desarrollados como en los de vías de desarrollo.

Los tratamientos físicos varían en función de la temperatura utilizada. Tal es el caso del almacenaje durante 10 a 15 días a temperaturas de entre 0.5-2°C, de productos envasados y empaquetados. Sin embargo, resulta costoso y con efectos secundarios sobre algunas frutas frescas sensibles y verduras, como la papaya y el mango. Otro ejemplo es el uso de agua o vapor de agua a 40-45°C, lo cual es útil para frutas como la naranja, pero inadecuado para la papaya, y además implica la recolección del fruto verde, afectando los parámetros organolépticos (Calderón, 2000).

El uso de la irradiación

- A dosis bajas (1 kGy) es suficiente para eliminar efectivamente moscas y otros insectos.
- Se puede aplicar a muchos productos en diversas condiciones (envasados al vacío, a baja temperatura, enlatados pre-cocinados, congelados, etc).
- Aumenta las condiciones de seguridad para el consumo de alimentos, ya que en países donde no se aplica se ha observado un incremento notable de enfermedades relacionadas con los alimentos.

- Parece ser el método más eficaz a la hora de sustituir procedimientos en alimentos que son nocivos para la salud.
- Los análisis químicos muestran que los efectos de la radiación sobre carbohidratos, grasas y proteínas tienden a aumentar con el incremento de la dosis de radiación, pero incluso en el intervalo de 10 a 50 kGy, estos efectos son tan pequeños y tan poco evidentes que los intentos para desarrollar métodos analíticos capaces de detectar si los alimentos han sido irradiados o no han tenido un éxito limitado (Diehl, 1990).

Las similitudes entre las objeciones que se tiene sobre la irradiación de alimentos son muy parecidas a las que en su momento se tuvieron sobre otros métodos de conservación y tratamiento, como por ejemplo con la pasteurización, entre ellos: se puede utilizar para enmascarar la baja calidad, es una excusa para vender productos deteriorados al tercer mundo, puede favorecer un recrecimiento de bacterias en productos lácticos, incrementa innecesariamente el precio y no es necesario en un mundo donde existen medios de transporte tan rápidos, produce variaciones organolépticas etc.

Algunos de los argumentos en contra que se le atribuyen al proceso por radiación en la actualidad son:

- No puede ser utilizado para todos los alimentos.
Esta aseveración se aplica también para cualquier otro método, pues no todos los alimentos son aptos para todos los tratamientos.
- Pérdida de vitaminas, principalmente vitamina A.
La irradiación de alimentos puede variar el contenido vitamínico de un alimento, pero ésta se puede minimizar controlando parámetros como la temperatura, atmósfera, tiempo de almacenaje, etc. En cualquier caso, la variación observada es comparable a otras técnicas de conservación de alimentos.
- Creación de radicales libres.

Las leyes fisicoquímicas que gobiernan este tipo de reacciones de formación de radicales libres son las mismas independientemente del proceso del que proceden. Esto es, energía suministrada por radiación infrarroja, microondas, UV etc. Organismos internacionales como CAST (Council for Agricultural Science & Technology) han estimado que para una dosis del orden de irradiación de 1 kGy podría traducirse en la rotura de 10 enlaces químicos por cada 10^6 de enlaces presentes, cifras similares a otros métodos como los ya mencionados. No obstante, aunque es un porcentaje bajo, es ventajoso porque puede dar lugar a roturas de ADN, con lo cual la célula pierde su capacidad reproductora, implicando así la destrucción de insectos, desactivar parásitos, retrasar procesos de maduración entre otros.

Sin embargo, hoy en día se sabe que la mayor presencia de agua, un ambiente rico en oxígeno, la dosis absorbida, o la temperatura de irradiación son condiciones favorables para generar radicales, por lo tanto su control es imprescindible.

- No desactiva enzimas ni toxinas.

Un tratamiento térmico si resulta más útil que la irradiación en ciertos productos. Sin embargo, se pueden obtener productos inalterables durante años, sin necesidad de refrigeración, si se combina, una dosis de radiación esterilizante con un tratamiento térmico para desactivar enzimas endógenas. Con relación a las toxinas, la radiación ha mostrado ser incompetente. No obstante, se usa como tratamiento preventivo, ya que reduce el número de bacterias presentes en un alimento.

- Cambios organolépticos. De igual forma, se ha constatado que el control de ciertos parámetros tales como la atmósfera presente en el momento de la irradiación (vacío o nitrógeno) así como el descenso de temperatura previa a la irradiación (congelación) minimizan o evitan estos efectos obteniéndose, en la mayoría de los casos, alimentos con buenos niveles de calidad.

2.6.4 Usos de la irradiación de alimentos

En general existen varios métodos (químicos, biológicos y físicos) para la detección de alimentos irradiados, sin embargo, los más utilizados son la termoluminiscencia (TL) y la fotoluminiscencia (PSL), y estos han sido aceptados en el comercio mundial exceptuando a los países en desarrollo donde frecuentemente no hay regulaciones claras o no existen (Calderón, 2000; CODEX STAN 106-1983). Algunas de las recomendaciones y usos que se hacen en diversos alimentos se muestran en la tabla 2.4.

Tabla 2.4. Dosis medias máximas permitidas en productos alimenticios (OMS, 1981).

Producto	Dosis máxima	Finalidad de la irradiación
Teleosteos y productos pesqueros	a) Hasta 1 kGy b) y c) Hasta 2.2 kGy	a) Controlar la infestación por insectos del pescado seco durante el almacenamiento y comercialización. b) Reducir la carga microbiana del pescado y productos pesqueros envasados y sin envasar. c) Reducir el número de ciertos microorganismos patógenos en el pescado.
Pollos	Hasta 7 kGy	a) Prolongar el tiempo de almacenamiento. b) Reducir el número de ciertos microorganismos patógenos, tales como <i>Salmonella</i> .
Cebollas	Hasta 0.15 kGy	Inhibir germinación durante el almacenamiento
Patatas	Hasta 0.15 kGy	Inhibir la germinación/rebote durante el almacenamiento.
Arroz	Hasta 1 kGy	Controlar la infestación por insectos durante el almacenamiento.
Granos de cacao	a) Hasta 1 kGy b) Hasta 5 kGy	a) Controlar la infestación por insectos en el almacenamiento. b) Reducir la carga microbiana de los granos fermentados, con o sin tratamiento de calor.

Dátiles	Hasta 1 kGy	Controlar la infestación de insectos durante el almacenamiento.
Mangos	a), b) y c) Hasta 1 kGy	a) Controlar la infestación por insectos b) Mejorar la calidad de conservación al retardar la maduración. c) Reducir la carga microbiana combinando la irradiación con el tratamiento de calor.
Legumbres	Hasta 1 kGy	Controlar la infestación por insectos en las legumbres almacenadas.
Espicias y condimentos	a) Hasta 1 kGy b) y c) hasta 10 kGy	a) Controlar la infestación por insectos. b) Reducir la carga microbiana. c) Reducir el número de microorganismos patógenos.
Frutos secos	Hasta 1 kGy	Controlar la infestación por insectos.
Muesli/Cereales	Hasta 1 kGy	Controlar la infestación por insectos.
Verduras secas	a), b) y c) Hasta 10 kGy	a) Controlar la infestación por insectos. b) Reducir la carga microbiana. c) Reducir el número de microorganismos patógenos.
Carne deshuesada	Hasta 7 kGy	a) Controlar la infestación por insectos. b) Reducir la carga microbiana. c) Reducir el número de microorganismos patógenos.
Goma arábica	Hasta 10 kGy	

Existen dosis limitadas (Tabla 2.5) que son recomendadas por la ICGFI únicamente en base a los datos tecnológicos disponibles en la literatura (International Atomic Energy Agency, IAEA, 2002). La dosis absorbida máxima aceptable se determina por las propiedades sensoriales y funcionales del producto. Sus valores se basan en la experiencia de irradiación de alimentos y se especifican por los tecnólogos de alimentos para cada combinación de proceso y producto en base a los resultados obtenidos en la investigación experimental precedente a la aplicación a escala comercial. Se debe tener en cuenta, sin embargo, que el efecto de la radiación sobre

un producto es en función de la dosis aplicada, de modo que la dosis más baja aceptable no está rigurosamente definida, pero debe derivarse de otras consideraciones. La colección de este tipo de resultados (véase la Bibliografía de publicaciones ICGFI) define GIP (Buenas Prácticas de Irradiación) en un proceso de irradiación de alimentos, lo que es lo mismo que las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) en otro procesamiento de alimentos. GIP siempre se considera una parte integral de GMP.

Tabla 2.5. Límites de dosis recomendadas por la ICGFI

Clase de alimento	Propósito	Dosis máx (kGy)	No de document o ICGFI ^a
Clase 1: Bulbos, raíces y tubérculos	Para inhibir la germinación durante el almacenamiento	0.2	8
Clase 2: Frutas frescas y vegetales (diferentes de Clase 1)	Para retrasar la maduración.	1.0	6
	Desinfección de insectos.	1.0	3, 7 ,17
	Alargar la vida de anaquel.	2.5	6
	Control de cuarentena ^b .	1.0	7 ,13, 17
Clase 3: cereales y sus productos molidos, nueces, semillas oleaginosas, legumbres, frutos secos	Desinfección de insectos.	1.0	3, 20
	Reducción de la carga microbiana.	15.0	3 ,20
Clase 4: Pescado, mariscos y sus productos (frescos y congelados)	Reducción de ciertos microorganismos patógenos ^c .	5.0	10
	Alargar la vida de anaquel.	3.0	10
	Control de infección por parásitos ^c .	2.0	10

Clase 5: aves de corral crudas y carne y sus productos (frescos y congelados)	Reducción de ciertos microorganismos patógenos ^c .	7.0	4
	Alargar la vida de 1.anaquel.	3.0	4
	Control de infección por parásitos ^c .	2.0	4
Clase 6: legumbres, especias, condimentos, alimentos para animales, hierbas secas y tés herbales	Reducción de ciertos microorganismos patógenos ^c .	10.0	5, 19
	Desinfección de insectos.	1.0	5, 19
Clase 7: Alimentos secos de origen animal	Desinfección.	1.0	9
	Control de moho	3.0	9
Clase 8: Diversos productos alimenticios, incluyendo, pero no limitando a, miel, alimento espacial, alimento de hospital, raciones militares, especias, <u>huevo líquido</u>, espesantes	Reducción de microorganismos.	>10	
	Esterilización.	>10	
	Control de cuarentena.	>10	

^a Ver la lista de los documentos ICGFI

^b La dosis mínima puede estar especificada para una plaga en particular. Para esterilizar a los mosquitos de la fruta, la dosis mínima es al menos 0.15 kGy.

^c La dosis mínima puede estar especificada dependiendo del objetivo del tratamiento para asegurar la calidad higiénica del alimento.

Notas:

1. El producto agrupado dentro de las clases (excepto Clase 8) es de composición química similar
2. Los límites de dosis máxima han sido establecidos para una buena práctica de irradiación y no desde el punto de vista de seguridad alimentaria.

Por otra parte, la FDA en el Código de Regulaciones Federales indica los usos y limitaciones de la radiación ionizante para el tratamiento de alimentos, entre los que destaca que para el control de *Salmonella* en cascarones de huevo fresco no se debe exceder 3.0 kGy.

Así, para el control de los patógenos transmitidos por alimentos en los productos avícolas crudos frescos (refrigerados o no refrigerados) o congelados, que son: (i) canales enteras o porciones inconexas (u otras partes) de dichas canales que son "aves de corral listas para cocinar" en el sentido del 9 381.1 CFR (b) (con o sin condimento no fluido, incluye, por ejemplo, aves de corral de tierra), o (ii) de productos de ave de corral separados mecánicamente por ejemplo, un ingrediente finamente troceado producido por el deshuesado mecánico de canales de aves o partes de las canales, no debe exceder la dosis 4.5 kGy para productos no congelados; y que no exceda de 7.0 kGy para productos congelados.

2.6.5 Efectos de la radiación en alimentos

Un alimento está compuesto por una serie de nutrientes, los cuales se clasifican en macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes son aquellos que suministran la mayor parte de la energía al metabolismo como los carbohidratos, proteínas y lípidos. Por otra parte, los micronutrientes son aquellos que el organismo necesita en pequeñas dosis pero que son indispensables para los procesos metabólicos; entre ellos se encuentran las vitaminas, minerales, elementos traza, enzimas y ácidos orgánicos.

El efecto que una radiación ionizante tiene sobre cada uno de estos componentes es muy variado, debido a la naturaleza tan distinta de ellos y depende además de una serie de variables intrínsecas (pureza, presencia del compuesto solo o en compañía de otro, etc.) y extrínsecas (temperatura de irradiación, presencia de atmósfera controlada, etc.).

La energía que caracteriza una radiación gamma es tan elevada, en términos relativos, que pasa normalmente a través de cualquier alimento que vaya a ser

tratado, siendo una fracción de la misma absorbida o dispersada por las moléculas. La absorción de esta energía se traduce en la expulsión de electrones de los últimos niveles moleculares y, en ocasiones, en la rotura de enlaces en las moléculas; de esta manera, puede causar **ionización** por pérdida de un electrón creando así *iones* (cationes y aniones), la **disociación** por ruptura de un enlace creando *radicales libres*, o parte de la energía puede ser aprovechada generando moléculas excitadas. A estos compuestos generados se les denomina productos radiolíticos y al proceso por el cual se generan se le llama radiólisis, estos efectos se les conoce como primarios.

Los electrones libres emitidos son entidades muy reactivas y pueden:

- a) Recombinarse con otros iones catiónicos recientemente formados volviendo así la molécula a su estado original.
- b) Reaccionar con otros componentes en el alimento y generar nuevos iones y radicales libres
- c) Estabilizarse en materiales cristalinos o matrices de polímeros.

Además, tienen lugar otro tipo de reacciones cuando se irradian los alimentos, llamadas reacciones secundarias, las cuales son cambios que a muy pequeña escala tienen lugar en un alimento.

Mientras que los efectos primarios son altamente inespecíficos, los efectos secundarios, que dependen de estructuras químicas, físicas (sólidos) son muy específicos. Los cambios químicos, físicos y biológicos, a pequeña y gran escala, que se producen al irradiar un alimento constituyen la base principal de los métodos de detección existentes para la discriminación de productos irradiados. Sin embargo, esto es verdadero para medios donde el agua (o cualquier otro líquido) desempeñe un papel importante. En sólidos, muestras congeladas o en aquellas que tienen una estructura polimérica, tales como la celulosa o las proteínas, estos radicales secundarios se tienden a estabilizar en defectos o trampas.

Los sólidos que están presentes en alimentos se pueden clasificar en:

- Propios: forman parte esencial de los mismos
- Extrínsecos: su presencia es intencional o no, pero no forman parte básica de los mismos. Éstos a su vez se clasifican en
 - a. De adición: suelen añadirse para mejorar aspectos organolépticos, por ejemplo, la incorporación intencionada de NaCl (halita) en quesos.
 - b. Contaminantes: se incorporan naturalmente o en algún proceso durante la fabricación del alimento, como ocurre durante el crecimiento y secado con el viento de especias. Algunos de estos minerales son la calcita (CO_3Ca), el cuarzo (SiO_2), etc., los cuales se pueden incorporar a un sólido ya existente, o bien, a éstos se les pueden agregar iones impurezas o dopantes que existen en el ambiente, volviendo así, compleja sus respuestas TL o PSL.

Como ya se ha mencionado, cuando una radiación ionizante interacciona con la materia, ioniza los componentes (átomos y moléculas) de la última. Los electrones y huecos generados tienden a viajar por la banda de conducción del sólido hasta que se estabilizan en trampas. Una trampa, en realidad es un defecto en el sólido que puede ser causado por una impureza (ion extraño a la red) o un átomo ionizado.

Un defecto representa cualquier anomalía (composicional, estructural, vibracional) presente en un cristal, la cual no puede predecirse por la teoría clásica del cristal reticular. Hay defectos generados a escala atómica, por ejemplo, la sustitución de un átomo por otro, otros generados a nivel electrónico como es la generación de una vacante por expulsión de un electrón, o incluso hay defectos vibracionales por ejemplo, la modificación de modos vibracionales de un átomo o molécula.

Los defectos en un sólido vienen clasificados en función de la dimensión o número de átomos o moléculas que afectan, así se tienen:

- 1) PUNTUALES. Defectos que afectan a un átomo o a un número reducido de ellos

- a. Intrínsecos: Su aparición tiene lugar en un cristal con una composición química definida y son considerados como propios o característicos de esa estructura.
- a.1. *Vacantes*. Es la ausencia de un átomo o ion en la red cristalina
 - i. **Aniónica**. Átomo o ion cargado negativamente (anión)
 - ii. **Catiónica**. Átomo o ion cargado positivamente (catión)
 - iii. **Electrónica**. Representa la ausencia de un electrón atómico en cualquiera de los niveles considerados. Su ausencia se considera como un exceso de carga positiva o, lo que es lo mismo, la aparición de un hueco.
 - a.2. *Intersticial*. Representa un átomo en posición no equivalente de la estructura
 - a.3. *Antisitio*. Es un ion que ocupa un lugar “equivocado” en la red
- b. Extrínsecos: Implica la existencia de átomos extraños en la red.
- b.1. *Impurezas*. Representan la existencia de un átomo extraño en la estructura de un compuesto que viene definido por una composición química determinada tales como su radio iónico, reactividad, propiedad óptica o de luminiscencia, etc.
El concepto de impureza es cualitativo, es decir, no es estrictamente necesario que exista una gran concentración de átomos o que éstos tengan que ser detectados por un método determinado
- c. Asociación de defectos:
- c.1. *Schottky*. Representa la ausencia de cationes y aniones de sus posiciones normales en la estructura cristalina. El número total de vacantes de tipo catiónico debe ser igual al número de

vacantes aniónicas, es decir, representa un par de vacantes de signo opuesto.

c.2. Frenkel. Representa también un defecto de tipo dual pero en este caso se tiene la ausencia de un catión o anión de su lugar normal en la red y su localización en un lugar no equivalente de la misma, es una asociación vacante intersticial.

- 2) LINEARES. Afectan a una fila reticular
- 3) PLANARES. Representan una anomalía que afecta a un plano reticular, en generales se les conoce como politipos
- 4) TRIDIMENSIONALES. Afectan a un conjunto de átomos o a parte de una estructura cristalina.

2.7 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ALIMENTOS IRRADIADOS

Aunque en un principio la oferta de métodos propuestos para identificar productos irradiados era elevada, hoy en día se ha llegado al convencimiento de que la mayoría de métodos propuestos son de limitada aplicación salvo dos: Termoluminiscencia (TL) y Resonancia de Espín Electrónico (EPR). En la identificación existen tres etapas:

La primera tiene lugar durante o inmediatamente después de que la irradiación produzca sus efectos, la segunda mientras el fenómeno es preservado como una memoria de la ionización, y la tercera es la medida.

Idealmente un método de detección debe ser específico para la irradiación, además, el cambio inducido deber ser lo suficientemente grande para que sea posible medirlo y detéctalo a lo largo de la vida propia del alimento. En algunos casos no se requiere que el método sea cuantitativo, mientras que en otros es esencial (Calderón, 2000).

Algunos puntos a tomarse en cuenta para elegir el método de detección son:

- a) Su selectividad para detectar ingredientes irradiados mezclados con alimentos no irradiados.

- b) Dependencia del resultado con las variables del proceso: tasa o razón de dosis, temperatura, etc.
- c) Dependencia de las variables de almacenamiento antes y después de la irradiación.
- d) Precisión y reproducibilidad.

Los métodos para detectar alimentos irradiados se pueden clasificar en: métodos del ADN, métodos biológicos y microbiológicos, métodos químicos y métodos físicos.

Brevemente diremos que los métodos del ADN, representan un conjunto de estrategias que tienen en común la medida de algún parámetro fisicoquímico o biológico que se produce en el ADN como consecuencia de la irradiación, siendo precisamente estos cambios los que producen los efectos deseados en los alimentos, es decir, se trata de utilizar el efecto producido en el ADN como posible biomarcador para la detección de alimentos irradiados, así se tienen la fluorescencia, ensayos inmunológicos, electroforesis, etc.

El método biológico, toma como criterio la reducción o destrucción de patógenos, y es precisamente esta variación uno de los principales objetivos de la irradiación. Sin embargo, este método tiene el inconveniente que varía el número de microorganismos con el tiempo, de forma que los resultados dependen del tiempo transcurrido entre la irradiación y la observación de la muestra en el laboratorio. Entre los biológicos están: medidas de epifluorescencia, método del test ELISA, histoquímicos, resistencia a la oxidación, etc. Llama la atención el método de radiosensibilidad, el cual se basa en la sensibilidad a la radiación que tienen diferentes bacterias. Se sabe que las bacterias gram positivas son más sensibles a la radiación en comparación con las gram negativas, por lo que en un recuento de bacterias presentes en la muestra, la ausencia de gram positivas más comunes, podría indicar que la muestra fue irradiada. Sin embargo, existen variaciones

consideraciones en la microbiota de una muestra, que están relacionadas con el mismo origen de la muestra y las condiciones de almacenaje (Calderón, 2000).

Por su parte, los métodos químicos tienen en común la búsqueda de compuestos característicos desarrollados en un proceso de irradiación gamma.

Sin embargo, cualquier compuesto está siempre sometido a un proceso de irradiación ambiental natural (ruido de fondo natural), al que a veces pueden acumularse las irradiaciones accidentales, tales como la iluminación ultravioleta (lámparas fluorescentes de iluminación, etc.), que pueden actuar durante largos periodos de tiempo, y son capaces de generar productos radiolíticos similares a los detectados en los alimentos irradiados. Por esta razón, el problema no está en detectar un posible marcador, sino el identificar el mismo, de aquellos niveles medios estadísticos detectados en alimentos, irradiados no intencionalmente. Por último, hay que evitar aquellos marcadores que puedan ser generados por otros métodos de conservaciones como la congelación, cocinado, deshidratación etc. Así, esta identificación se basa por ejemplo, en el análisis de hidrocarburos volátiles, determinación de o-tiroxinas, de ciclobutanos, de carbohidratos, electroforesis de proteínas, determinación de grupos sulfhidrilos, y también por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN). Ésta última, busca identificar moléculas pequeñas o fracciones de macromoléculas para detectar posibles radicales libres creados en procesos de irradiación. Es útil en la detección de pescado irradiado, frutas, verduras y cereales (Calderón, 2000).

Los métodos físicos, como su nombre lo indica, se basan en los cambios físicos que se producen en el alimento después de ser irradiados. Los métodos de detección utilizados en esta tesis se encuentran dentro de esta clasificación, por lo que a continuación se aborda más este método.

2.7.1 Métodos Físicos

Los métodos físicos se han dividido en dos categorías en función de la composición del alimento:

- Sistemas hidratados
- Sólidos

Existen diversos métodos de detección que resultan interesantes por su sencillez o economía, sin embargo, las de mayor utilidad son la termoluminiscencia (TL), la resonancia de espín electrónico (ESR) y recientemente la de luminiscencia fotoestimulada (PSL).

2.7.1.1 Sistemas Hidratados

a) Medidas de viscosidad:

Las radiaciones ionizantes pueden alterar las propiedades fisicoquímicas de los macronutrientes de un alimento (proteínas, almidón, pectinas y celulosa) como consecuencia de la rotura de cadenas de enlace o de la hidrólisis, dando como resultado un incremento de la viscosidad. Los resultados con alimentos como verduras, especias, camarones, no demuestran una clara distinción entre los irradiados y aquellos que no lo están, ya que se observó que la radiación puede inducir aumentos, descensos o ninguna variación en la viscosidad. Este método ha sido aplicado preferentemente a canela, cardamomo, cúrcuma, cola de caballo, nuez moscada, semillas de mostaza y pimienta blanca, donde parece haber existido mayor porcentaje de éxitos.

b) Detección de alimentos irradiados por calorimetría diferencial (DSC):

Se basa en la variación o desplazamiento del punto de congelación que los productos irradiados sufren frente a los no irradiados, ya que se reduce el número de puntos de nucleación en el hielo causado por radiaciones ionizantes. Se ha aplicado para la detección de setas, merluza y carnes de ave de corral irradiadas (Calderón, 2000)(Calderón, 2000).

c) Medidas de conductividad (y/o impedancia) en corriente alterna (c.a.):

Este proceso tiene su fundamento en la variación de las propiedades eléctricas de un tejido, causada por dosis altas de radiación gamma. La resistencia de los tejidos al paso de la corriente alterna (c.a.) está relacionada con la membrana

celular y el protoplasma. Experimentalmente se puede medir la impedancia, la cual es una medida de la resistencia al paso de la corriente. Sin embargo, el valor de la impedancia depende de la frecuencia con que se mida. En alimentos, no da buenos resultados medir sólo esta variable a una sola frecuencia y suelen emplearse algunas relaciones entre valores de impedancia ya conocidos. Además, se requiere un gran número de muestras y sólo se puede identificar alimentos irradiados con dosis superiores a 2 kGy.

2.7.1.2 Sólidos

a) Resonancia de espín electrónico (EPR):

La espectroscopía de resonancia de espín electrónico (ESR), o resonancia paramagnética electrónica (EPR), es un método capaz de detectar específicamente especies con electrones desapareados, es decir, que presentan la propiedad de ser paramagnéticas. Los compuestos que cumplen esto son los radicales libres, moléculas ionizadas, centros de color, defectos cristalinos, metales de transición y tierras raras, pero de todos ellos, los radicales libres son las especies que han tenido más aplicación en los alimentos.

Los radicales libres son especies químicas con un único electrón desapareado que posee, por consiguiente, un campo magnético. La interacción de dicho momento magnético con un campo magnético externo puede ser detectada, siendo este fundamento el característico de la espectroscopía de EPR. Este método puede ser aplicado de forma directa, si se detecta la presencia de radicales libres generados en los alimentos, o de forma indirecta, si se detecta la presencia de centros paramagnéticos en, por ejemplo, especies minerales que acompañan a los mismos. En el primer caso, se debe tener la certeza de que el centro paramagnético que se desea medir cumpla con los requisitos de:

1. Ser estable: que posea una vida media razonable del centro, a ser posible del orden de horas o días.

2. Existir en una concentración considerable: los radicales libres formados son tan reactivos que nunca alcanzan un grado de concentración suficientemente elevado como para detectarlos directamente por EPR.

Para evitar estos problemas, se han desarrollado algunas estrategias como congelar rápidamente las muestras, generar especies en concentraciones muy elevadas irradiando a grandes dosis y estabilizar los radicales por ejemplo, obligando al radical formado a reaccionar con otro producto para formar un radical estable.

El método de EPR se ha aplicado para la detección de huesos irradiados, pescados, crustáceos y moluscos (aplicación limitada debido a que generan señales de EPR estables pero complejas), frutas (no deja radicales libres en la piel, por lo que su rastro se sigue por vía indirecta como los minerales), cereales, además de vitaminas, especias y condimentos (Bortolin et al., 2006; European Commission, 2016).

b) Métodos de luminiscencia (TL y PSL):

La luminiscencia es un conjunto de fenómenos físicos en los cuales incide un tipo de energía sobre el material a estudiar (rayos X, electrones, ultravioleta, etc.) estimulando en el mismo, una respuesta en forma de fotones, normalmente en el visible, ultravioleta o infrarrojo, es decir, dependiendo del tipo de energía incidente, el material es capaz de emitir luz. Esta emisión puede ser detectable por un tubo fotomultiplicador acoplado a un sistema de cómputo.

La presencia de cierta cantidad de minerales contenidos en los alimentos brinda información indirecta sobre la irradiación a través del fenómeno de la luminiscencia estimulada por calor (TL) o por luz de excitación, por ejemplo usando fotodiodos en el infrarrojo, siendo ésta la luminiscencia fotoestimulada (PSL). Estos métodos, TL y PSL, se han aplicado a una variedad de alimentos, generalmente secos o frescos; entre ellos se

encuentran la canela, pimienta, cilantro, camarón, calamar, etc. (Bhatti et al., 2008; Correcher & Garcia-Guinea, 2011; Cruz-Zaragoza et al., 2012a; Cruz-Zaragoza et al., 2012b; Cruz-Zaragoza et al., 2011; Marcazzó et al., 2015). En el caso de la TL, es necesario separar la fracción inorgánica de la orgánica. En la PSL no es necesario tal separación pero el éxito de la detección depende de la concentración de minerales inorgánicos presentes en el alimento. Generalmente, la TL ayuda en la detección de PSL, y la primera es más sensible en la detección luminiscente y ofrece mayores datos de análisis, como se verá más adelante en el capítulo de resultados.

2.8 PROPIEDAD LUMINISCENTE DE UN SÓLIDO

Cuando un sólido es expuesto a radiación, almacena energía en portadores de carga atrapada en sitios estructurales, intersticiales o impurezas. La luminiscencia es la emisión de fotones cuando esta energía es liberada por la acción de un aumento en la temperatura (TL) o por la incidencia de luz (PSL). Para comprender mejor este fenómeno, se recurre a la teoría de bandas.

2.8.1 Teoría de bandas

Al acercar átomos muy separados empiezan a interactuar y se forman moléculas. Cuando la separación es infinita, los átomos son independientes y poseen niveles de energía atómicos. A medida que los átomos se aproximan entre sí, los electrones responden a la influencia del otro núcleo y de los otros electrones. Gradualmente, los electrones cambian sus estados a medida que se van juntando los átomos. El principio de Pauli es aplicable ahora a la molécula completa. Cada nivel atómico se dividirá en niveles moleculares múltiples que pueden acomodar todos los electrones que se encontraban anteriormente en niveles atómicos simples similares (Rose et al., 1978)

Al juntar átomos para formar un sólido, los electrones en los estados con mayor radio efectivo se superponen y sus estados comienzan a cambiar antes de que ocurra algo a los estados con menor radio efectivo. Los electrones en los estados interiores reciben el nombre de electrones centrales. Los que se hallan en los estados exteriores se llaman electrones de valencia, ya que participan en los enlaces. Cada nivel de valencia en un sólido de n átomos se divide en n niveles. Así, un nivel s que puede contener sólo dos electrones de giros opuestos, se convierte en una banda s con capacidad para $2n$ electrones. Un nivel p se convierte en una banda p con capacidad para $6n$ electrones.

Las bandas se llenan siguiendo una regla: los estados de menor energía se llenan primero, a continuación los que siguen en energía, y así sucesivamente. Finalmente todos los electrones quedan ubicados. La energía del estado ocupado más alto recibe el nombre de nivel de Fermi, o energía de Fermi, E_F . La magnitud de E_F depende del número de electrones por unidad de volumen en el sólido, ya que este último determina cuántos electrones deben ubicarse en las bandas. La banda más alta, que contiene el nivel de Fermi, recibe el nombre de banda de conducción, porque sólo los electrones próximos al nivel de Fermi están libres para transportar corriente eléctrica. Generalmente, los orbitales moleculares que forman esta banda se encuentran vacíos. La banda ocupada por los orbitales moleculares con los electrones de valencia se llama banda de valencia (Rose et al., 1978).

Dicho de otra forma, los electrones de valencia son compartidos de forma conjunta por los átomos que forman el sólido, desapareciendo así los orbitales atómicos y formando orbitales moleculares con energías parecidas, tan próximas entre ellas que todos en conjunto forman una franja llamada “banda de energía” (Figura 2.8. i).

En sólidos conductores, la banda de valencia se solapa energéticamente con la banda de conducción que está vacía, disponiendo de orbitales moleculares vacíos que pueden ser ocupados por los electrones con un mínimo aporte de energía (Figura 2.8 ii-a).

En los semiconductores y en los aislantes, la banda de valencia está completamente llena, la banda superior siguiente está completamente vacía y ambas no se superponen. Ninguno de los electrones puede responder a un campo eléctrico aplicado a menos que tenga acceso a los estados vacantes de la banda superior. Para hacer esto, los electrones tienen que cruzar el intervalo de energía entre las bandas, conocido como brecha prohibida o banda gap.

Si el intervalo de energía es suficientemente pequeño, el efecto de la energía térmica en la distribución de Fermi a temperaturas más elevadas puede enviar algunos electrones a la banda superior vacía y crear al mismo tiempo algunos estados vacantes en la banda de valencia. Este tipo de material es un semiconductor (Figura 2.8 ii-b). Si en cambio, el gap es de unos cuantos electron-voltios de ancho ($< 3\text{eV}$), se necesitaría campos eléctricos extremadamente altos para llevar los electrones a la banda superior. En esta situación, sin electrones libres, se trata probablemente de un aislante (Figura 2.8 ii-c) (Rose et al., 1978). Cabe decir, que la banda gap puede poblarse con estados metaestables que podrían generarse por iones impurezas, vacancias, que pueden introducirse a la red del material semiconductor o aislante. Las impurezas o dopantes pueden agregarse al compuesto en cierto porcentaje mientras que las vacancias pueden producirse por tratamientos térmicos del material. Esos estados metaestables, pueden retener electrones o huecos y bajo una excitación pueden recombinarse para generar la luminiscencia estimulada.

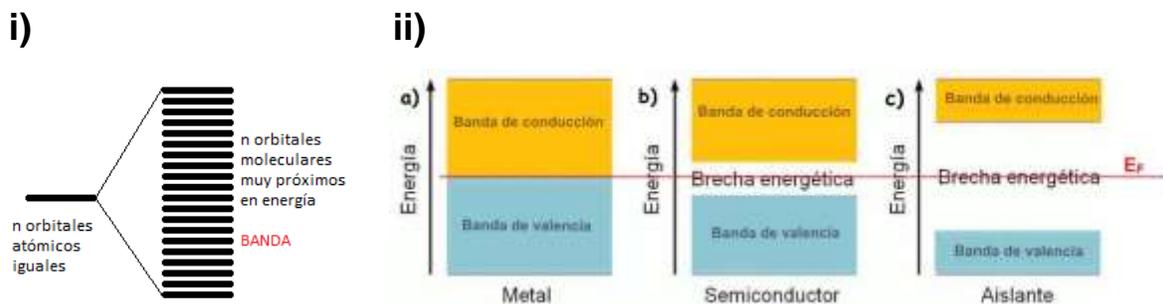


Figura 2.8. **i)** Banda energética para n orbitales; **ii)** Modelo de bandas en un sólido: **a)** Conductor, no hay brecha prohibida, **b)** Semiconductor, el ancho de la brecha es $< 3\text{eV}$, **c)** Aislante, el ancho de la brecha es $> 3\text{eV}$.

2.8.2 Termoluminiscencia

Partiendo de la base que la TL es característica de sólidos aislantes o semiconductores y considerando la presencia de defectos en un mineral, el fenómeno de la TL está asociado a tres procesos básicos (Figura 2.9):

1. **Ionización.** La radiación ionizante se absorbe en el material, arrancando electrones de los orbitales atómicos (o moléculas). Esto es equivalente a transferir los electrones a la banda de conducción (1). La producción de electrones libres se asocia con la producción de huecos (carga positiva), generando así pares de electrón-hueco. El electrón viaja hacia la banda de conducción (2), hasta que queda atrapado en algún defecto cristalino que tenga un exceso de carga positiva, denominado trampa para electrón (3). El correspondiente hueco va a migrar, en términos de energía, por la banda de valencia (2') hasta quedar atrapado en otra trampa similar pero con exceso de carga positiva llamada trampa para hueco (3').
2. **Almacenamiento.** Las trampas normalmente están relacionadas con alguna imperfección cristalina y se localizan en la zona prohibida (banda gap). Su posición en energía respecto a la banda de conducción (energía de activación E), puede estar más o menos alejada de las correspondientes bandas de conducción y valencia. Cuando los electrones se encuentran atrapados en estas imperfecciones, como vacancias, se crean centros denominados Centros F (3). A menor E , mayor probabilidad de que el electrón intente salir de esa trampa y, por tanto, el mismo resulta ser inestable. Estos estados se conocen como estados metaestables del electrón.
3. **Recombinación.** Cuando el electrón es activado térmicamente, esto es, se suministra energía térmica al sistema, éste abandona la trampa y viaja por la banda de conducción (4) hasta que se recombina con huecos atrapados (5), produciendo fotones. En esta situación el centro con hueco atrapado se convierte en lo que se conoce como centro de recombinación o de luminiscencia, que pueden ser sitios muy cercanos a un ion impureza o relajamiento de la red.

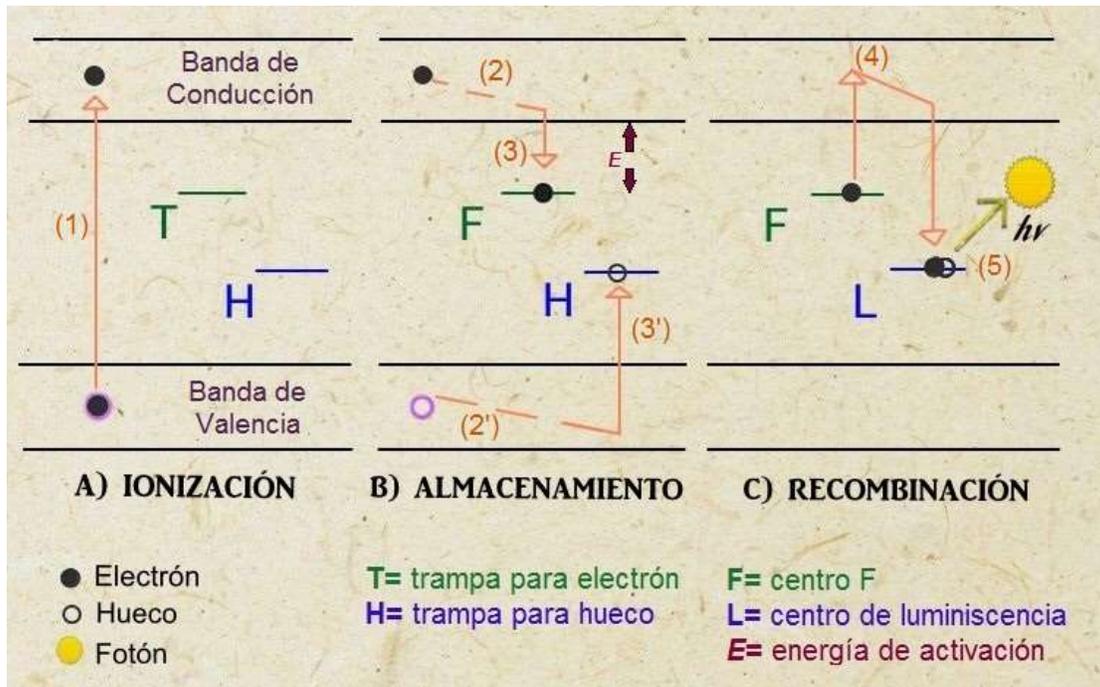


Figura 2.9. Modelo de bandas en el proceso de Termoluminiscencia.

En este modelo se asume que no ocurre el reatrapamiento y recombinación de los electrones liberados (cinética de primer orden).

La luz emitida por el material es detectada en función de la temperatura y la gráfica resultante es una curva de brillo, la cual, representa las distintas recombinaciones de los pares electrón-hueco que se llevan a cabo cuando se incrementa la temperatura del material. Una curva de brillo puede tener uno o varios picos, dependiendo del número de trampas en diferentes niveles de energía que contenga el material. En la recombinación para producir las curvas de brillo también participan iones intersticiales, electrones atrapados en vacancias llamados centros de color, y los pares impureza-vacancias.

Al calentar el material previamente irradiado, se suministra energía térmica que favorece la liberación de los electrones atrapados de forma exponencial hasta que se vacían las trampas debido a la recombinación por el calor y por ende decae la señal, generando una curva asimétrica. La razón de tal proceso estimulado

térmicamente se expresa generalmente por la ecuación de Arrhenius, que lleva al concepto de la energía de activación, E . Por lo tanto, E es la energía de activación térmica requerida para liberar un portador de carga atrapado.

Randall y Wilkins, realizaron una representación matemática para cada pico de la curva de brillo, suponiendo que: a) se irradia un material luminiscente a una temperatura suficientemente baja para que ningún electrón sea liberado y posteriormente b) al calentar se incrementa la temperatura a una razón constante, para producir la termoluminiscencia (TL). La teoría de Randall-Wilkins asume que hay una sola “trampa profunda” y que ningún electrón ya liberado de la trampa es reatrapado (sino que se recombina con un hueco para emitir un fotón), es decir que existe una trampa y un centro de recombinación, por lo tanto la intensidad (I), es directamente proporcional a la razón de desatrapamiento (electrones liberados por unidad de tiempo) a cualquier temperatura (Furetta & Weng, 1998). Este concepto se adecua a una cinética de primer orden y se expresa de la siguiente manera:

$$I = -\frac{dn}{dt} = n p \quad (1)$$

donde n es el número de electrones liberados y p , es la probabilidad por unidad de tiempo de que un electrón atrapado escape de una trampa. Sustituyendo éste último en la ecuación (1), la intensidad TL se expresa de la siguiente forma:

$$I = n s e^{\left(-\frac{E}{kT}\right)} \quad (2)$$

siendo s el factor de frecuencia (s^{-1}), E es la energía de activación (eV), k es la constante de Boltzmann ($8.617 \times 10^{-5} \frac{eV}{K}$) y T es la temperatura (K).

Sin embargo, usando una razón de incremento de temperatura lineal, β (que es en realidad como sucede en el equipo TL), n toma siguiente expresión:

$$n = n_0 e^{\left(-\frac{s}{\beta} \int_{T_0}^T e^{\left(-\frac{E}{kT'}\right)} dT'\right)} \quad (3)$$

Por lo tanto, sustituyendo en la ecuación (1), la intensidad I en función de la temperatura T se expresa como sigue (Furetta & Weng, 1998):

$$I(T) = n_o s e^{\left(-\frac{E}{kT}\right)} e^{\left(-\frac{s}{\beta} \int_{T_0}^T e^{\left(-\frac{E}{kT'}\right)} dT'\right)} \quad (4)$$

Si se considera que $\frac{dI}{dT} = 0$ a $T = T_M$ y realizando la integración correspondiente, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\frac{\beta E}{kT_M^2} = s e^{\left(-\frac{E}{kT_M}\right)} \quad (5)$$

donde T_M es la temperatura máxima del pico TL analizado, de donde se puede obtener el factor de frecuencia s .

No obstante, en principio puede asumirse una cinética de primer orden y para facilitar el cálculo de la energía de activación, se utiliza el método de levantamiento inicial (IRM por sus siglas en inglés) propuesto por Garlick y Gibson, el cual supone que la intensidad TL depende únicamente de la temperatura de calentamiento (y no de la cantidad de cargas liberadas ni del factor de frecuencia). Es decir, el valor de E es independiente de los primeros datos de intensidad en función de la temperatura cuando ésta permanece constante al inicio de la curva de brillo, por lo que considera los primeros valores obtenidos en la curva de brillo (10-15%) cuando comienza a crecer, simplificando así la ecuación (4). Razón por la que este método obedece la siguiente ecuación de proporcionalidad:

$$I = \alpha e^{\left(-\frac{E}{kT_M}\right)} \quad (6)$$

Sustituyendo la proporcionalidad por una constante se obtiene:

$$I = ce^{\left(-\frac{E}{kT_M}\right)} \quad (7)$$

Finalmente, la ecuación (7) puede resolverse gráficamente, como se hará cuando se evalúe el parámetro cinético de energía de activación E para la T_M de las curvas de brillo, lo que dará el valor de la energía de la trampa asociada a T_M .

2.8.3 Luminiscencia Fotoestimulada

En el caso de la luminiscencia fotoestimulada (PSL), la estimulación óptica desexcitará a la fase minerale liberando la energía almacenada como luz que puede ser medida por un tubo fotomultiplicador sensible, esto es un contador de fotones. Este método puede usar luz a longitudes de onda en el infrarrojo cercano como estímulo para la emisión de luminiscencia detectable en la región de 300 a 600nm de los poliminerales.

Las mediciones PSL no destruyen las muestras, por lo tanto, éstas pueden ser medidas de forma repetida sin tener que separar la parte orgánica e inorgánica. Sin embargo, la señal PSL decrece en cierta cantidad al realizar la medición repetidamente.

El sistema de luminiscencia fotoestimulada pulsada SURRC (SURRC Pulsed PSL System) fue diseñado y calibrado en el Centro de Investigación de las Universidades Escocesas (SURRC). Originalmente se desarrolló para la detección rápida de hierbas irradiadas, especias y condimentos, y ha sido validada para una gama amplia de productos alimenticios, sobretudo Europeos debido al interés de esa Comunidad. Existen dos métodos de funcionamiento; el modo de detección, donde se detecta la intensidad de la luminiscencia de las muestras, clasificándolas en negativas, intermedias, o positivas; el otro es el modo PSL calibrado (Cal PSL), el cual puede distinguir entre muestras de baja y de alta sensibilidad, resolviendo así casos ambiguos o de baja sensibilidad. Es necesario utilizar este último para confirmar un resultado positivo u otro método estandarizado como lo indica la norma EN1788 (EN 13751, 2002; L. Nollet & Toldra, 2010).

Para la detección, el nivel de la señal es comparado con dos umbrales definidos a partir de los datos de referencia. La mayoría de las muestras irradiadas producen una fuerte señal por encima del nivel del umbral alto. Las señales por debajo del umbral inferior indican que las muestras no se han irradiado. Los niveles de señal

intermedia entre los dos umbrales sugieren que se deben realizar más pruebas a las muestras.

El fenómeno de luminiscencia fotoestimulada es muy similar al de termoluminiscencia. En él se forma primero el par electrón-hueco debido a la ionización producida por la radiación. Posteriormente los huecos y electrones son liberados de las trampas por estimulación óptica (luz de cierta longitud de onda), por ejemplo el azul para excitar al cuarzo y el infrarrojo para excitar a la fracción de feldespatos, logrando la recombinación en los centros y produciendo fotones, que son detectados por un fototubo en el equipo de PSL.

2.8.4 Propiedades Luminiscentes del mineral del cascarón de huevo (calcita).

Primero es de recordarse que generalmente los cascarones y conchas de moluscos tienden a formarse de carbonato cálcico (CaCO_3), el cual puede doparse de iones extraños en red. Esos iones impurezas provenientes del medio ambiente, interaccionan de cierta forma compleja con los átomos del compuesto, y pueden quedar de manera intersticial en la red del material calcita. Si hay presencia de vacantes, es decir, ausencia de un ion de la red normal (Ca, C u O) entonces la impureza puede ocupar ese sitio vacante. Pero también pueden producirse vacancias por un tratamiento térmico adecuado, debido al reacomodo de los iones en la red y entonces se pueden tener espacios libres y la impureza tiende a formar el par (impureza-vacancia). Si la ionización por radiación es suficiente para el material, entonces puede el electrón libre atraparse en una vacancia y podrá eventualmente formar un centro de color o llamado centro F. Todos esos “defectos puntuales” ya sea de la red o electrónicos (formados por la ionización) se pueden recombinar bajo la estimulación térmica o con luz para producir la termoluminiscencia o la fotoluminiscencia. Sin embargo, el carbonato de calcio debe tener impurezas para que pueda tener esta propiedad de luminiscencia. Esto es debido a que si bien, la calcita muestra una mejor respuesta TL en comparación con otros carbonatos como la aragonita, se ha visto que los cascarones de huevo de

diversas aves (gallina, pato, avestruz y codorniz), que contienen principalmente calcita, tienen respuestas TL variables dependiendo de la estructura cristalina del mineral. Más aún, se observó que este carbonato es menos sensible a la señal PSL en comparación con otros minerales como el cuarzo y el feldespato presentes normalmente en alimentos. Aunque ciertas muestras de cascarón de algunas aves han sido fácilmente identificadas como irradiadas a una dosis de 1 kGy, otras muestras de cascarón de aves como la gallina, dieron respuestas PSL intermedias, además que estas respuestas no fueron lineales con las dosis absorbidas (Bhatti et al., 2008). En tal caso, es recomendable corroborar la identificación por análisis de TL debido a su sensibilidad.

2.9 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Actualmente, la microscopía electrónica de barrido (SEM) es una herramienta poderosa e indispensable para la caracterización microestructural de sólidos. El principio de su funcionamiento se basa en que un haz de electrones procedente de un filamento es acelerado y focalizado mediante una serie de lentes electromagnéticas hacia una muestra. Debido a la interacción que sufren estos electrones con la muestra se generan una serie de señales que convenientemente recogidas y amplificadas permiten obtener información de ésta tanto desde un punto de vista morfológico como de su composición química. El haz electrónico que barre la superficie de la muestra está sincronizado con el haz electrónico de un tubo de rayos catódicos que barre la pantalla de observación (Vázquez Vaamonde et al., 2000). Por lo tanto, existe una correspondencia punto a punto entre la superficie de la muestra barrida y la del tubo de rayos catódicos (Figura 2.10).

Respecto a las señales que se generan en el sólido, éstas dependen del tipo de interacción que tiene lugar entre los electrones incidentes y el material, distinguiéndose la elástica y la inelástica de acuerdo con la cantidad de energía que el electrón incidente transfiere al átomo (Vázquez Vaamonde et al., 2000).

La microscopía SEM permite obtener aumentos desde 15 hasta 100 000 veces la del objeto en estudio, pero sólo se puede ver la superficie de la muestra. En la determinación de elementos que componen a las muestras, es posible acoplar un detector EDS (Energy Dispersive Spectroscopy) al microscopio electrónico de barrido, utilizado como una técnica analítica en conjunto con la SEM. Es muy útil en la caracterización química de una muestra con la que se obtiene un microanálisis de la composición. El análisis EDS puede identificar a los tipos de iones presentes en la muestra polimineral, lo cual es muy importante para generar las curvas de brillo del análisis por TL y PLS de las muestras.

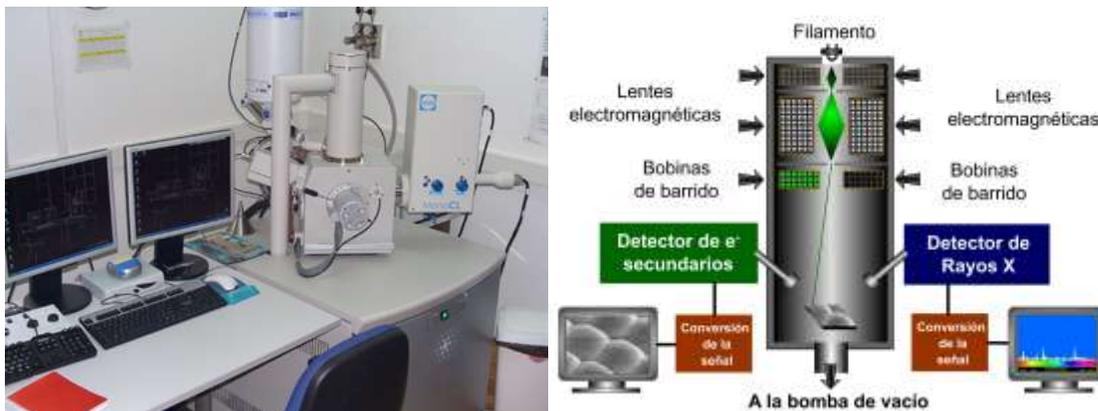


Figura 2.10. Microscopio electrónico de barrido (SEM) instalado en un laboratorio especializado y esquema explicativo del microscopio.

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este capítulo se describe la metodología para obtener los poliminerales en forma de polvo del cascarón de huevo blanco y rojo, así como el procedimiento y condiciones experimentales en que se llevó a cabo el estudio de sus propiedades luminiscentes. El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Luminiscencia en la Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica del Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM.

3.1 MUESTRAS Y REACTIVOS

Las muestras utilizadas son huevos rojo y blanco de la marca comercial Bachoco. Se utilizó esta marca pues es la segunda mayor productora y comercializadora de huevo en México. Fueron adquiridas en un supermercado Wal-Mart en la Ciudad de México entre enero y septiembre del 2015. Se usaron 3 lotes de Huevo blanco: 05-67-03, 05-27-12 y 05-64-02, y 3 lotes de Huevo rojo: 05/02, 05-27-12 y 05-10-01.

Los reactivos utilizados para la extracción de los poliminerales y la eliminación de la materia orgánica que contiene el cascarón de huevo blanco y rojo fueron los siguientes: Agua bidestilada, Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), Peróxido de hidrógeno 30% (H_2O_2), Ácido clorhídrico 37.1% (HCl), Acetona Q.P ($\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$), e Hidróxido de sodio (NaOH) para tratamiento de residuos.

3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Los materiales y equipos usados para la extracción de los poliminerales, así como para el análisis de sus propiedades luminiscentes se enlistan en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Material y equipo utilizado para el desarrollo experimental.

Material de laboratorio	Equipos
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Vasos de precipitados de 50, 250 y 500 mL^{1, 3} ➤ Colador¹ ➤ Piseta¹ ➤ Agitador magnético¹ ➤ Crisol de cuarzo de 25mL¹ ➤ Tamices de tamaño de partícula de 74µm (N°200), 149µm (N°250) y 420µm¹ ➤ Viales de plástico con tapas^{1, 2} ➤ Caja de cartón de 5x3cm forrada con papel aluminio² ➤ Discos de aluminio de 6mm de diámetro² ➤ Cronómetro² ➤ Pinzas metálicas² ➤ Matraz de bola de 600mL³ ➤ Canastilla de calentamiento³ ➤ Material para destilación³ 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Campana de extracción de gases ➤ Parrilla eléctrica con agitación magnética^{1, 3} ➤ Balanza analítica N10330^{1, 2} ➤ Mufla² ➤ Equipo termoluminiscente Harshaw modelo TLD 3500² ➤ Equipo fotoluminiscente SURRC PSL² ➤ Irradiador Gammacell-3000 de ¹³⁷Cs² ➤ Irradiador semi-industrial de alberca profunda Gammabeam 651PT de ⁶⁰Co² ➤ Microscopio Electrónico de Barrido JEOL-EO mod. JSM-5900 (USAI-FQ)¹

¹ extracción de poliminerales y caracterización

² irradiación de las muestras

³ tratamiento de residuos

3.3 DIAGRAMA DE FLUJO PARA MEDIDAS TL Y PSL

La secuencia de actividades realizadas para obtener los poliminerales, hasta las medidas TL y PSL, se indican en los diagramas de las figuras 3.1 y 3.2.

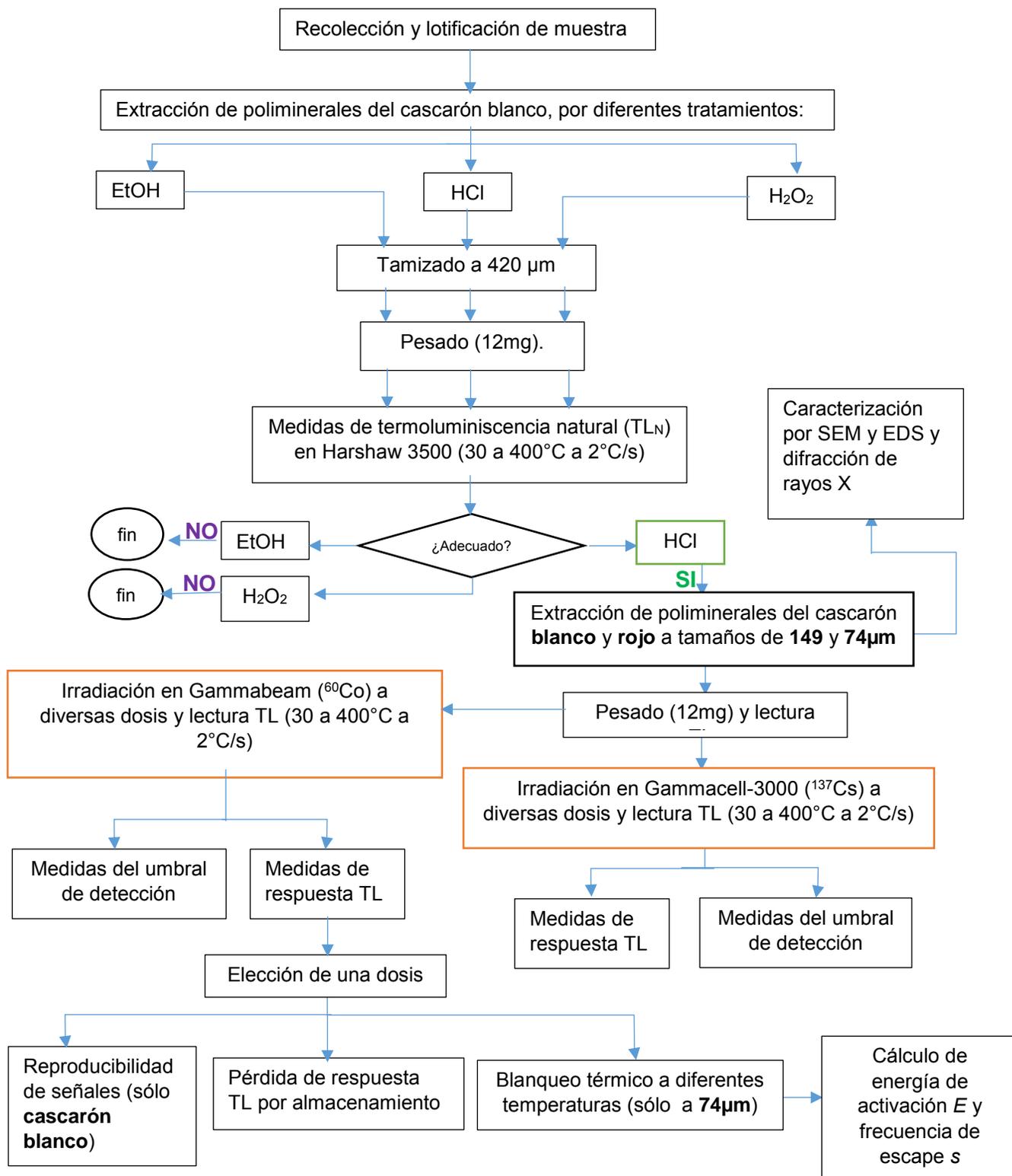


Figura 3.1. Diagrama de flujo de las secuencias de actividades y medidas de TL.

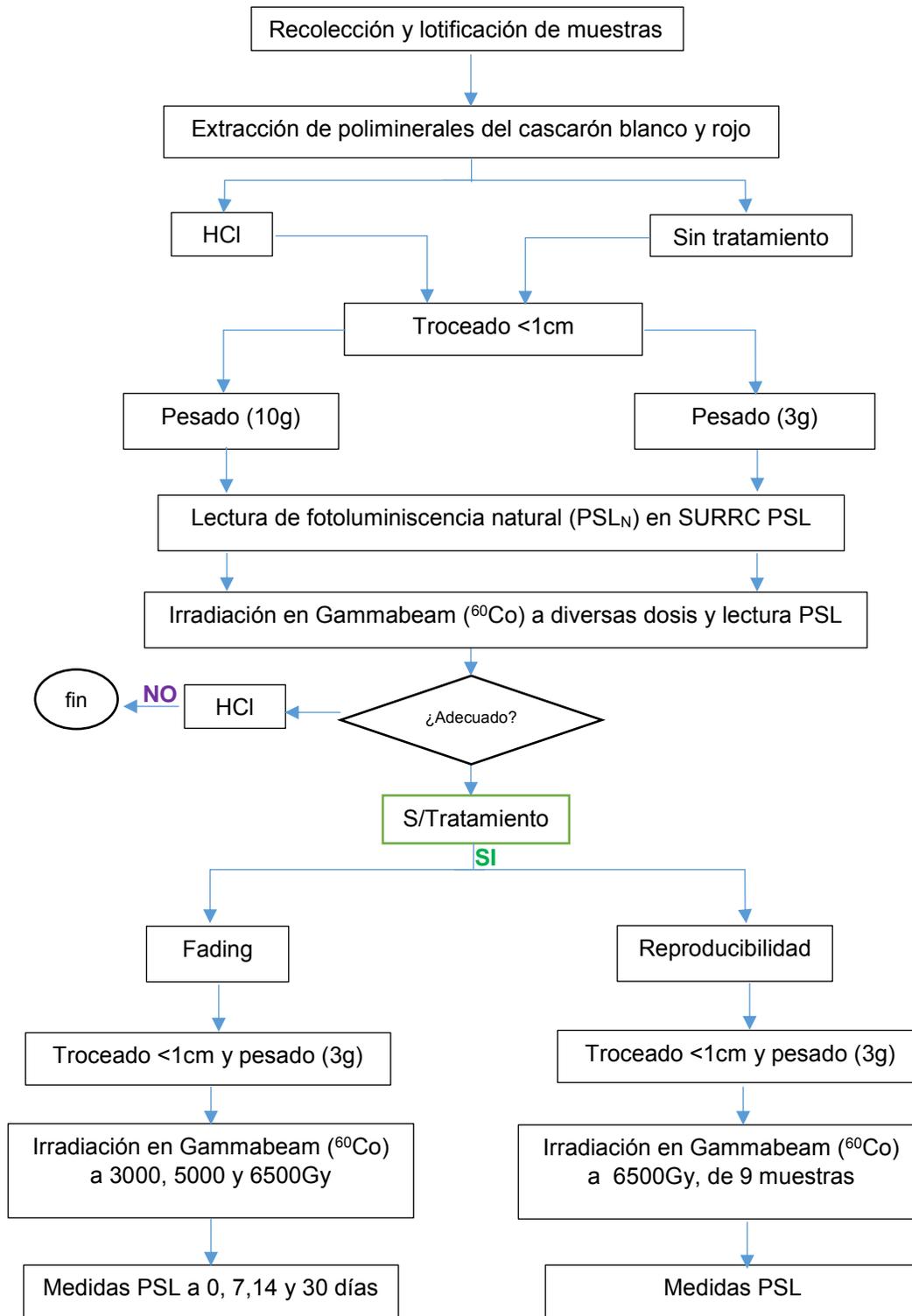


Figura 3.2. Diagrama de flujo de las secuencias de actividades y medidas de PSL.

3.4 METODOLOGÍA PARA LA SEPARACIÓN DE POLIMINERALES DEL CASCARÓN DE HUEVO

Para el análisis TL de los cascarones, lo primero que se realizó fue la separación de la fracción mineral de la muestra. Para la obtención de los poliminerales del cascarón, se retiraron manualmente las membranas testáceas de los huevos y posteriormente éstos fueron troceados. Se formaron nueve lotes de muestras, cada una compuesta por 4 cascarones. Se les realizaron diferentes lavados para eliminar las impurezas y/o materia orgánica de la siguiente forma: Lote 1 sin lavado, Lotes 2, 3,4 y 5 lavados con HCl 37.1% por 5min, 15min, 30min y 60min respectivamente, Lotes 6, 7y 8 lavados con H₂O₂ 30% por 5min, 15min y 30min respectivamente y Lote 9 lavado con Etanol por 5min.

Los tratamientos de lavado se realizaron de la siguiente forma:

- a) Los trozos de cascarón se pusieron a remojar según el tratamiento de lavado, en el solvente y el tiempo correspondiente.
- b) Posteriormente se enjuagaron con agua bidestilada hasta quedar sin restos de solvente. Estos dos pasos se realizaron por triplicado a cada lote, y se secaron en acetona.

Los trozos de cascarones secos de cada lote fueron triturados con un mortero y tamizados en mallas de 420µm, 149µm y 74µm, con la finalidad de buscar la mejor intensidad o respuesta TL. Los poliminerales se colocaron en viales etiquetados según su tamaño de partícula y su método de obtención. Con el fin de identificar a las muestras del cascarón en polvo, y antes de realizar cualquier prueba de TL o PSL, las muestras obtenidas en polvo fueron analizadas por Difracción de Rayos-X (DRX) en un difractómetro Bruker Davinvi D8 Advanced® de la USAI de la Facultad de Química UNAM.

Para el análisis por PSL, como ya se ha mencionado en el capítulo II, en la sección 2.8.3, en la detección por este método no es necesario la separación de la parte

orgánica e inorgánica, sin embargo, ya que para la detección TL se realizó el lavado con HCl, así también se realizó este lavado para la detección PSL. Además, se comparó esta metodología con la de “sin tratamiento”, tanto para el cascarón blanco como para el rojo en la detección PSL.

El método de lavado con HCl se realizó exactamente igual que en el caso de las muestras para ser medidas en TL y fue utilizado para determinar el umbral de detección. Finalmente se almacenaron las muestras en bolsas de plástico transparentes.

Los cascarones que no recibieron tratamiento fueron enjuagados con agua bidestilada para retirar el exceso de clara y yema, posteriormente desprovistos de sus membranas testáceas y troceados a un tamaño no mayor a 2cm. Éstos fueron guardados también en bolsas de plástico transparente y etiquetados como “cascarón (blanco o rojo) sin tratamiento”. Este tipo de tratamiento se hizo para el umbral de detección, decaimiento de la señal y reproducibilidad.

3.5 TRATAMIENTO DE RESIDUOS

Para evitar contaminar el medio ambiente con los residuos generados de los lavados, se realizaron los tratamientos debidos. Los residuos de HCl y H₂O₂ fueron tratados con NaOH, hasta que la disolución estuviera neutralizada. Se midió el pH con tiras de papel pH para comprobarlo (pH=7) y posteriormente se vertió a la tarja.

Los residuos de Etanol se juntaron con residuos de otros alimentos que fueron lavados también con etanol y se destiló a 75°C para su recuperación.

3.6 FONDO TL_N DE MUESTRAS

Previo a irradiar las muestras se midieron los fondos (background) de termoluminiscencia natural (TL_N), las cuales representan la emisión de luz de la muestra por haber estado expuesta a la acción de radiación natural. Es decir, aquella radiación natural procedente de isótopos como el potasio-40, uranio, etc., contenidos en nuestro entorno natural como las rocas y el suelo principalmente, y que al actuar durante tiempos relativamente largos son capaces de “irradiar” de forma natural una muestra o grano mineral que se podrían adherir a los alimentos que pueden generar señales TL_N.

Para la elección del solvente más adecuado para la obtención de los poliminerales, se realizó la medición de los fondos de las muestras de cascarón blanco con tamaño de partícula de 420µm. Se transfirieron aproximadamente 10mg de las muestras tamizadas de cascarón a un microdisco de aluminio. Se utilizó un equipo Harshaw 3500 para las medidas de fondo TL_N de las muestras, el cual, está acoplado a una computadora con el programa WinREMS[®] (Figura 3.1). La razón de calentamiento fue de 2°C/s en el intervalo de 38 ± 2°C a 400°C. A partir de la forma que presentaron las curvas de brillo, se seleccionó un método de extracción, es decir, lavados con HCl 37.1%.

Una vez elegido la metodología del lavado, se pesaron 12mg de los poliminerales en polvo provenientes del huevo rojo o blanco, de tamaños de partícula de 74 y 149µm, según fuera el caso. Se utilizó el mismo equipo y programa, para obtener las curvas de termoluminiscencia natural o fondos TL.



Figura 3.1. Equipo Harshaw TLD 3500 acoplado al programa WinREMS®

3.7 FONDO PSL_N DE MUESTRAS

Antes del proceso de irradiación, se midieron los fondos de luminiscencia fotoestimulada natural (PSL_N), con la misma finalidad que en el caso del TL. Esto fue realizado con el sistema SURRC PSL con un arreglo de diodos con luz infrarroja (IR) y longitud de onda en aproximadamente en 830 nm (de 800-900 nm) para excitar a las muestras enteras de cascarón (Figura 3.2).

Se midió el fondo de cada muestra, transfiriéndola en un plato Petri de 50mm de diámetro y éste posteriormente fue colocado en la plancheta del equipo para realizar la medición. Se colocó 10g de muestra del lote tratado con HCl en el plato Petri, y para el lote que no recibió tratamiento se colocó 3g de la muestra.



3.2. Equipo SUERC PSL utilizado para la detección del alimento irradiado.

3.8 IRRADIACIÓN GAMMA DE LAS MUESTRAS

Las muestras se expusieron a diferentes dosis gamma de radiación ionizante con el fin de estudiar sus propiedades luminiscentes y generar una metodología para identificar al alimento irradiado.

3.8.1 Irradiación con ^{60}Co

Se utilizó el irradiador semi-industrial Gammabeam 651 PT con el isótopo de ^{60}Co (Figura 3.3), para dosis desde 8Gy hasta 10 000Gy. Esta fuente se usó en muestras de cascarón rojo y blanco para medir el umbral de detección y respuesta TL. También se observó el decaimiento de la señal TL y blanqueo térmico. Además, se realizó la reproducibilidad de la señal TL pero sólo en muestras de cascarón blanco. Finalmente, se utilizó en la irradiación de muestras de cascarón blanco y rojo para medir el umbral de detección y respuesta PSL, decaimiento de la señal PSL y reproducibilidad de la señal PSL.

- **TL**

Se pesó 12mg de la muestra en polvo de cascarón correspondiente, colocándose en discos de aluminio y éstos a su vez, en una caja portamuestra aislada de la luz ambiental para su irradiación:

- Umbral de detección.** Se pesaron por duplicado, muestras de cascarón blanco de 74 μm (M y N) y de 149 μm (O y P). De igual forma, se pesaron por duplicado muestras de cascarón rojo de 74 μm (A y B) y de 149 μm (C y D) y se irradiaron a las mismas dosis mencionadas.
- Decaimiento de la señal TL.** Los viales de muestra de cascarón blanco de 74 μm y de 149 μm , se irradiaron a 3 000Gy y se guardaron en oscuridad; de igual forma se realizó con muestras de cascarón rojo. Periódicamente se hicieron medidas por duplicado, pesando 12mg de las muestras irradiadas para la determinación TL.

- c) **Blanqueo térmico.** De las muestras usadas para el umbral de detección, se seleccionó una de cascarón blanco de 74 μ m (N) y una de cascarón rojo del mismo tamaño de partícula (B) y se irradiaron a 3 000Gy. Se realizó un blanqueo post-irradiación entre 60 hasta 400°C y se midió la señal TL.
- d) **Reproducibilidad de la señal TL.** Se pesaron por duplicado en discos, 12mg de muestras de cascarón blanco de 74 μ m (M y N) y de 149 μ m (O y P), y muestras de cascarón rojo de 74 μ m (A y B) y de 149 μ m (C y D). Se irradiaron a 500Gy. Este proceso de irradiación se repitió 9 veces, cada vez leyendo las muestras previo a la siguiente irradiación.

- **PSL**

En el caso de las muestras tratadas con ácido clorhídrico:

- a) **Umbral de detección.** Los trozos de cascarón fueron divididos en 4 lotes, cada uno con 10g de muestra, y almacenados en bolsas de plástico transparente y etiquetadas. Posteriormente las bolsas fueron irradiadas de 200 a 10 000Gy, aplicando dosis completas en cada proceso y midiendo la TL de las muestras dos veces (lectura y relectura) inmediatamente después de cada irradiación.

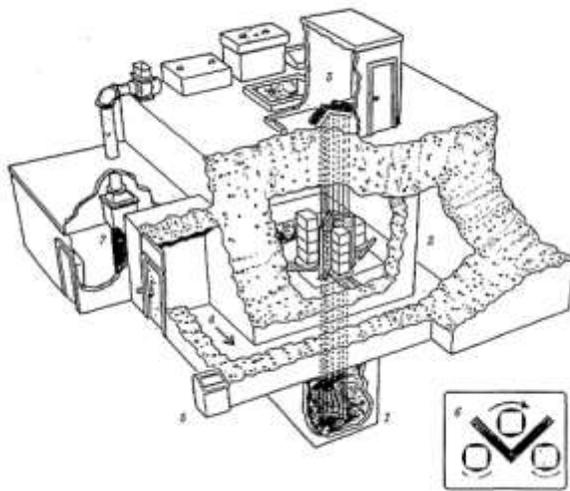
Para las muestras que no fueron tratadas con HCl:

- a) **Umbral de detección.** Se pesó 3g de cascarón blanco o rojo y se colocó en un plato Petri (50mm diámetro) cuidando que la parte externa del cascarón (lado convexo) quedara hacia arriba, pues este lado casi no contiene materia orgánica. Esta muestra fue irradiada a dosis de 500 hasta 5 000Gy, aplicando dosis completas en cada irradiación. La muestra fue leída 2 veces después de cada dosis.
- b) **Decaimiento de la señal PSL (fading PSL).** Para cada dosis a la cual se realizó el fading (3 000, 5 000 y 6 500Gy), se hicieron 4 lotes que contenían cada uno 3g de cascarón blanco o rojo. Se almacenaron en bolsas de plástico protegidas de la luz, es decir, en total habían 12 lotes de muestra de cascarón blanco y 12 lotes de cascarón rojo. Éstos fueron irradiados, por separado, a la dosis que les correspondía y almacenadas en oscuridad hasta el período

de tiempo para su medida PSL (0, 7, 14 y 30 días), realizando también una medida y una relectura TL.

- c) **Reproducibilidad de la señal PSL.** Se pesaron 27g de los trozos de cascarón y se dividieron en 9 lotes, cada uno con 3g de muestra contenidos en bolsas de plástico transparentes y protegidas de la luz ambiental. Cada bolsa fue irradiada por separado a 500Gy.

a)



b)



Figura 3.3. Irradiadores de fuentes gamma. **a)** Irradiador semi industrial Gammabeam 651 PT de alberca profunda utilizado para la irradiación a dosis altas de las muestras de cascarón blanco y rojo con ^{60}Co (Fuente: Diversos usos de la fuente de rayos gamma en la UNAM (Epifanio Cruz-Zaragoza, 1997)). **b)** El nuevo irradiador Gammacell-3000 Elan de ^{137}Cs utilizado para irradiar las muestras a dosis bajas.

Se utilizó para dosis bajas (8-50Gy) el irradiador Gammabeam en la posición con razón de dosis 6.127 Gy/min al 21 de Enero de 2015. Para dosis intermedias (100 - 3 000 Gy), la caja portamuestra se colocó a la razón de dosis 15.196 Gy/min al 23 de Enero de 2015. En el caso de dosis altas (4 000 -10 000Gy) se usó la posición 11 con razón de dosis de 139.2 Gy/min al 11 de Mayo de 2015. Después del mes de Junio, se utilizó únicamente la posición 15 con una razón de dosis de 198.18 Gy/min al 22 de Junio de 2015 para dosis de 500 hasta 10 000Gy.

3.8.2 Irradiación con ^{137}Cs

Se utilizó el nuevo irradiador Gammacell-3000 con el isótopo ^{137}Cs , adquirido con proyecto Conacyt, para dosis de 20Gy hasta 10 000Gy, con el fin de comparar los dos diferentes tipos de fuente gamma en términos de la respuesta TL del cascarón. Las muestras se colocaron en la posición de razón de dosis 10.82 Gy/min al 15 de Junio de 2015.

Con la fuente de ^{137}Cs se irradiaron cascarones blancos y rojos de tamaño de partícula de 74 μm y 149 μm para medir el umbral de detección y respuesta TL. Las muestras fueron de 12mg y se colocaron en discos dentro de una caja portamuestra aislada de la luz del ambiente. Para el umbral de detección, las muestras recibieron dosis absorbidas en el intervalo de 8 a 10 000Gy, el decaimiento de la señal TL al igual que el blanqueo térmico fueron realizados a 3 000Gy y la reproducibilidad de la señal se hizo a 500Gy.

3.9 MEDIDAS DE LA RESPUESTA TL

El análisis TL fue realizado en el equipo Harshaw TLD 3500 ya mencionado. La razón de calentamiento es la misma que en el caso de la lectura de los fondos (2°C/s), al igual que el intervalo de temperatura (38 \pm 2°C a 400°C), con el fin de lograr una buena resolución de los datos. El equipo TL tiene una plancheta en la cual se coloca la muestra, y es calentada por medio de un termopar, emitiendo así fotones de luz que son detectados por un tubo fotomultiplicador, el cual está conectado a un amplificador que convierte la señal eléctrica en la curva de brillo TL.

3.10 MEDIDAS DE LA RESPUESTA PSL

El equipo utilizado, al igual que para la lectura de los fondos, fue el SURRC PSL. La luz infrarroja del equipo estimula a la fracción inorgánica de las muestras y el tubo

fotomultiplicador transfiere la señal al programa del equipo PSL, el cual reporta la señal como cuentas por fotón (PCs) por unidad de tiempo y ésta es la señal emitida por las muestras por cada segundo transcurrido.

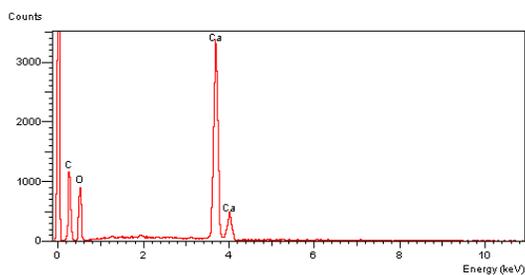
Las muestras con PCs acumulados que se encuentran en el umbral de 700 cuentas/60s o menores, se clasifican como no irradiadas, mientras que aquellas que están en el límite de 5 000 cuentas/60s o mayores, se clasifican como irradiadas. Niveles de señal entre ambos límites se clasifican como muestras intermedias, por lo que no se puede asegurar que hayan sido irradiadas. Los fondos de las muestras deben de estar por debajo del límite inferior (700 cuentas) para comprobar que el alimento no ha sido irradiado anteriormente. Se debe tomar en cuenta que el portamuestra de la cámara del equipo debe estar limpio de polvo para evitar las cuentas de fotones que no provienen de la muestra.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

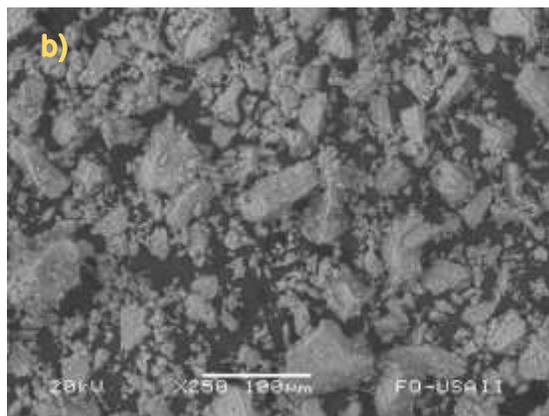
4.1 CARACTERIZACIÓN POR MICROSCOPIA DE LAS MUESTRAS

Antes de realizar el estudio de TL y PSL, se hizo una caracterización por microscopía de las muestras de los huevos blanco y rojo, con el fin de determinar los elementos presentes en el carbonato de los cascarones de huevo de gallina. Se usó el equipo de microscopía electrónico de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) marca JEOL modelo JSM-5900 acoplado a un detector EDS, en la USAI de la Facultad de Química UNAM. Las muestras analizadas fueron de 74 y 149 μm correspondiente al lote de muestras lavadas con ácido clorhídrico 37.1%.

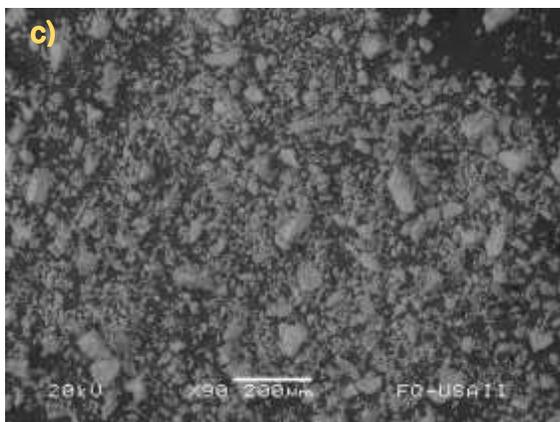
a)



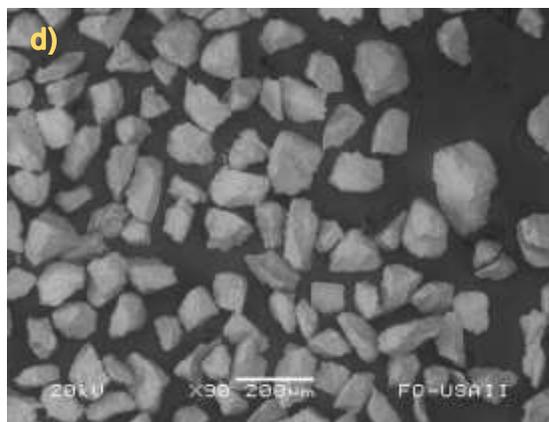
b)



c)



d)



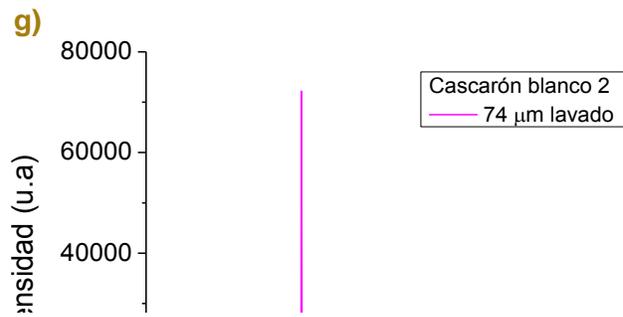
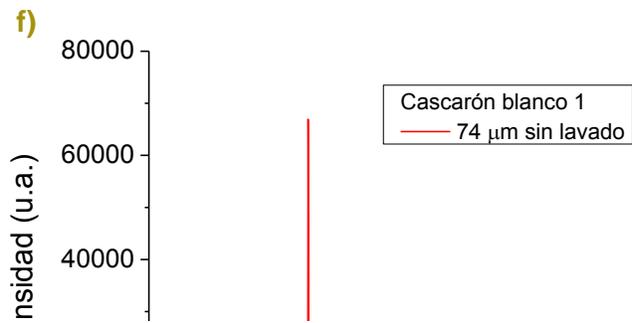
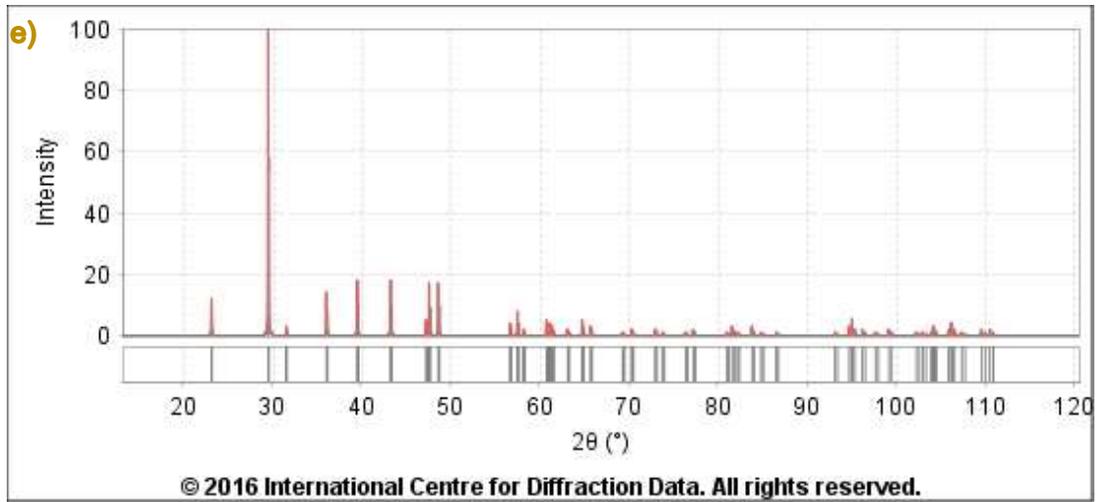


Figura 4.1. Caracterización del cascarón de huevo Bachoco con 3 lavados de HCl 37.1%: **(a)** Espectro EDS del cascarón blanco y rojo a 74 y 149 μ m; micrografía SEM del cascarón de huevo: **(b)** Blanco a 74 μ m, **(c)** Rojo a 74 μ m y **(d)** Rojo a 149 μ m. Difractogramas de Rayos X de muestras de 74 μ m: **(e)** cascarón blanco sin lavado (líneas en rojo) y la correspondiente a la tarjeta de la base de datos (líneas en color negro) del carbonato de calcio, **(f)** cascarón blanco si lavado, **(g)** cascarón blanco lavado.

En el espectro EDS (Figura 4.1 a) se observa que para el cascarón blanco y rojo (de 74 y 149 μ m), están presentes el Ca, C y O. Por lo tanto, el principal componente del cascarón de huevo es el Carbonato de calcio (CaCO_3), donde el Ca es mayoritario en el compuesto y es probable que el oxígeno genere vacancias que puedan ayudar de manera eficiente para las emisiones de las señales TL y PSL. El carbonato pertenece a los feldespatos conocidos como plagioclasas.

Es importante notar que con la metodología de lavado con ácido para la obtención de los poliminerales, no se observa la presencia de otros elementos impurezas que puedan estar presentes en el mineral carbonato, lo que implica que el material es poco luminiscente. Sin embargo, es probable que estas impurezas se encuentren en muy baja concentración y que la sonda EDS no logrado identificarlas. Las micrografías de SEM exhiben para todas las muestras (Figura 4.1 b-d) cristales bien definidos y encima de ellos regiones granulares. Además, se realizó un análisis de la muestra por Rayos X, en el que se muestra el difractograma del cascarón (línea roja) en polvo y la correspondiente de la base de datos (Figura 4.1 e), el cual se identificó como el carbonato de calcio (CaCO_3). El difractograma es muy similar tanto en muestras de cascarón lavado como de cascarón no lavado (Figura 4.1 f-g). Las caracterizaciones por SEM, EDS y RX se realizaron en las muestras de cascarón antes de irradiarlas y se llevaron a cabo las medidas de luminiscencia estimulada.

4.2 EMISIÓN TERMOLUMINISCENTE DE MUESTRAS SIN IRRADIAR

Se midió la termoluminiscencia natural (TL_N) llamada señal de fondo, que tenía el cascarón de huevo blanco, únicamente lavado con agua destilada y desprovisto de la membrana interna. Se utilizaron tres tamaños de partícula, $74\mu\text{m}$, $149\mu\text{m}$ y $420\mu\text{m}$. Se puede apreciar en la figura 4.3 a-c, para todos los tamaños, una curva entre 200 y 400°C , el cual corresponde al carbonato de calcio, principal componente del cascarón de huevo. Además se obtuvo otro máximo entre 150 y 200°C para los tamaños de 149 y $420\mu\text{m}$ (Figura 4.3 b y c respectivamente), el cual puede ser atribuido al mayor tamaño de partícula de las muestras. Con la finalidad de controlar mejor las emisiones de curvas de brillo, es decir, obtener una homogeneidad de la forma de las curvas, se trabajó en establecer un método de lavado del cascarón para eliminar materia orgánica y obtener los poliminerales inorgánicos para mejor respuesta termoluminiscente (TL). Esto se realizó como prueba inicial con las muestras de cascarón blanco de $420\mu\text{m}$. Se compararon diferentes tratamientos de lavados (descritos en la metodología) al observar las curvas de brillo de TL_N de éstos (Figura 4.3 d-f).

El lavado con etanol (Figura 4.3 d) dio curvas similares al cascarón sin tratamiento, y entonces se continuó trabajando con HCl y H_2O_2 . En el caso particular del peróxido de hidrógeno (Figura 4.3 e), se observó que tanto el máximo que está entre 150 y 200°C como el que está entre 200 y 400°C aumentaban de intensidad a medida que se prolongaba el tiempo de lavados, por lo que probablemente existan moléculas

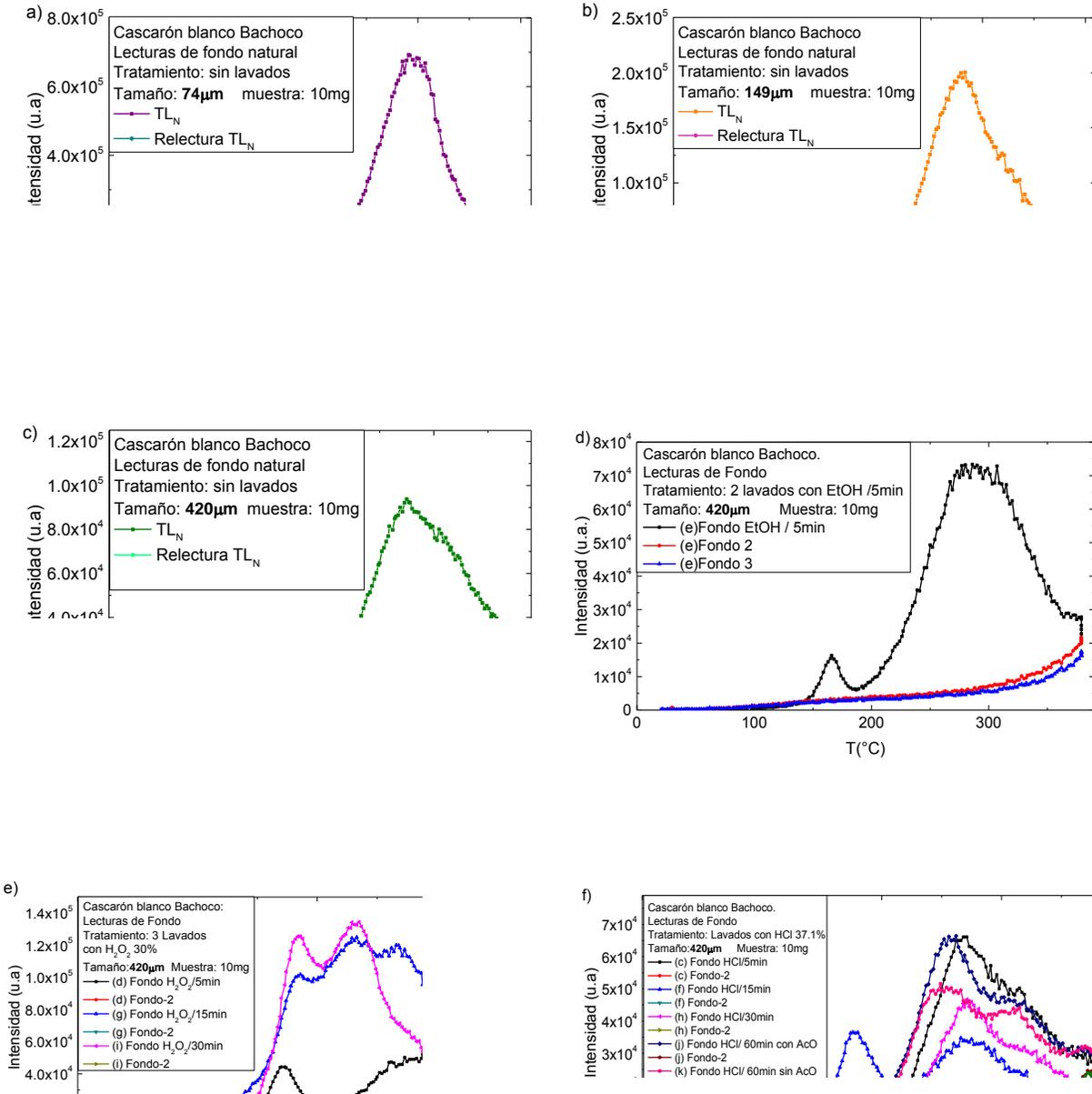


Figura 4.3. Curvas de brillo obtenidas de los fondos naturales (TL_N) de las muestras de cascarón blanco. Muestras sin lavados: **a)** $74\mu\text{m}$, **b)** $149\mu\text{m}$ y **c)** $420\mu\text{m}$; Muestras con tamaño de partícula de $420\mu\text{m}$, con diferentes tratamientos de lavado: **d)** cascarón lavado 2 veces con Etanol, **e)** cascarón lavado 3 veces con H₂O₂ 30%, y **f)** cascarón lavado 3 veces con HCl, secado con y sin acetona.

de agua que quedan atrapadas y con ello afectando a las emisiones TL de la muestra, por lo que se desechó este método. Se determinó que el mejor tratamiento fue con 3 lavados de HCl 37.1% por 60 minutos de reposo cada uno, ya que la intensidad de la señal entre 150 y 200°C es menor (Figura 4.3 f). Para este último lavado, la fracción inorgánica se dejó secar sin acetona, sin embargo, el máximo de la curva de TL_N no resultó bien definido como se esperaba.

Una vez establecida la metodología, se lavaron las muestras de cascarón blanco y se midieron las curvas de brillo de fondo (TL_N) para los poliminerales separados en tamaños de partícula de 420µm, 149µm y 74 µm (Figura 4.4 a), observándose un comportamiento similar entre las curvas de brillo. Se obtuvo un máximo a 275°C, y se asume que éste es debido a la irradiación de fondo del huevo cuyos poliminerales (principalmente calcita) se irradiaron en el fondo ambiental de manera natural. Es probable que los compuestos del alimento y los minerales en el agua que consume el ave lleven implícita la información de fondo que se logró obtener con las curvas de brillo. En la figura 4.4 b se puede apreciar que el pico TL de la curva obtenida entre 150 y 200°C desaparece o es muy pequeño para el menor tamaño de partícula (74µm), contrario a lo que ocurre para 149µm (Figura 4.4 c) y para 420µm (Figura 4.4 d), por lo tanto, a menor tamaño de partícula no se tiene esa contribución del pico, es decir, no se incluye el pico TL entre 150-200°C.

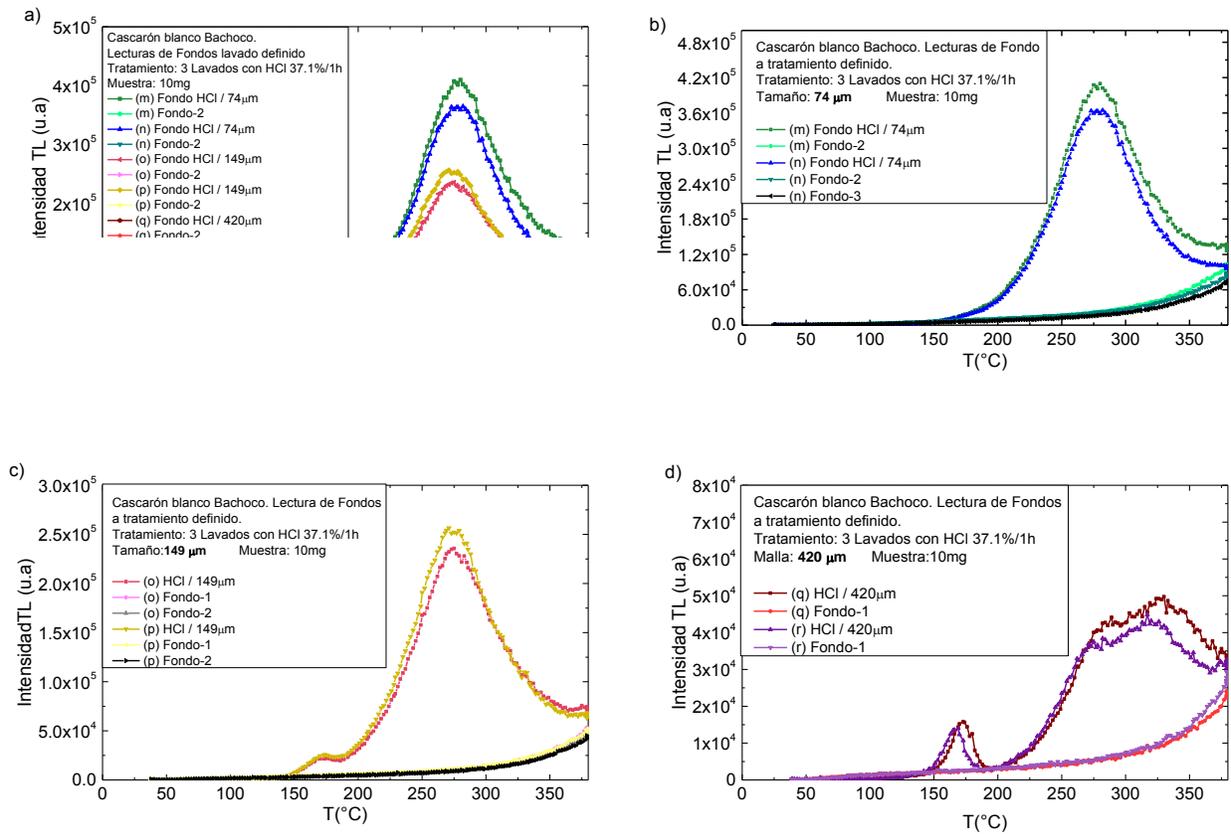


Figura 4.4. Curvas de brillo TL_N de muestras de cascarón blanco tratadas con 3 lavados de HCl 37.1%, para 3 tamaños de partícula sin irradiar (por duplicado). **a)** Comparación de todos los fondos con diferentes tamaños de partícula (74 μm, 149 μm y 420 μm); **b)** 74 μm; **c)** 149 μm; **d)** 420 μm.

Por otra parte, también se realizaron las curvas de brillo de TL_N de huevos rojos para compararlas con las de huevos blancos (Figura 4.5) con el fin de confirmar que la metodología es válida para cualquier tipo de huevo de gallina. En ellas, se observa un comportamiento similar a las muestras de huevos blancos, lo que deja suponer que la metodología también es efectiva para este tipo de huevo.

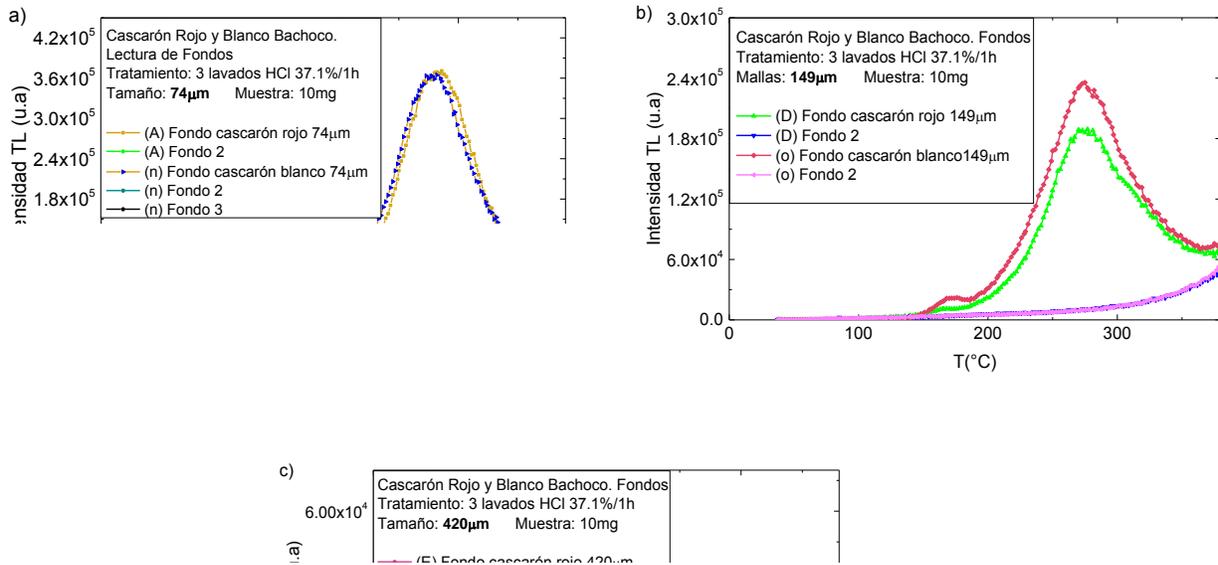


Figura 4.5. Comparación de las curvas de brillo de fondos TL_N de muestras de cascarón rojo y blanco tratadas con 3 lavados de HCl 37.1% para 3 tamaños de partícula sin irradiar (por duplicado). **a)** 74 μm; **b)** 149 μm; **c)** 420 μm.

4.3 CURVAS DE BRILLO DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS

Para irradiar un producto a una dosis determinada se debe, en principio, conocer la tasa o razón de dosis de la fuente, de modo que se pueda calcular el tiempo necesario de exposición para alcanzar la dosis absorbida (Albarrán et al., 2016).

Para este análisis del trabajo, la razón de dosis fue $\dot{D} = 14.977295 \frac{Gy}{min}$ al 23 enero de 2015. El valor \dot{D} se calcula periódicamente de acuerdo a la tabla de decaimiento de ⁶⁰Co para obtener la dosis actualizada.

4.3.1 Termoluminiscencia del cascarón de huevo blanco irradiado con fuentes de ⁶⁰Co

Las muestras de huevo blanco con tamaño de partícula de 149 μm y 74 μm se irradiaron en el laboratorio con gammas de Cobalto-60. En las muestras de huevo blanco irradiadas (Figura 4.6), se observa que existen picos TL entre 50°C y 250°C lo cual es característico en muestras irradiadas normalmente. Para el tamaño de 74 μm (Figura 4.6 a-b) existen dos picos TL a 110 y 145°C, por el contrario de 149 μm (Figura 4.6 c-d) aparece sólo un pico TL a 145°C. En ambos casos de tamaño de partícula se observa que aparecen dos máximos en 270 y 335°C, similar al que aparece en las muestras no irradiadas (TL_N) pero en esta última la curva se encuentra como una envolvente con un máximo en 275°C.

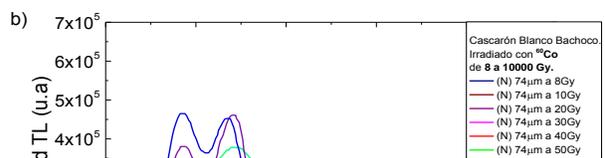


Figura 4.6. Curvas de brillo de los poliminerales de cascarón blanco obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1%, irradiados con ^{60}Co entre 8 y 10 000Gy, tamaños de partícula 74 μm (a y b) y 149 μm (c y d).

Es importante notar la diferencia entre las intensidades que se observa para el tamaño de 74 μm y 149 μm (Figura 4.7 a-d), lo cual está relacionado con los portadores de cargas atrapados y defectos en el material, tales como vacancias y

iones intersticiales. Se recomienda realizar el análisis con tamaño de $74\mu\text{m}$ ya que la respuesta TL es mayor a $3\ 000\ \text{Gy}$ (Figura 4.7 d) y por lo tanto las muestras irradiadas normalmente a esa dosis podrían detectarse muy bien. Es de notarse que a{un a dosis de $10\ \text{Gy}$ las muestras de cascarón blanco ya son detectables por los picos TL de menor temperatura, aproximadamente en 80 y 150°C que aparece. En la figura A1.1 del apéndice I, están todas las dosis de irradiación realizadas a las muestras.

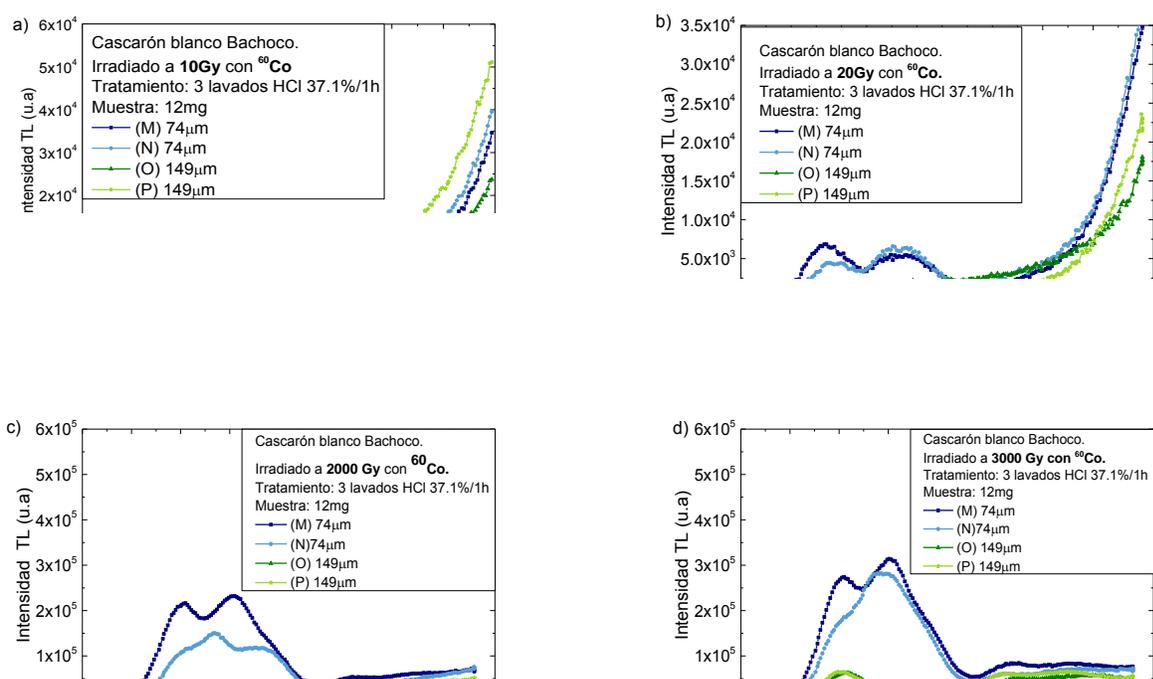


Figura 4.7. Comparación entre las curvas de brillo de los poliminerales de cascarón blanco con tamaños de partícula de $74\ \mu\text{m}$ y los de $149\ \mu\text{m}$, por duplicado cada uno, obtenidos mediante 3 lavados de HCl 37.1% e irradiados con ^{60}Co a dosis de **a)** $10\ \text{Gy}$, **b)** $20\ \text{Gy}$ **c)** $2\ 000\ \text{Gy}$ y **d)** $3\ 000\ \text{Gy}$.

4.3.2 Termoluminiscencia del cascarón de huevo rojo irradiado con fuentes de ^{60}Co

Por otra parte, en las muestras de huevo rojo irradiadas (Figura 4.8 a-d) sólo se encuentra un pico TL entre 50°C y 150°C , debido probablemente a que los

pigmentos que tiene, denominados porfirinas, se encuentran depositados en la matriz cálcica y por ende se generan menos vacancias. Además, también se observan picos TL máximos a 270 y 335°C. Sin embargo, si se comparan los dos tipos de huevo se aprecia una disminución en la intensidad de la señal de las muestras de huevo rojo, donde probablemente también interfiere el pigmento, por lo que podría afectar negativamente la detección de muestras irradiadas. Cabe notar que la intensidad de la señal TL (u.a), para ambos tipos de huevo, aumenta proporcionalmente con la dosis.

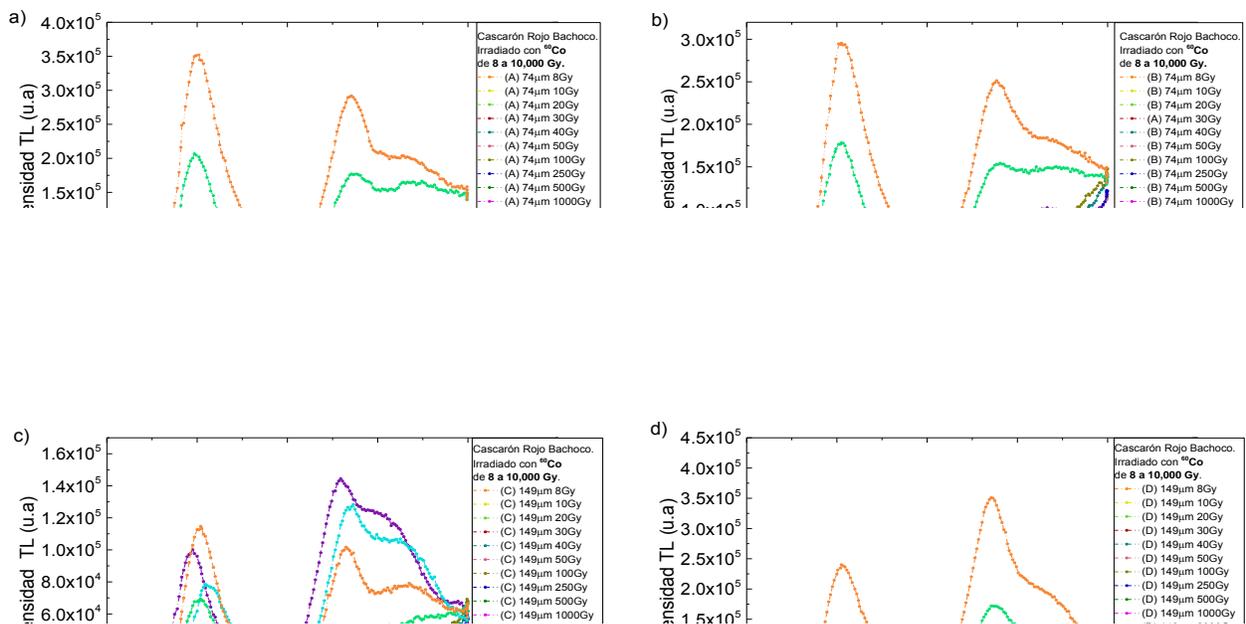


Figura 4.8. Curvas de brillo de los poliminerales de cascarón rojo obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1% e irradiados con ^{60}Co entre 8 y 10 000Gy, tamaños de partícula 74 μm (a y b) y 149 μm (c y d).

La diferencia entre la intensidad de la señal TL para los tamaños de 74 μm y 149 μm no es tan grande en las muestras de huevo rojo (Figura 4.9 a-d), a diferencia de las del huevo blanco. Sin embargo, se aprecia que los picos de las muestras de 74 μm

tienen una respuesta mayor. Aunque la respuesta TL del cascarón rojo es poco intensa, a 20Gy (Figura 4.9 b) ya se puede apreciar un máximo en la curva alrededor de 100°C que puede indicar que el material fue irradiado. En la figura A1.2 del apéndice I, están todas las dosis de irradiación de 8 a 10 000Gy realizadas a las muestras de huevo rojo.

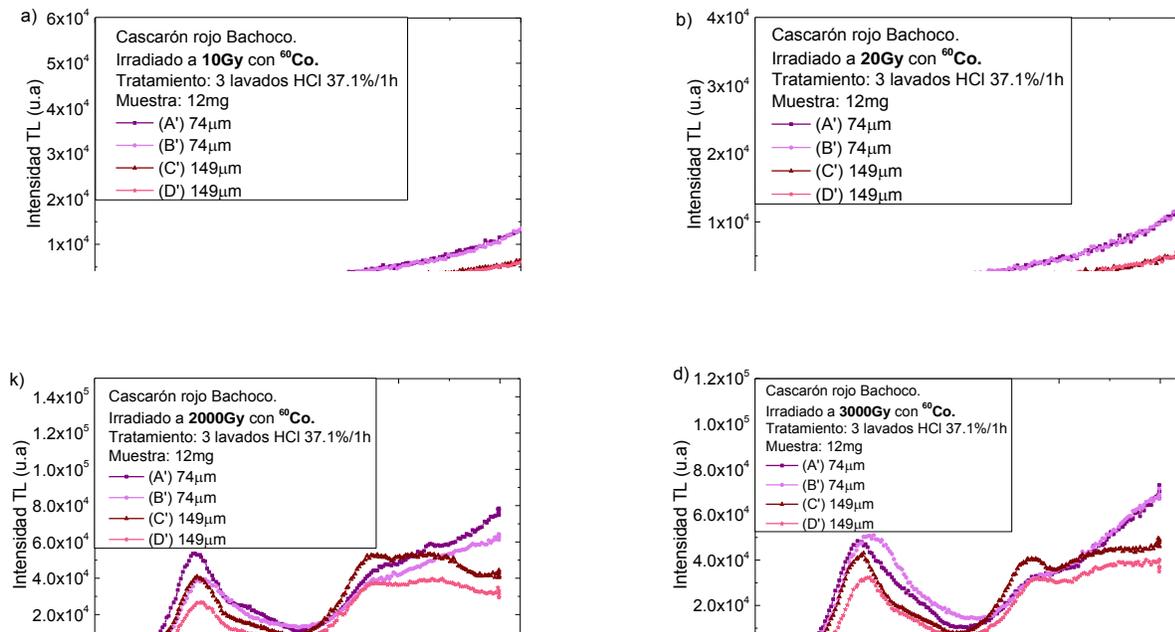


Figura 4.9. Comparación entre las curvas de brillo de los poliminerales de cascarón rojo con tamaños de partícula de 74 μm y los de 149 μm, por duplicado cada uno, obtenidos mediante 3 lavados de HCl 37.1% e irradiados a dosis de **a)** 10 Gy, **b)** 20 Gy, **c)** 2 000 Gy y **d)** 3 000 Gy.

4.3.3 Termoluminiscencia del cascarón de huevo blanco irradiado con fuentes de ^{137}Cs

Para el tamaño de partícula de 74 μm (Figura 4.10 a-b) las muestras de huevo blanco irradiadas con gammas de ^{137}Cs exhiben los dos máximos que aparecen en las muestras de 74 μm irradiadas con gammas de ^{60}Co , uno a 110°C pero el otro se encuentra corrido hacia la derecha, en 170°C. A un mayor tamaño de partícula

(149 μm) sólo aparece un máximo a 110°C (Figura 4.10 c-d), como ocurre en las muestras irradiadas con ^{60}Co , por lo que a una mayor superficie de los granos de las muestras se podrían estar generando más trampas de un solo tipo (con la única excepción de la curva TL a 3 000Gy). Para los dos tamaños también aparecen las curvas a 270 y 335°C.

Figura 4.10. Curvas de brillo de los poliminerales de cascarón blanco obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1% irradiados con fuentes de ^{137}Cs a dosis entre 20 y 10 000Gy, tamaños de partícula 74 μm (**a** y **b**) y 149 μm (**c** y **d**).

Aunado a que las muestras con menor tamaño de partícula (74 μm) exhiben dos máximos TL, éstos son de mayor intensidad en comparación con los de menor tamaño (149 μm). La comparación entre los tamaños de partícula a una misma dosis se encuentra en la figura A1.3 del apéndice I.

Aunque la intensidad de las curvas de brillo TL del huevo blanco son menores cuando éste es irradiado con ^{137}Cs , a 20Gy (Figura 4.11 a) se observa una curva a

95°C para los dos tamaños de partícula y a 50Gy (Figura 4.11 b) ya se pueden observar dos máximos, los cuales no están presentes en las muestras sin irradiar en el laboratorio.

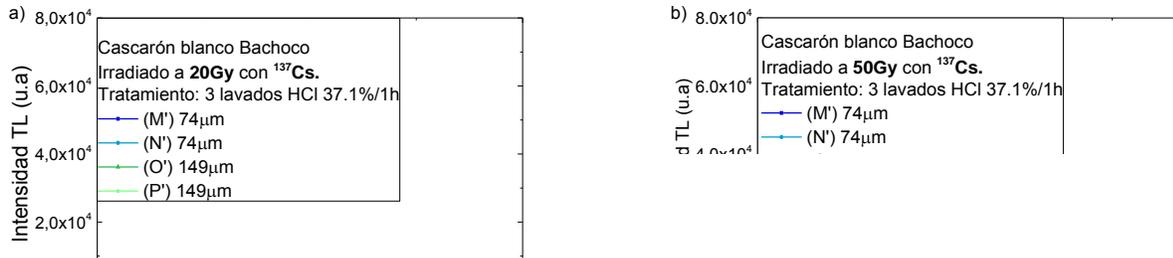


Figura 4.11. Detección de las curvas de brillo de los poliminerales de cascarón blanco con tamaños de partícula de 74 μm y de 149 μm, por duplicado, obtenidos mediante 3 lavados de HCl 37.1% irradiados con ¹³⁷Cs a: **a)** 20 Gy, y **b)** 50 Gy.

4.3.4 Termoluminiscencia del cascarón de huevo rojo irradiado con ¹³⁷Cs

El cascarón de huevo rojo irradiado con ¹³⁷Cs también presenta el máximo de 110°C y otro recorrido a la derecha de 170°C para el tamaño de 74μm (Figura 4.12 a-b), al igual que el cascarón blanco irradiado con la misma energía gamma. Este corrimiento se le atribuye a este tipo de fuente utilizada. De la misma manera que las demás muestras irradiadas, se observan los máximos de 270 y 335°C. Sin embargo, si se compara el cascarón rojo irradiado con ¹³⁷Cs con el irradiado con ⁶⁰Co, éste último no genera el segundo pico a 145°C. Puesto que la energía gamma del ¹³⁷Cs es menor a la del ⁶⁰Co, tiene mayor probabilidad de generar trampas llenas relativamente superficiales, esto puede estar favoreciendo que se generen defectos en el cascarón rojo, a pesar de la deficiencia en la señal que provocan las porfirinas. Estos defectos dan el pico de 145°C pero corrido a 170°C como ya se mencionó.

Por su parte, las curvas de brillo obtenidas con un tamaño de partícula de 149μm (Figura 4.12 c-d) muestran un máximo a 110°C y los máximos a 270 y 335°C, tal

como ocurre en todas las muestras de este mismo tamaño de partícula, irradiadas tanto con ^{60}Co como con ^{137}Cs .

Figura 4.12. Curvas de brillo de los poliminerales de cascarón rojo obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1% irradiados con ^{137}Cs entre 20 y 10 000Gy, tamaños de partícula 74 μm (**a** y **b**) y 149 μm (**c** y **d**).

El cascarón rojo irradiado con fuentes de ^{137}Cs no exhibe ninguna curva a 20Gy (Figura 4.13 a) como en el caso de las muestras irradiada con ^{60}Co . A 50Gy ya se puede apreciar una curva a 95°C debido a que la muestra fue irradiada (Figura 4.13 b). La comparación de la intensidad entre los dos tamaños de partícula se encuentra en la figura A1.4 del apéndice I, donde se aprecia que esta intensidad es mayor es mayor para las muestras de 74 μm .

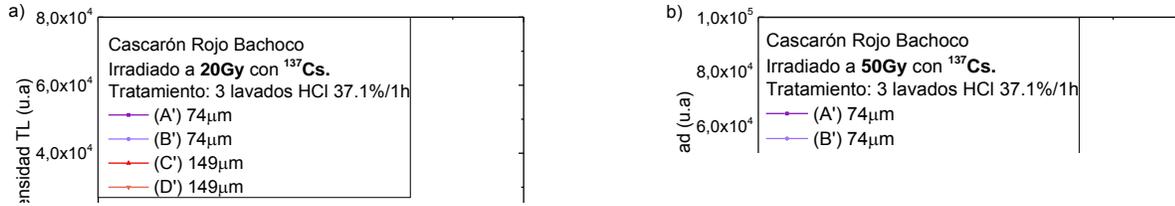


Figura 4.13. Comparación entre las curvas de brillo de los poliminerales de cascarón rojo con tamaños de partícula de 74 μm y los de 149 μm , por duplicado cada uno, obtenidos mediante 3 lavados de HCl 37.1% e irradiados con ^{137}Cs a dosis de **a)** 20 Gy, **b)** 50 Gy, **c)** 2 000 Gy y **d)** 3 000 Gy.

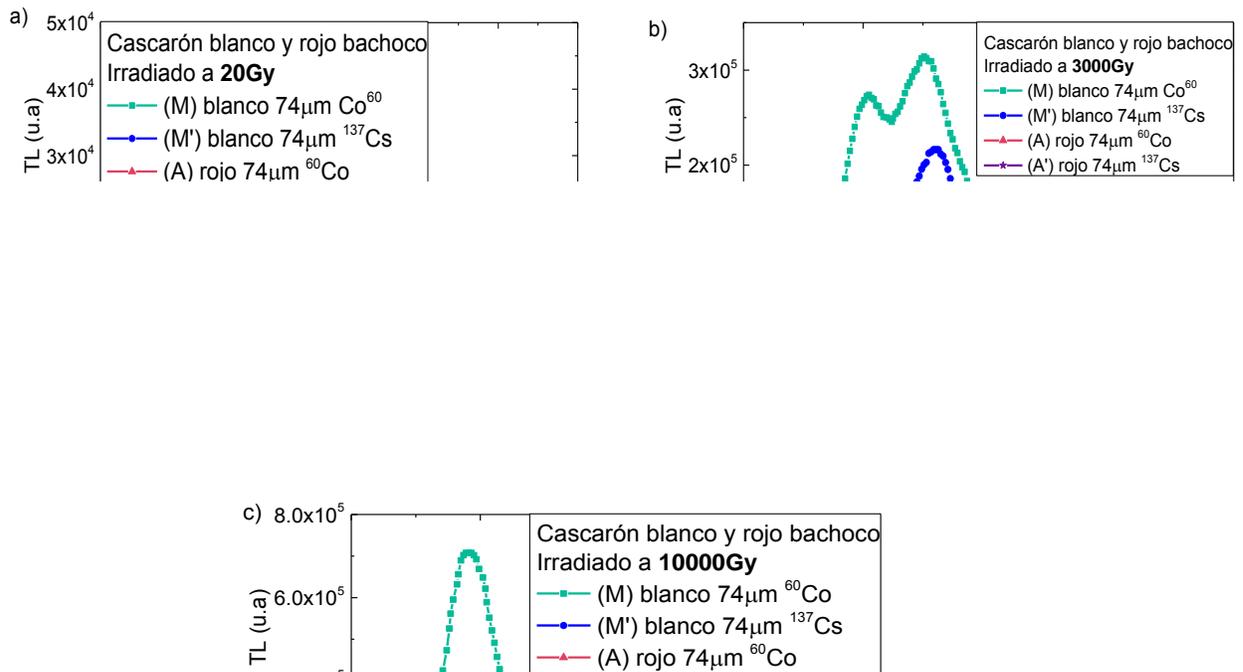


Figura 4.14. Comparación entre las curvas de brillo de los poliminerales de cascarón rojo y blanco con tamaño de partícula 74 μm , irradiadas con ^{60}Co y ^{137}Cs : **a)** 20Gy, **b)** 3 000Gy y **c)** 10 000Gy

El comportamiento de las curvas de brillo de los poliminerales del cascarón blanco irradiados a bajas dosis (20Gy) es similar entre los que fueron expuestos a ^{60}Co y ^{137}Cs . De igual forma responden los poliminerales del cascarón rojo (Figura 4.14 a). Como ya se había mencionado, la respuesta TL es mayor en las muestras de cascarón blanco, ya sea que hayan sido irradiadas con ^{60}Co o con ^{137}Cs . Sin embargo, si se compara los dos tipos de fuente gamma utilizados, se aprecia que los picos TL de las muestras irradiadas con ^{60}Co son de mayor intensidad (Figura 4.14 b y c).

En estas figuras se observan en muestras de cascarón blanco de $74\mu\text{m}$ irradiadas con ambas fuentes gamma, dos máximos, a 110 y 145°C con ^{60}Co , y a 110 y 170°C con ^{137}Cs . Estos dos máximos también se exhiben en muestras de huevo rojo de $74\mu\text{m}$ irradiadas con ^{137}Cs (110 y 170°C), pero las irradiadas con ^{60}Co sólo presentan un máximo a 110°C . En todas las muestras se aprecian los picos de 270 y 335°C . Estos resultados permiten suponer que en el cascarón rojo, su color, interfiere en la emisión de los picos TL y en cambio en las curvas de brillo del cascarón blanco se resuelven mejor las curvas logando mostrar los dos picos TL de menor temperatura, lo cual ayuda en el análisis del carbonato de calcio del cascarón de gallina. Sin embargo, en el cascarón rojo irradiado con ^{137}Cs se muestran dos picos debido a que, como ya se dijo, la energía del ^{137}Cs es menor a la del ^{60}Co , además el irradiador de Cobalto tiene mayor razón de dosis (198.18 Gy/min), lo que también implica que la razón de dosis del Cesio sea mucho menor (10.82 Gy/min) y tarde más tiempo en alcanzar una dosis dada, por lo que se van llenando lentamente las trampas más profundas.

4.4 RESPUESTA TL Y LÍMITE DE DETECCIÓN DE LAS MUESTRAS IRRADIADAS CON ^{60}Co y ^{137}Cs

Se midió la respuesta TL en función de la dosis para huevo blanco y rojo (Figura 4.15). Se observa para el huevo blanco una relación proporcional de la dosis con

respecto a la respuesta obtenida a partir de 250Gy hasta 10 000 Gy, tanto para muestras irradiadas con fuentes de ^{60}Co como para las irradiadas con ^{137}Cs (Figura 4.15 a y c). Mientras que el cascarón de huevo rojo irradiado con ^{60}Co y con ^{137}Cs presenta una relación proporcional a la dosis entre 500Gy hasta 10 000 Gy (Figura 4.15 b y d). Como se mencionó, la pigmentación interfiere en la emisión de la termoluminiscencia debida a la ionización. Es probable que la porfirina que tiñe al cascarón llamado rojo, vuelve deficiente a la emisión de luz de las muestras para fines de detección TL.

Figura 4.15. Respuesta TL en función de la dosis de radiación gamma, de los poliminerales con tamaño partícula de 74 μm y 149 μm (por duplicado); **(a y b)** del cascarón blanco y rojo, respectivamente. Las muestras fueron irradiadas con ^{60}Co entre 8 a 10 000 Gy; **(c y d)** del cascarón blanco y rojo respectivamente, irradiados con ^{137}Cs a dosis de 20 a 10 000 Gy.

Una forma cualitativa para identificar y determinar el límite de detección en alimentos es comparando la curva de brillo de un alimento irradiado con la lectura del primer fondo de un alimento no irradiado. Como se puede apreciar, para el caso del huevo blanco de 74 μm (Figura 4.16 a) aparecen 2 picos TL alrededor de 110 $^{\circ}\text{C}$ y 145 $^{\circ}\text{C}$, y para el de 149 μm (Figura 4.16 b) un pico a 110 $^{\circ}\text{C}$ característicos de los poliminerales del carbonato del huevo irradiado. Esos picos no aparecen en la muestra sin irradiar, sino que se presenta una curva ancha a partir de 200 $^{\circ}\text{C}$ hasta 400 $^{\circ}\text{C}$, sobre la cual se observa un máximo a 276 $^{\circ}\text{C}$, típico del fondo de la calcita.

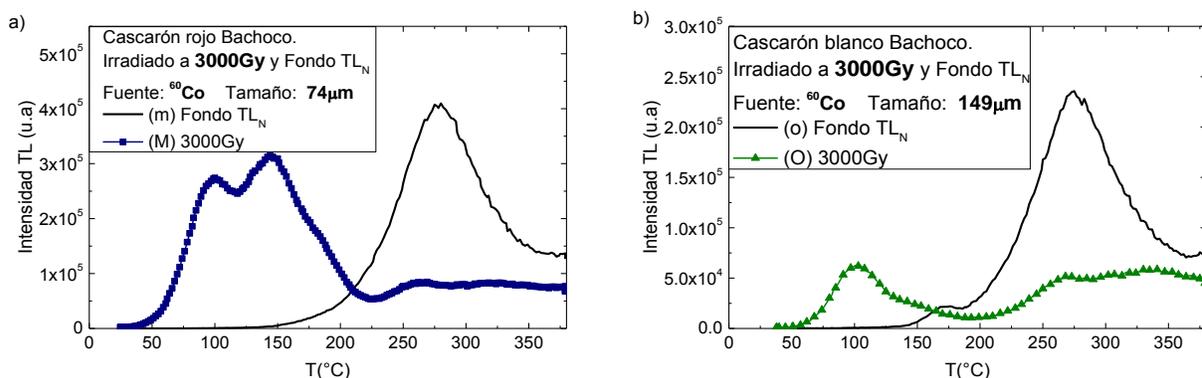


Figura 4.16. Comparación entre las curvas de brillo TL_N (curva continúa) y la de 3 000Gy de los poliminerales de cascarón blanco obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1% e irradiados con ⁶⁰Co, tamaños de partícula a) 74 μm , y b) 149 μm .

En el límite de detección cualitativo del huevo rojo irradiado con ⁶⁰Co (Figura 4.17), se aprecia un pico TL alrededor de 110 $^{\circ}\text{C}$ característico del carbonato de calcio irradiado, además de los picos a 270 y 335 $^{\circ}\text{C}$. Para la muestra no irradiada se observa una curva con un máximo a 271 $^{\circ}\text{C}$, muy similar a la obtenida con el huevo blanco.

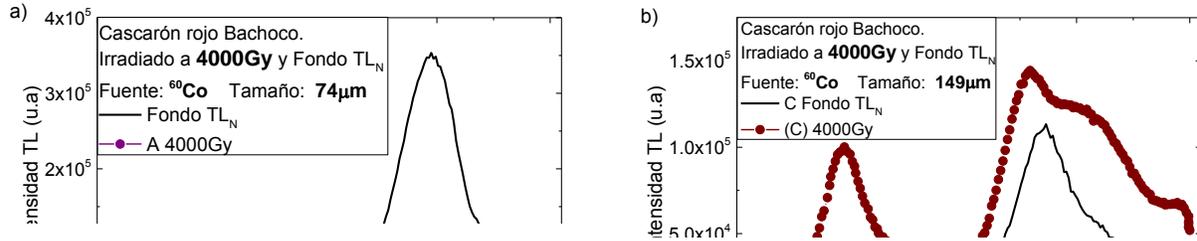


Figura 4.17. Comparación entre las curvas de brillo TL_N (curva continua) y la de 4 000Gy de los poliminerales de cascarón rojo obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1% irradiados con ⁶⁰Co, tamaños de partícula **a)** 74 μm y **b)** 149μm.

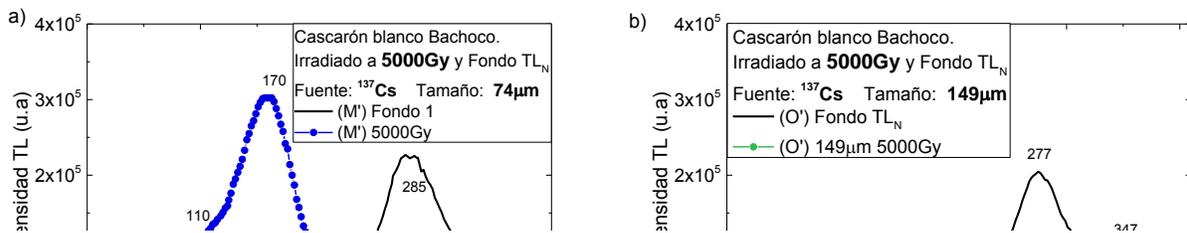


Figura 4.18. Comparación entre las curvas de brillo TL_N (curva continua) y a la dosis de 5 000Gy de los poliminerales de cascarón blanco obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1% irradiados con ¹³⁷Cs, tamaños de partícula **a)** 74 μm y **b)** 149μm.

De manera cualitativa, para la detección TL de las muestras irradiadas, el pico TL en 110°C se sigue mostrando para las muestras expuestas con gammas de ¹³⁷Cs. Ese pico no se observa en las muestras del huevo blanco y rojo que no fueron irradiadas intencionalmente en el laboratorio (Figuras 4.18, 4.19).

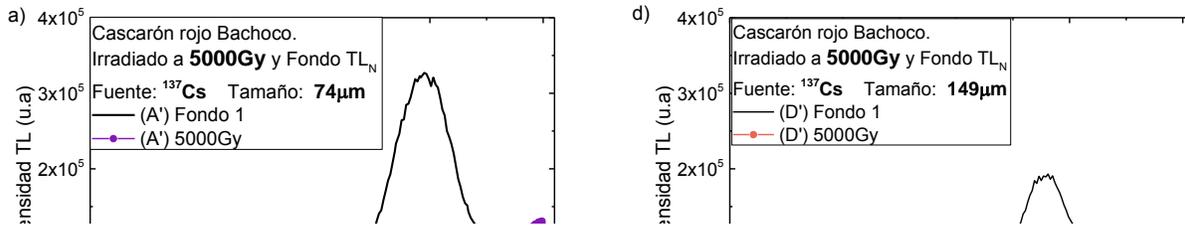


Figura 4.19. Comparación entre las curvas de brillo TL_N (curva continua) y a 5000Gy de los poliminerales de cascarón rojo obtenidos con 3 lavados de HCl 37.1% irradiados con ¹³⁷Cs, tamaños de partícula **a)** 74 μm y **b)** 149μm.

Sin embargo, es de notarse que las curvas de brillo difieren ligeramente en su estructura o forma e intensidad TL. Por ejemplo, en la figura 4.18a del cascarón blanco (74μm), las curvas de brillo son definidas pero se notan los picos de 110 y 170 °C en una sola banda, mientras que para el tamaño de partícula de 149μm (Figura 4.18b) el primer pico de 110°C se define muy bien pero está asociado al de 170°C que se nota con menor intensidad TL. El resto de la curva de brillo desde 200 a 400°C muestra mejor la forma de los picos que en la de 74μm. La mayor diferencia TL entre ambos tamaños de grano, es justamente la menor intensidad que presenta la de 149 μm. De manera similar, ocurre para las muestras del cascarón rojo (Figuras 4.19 a y b). Las curvas de brillo son similares pero menos intensas para el mayor tamaño de grano.

La disminución de la intensidad TL se puede atribuir a que en el tamaño de grano mayor puede ocurrir la autoabsorción de la luz emitida durante la estimulación térmica y habría menos cantidad de fotones por contar disminuyendo finalmente la emisión de la intensidad TL.

Esta comparación es cualitativa, por lo que es necesario un criterio para encontrar el límite de detección. Para ello, se ha propuesto el cociente entre la respuesta TL del alimento irradiado (TL_{irr}) y la del no irradiado (TL_N), en donde si el cociente es

menor o igual a uno se considera que el alimento no ha sido irradiado; valores mayores a uno determinan que se trata de una muestra irradiada (EN 1788:2001). Para explicar mejor la tendencia de los datos del cociente TL (Tablas en el Apéndice II), se muestra la figura 4.20.

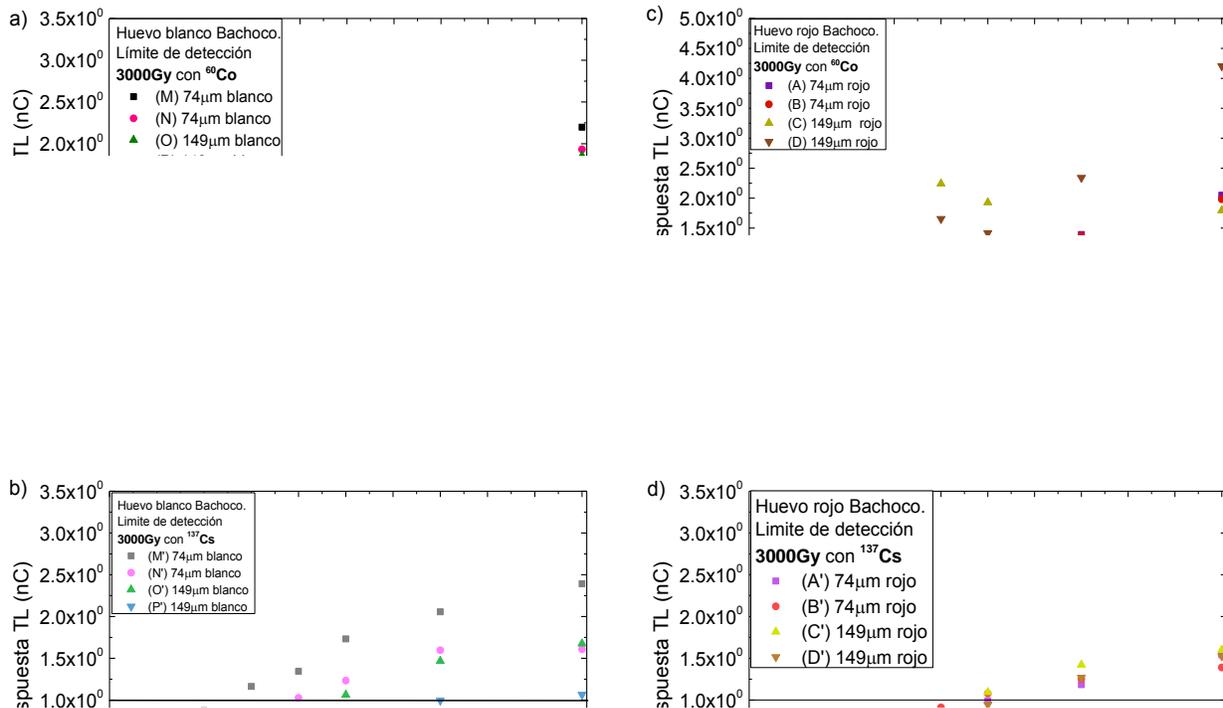


Figura 4.20. Límite de detección TL de las muestras irradiadas con tamaño de partícula de 74µm y 149µm (por duplicado). **a)** blanco irradiado con ^{60}Co , **b)** blanco irradiado con ^{137}Cs , **c)** rojo irradiado con ^{60}Co , **d)** rojo irradiado con ^{137}Cs . La línea horizontal en 1 de la respuesta TL marca el límite de detección, e indica que las muestras son identificadas como irradiadas si la señal $\text{TL}_{\text{irr}}/\text{TL}_{\text{fondo}} > 1$.

En la figura 4.20a, se observa que para el cascarón blanco irradiado con ^{60}Co y con un tamaño de 74µm (Tablas A2.1 y A2.2, A.II), se obtiene el límite de detección TL a partir de 3 000Gy, lo cual puede afirmar que la muestra fue irradiada. Mientras que a un tamaño de 149µm, la muestra es detectada como irradiada hasta 5 000Gy

(Tablas A2.3 y A2.4, A.II). Esto indica que este tipo de carbonato es difícil de identificarse como irradiado, a no ser por la forma de las curvas de brillo desde las dosis bajas.

Al realizar la determinación cuantitativa del huevo rojo irradiado con ^{60}Co , se aprecia en la figura 4.20b, para un tamaño de grano de $74\ \mu\text{m}$ (Tablas A2.5 y A2.6, A.II) y $149\ \mu\text{m}$ (Tablas A2.7 y A2.8, A.II), que a $3\ 000\text{Gy}$ no se detecta que la muestra haya sido irradiada contrario al caso del huevo blanco. Hasta $4\ 000\text{Gy}$, para ambos tamaños de grano, se puede afirmar que el cascarón rojo fue irradiado. Probablemente la pigmentación se daña por la alta dosis requerida e interfiere en el atrapamiento principalmente de cargas libres (electrones y huecos) y en las recombinaciones para producir la emisión TL de manera eficiente. En este sentido, cabe la posibilidad de realizar mayor investigación todavía.

Al irradiar las muestras con ^{137}Cs se aprecia para el huevo blanco (figura 4.20 c), que el límite de detección es $4\ 000\text{Gy}$ para un tamaño de partícula de $74\ \mu\text{m}$ (Tablas A2.9 y A2.10, A.II), y a $5\ 000$ y $7\ 000\text{Gy}$ para un tamaño de partícula de $149\ \mu\text{m}$ (Tablas A2.11 y A2.12, A.II). Por lo tanto, la dosis requerida para afirmar que el huevo fue irradiado es mayor cuando se utilizan gammas de ^{137}Cs . En la figura 4.20d se observa que el huevo rojo irradiado con ^{137}Cs también muestra un límite de detección mayor al irradiado con ^{60}Co . Para un tamaño de $74\ \mu\text{m}$ (Tablas A2.13 y A2.14, A.II) y $149\ \mu\text{m}$ (Tablas A2.15 y A2.16, A.II), el límite de detección TL es $5\ 000\text{Gy}$.

Para una mejor detección, es conveniente utilizar para el análisis el tamaño de grano de $74\ \mu\text{m}$, así como preferentemente irradiar con fuentes gamma de ^{60}Co y que además se usa en los irradiadores comerciales para la irradiación de alimentos.

4.5 REPRODUCIBILIDAD DE LA SEÑAL TL

Dado que las curvas de brillo variaban en su forma y sus picos máximos relativamente poco en sus posiciones de temperatura, se realizó la reproducibilidad TL (Figura 4.21 a) exponiendo las muestras a la misma dosis gamma de ^{60}Co . Con esto se pretende conocer el comportamiento de la muestra y la veracidad del estudio. Para ello se escogió la dosis de 500Gy de la región lineal en la dosis-respuesta, cuidando de evitar una dosis de saturación de la señal TL.

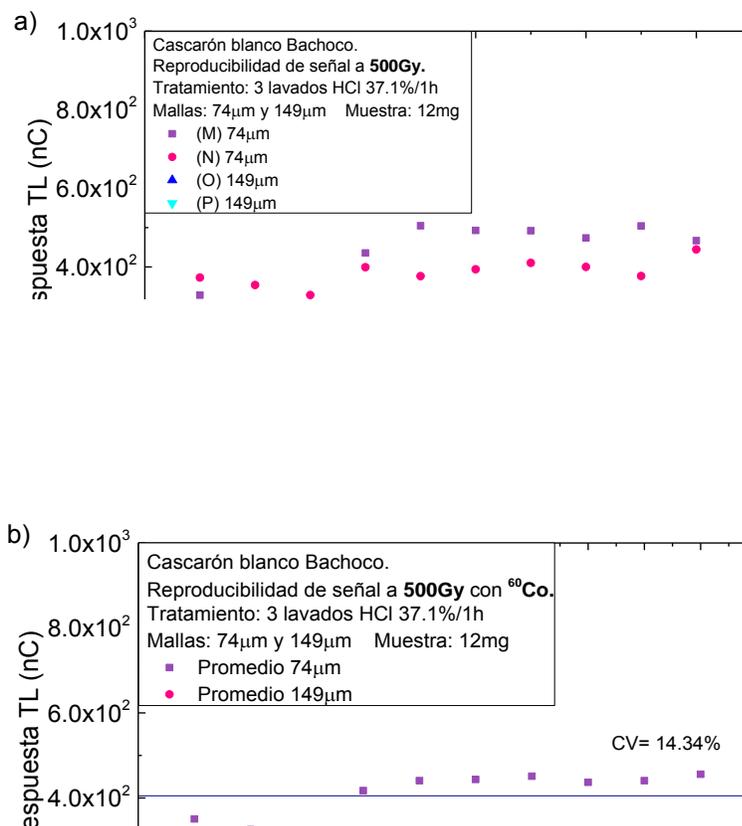


Figura 4.21. Reproducibilidad de la señal TL del cascarón blanco, expuesto a 500 Gy con ^{60}Co del Gammabeam, **a)** medidas por duplicado, **b)** promedio de la respuesta TL y su coeficiente de variación (74µm, CV=14.34%; 149µm, CV= 20.98%).

Se repitió la irradiación y lectura consecutiva por 10 veces para tamaños de partícula de 74µm y 149µm. El promedio de las medidas de la respuesta TL (Figura 4.21 b) fue ajustado para los dos tamaños de partícula y se obtuvieron sus coeficientes de

variación correspondientes. Si bien, estos valores de CV son considerablemente grandes respecto al 5% o 7% máximo aceptado para materiales usados como dosímetros (Furetta, 2003), se ha reportado ya que los cascarones de huevo de carbonatos o calcita muestran respuestas TL variables, dependiendo de la estructura cristalina del mineral (Bhatti et al., 2008). Por esta razón las respuestas TL son medianamente reproducibles pero pueden ser útiles para dosimetría de dosis altas del huevo que se requiera esterilizar para la industria avícola.

4.6 PÉRDIDA DE LA SEÑAL O FADING DE LAS SEÑALES TL

Es importante evaluar que la señal TL sea detectable durante el paso del tiempo para la correcta identificación de un alimento irradiado. Para obtener la pérdida de la señal TL del cascarón de huevo blanco y rojo, se midieron las señales residuales conforme pasó el tiempo de almacenamiento hasta 330 días en obscuridad y temperatura ambiente, para los tamaños de partícula de 74 μ m y 149 μ m.

En el cascarón blanco para los dos tamaños de partícula (Figura 4.22 a-b) se observa la curva a 145°C y otra a 275°C. Ésta última es similar en intensidad a la obtenida de la muestra sin irradiar (TL_N) ya que para este estudio las muestras fueron lavadas con el procedimiento escogido y posteriormente irradiadas, sin hacer una lectura previa de su curva TL_N . La intensidad de la primera curva va disminuyendo con el paso del tiempo, en tanto que la segunda curva va aumentando. Esto puede deberse a que hay una transferencia de electrones de las trampas más superficiales a trampas más profundas, afectando así el valor de la respuesta TL integrada (Figura 4.22 c). Se aprecia que la señal disminuye y se recupera en el periodo de 30, 130 y 180 y 330 días para el tamaño de 74 μ m y 30, 130, 180, 300 y 330 días para el tamaño de 149 μ m.

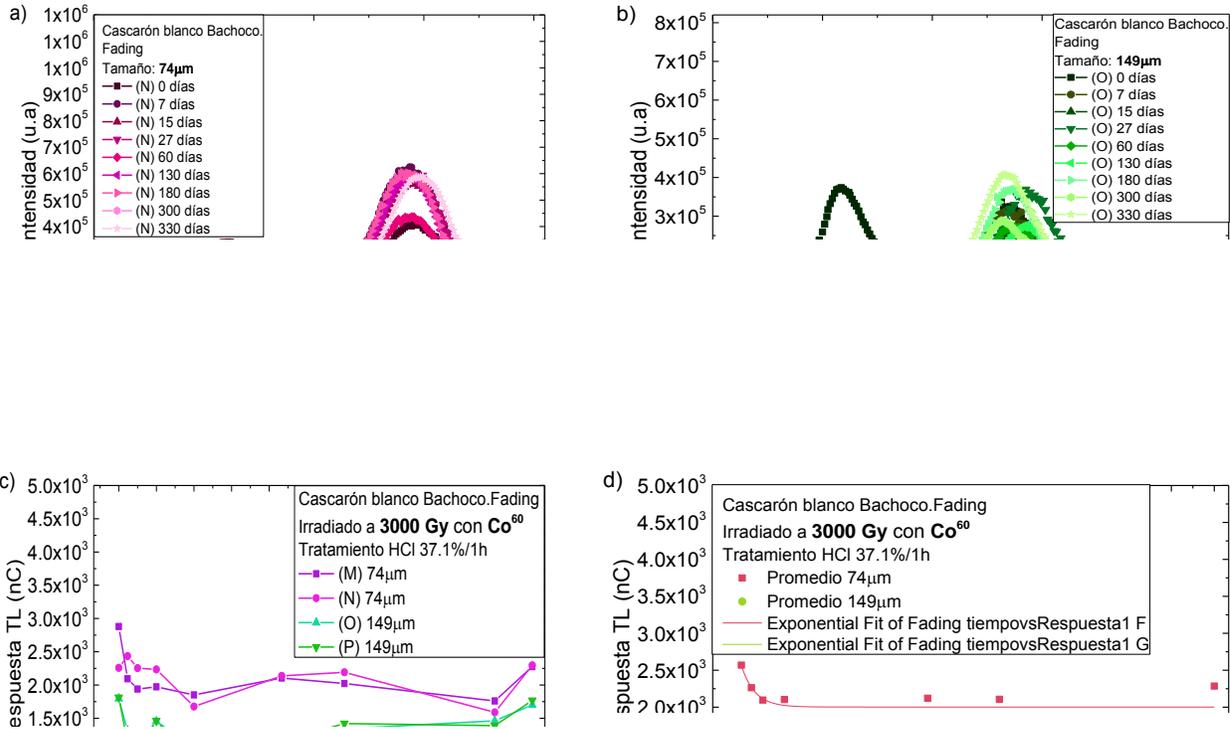


Figura 4.22. Decaimiento TL del cascarón blanco de 74 y 149 μm por duplicado, a 3 000Gy. **a), b)** Curvas de brillo de 74 y 149 μm, respectivamente. **c)** Fading de la respuesta TL respecto al tiempo, medido entre 0 a 330 días, **d)** promedio de las medidas de la respuesta TL del fading, para el tamaño de 74 μm la r^2 es 0.3585, y para 149 μm $r^2 = 0.1220$.

Con datos promedios de la respuesta TL en función del tiempo (Tabla A3.1, A III), se observa que las señales presentaron una disminución o fading del 18.38% para 74 μm y 40.98% para 149 μm al final de 15 días. Después de 6 meses de almacenamiento, se observó que la señal se recuperó y se obtuvo el decaimiento de 17.99% para 74 μm y 23.50% para 149 μm. Durante el tiempo que duró la prueba, se puede apreciar que la señal cae y se recupera, comportamiento típico de las calcitas. Finalmente, al cabo de 330 días se aprecia que la señal tiene un decaimiento de 10.99% para 74 μm y de 3.92% para 149 μm, con respecto a la primer

señal. Por lo tanto, el carbonato de calcio que compone al cascarón blanco tiene un comportamiento de fading anómalo porque se recupera en su señal TL, obteniéndose un comportamiento exponencial en su decaimiento del tipo $y=y_0 + A \cdot e^{(R \cdot 0 \cdot x)}$ y una r^2 para $74\mu\text{m}$ de 0.3585, y para $149\mu\text{m}$ fue de 0.1220 (Figura 4.22 d). Se puede decir, que si el producto de huevo blanco se irradiara en la industria para sanitizarlo, podría identificarse por su fading TL hasta 330 días. Además sus curvas de brillo presentan el pico TL hacia menor temperatura, que no aparece en las del fondo natural, indicando que las muestras fueron irradiadas.

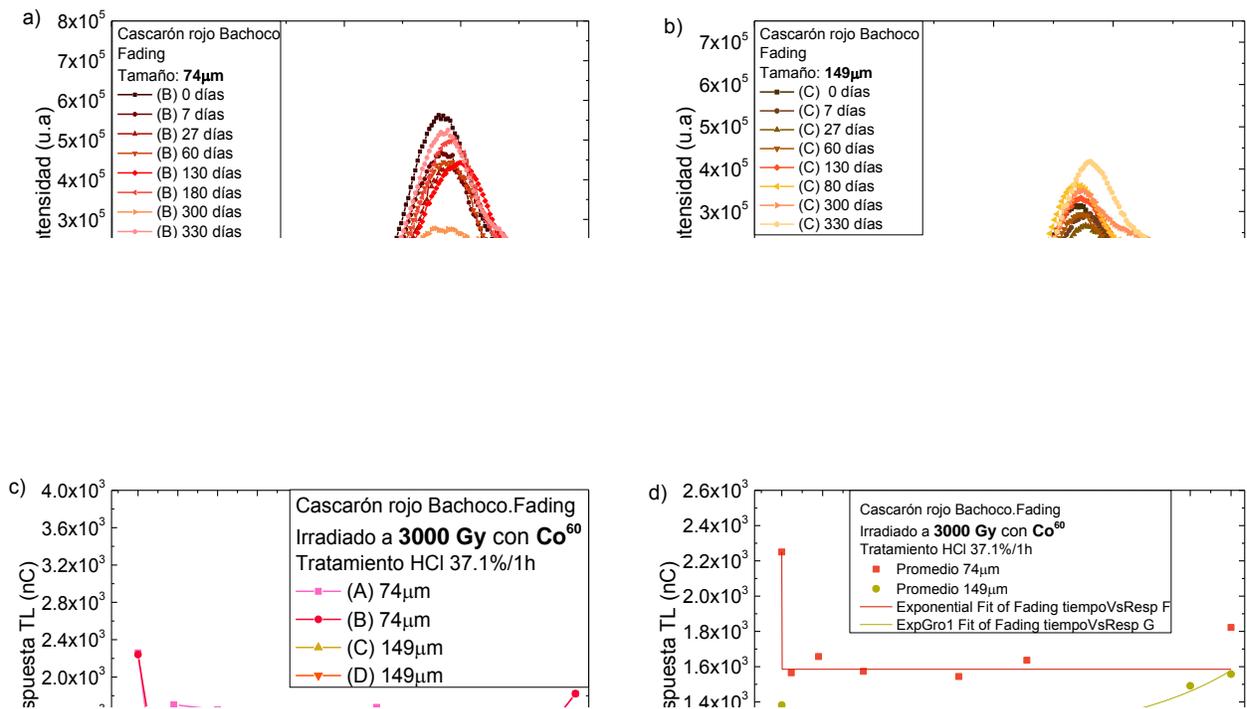


Figura 4.23. Decaimiento TL del cascarón rojo de 74 y $149\mu\text{m}$ por duplicado, a 3000Gy . Curvas de brillo de **a)** 74 y **b)** $149\mu\text{m}$, respectivamente. **c)** Fading respecto al tiempo, medido desde 0 hasta 330 días, **d)** promedio de las medidas de la respuesta TL del fading, donde para el tamaño de $74\mu\text{m}$ la r^2 fue 0.5922 y para $149\mu\text{m}$ la r^2 fue 0.5655.

De igual forma se realizó la determinación del decaimiento de la señal TL de las muestras del cascarón de huevo rojo (Figura 4.23 a-b). Se aprecian también los picos a 145 y 275°C. Así mismo, se ve una disminución de la intensidad del primer pico con el paso del tiempo, mientras que el segundo pico va aumentando por la posible transferencia o re-atrapamiento de electrones en trampas más profundas. Se observa que el valor de la respuesta TL integrada (Figura 4.23 c) para 74 µm se recuperó a 130, 180 y 330 días mientras que la señal para 149µm tuvo más variaciones pues se recuperó en el periodo de 27, 130, 180, 300 y 330 días. Es muy posible que exista una gran distribución de trampas casi continuas en la banda gap que participa activamente en las liberaciones y re-atrapamientos de cargas en el transcurso del tiempo (Cruz-Zaragoza et al., 2006; Favalli et al., 2006).

Se promediaron las dos respuestas TL medidas para un mismo tamaño de partícula (Tabla A3.2, A III). Se observa que las señales presentaron fading de 18.14% para 74µm, y 19.25% para 149µm al final de 30 días, ambos valores son mayores a 15% que se espera que decaiga la señal por mes. Sin embargo, al cabo de 330 días la señal se recuperó a 19.02% para 74µm, y aumentó 34.73% para 149µm con respecto a la inicial. El comportamiento que presenta la muestra de 74µm es de decaimiento exponencial del tipo $y=y_0 + A \cdot e^{(R \cdot 0 \cdot x)}$ con $r^2= 0.59223$ (Figura 4.23 d). Es evidente que el este tamaño de partícula tiene un decaimiento más estable comparado con el de 149µm. El huevo rojo que se irradia en la industria podría identificarse al cabo de 330 días por la forma que presentan las curvas de brillo con sus picos TL. Pues afortunadamente, en este período de tiempo se sigue apreciando la curva de menor temperatura gracias en parte a la estabilidad de las trampas, la cual no aparece en muestras de cascarón no irradiado.

4.7 BLANQUEO TÉRMICO DE LAS CURVAS DE BRILLO TL

A este proceso se le conoce como blanqueo térmico y es de mucha utilidad para identificar bien los diferentes picos que se generan o la llamada estructura de las curvas de brillo y estudiar los parámetros cinéticos de este comportamiento.

Conforme se aumenta la temperatura se va borrando la señal TL de los picos que aparecen a menor temperatura, los cuales están asociados las trampas más superficiales. Se eligió el tamaño de partícula de 74 μm porque presentaba una mayor intensidad en la señal TL para el cascarón blanco y rojo, además que para el caso del blanco se podía apreciar dos picos a ese tamaño de grano. Las muestras fueron irradiadas a 3 000Gy y posteriormente sometidas a diferentes temperaturas de calentamiento, desde 60 hasta 400°C y enseguida se midió la señal TL.

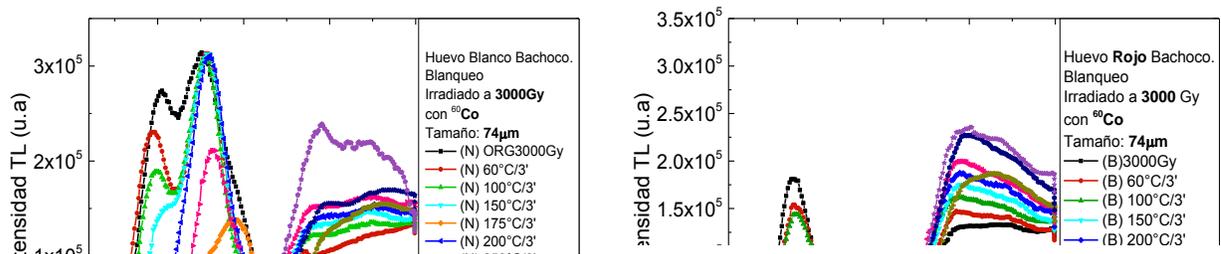


Figura 4.24. Blanqueo térmico de las muestras de cascarón blanco y rojo con tamaño de partícula de 74 μm : **a)** Curvas de brillo del cascarón blanco, **b)** Curvas de brillo del cascarón rojo. Blanqueo de la respuesta TL del **c)** cascarón blanco a 3 000Gy, y **d)** cascarón rojo a 3 000Gy.

Para el cascarón blanco (Figura 4.24 a) se observan dos picos en 110 y 145°C, cuando la muestra está recién irradiada y no recibe tratamiento térmico. Conforme se aumenta la temperatura de calentamiento el primer pico va disminuyendo su

intensidad hasta borrarse a 200°C. A 300°C de calentamiento ya sólo aparece el tercer y cuarto máximo (270 y 335°C respectivamente). Se puede apreciar que después de esta temperatura, los dos picos restantes se recorren hacia menor temperatura pero incrementa su intensidad en la señal. En el cascarón rojo (Figura 4.24 b) se obtiene sólo un pico a 110°C y éste va disminuyendo su intensidad y se va recorriendo a mayor temperatura, además que la intensidad del segundo máximo que se observa (270°C) va aumentando debido probablemente al fenómeno de transferencia de cargas a niveles profundos. Es decir, se vacían progresivamente las trampas superficiales y los defectos electrónicos pares electrón-hueco (e-h) se recombinan en trampas más profundas por efecto de la excitación térmica.

Sin embargo, la respuesta TL del decaimiento de la señal por blanqueo térmico del cascarón blanco y rojo (Figura 4.24 c y d, respectivamente), presenta un comportamiento anómalo. Este comportamiento es similar al decaimiento a temperatura ambiente pues la señal tiende a recuperarse. Esto indica, que son los mismos tipos de trampas responsables de tal comportamiento. En la tabla A3.3 del apéndice III se muestra el porcentaje de decaimiento, donde se confirma que la señal TL decae y se recupera, es decir, no hay un blanqueo térmico uniforme de las curvas de brillo total. Puede observarse que a 300°C la pérdida de la señal TL decae para el huevo blanco y rojo en 56.57% y 21.26%, respectivamente, en comparación a la señal inicial obtenida a 3 000Gy.

4.7.1 Determinación de la energía de activación (E) y factor de frecuencia (s)

Dado que el blanqueo térmico permite distinguir los picos máximos de cada una de las curvas TL, éste fue utilizado para hacer un análisis de los parámetros cinéticos de las mismas. Para dicho análisis, se eligieron 4 curvas de brillo del huevo blanco (Figura 4.25 a) y 4 del huevo rojo (Figura 4.25 b).

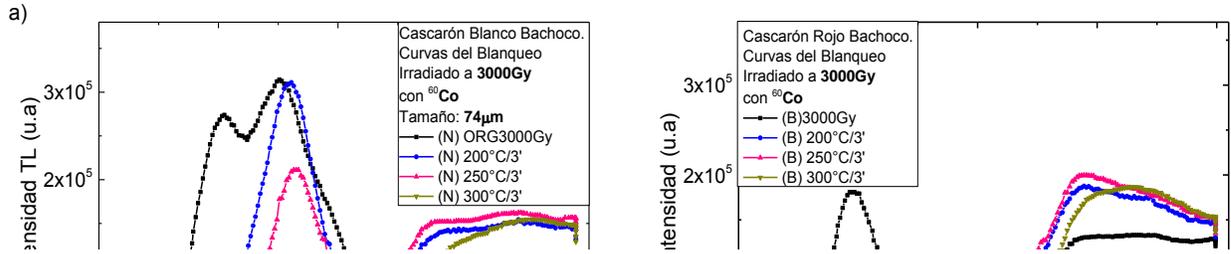


Figura 4.25. Curvas de brillo de 74 μm seleccionadas para la estimación de la energía de activación (E) y el parámetro de frecuencia (s).

Al calentar el material previamente irradiado, se suministra energía térmica que favorece la liberación de los electrones atrapados de forma exponencial hasta que se vacían las trampas y por ende decae la señal, generando una curva asimétrica. Como se mencionó en el capítulo 2.8.2, para estimar la energía de activación, se utilizó el método de levantamiento inicial (IRM, por sus siglas en inglés). Para el cálculo, se tomó del 10 al 15% de los primeros valores obtenidos en la curva de brillo, pues en ese intervalo inicial la temperatura es casi constante. Para volver lineal la ecuación (8), siguiendo un comportamiento del tipo $y=mx + b$, se aplica el logaritmo natural quedando entonces:

$$\ln(I) = -\frac{E}{k}c + \frac{1}{T_M} \quad (9)$$

Para resolver esta expresión, se graficó el logaritmo de la intensidad TL en función del inverso de la temperatura para cada pico seleccionado, obteniendo una recta cuya pendiente, m , es igual a $-\frac{E}{k}$ (Figura 4.26). Conociendo el valor de la constante de Boltzmann y de la pendiente, se calculó la energía de activación (Tabla 4.1).

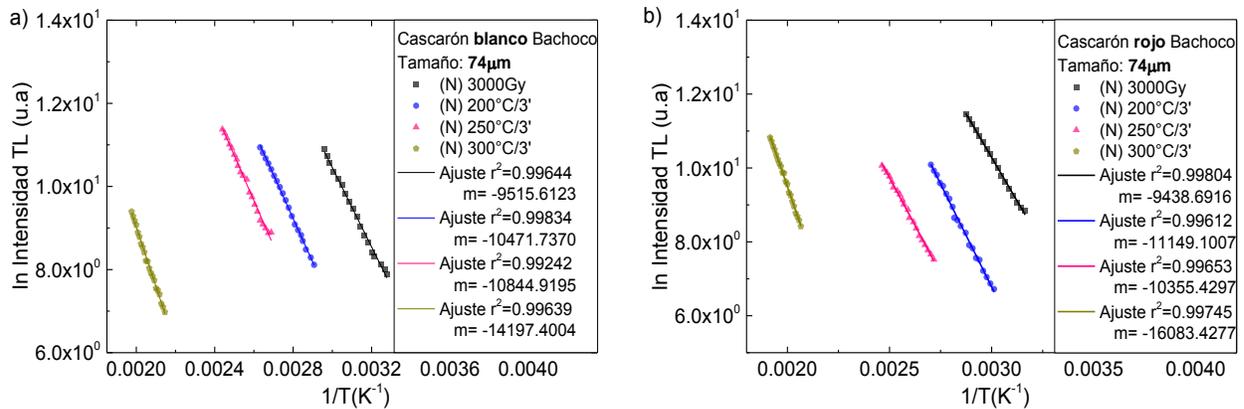


Figura 4.26. Comportamiento de $\ln(I)$ en función de la temperatura ($1/T$) para obtener los parámetros cinéticos (E y s , **a**) para el cascarón de huevo blanco, **b**) para el cascarón de huevo rojo.

Se encontró que la energía de activación, E , a una misma temperatura de blanqueo, es muy similar entre el cascarón blanco y rojo por lo que las trampas a distintos niveles son de la misma naturaleza en ambos casos.

Como ya se observó en la figura 4.25, a medida que aumenta la temperatura de blanqueo, los picos se van recorriendo a una mayor temperatura, pues las trampas a las que están asociados se encuentran más profundas en el gap, y por ende requieren de más energía para ser liberadas. Es por ello que en la tabla 4.1 se observa que la energía de activación requerida por ejemplo, para los picos de 358 y 330°C del cascarón blanco (1.22eV) y rojo (1.39eV), respectivamente, es mayor a la energía requerida para los picos localizados en 105°C del cascarón blanco (0.82eV) y 95°C del cascarón rojo (0.81eV).

Otro parámetro cinético que se calculó, es el factor de frecuencia de escape (s), es decir, el número de oscilaciones por segundo que debe dar el electrón para escapar de la trampa. Éste se puede despejar de la ecuación (5) quedando:

$$S = \frac{e^{\left(-\frac{E}{kT_M}\right) * kT_M^2}}{\beta E} \quad (10)$$

donde β es la velocidad de calentamiento gradual de tipo lineal de la plancheta del equipo TL, con valor de $\beta=2^\circ\text{C/s}$. Los demás parámetros fueron ya definidos anteriormente.

Tabla 4.1. Cálculo de los valores de E y s de las curvas de brillo (Figs. 4.25) obtenidas del blanqueo térmico de $74 \mu\text{m}$. Muestras expuestas a $3\,000 \text{ Gy}$ de ^{60}Co en el irradiador semi-industrial Gammabeam 651PT.

<i>Cascarón blanco</i>				<i>Cascarón rojo</i>			
Temperatura Blanqueo ($^\circ\text{C}$)	Tmax ($^\circ\text{C}$)	E (eV)	s (s^{-1})	Temperatura Blanqueo ($^\circ\text{C}$)	Tmax ($^\circ\text{C}$)	E (eV)	s (s^{-1})
0	105	0.82	4.63×10^9	0	95	0.81	7.11×10^9
200	161	0.90	1.95×10^9	200	125	0.96	7.49×10^{10}
250	165	0.93	3.61×10^9	250	152	0.89	2.40×10^9
300	358	1.22	5.99×10^8	300	330	1.39	3.13×10^{10}

El parámetro de frecuencia (s) del cascarón blanco, es decir, el número de veces por segundo que un electrón interaccionó con la red cristalina, se encontró dentro del orden de 10^8 s^{-1} para el blanqueo de menor temperatura, y 10^{10} s^{-1} para los blanqueos de temperaturas mayores (Tabla 4.1). Mientras mayor es el valor de E y menor el valor de (s), el máximo de un pico se encuentra a mayor temperatura y por lo tanto, la estabilidad térmica de los electrones atrapados es mayor. Sin embargo, en la misma tabla se aprecia que el cascarón rojo no mostró esta tendencia, pues el factor s aumentaba y disminuía entre el orden de 10^9 y 10^{10} s^{-1} . Los valores del parámetro de la frecuencia s están dentro del intervalo esperado para el sólido.

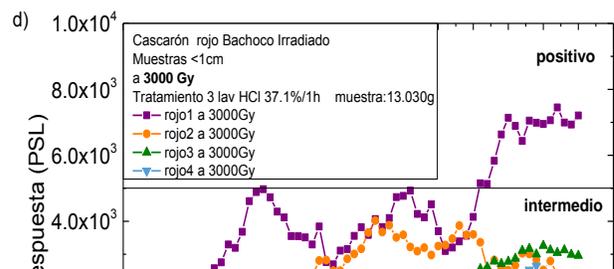
4.8 RESPUESTA E IDENTIFICACIÓN PSL DEL CASCARÓN BLANCO Y ROJO

Para las medidas de la detección PSL, los cascarones del huevo Bachoco, rojo y blanco, fueron lavados con HCl 37.1% e irradiados de 200 a 10 000 Gy en el irradiador semi-industrial Gammabeam de ^{60}Co . El método de PSL utiliza luz infrarroja (IR) para excitar los electrones, por lo que no destruye completamente la señal de las muestras, una ventaja frente al método TL. Siendo así, la dosis se va acumulando en los poliminerales y por ello a las primeras dosis (200 a 700Gy) no se daban completas esto es que se iban acumulando para completar la dosis deseada. Por ejemplo, se da la primera dosis de 200 y posteriormente para aplicar una dosis de 500Gy se irradia la muestra a 300Gy para completar y así sucesivamente. Sin embargo, se observa que hay variación apreciable en los datos (Tabla A4.1 y A4.2 en el Apéndice IV). Para descartar la variación en los datos por las dosis acumulativas, a partir de 1 000Gy se irradiaron las muestras a una sola vez con la dosis completa.

La figura 4.27a exhibe que de 4 muestras de cascarón blanco expuestas a 3 000 Gy hay tres con respuesta intermedia, es decir, sería un indicativo de que habría sido irradiado. Mientras que al exponerse a mayor dosis (5 000 Gy, Figura 4.27 b) las 4 muestras están entre intermedio y positivo, lo que ayudaría a inferir que las muestras del cascarón habrían sido irradiadas. Sin embargo, la respuesta PSL total (Figura 4.27 c) muestra que la mayor parte del conteo de fotones emitidos, entre las dosis de 200 a 10 000 Gy, fueron en la región de respuesta intermedia y a dosis mayores de 5 000 Gy se observó una parte positiva.

Por su parte, 3 de las muestras de cascarón rojo irradiadas a 3 000 Gy (Figura 4.27 d) están en la región de respuesta intermedia y sólo 1 en el región positiva, dando una idea de que éstas fueron irradiadas. A una dosis de 5 000 Gy (Figura 4.27 e) se aprecia que las muestras dan respuesta prácticamente en las 3 regiones, positiva, intermedia y negativa, por lo que no se descarta que las muestras hayan

sido expuestas a radiación ionizante. En la figura 4.27f se exhibe que la respuesta PSL total de las 4 muestras está en la región intermedia, tanto en bajas como en altas dosis de radiación (200 a 10 000 Gy), es decir, que no hay un aumento de fotones emitidos al aumentar la dosis, incluso aún en la forma acumulativa anterior. Como se puede deducir de estas gráficas y de las tablas A4.1 y A4.2 del Apéndice IV (respuesta PSL de 200 a 10 000Gy del cascarón blanco y rojo respectivamente), el material lavado con el ácido no respondía proporcionalmente al aumento de radiación gamma, dado que el carbonato es un mineral que no luminesce fácilmente, es decir, los resultados fueron aleatorios entre negativos e intermedios. Por ello, se probó cambiar la metodología de preparación de la muestra al no realizar ningún lavado, para evitar arrastrar el mineral presente con sus propias impurezas de origen. Por su parte, las dosis gamma aplicadas a la muestra siguieron siendo completas. Sin embargo, cabe destacar que las lecturas PSL no destruían completamente la señal del carbonato de calcio irradiado, por lo tanto, parte de esta señal permanecía en el material cuando éste se volvía a irradiar. Es decir, aunque se irradiaba a dosis completas, éstas se iban acumulando en el cascarón.



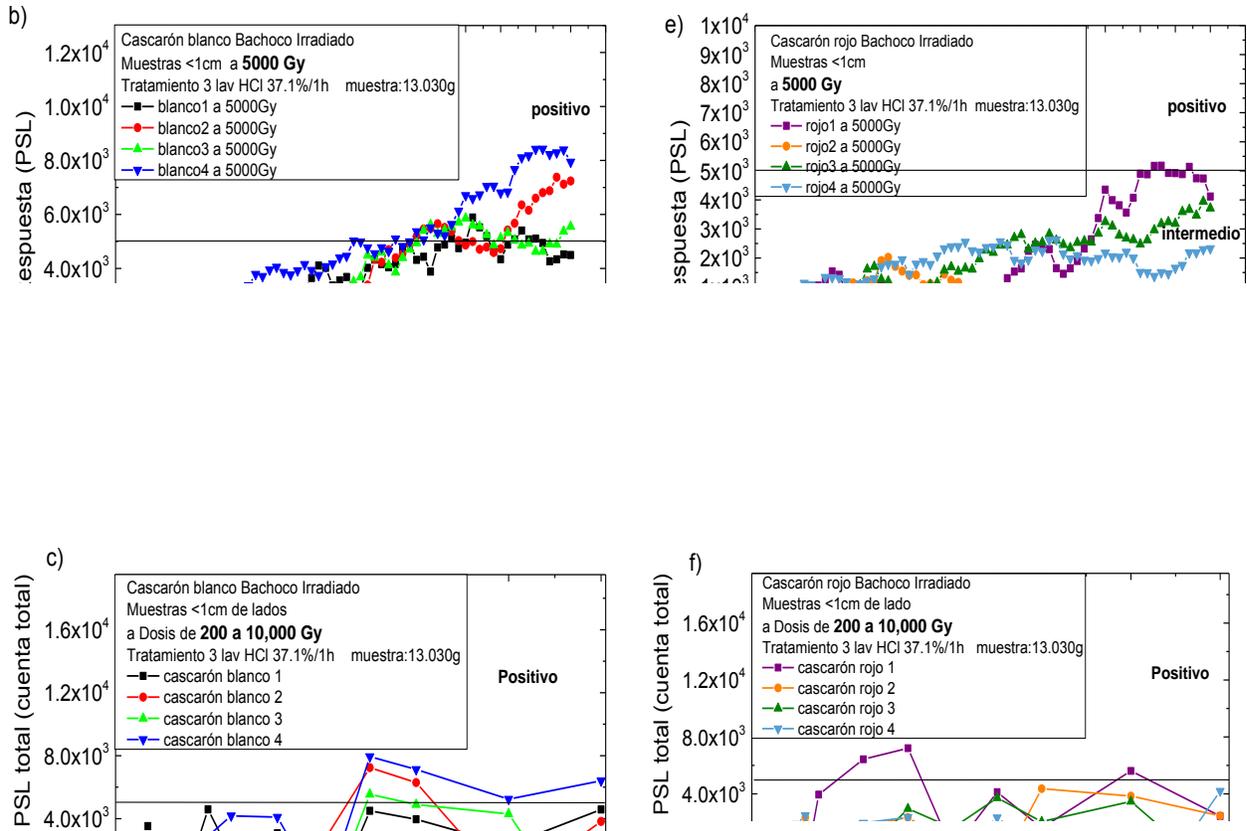


Figura 4.27. Respuesta PSL medida 4 veces del cascarón con tres lavados con ácido e irradiados entre 200 a 10 000 Gy, cascarón blanco expuestos a: **a)** 3 000, **b)** 5 000 Gy, **c)** respuesta PSL total. Cascarón rojo irradiado a **d)** 3 000 y **e)** 5 000 Gy, **f)** respuesta PSL total.

Dado que las muestras del cascarón lavados con ácido clorhídrico, presentaron señales PSL intermedias a dosis altas (5 000 Gy) se procedió a medir muestras sin lavados en lo sucesivo.

Los datos de las muestras sin lavados del cascarón blanco (Figura 4.28 a-b), muestran que éstas respondían como positivo desde dosis relativamente bajas (500 Gy) hasta 5 000 Gy (Tabla 4.2), mientras que el cascarón rojo resultó intermedio entre 500 – 2 000 Gy y positivo a partir de 3 000 Gy (Figura 4.28 c-d).

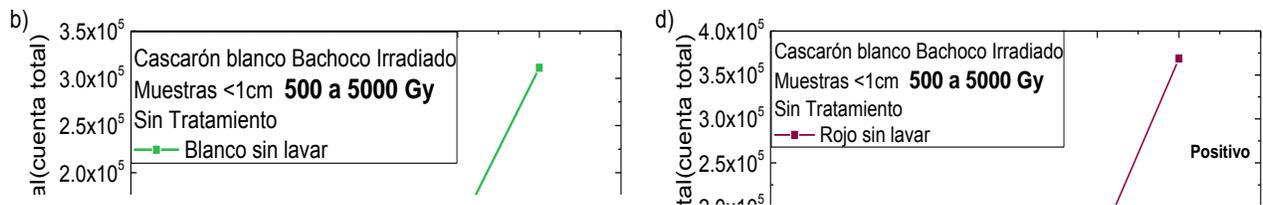


Figura 4.28 Cascarán de huevo, **a)** blanco y **c)** rojo, sin lavado. Expuestos de 500 a 5 000 Gy con gammas de ^{60}Co , **b)** y **d)** Comportamiento de cuentas totales en función de la dosis acumulativa entre 500 y 5 000 Gy, del cascárón blanco y rojo, respectivamente.

Tabla 4.2. Identificación por PSL de las muestras de cascárón blanco y rojo irradiados.

Huevo Blanco Bachoco sin lavados			
Dosis	cuenta total	Relectura	identificación
500	6235	743 (11.92%)	positivo
1000	7299	2758 (37.39%)	positivo
2000	11245	2998 (26.66%)	positivo
3000	5090	-1410 (-27.70%)	positivo
4000	138365	31406 (22.70%)	positivo
5000	311121	73036 (23.48%)	positivo

Huevo Rojo Bachoco sin lavados			
Dosis	cuenta total	Relectura	identificación
500	1414	-	intermedio
1000	1314	1654 (125.88%)	intermedio
2000	2977	-218 (-7.32%)	intermedio
3000	34057	9813 (28.81%)	positivo
4000	153168	38709 (25.27%)	positivo
5000	368685	97437 (26.43%)	positivo

4.8.1 DECAIMIENTO DE LA SEÑAL PSL

También se analizó el decaimiento de la señal PSL de las muestras de cascarón sin lavar que recibieron una sola vez la dosis de 3 000Gy, pues anteriormente a esa dosis, las señales PSL del cascarón blanco fueron identificadas positivas (en dosis completas sin acumulamiento). Sin embargo, en la figura 4.29 se observa que para el caso del huevo blanco (Figura 4.29 a) la señal obtenida a 3 000Gy dio negativa, y al aumentar la dosis a 5 000 y 6 500Gy aparece en la región intermedia. Por esta razón se deduce que en el límite de detección, donde se daban dosis completas, parte de la señal PSL se acumulaba en el mineral.

Para las dosis de 5 000 y 6 500, al cabo de 7 días se nota un decaimiento de la señal de 59.12% y 64.40% respectivamente, y a 30 días se obtuvo un decaimiento de 75.22% y 38.26%, con respecto de la señal inicial (Tabla A5.1, AV). En el caso del cascarón rojo (Figura 4.29 b), el resultado fue inicialmente intermedio para las tres dosis, y después de 7 días las señales se vuelven prácticamente negativas. Las señales PSL a 5 000Gy decaen a 62.96% en 7 días y 66.02% al cabo de 30 días; a una dosis de 6 500Gy decaen las señales PSL a 37.15% en 7 días y finalmente 75.61% en 30 días (Tabla A5.2, AV). Al parecer las señales se vuelven más estables en su decaimiento al cabo de un mes, aunque ya no son señales positivas de acuerdo al equipo PSL, en tanto que a una semana todavía la pérdida de PSL es de pérdida y recuperación.

A pesar de haberse irradiado las muestras a dosis altas (5 000 y 6 500 Gy), al cabo de 30 días todas las señales son negativas, es decir, no podríamos detectar al alimento irradiado después de ese tiempo transcurrido. Cabe decir que estas dosis no son utilizadas en la industria de irradiación del huevo ya que afectarían las propiedades nutrimentales y fisicoquímicas del mismo, como la degradación de proteínas, pérdida de su capacidad emulsificante, viscosidad, etc. Al cabo de 7 días las señales están entre intermedio y negativo, lo que indica que al término de una semana la detección por PSL del huevo irradiado es más incierta, y después de 15 días ésta ya no se detecta. Para este caso de alimento, es posible que pueda proponerse que los valores intermedios se puedan considerar como pertenecientes a muestras que han sido irradiadas, es decir, que el límite de detección debiera estar por abajo del límite considerado por el método de PSL.

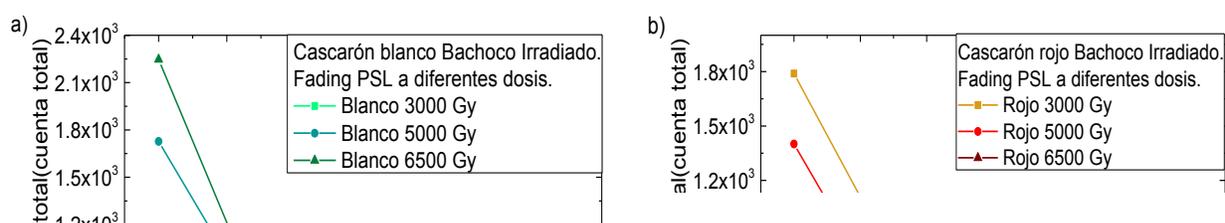


Figura 4.29. Decaimiento de la señal PSL durante 30 días, a diferentes dosis (no acumulativas) de irradiación gamma con fuentes de ^{60}Co , del cascarón de huevo a) blanco y b) rojo.

4.8.2 REPRODUCIBILIDAD DE LA SEÑAL PSL

Para verificar que las señales PSL de detección fueran reproducibles, se hicieron nueve medidas con las muestras que fueron irradiadas a la dosis más alta de 6 500 Gy (Figura 4.30 a-b). A pesar de haber utilizado una dosis alta, sólo para el caso del

cascarón de huevo rojo (Figura 4.30 b) se obtuvo dos medidas PSL positivas de nueve repeticiones, mientras que en el cascarón blanco (Figura 4.30 a) se obtuvieron señales intermedias y negativas.

Estos resultados permiten confirmar que el carbonato contenido en el cascarón de huevos tiene una escasa propiedad de buen emisor de luz (Bhatti et al., 2008), a diferencia del carbonato de las conchas o caparazones como la de los moluscos que contienen impurezas del ambiente de su hábitat que les provoca una alta luminiscencia (Cruz-Zaragoza et al., 2012; Sanderson et al., 1995; Carmichael et al., 1994).



Figura 4.30. Tendencia de la reproducibilidad de la señal PSL en cascarón de huevo sin lavados, irradiado a 6 500 Gy con ⁶⁰Co, **a)** cascarón blanco y **b)** cascarón rojo.

Estudios anteriores (Bayram & Delincée, 2004; Sanderson et al., 1995; Sanderson et al., 2003) se afirma que un alto porcentaje de varios tipos de muestras con feldespatos (especies, chiles, frutos secos y nueces irradiadas) podría ser reconocidas por PSL con luz de estimulación del infrarrojo (IR). Sin embargo, la detección por PSL puede dificultarse, dando respuestas variables si las muestras contienen cuarzo, así como también por una baja sensibilidad de los minerales acompañantes o de las muestras muy "limpias" o mezclas con sólo una cantidad

mínima de mineral irradiado. Podría utilizarse el PSL pero con luz azul en lugar de la IR para estimular a la fracción del cuarzo y determinar las emisiones PSL del alimento, pero en el caso del cascarón aquí estudiado aparentemente no se tiene fracciones de cuarzo y sólo está presente el carbonato de calcio.

Para el cascarón de huevo de gallina Bachoco se sugiere otro método, como el de TL, para la detección del producto tratado con radiación.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

Con el estudio SEM y EDS se identificó, y por difracción de rayos X que el principal componente del cascarón de huevo de gallina es el Carbonato de calcio (CaCO_3). Se observó por microscopía SEM al carbonato en forma de cristales bien definidos con regiones granulares en su superficie. No se encontraron otros elementos formando impurezas dentro de la red del carbonato, lo cual se vio reflejado en la baja señal luminiscente (TL y PSL) que tuvo el material a dosis relativamente bajas.

Las curvas de brillo de termoluminiscencia natural (TL_N) del cascarón de huevo blanco y rojo con tamaños de partícula de $74\mu\text{m}$, $149\mu\text{m}$ y $420\mu\text{m}$, se presenta como una curva ancha entre 200 y 400°C . Para los tamaños $149\mu\text{m}$ y $420\mu\text{m}$ también aparece un máximo entre 150 y 200°C . Se determinó que la mejor respuesta termoluminiscente (TL) se obtiene realizando tres lavados con ácido clorhídrico.

Las curvas de brillo de las muestras irradiadas varían dependiendo de la fuente gamma (^{60}Co o ^{137}Cs), del tamaño de partícula ($74\mu\text{m}$ y $149\mu\text{m}$) y del tipo cascarón rojo o blanco. En general, se puede decir que el cascarón de huevo de gallina irradiado presenta picos a 110 , 145 , 270 y 335°C . Con muestras de $74\mu\text{m}$ e irradiadas con fuentes de ^{60}Co se obtiene mejor respuesta e intensidad TL. Además, el cascarón blanco muestra curvas de brillo mejor definidas que el rojo, pues es probable que las porfirinas que dan la coloración y que se encuentran depositadas en la matriz cálcica, interfieren en la emisión eficiente de la luminiscencia.

Por lo tanto, el límite de detección TL depende también de las condiciones antes mencionadas. En muestras de huevo blanco irradiadas con ^{60}Co , se logró identificar como irradiadas a partir de $3\ 000\text{Gy}$ para el tamaño de partícula de $74\mu\text{m}$; el límite de detección del huevo rojo con el mismo tamaño de partícula fue a $4\ 000\text{Gy}$. En cambio, con fuentes de ^{137}Cs se detecta que el huevo fue irradiado a 4kGy en el caso del huevo blanco, y a 5kGy en el huevo rojo. Estas dosis son altas en comparación con la dosis a la que se irradian generalmente los huevos comerciales ($2\ 000 - 3\ 000\text{Gy}$), por lo que se podría obtener una mejor detección con un tamaño

de partícula menor y por la forma de las curvas de brillo aún a dosis menores de 2kGy.

No obstante, por la forma de las curvas de brillo, se puede identificar que las muestras fueron irradiadas a partir de 10 Gy en huevo blanco irradiado con gammas de ^{60}Co , a 20 Gy en huevo rojo con ^{60}Co y huevo blanco con ^{137}Cs , y a 50Gy en huevo rojo con ^{137}Cs .

Debido a la escasa señal luminiscente que tiene el carbonato, las respuestas TL son medianamente reproducibles, obteniendo los coeficientes de variación de 14.34% para 74 μm , y 20.98% para 149 μm en el huevo blanco irradiado con ^{60}Co .

Se determinó que el carbonato de calcio que compone al cascarón tiene un *fading* TL anómalo, durante su almacenamiento en oscuridad y a temperatura ambiente. Esto se debe a la recuperación de su señal TL, por lo que al cabo de 330 días la señal es muy bien identificada a 74 y 149 μm tanto en el huevo blanco como en el rojo. La respuesta TL del decaimiento de la señal por blanqueo térmico también presentó un comportamiento anómalo, ya que son el mismo tipo de trampas de la estructura cristalina que causan este comportamiento.

A partir de los resultados obtenidos del blanqueo térmico, se calcularon los parámetros cinéticos E y s , encontrándose que la frecuencia de escape de los electrones es del orden de 10^9 s^{-1} . La energía de activación necesaria para liberar los electrones de las trampas para los picos de 358 y 330°C del cascarón blanco (1.22eV) y rojo (1.39eV) respectivamente, es mayor a la energía requerida para los picos localizados en 105°C del cascarón blanco (0.82eV) y 95°C del cascarón rojo (0.81eV).

Con los resultados obtenidos en esta tesis se confirma que el carbonato es poco sensible a la señal PSL, pues a las dosis en que se irradia el cascarón de huevo (2-3 kGy) las muestras dieron respuesta negativa e intermedia, además que fueron poco reproducibles en sus señales PSL.

A pesar que las muestras del cascarón son suficientemente estimuladas por la luz infrarroja (IR) del PSL, la emisión de fotones luminiscentes no es alta para detectarla como positiva, salvo a las dosis muy altas. Otros autores (Bhatti et al., 2008) también encontraron variaciones de la respuesta PSL para el cascarón de huevo de gallina por lo que no es lineal con la dosis absorbida, ya que los valores de las cuentas de fotones se encuentran entre el límite superior e inferior, razón por la cual es importante realizar la identificación de las muestras irradiadas por TL.

Nuestros resultados muestran que la detección PSL no es siempre el método idóneo para la detección de alimentos irradiados. Se puede utilizar como un método rápido de identificación, y complementarse con medidas TL para la confirmación de muestras con resultados “intermedio” o “negativo”. Ambos métodos, TL y PSL, podrían considerarse como métodos de detección de los alimentos con silicatos para un proyecto de norma mexicana que debiera implementarse en México.

El método TL fue más sensible en la detección que el PSL para todas las muestras de cascarón de huevo comercial. Las curvas de brillo TL exhiben picos que son característicos de muestras irradiadas, aún a dosis relativamente bajas. Se ha visto que muestras que contengan principalmente carbonato de calcio como es el caso de las ostras (Sanderson et al., 1994; Cruz-Zaragoza et al., 2012), pueden ser muy bien identificadas por el método de termoluminiscencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Albarrán, G., Mendoza, E., & Cruz-Zaragoza, E. (2016). Dosimetría de Fricke en irradiadores gamma de ^{60}Co y ^{137}Cs de uso semi-industrial y de investigación. *Revista Electrónica Nova Scientia*. Universidad De La Salle El Bajío México.
- Amagliani, G., Brandi, G., & Schiavano, G. F. (2012). Incidence and role of Salmonella in seafood safety. *Food Research International*, 45(2), 780–788. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.022>
- Antonio, J., López, Q., & Blanco, L. A. (2011). Análisis del cascarón del huevo. Retrieved February 18, 2016, from http://www.avicultura.com.mx/avicultura/home/articulos-interior.asp?cve_art=797
- Anuario de Morbilidad. (2015a). Incidencia de Intoxicación alimentaria bacteriana (A05) por grupos de edad. Retrieved September 7, 2016, from http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2015/incidencia/enfermedad_grupo_edad_entidad_federativa/009.pdf
- Anuario de Morbilidad. (2015b). Veinte principales causas de enfermedad Nacional, por grupos de edad. Retrieved September 7, 2016, from http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/2015/principales/nacional/grupo_edad.pdf
- Applegate, E. (2000). Introduction: nutritional and functional roles of eggs in the diet. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(5), 495S–498S. <https://doi.org/10.1080/07315724.2000.10718971>
- Arvanitoyannis, I. S., & Stratakos, A. C. (2010). Irradiation of Poultry and Eggs. In *Irradiation of Food Commodities* (First Edit, pp. 223–264). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374718-1.10007-0>
- Badr, H. M. (2006). Effect of gamma radiation and cold storage on chemical and

organoleptic properties and microbiological status of liquid egg white and yolk. *Food Chemistry*, 97(2), 285–293.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.004>

Barroeta, A. C. (2002). Formación del huevo. In Consejo Asesor del Instituto de Estudios del Huevo (Ed.), *Lecciones sobre el huevo* (p. 45). Madrid: Instituto de Estudios del Huevo.

Barroeta, A. C. (2008). *El huevo y sus componentes como alimento funcional*. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.

Bayram, G., & Delincée, H. (2004). Identification of irradiated Turkish foodstuffs combining various physical detection methods. *Food Control*, 15(2), 81–91. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00018-5)

Bezies, C. R. (2016). Panorama mundial y nacional de la avicultura. Retrieved February 18, 2016, from http://www.avicultura.com.mx/avicultura/home/articulos-interior.asp?cve_art=10076

Bhatti, I. A., Kim, B.-K., Kim, M.-Y., Lee, J., Kim, H.-K., & Kwon, J.-H. (2008). The screening and/or identification of different types of irradiated eggs by analyzing photo-stimulated luminescence and thermoluminescence. *Food Control*, 19(6), 587–591. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.06.006>

Bortolin, E., Bustos Griffin, E., Cruz-Zaragoza, E., De Coste, V., & Onori, S. (2006). Electron paramagnetic resonance detection of Mexican irradiated spices. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(4), 375–382. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01078.x>

CAC. (1994). *Codex General Standard for Irradiated Foods and Recommended International Codex of Practice for the Operation of Radiation Facilities used for the Treatment of Food*. CAC/Vol. XV.-Ed.1. FAO (Vol. XV). Rome.

Retrieved from

http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/16/CXS_106e.pdf

- Calderón, T. (2000). *La irradiación de alimentos. Principios, realidades y perspectivas de futuro*. Madrid: McGraw-Hill.
- Carmichael, L. A., Sanderson, D. C. W., & Ni Riain, S. (1994). Thermoluminescence measurement of Calcite Shells. *Radiation Measurements*, 23, 455–463.
- Chung, H.-Y., Rasmussen, H. M., & Johnson, E. J. (2004). Lutein bioavailability is higher from lutein-enriched eggs than from supplements and spinach in men. *The Journal of Nutrition*, 134(8), 1887–1893.
- CODEX STAN 106-1983. (2003). *General Standard for Irradiated Foods*.
- Codony, R. (2002). Composición y valor nutritivo del huevo. In Consejo Asesor del Instituto de Estudios del Huevo (Ed.), *Lecciones sobre el huevo*. Madrid: Instituto de Estudios del Huevo.
- Correcher, V., & Garcia-Guinea, J. (2011). Application of the EN 1788 European standard for the control of saffron, pepper and blends. *Food Control*, 22(2), 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.05.020>
- Cruz-Zaragoza, E. (1997). Diversos usos de la fuente de rayos gamma en la UNAM. *Educación Química*, 8(1), 8–11.
- Cruz-Zaragoza, E. (2004). La irradiación de Alimentos en otros países y en México. In M. de la P. Ramos Lara (Ed.), *Experiencia mexicana en aceleradores de partículas* (1. ed., p. 255). Siglo XXI Editores.
- Cruz-Zaragoza, E., Marcazzó, J., & Chernov, V. (2012). Photo- and thermally stimulated luminescence of polyminerals extracted from herbs and spices. *Radiation Physics and Chemistry*, 81(8), 1227–1231. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.01.024>
- Cruz-Zaragoza, E., Marcazzó, J., Della Monaca, S., Boniglia, C., Gargiulo, R., & Bortolin, E. (2012). Thermoluminescence analysis of irradiated oyster shells.

Applied Radiation and Isotopes, 71, 18–22.

<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.01.024>

Cruz-Zaragoza, E., Ruiz-gurrola, B., Wachter, C., Espinosa, T. F., & Barboza-flores, M. (2011). Gamma radiation effects in coriander (*Coriandrum sativum* L) for consumption in Mexico. *Revista Mexicana de Física*, 57(1), 80–86.

Curran-Celentano, J. M., Wenzel, A., Nicolosi, R. J., & Handelman, G. J. (2003). Evaluating the Influence of Egg Consumption as a Source of Macular Carotenoids and the Impact on Serum Cholesterol Risk Ratios. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44(13), 403–403.

Delincée, H. (1998). Detection of food treated with ionizing radiation. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 73–82.

Di Marino, S. (2007). El Alimento Huevo. Retrieved February 18, 2016, from http://www.avicultura.com.mx/avicultura/home/articulos-interior.asp?cve_art=366

Diehl, J. F. (1990). Safety of Irradiated Foods. *Marcel Dekker, Inc Food Science and Technology Series No. 36*. New York: Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde. <https://doi.org/10.1002/jpln.19901530214>

Ehlermann, D. A. E. (2009). *The RADURA-terminology and food irradiation*. *Food Control* (Vol. 20). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.07.023>

EN 13751. (2002). *Foodstuffs -Detection of irradiated food using photostimulated luminescence*. European Committee for Standardization. Brussels.

EN 1788. (2001). *Foodstuffs-Thermoluminescence detection of irradiated food from which silicate minerals can be isolated*. European Committee for Standardization. Brussels: European Commission.

European Commission. (2016). Food Irradiation-Analytical methods. Retrieved from http://ec.europa.eu/food/safety/biosafety/irradiation/index_en.htm

European Food Information Council. (2002). La irradiación de alimentos. Retrieved

September 5, 2016, from <http://www.eufic.org/article/es/artid/irradiacion-alimentos/>

- Farkas, J., & Mohacsi-Farkas, C. (2011). History and future of food irradiation. *Trends in Food Science & Technology*, 22(2–3), 121–126. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=23973936>
- FDA. (2016). *Hechos sobre alimentos. Seguridad con los huevos*. Food & Drug Administration. Retrieved from www.fda.gov/educationresourcelibrary
- Fengmei, L., Yongbao, G., & Dianhua, C. (2000). Study on radiation preservation of frozen egg liquid. *Radiation Physics and Chemistry*, 57(3), 341–343. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(99\)00401-6](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(99)00401-6)
- Flores, A., & Hough, G. (2007). Perception of irradiated foods among students (SECONDARY , UNIVERSITY [FOOD SCIENCE AND NONFOOD SCIENCE]) AND ADULTS IN ARGENTINA. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(2008), 361–377.
- Furetta, C. (2003). *Handbook of Thermoluminescence* (2a ed.). Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=KZZ0Q0HkgwkC&pg=PA361&lpg=PA361&dq=Furetta,+C.;+Weng,+P.+Operational+Thermoluminescence+Dosimetry&source=bl&ots=l1agO0Pmz1&sig=KNbtWlqFjYcTaZwysldxeUwDTQ&hl=de&sa=X&ved=0ahUKEwjpm5XjkuLNAhXDKCYKHWplC7MQ6AEIlzAB#v=onep>
- Furetta, C., & Weng, P.-S. (1998). *Operational Thermoluminescence Dosimetry. Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015* (Vol. 1). USA: World Scientific Publishing. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Hajós, G., Kiss, I., & Halász, A. (1990). Chemical changes of proteins of irradiated egg-white. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry*, 36(5), 639–643. [https://doi.org/10.1016/1359-0197\(90\)90147-A](https://doi.org/10.1016/1359-0197(90)90147-A)

- Hernández y Hernández, M. de los Á. (2009). *Estudios de precipitación de CaCO₃ como herramienta para entender los procesos de biomineralización, usando como modelo biológico la cáscara de huevo de gallina*. Universidad de Granada.
- Ibarra, A. A., Vargas, A. S., & Nayga, R. M. (2010). Water quality concerns and acceptance of irradiated food: a pilot study on Mexican consumers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(13), 2342–4. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4087>
- ICGFI. (1999). *International Consultative Groupe on Food Irradiation. Facts about Food Irradiation*. Viena, Austria: Joint FAO/IAEA División of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.
- ICGFI. (2002). *International Consultative Groupe on Food Irradiation. Food irradiation: A Global Food Safety Tool*. Viena, Austria: Joint FAO/IAEA División of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.
- Instituto de Estudios del huevo. (2009). *El gran libro del huevo*. Madrid: Editorial Everest, S.A.
- International Atomic Energy Agency (IAEA). (2002). *Technical Report Series 409. Dosimetry for Food Irradiation*. <https://doi.org/10.1097/00004032-200305000-00016>
- Isaías, J., & Lozano, C. (2014). Situación actual de la avicultura de huevo en los Altos de Jalisco. Retrieved February 18, 2016, from http://www.avicultura.com.mx/avicultura/home/articulos-interior.asp?cve_art=1250
- Kovacs-Nolan, J., Phillips, M., & Mine, Y. (2005). Advances in the Value of Eggs and Egg Components for Human Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8421–8431. Retrieved from <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf050964f>
- Kume, T., Furuta, M., Todoriki, S., Uenoyama, N., & Kobayashi, Y. (2009). Status

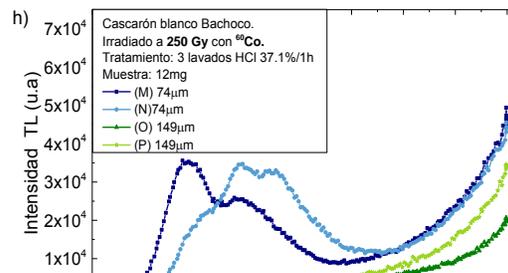
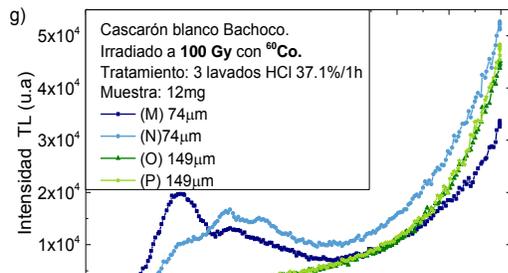
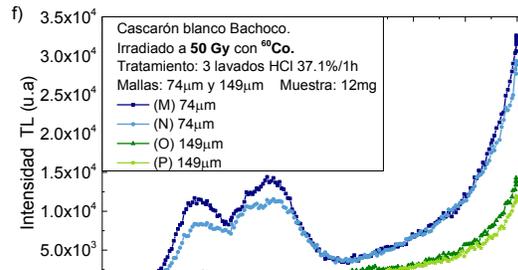
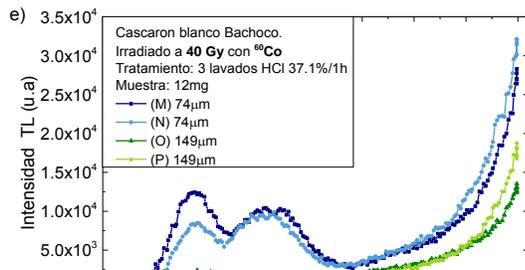
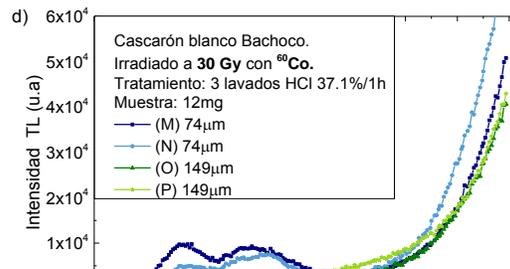
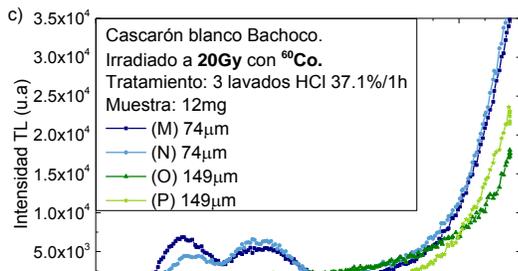
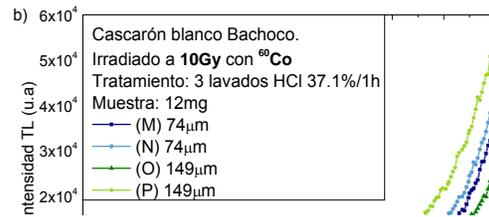
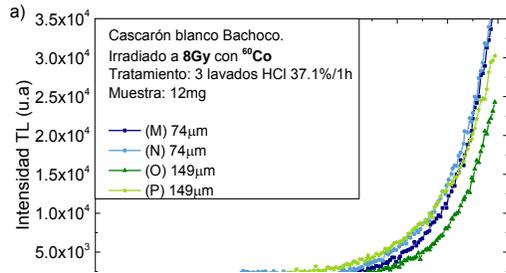
- of food irradiation in the world. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(3), 222–226. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2008.09.009>
- Lee, J.-W., Lee, K.-Y., Yook, H.-S., Lee, S.-Y., Kim, H.-Y., Jo, C., & Byun, M.-W. (2002). Allergenicity of Hen's Egg Ovomucoid Gamma Irradiated and Heated under Different pH Conditions. *Journal of Food Protection*, 65(7), 1196–1199.
- Marcazzó, J., Sanchez-Barrera, C. E., Urbina-Zavala, A., & Cruz-Zaragoza, E. (2015). Photostimulated luminescence detection and radiation effects on cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) spice. *Applied Radiation and Isotopes*, 104, 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2015.06.025>
- Meier, W. (1991). Analysis of irradiated food. *Mikrochimica Acta*, 104(1–6), 71–79. <https://doi.org/10.1007/BF01245498>
- Millward, D. J. (2004). Macronutrient intakes as determinants of dietary protein and amino acid adequacy. *The Journal of Nutrition*, 134, 1588S–1596S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb10221.x>
- Nollet, L., & Toldra, F. (2010). *Safety analysis of foods of Animal Origin*. USA: CRC Press.
- Nollet, M., & Toldra, F. (2009). *Handbook of processed meats and poultry analysis*. USA: Editorial CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420045338>
- NOM-033-SSA1-1993. (n.d.). Norma Oficial Mexicana NOM-033-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Irradiación de alimentos. Dosis permitidas en alimentos, materias primas y aditivos alimentarios. Retrieved from http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5405659&fecha=31/08/2015
- OMS. (1981). Serie de Infomes Técnicos, n° 659. La Comestibilidad de los alimentos irradiados: Informe de un Comité Mixto FAO/OIEA/OMS de expertos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Retrieved from <http://apps.who.int/iris/handle/10665/41212?locale=es&mode=full>
- Ortega, R. M. (2002). *El huevo en la alimentación. Importancia nutricional y sanitaria*. Instituto de Estudios del Huevo. Madrid.

- Pinto, P., Ribeiro, R., Sousa, L., Verde, S. C., Lima, M. G., Dinis, M., ... Botelho, M. L. (2004). Sanitation of chicken eggs by ionizing radiation: Functional and nutritional assessment. *Radiation Physics and Chemistry*, 71(1–2), 33–36.
<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2004.03.065>
- Rodríguez-Navarro, A., & García-Ruíz, J. M. (2000). Model of textural development of layered crystal aggregates. *European Journal of Mineralogy*, 12(3), 609–614.
- Rodríguez Ferri, E. F. (2006). Control de salmonelas en la producción de huevos. *Instituto de Estudios Del Huevo*, 1, 1–15.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Rose, R. M., Shepard, L. A., & Wulff, J. (1978). *Introducción a la ciencia de materiales IV. Propiedades electrónicas*. (C. Ribbeck-Fantini, Ed.). México D.F.: Editorial Limusa. Retrieved from
<https://books.google.com.mx/books?id=LQdvFXZ6ndUC&pg=PA360&dq=reflectancia+difusa&hl=es-419&sa=X&ved=0CBoQ6AEwAGoVChMlqofAmvLWYAIvS44NCh2Hmw9U#v=onepage&q=reflectancia+difusa&f=false>
- Serrano, L. E., Murano, E. A., Shenoy, K., & Olson, D. G. (1997). D values of *Salmonella enteritidis* isolates and quality attributes of shell eggs and liquid whole eggs treated with irradiation. *Poultry Science*, 76(1), 202–206.
 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9037706>
- Stevenson, M. H., & Stewart, E. M. (1995). Identification of Irradiated Food: The Current Status. *Radiation Physics and Chemistry*, 46(4), 653–658.
- Taubenfeld, R. (2014). If irradiated food is glowingly good – why not label it? *Chain Reaction*, (November).
- Tellez, I. G.; Trejo, R. M.; Sánchez, R. E.; Cenicerros, R. M.; Luna, Q. P.; Zazua, P.; Hargis, B. M. (1995). Effect of Gamma Irradiation on Commercial Eggs Experimentally Inoculated with *Salmonella enteritidis*. *Radiation Physics and Chemistry*, 46(4), 789–792.

- Unión Nacional de Avicultores. (2014). Indicadores Economicos.
- Vázquez Vaamonde, Alfonso; de Damborenea Gonzalez, J. (2000). *Ciencia e ingeniería de la superficie de los materiales metálicos*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Retrieved from [https://books.google.com.co/books?id=8VEmE0MX9mkC&pg=PA427&dq=espectroscopia+de+impedancia+electroquimica&hl=es&sa=X&ei=p56yVJDilcKegSt9YHIDw&redir_esc=y#v=onepage&q=espectroscopia de impedancia electroquimica&f=false](https://books.google.com.co/books?id=8VEmE0MX9mkC&pg=PA427&dq=espectroscopia+de+impedancia+electroquimica&hl=es&sa=X&ei=p56yVJDilcKegSt9YHIDw&redir_esc=y#v=onepage&q=espectroscopia+de+impedancia+electroquimica&f=false)
- Wenk, H., & Bulakh, A. (2004). Carbonates and other minerals with triangular anion groups. Sedimentary origins. In *Minerals: Their Constitution and Origin* (pp. 359–375). Cambridge University Press.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511811296> About
- WHO. (1984). *The role of food safety in health and development* (World Health Organization Technical Report Series No. 705). Geneva.
- Wong, Y. C., Herald, T. J., & Hachmeister, K. a. (1996). Comparison between irradiated and thermally pasteurized liquid egg white on functional, physical, and microbiological properties. *Poultry Science*, 75(95), 803–808.
<https://doi.org/10.3382/ps.0750803>
- Yoon, K. S. (2003). Effect of gamma irradiation on the texture and microstructure of chicken breast meat. *Meat Science*, 63(2), 273–277.
[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00078-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00078-5)

APENDICE DE FIGURAS Y DATOS DE LOS RESULTADOS

APENDICE I. Curvas de brillo del cascarón de huevo, irradiadas con fuentes de ^{60}Co .



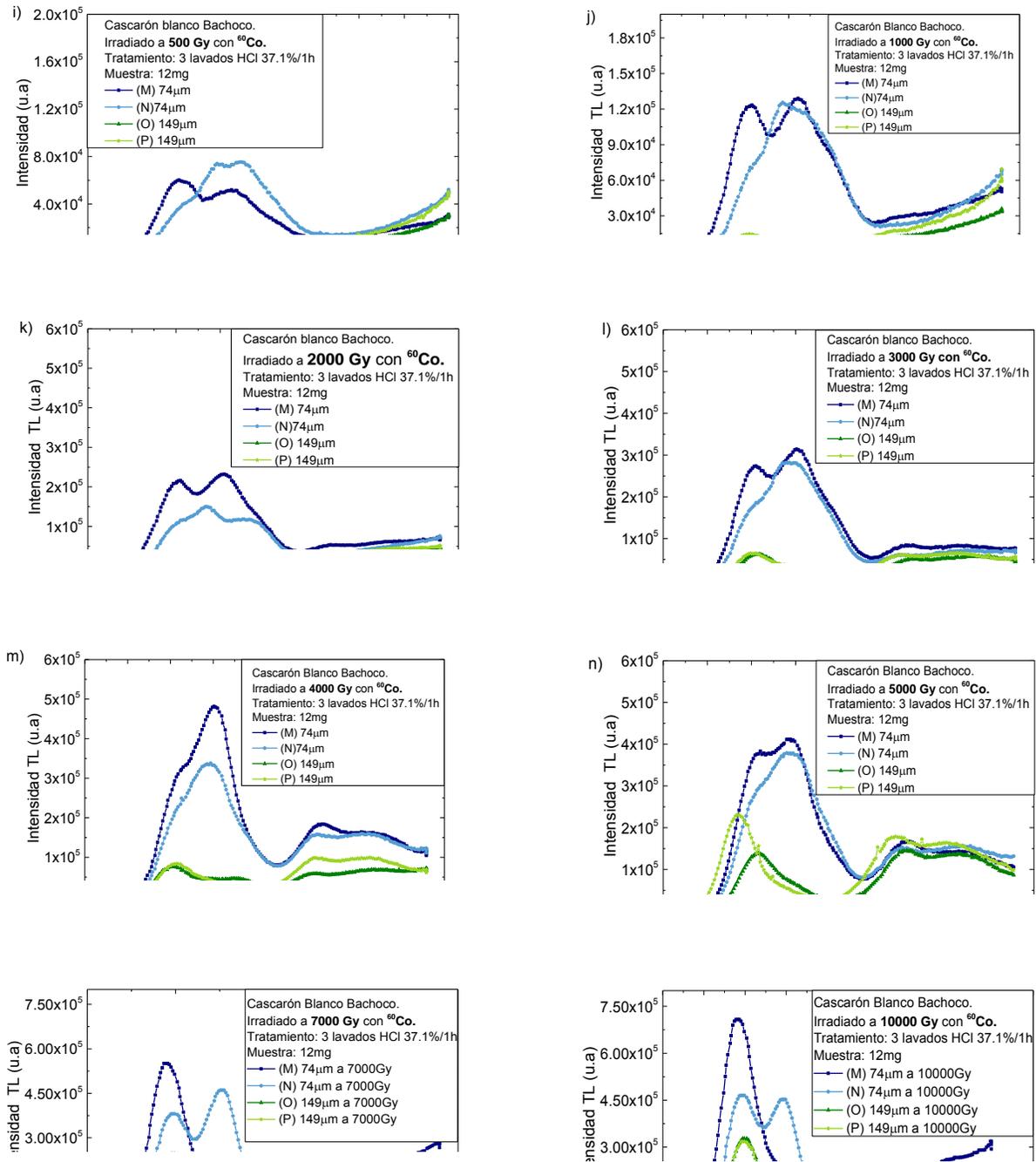
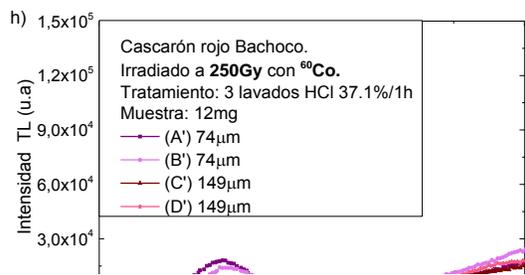
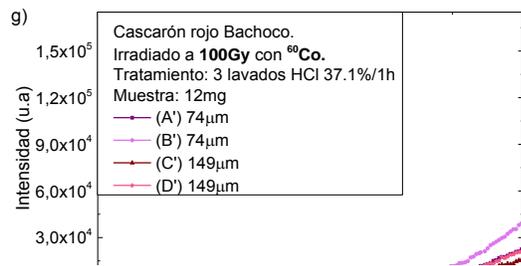
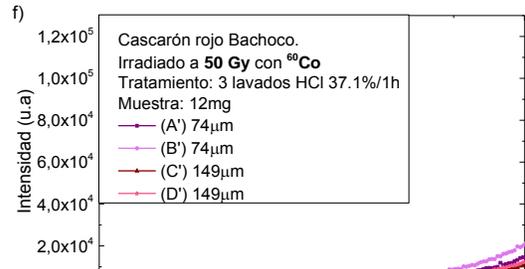
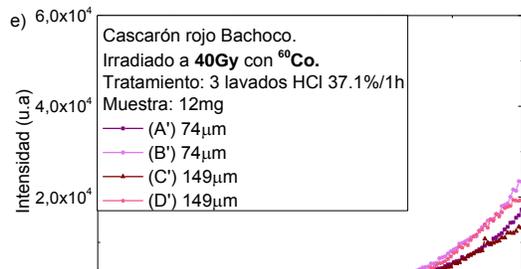
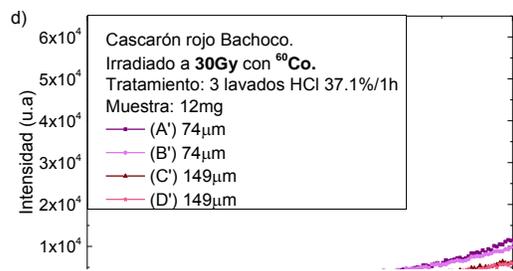
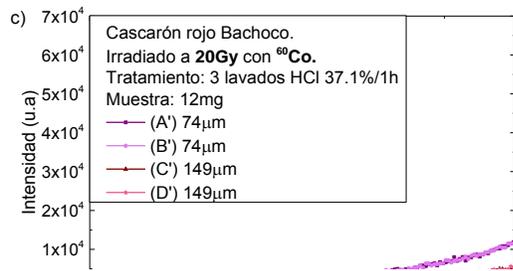
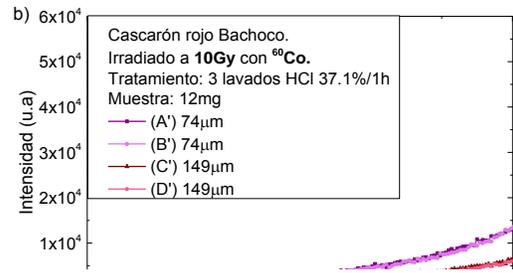
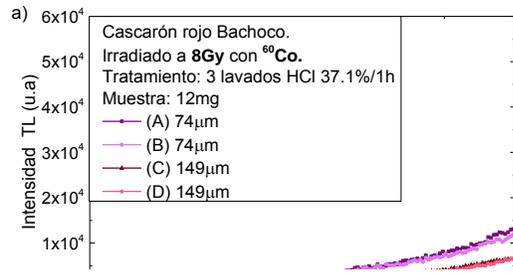


Figura A1.1. Curvas de brillo de las muestras de cascarón blanco, tratadas con 3 lavados de HCl 37.1%, con tamaños de grano de 74 y 149µm (por duplicado cada uno), irradiadas con fuentes de ^{60}Co a dosis de 8 hasta 10 000Gy. **a)** 8Gy; **b)** 10Gy; **c)** 20Gy; **d)** 30Gy; **e)** 40Gy; **f)** 50Gy; **g)** 100Gy; **h)** 250Gy; **i)** 500Gy; **j)** 1 kGy; **k)** 2 kGy; **l)** 3 kGy; **m)** 4 kGy; **n)** 5 kGy; **o)** 7 kGy; **p)** 10 kGy.



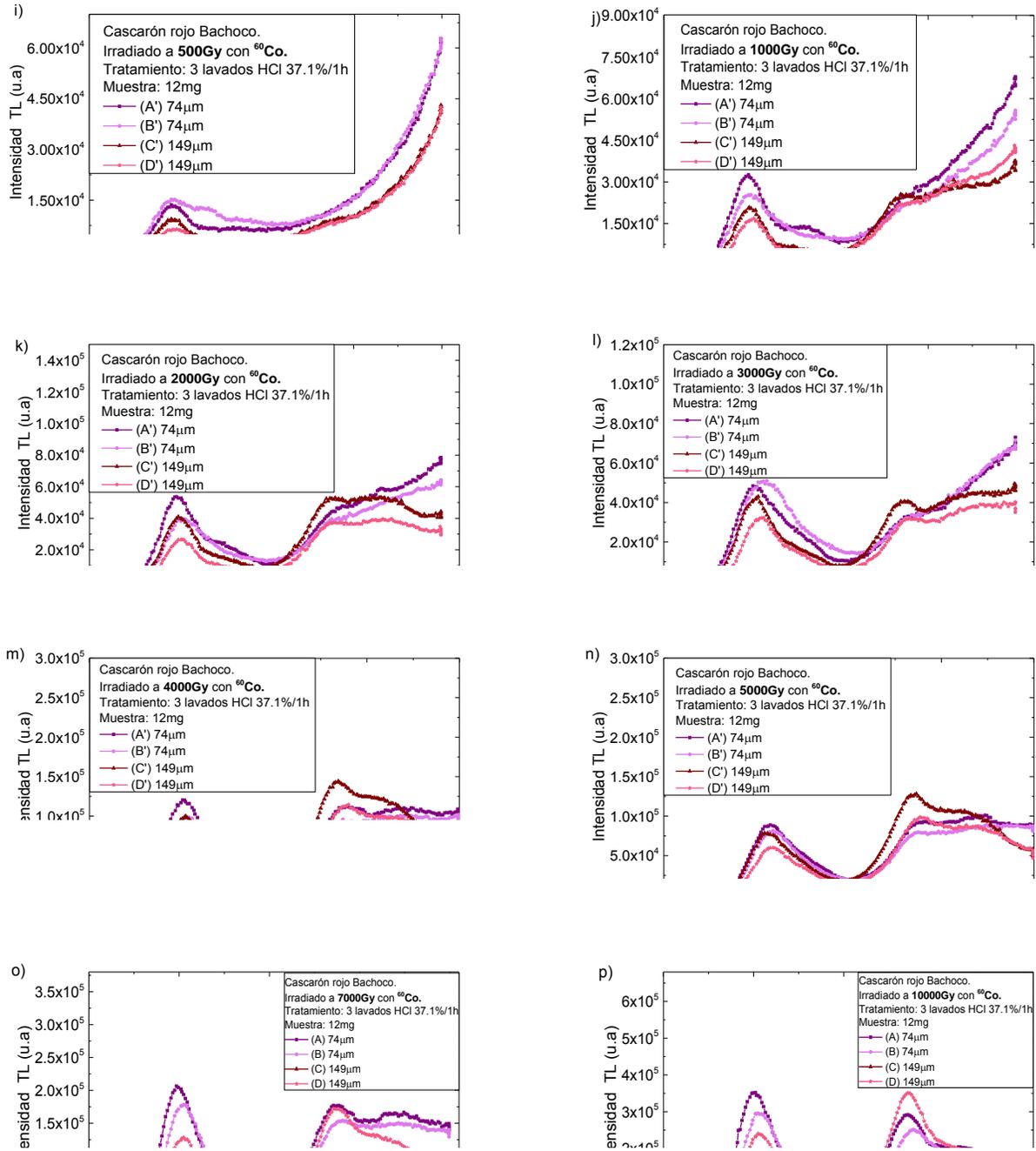
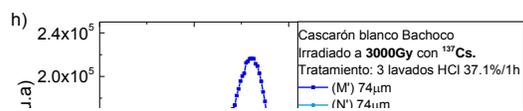
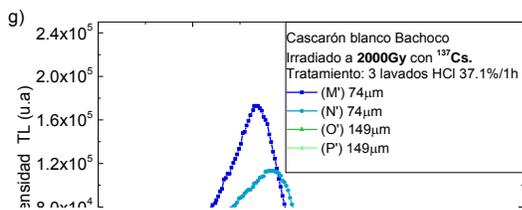
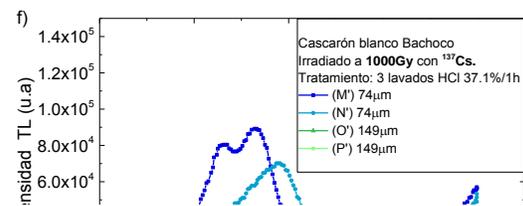
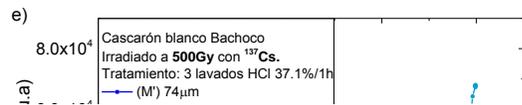
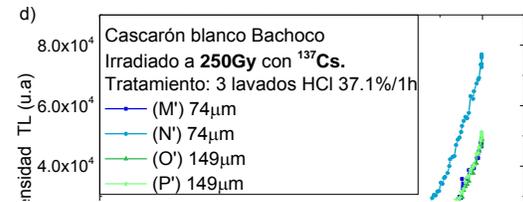
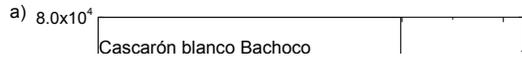


Figura A1.2. Curvas de brillo de las muestras de cascarón rojo, tratadas con 3 lavados de HCl 37.1% /1h, con tamaños de grano de 74 y 149µm (por duplicado cada uno), irradiadas con fuentes de ^{60}Co a dosis de 8 hasta 10 000Gy. **a)** 8Gy; **b)** 10Gy; **c)** 20Gy; **d)** 30Gy; **e)** 40Gy; **f)** 50Gy; **g)** 100Gy; **h)** 250Gy; **i)** 500Gy; **j)** 1 kGy; **k)** 2 kGy; **l)** 3 kGy; **m)** 4 kGy; **n)** 5 kGy; **o)** 7 kGy; **p)** 10 kGy.



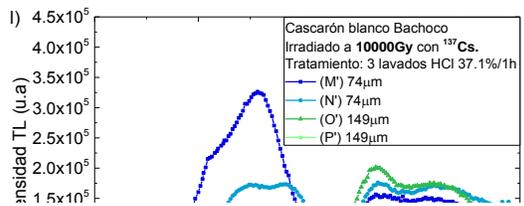
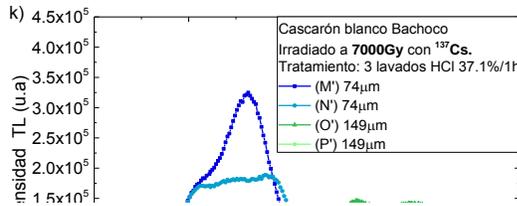
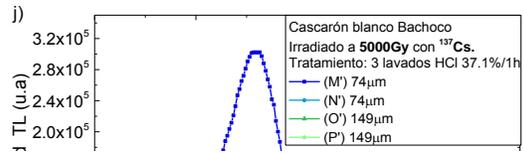
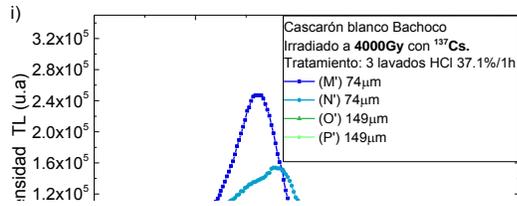
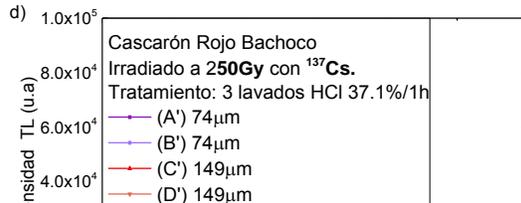
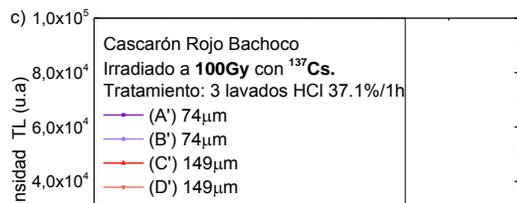
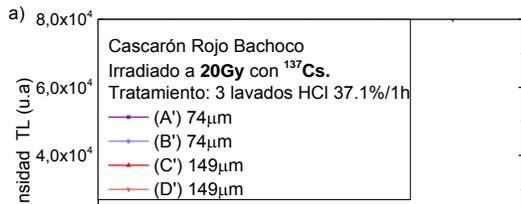


Figura A1.3. Curvas de brillo obtenidas con ^{137}Cs , de las muestras de cascarón blanco Bachoco, tratadas con 3 lavados de HCl 37.1% /1h, con tamaños de grano de 74 y 149 μm (por duplicado cada uno), a dosis de 20 hasta 10,000Gy. . **a)** 8Gy; **b)** 10Gy; **c)** 20Gy; **d)** 30Gy; **e)** 40Gy; **f)** 50Gy; **g)** 100Gy; **h)** 250Gy; **i)** 500Gy; **j)** 1 kGy; **k)** 2 kGy; **l)** 3 kGy; **m)** 4 kGy; **n)** 5 kGy; **o)** 7 kGy; **p)** 10 kGy.



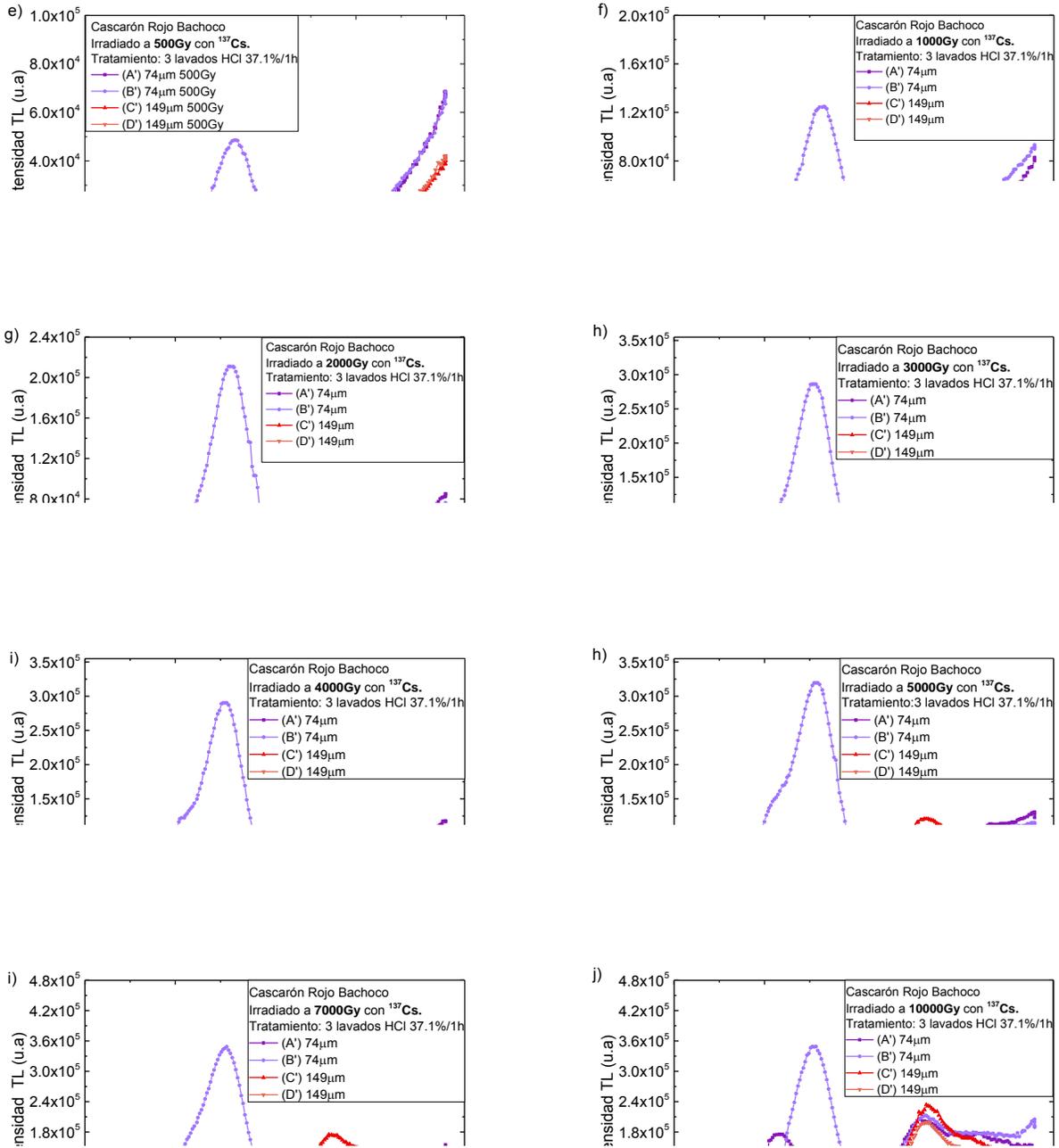


Figura A1.4. Curvas de brillo de las muestras de cascarón rojo Bachoco, tratadas con 3 lavados de HCl 37.1% /1h, con tamaños de grano de 74 y 149µm (por duplicado cada uno), irradiadas con fuentes de ^{137}Cs a dosis de 20 hasta 10,000Gy. . **a)** 8Gy; **b)** 10Gy; **c)** 20Gy; **d)** 30Gy; **e)** 40Gy; **f)** 50Gy; **g)** 100Gy; **h)** 250Gy; **i)** 500Gy; **j)** 1 kGy; **k)** 2 kGy; **l)** 3 kGy; **m)** 4 kGy; **n)** 5 kGy; **o)** 7 kGy; **p)** 10 kGy.

APENDICE II. Tablas con los límites de detección TL del cascarón blanco y rojo irradiadas con fuentes de ^{60}Co y con ^{137}Cs .

Tabla A2.1. Determinación cuantitativa del límite de detección del huevo blanco: Muestra "m" (74 μm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	60.381	1394.407	0.043	500	322.488	1394.407	0.231
10	64.723	1394.407	0.046	1000	706.559	1394.407	0.507
20	83.695	1394.407	0.060	2000	1144.561	1394.407	0.821
30	119.365	1394.407	0.086	3000	1496.826	1394.407	1.073
40	100.11	1394.407	0.072	4000	2095.672	1394.407	1.503
50	115.632	1394.407	0.083	5000	2026.761	1394.407	1.453
100	159.411	1394.407	0.114	7000	2403.606	1394.407	1.724
250	241.634	1394.407	0.173	10000	3065.125	1394.407	2.198

Tabla A2.2. Determinación cuantitativa del límite de detección del huevo blanco: Muestra "n" (74 μm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	67.429	1206.528	0.056	500	395.926	1206.528	0.328
10	72.865	1206.528	0.060	1000	625.769	1206.528	0.519
20	87.847	1206.528	0.073	2000	773.444	1206.528	0.641
30	136.949	1206.528	0.114	3000	1244.681	1206.528	1.032
40	98.771	1206.528	0.082	4000	1751.693	1206.528	1.452
50	103.675	1206.528	0.086	5000	1942.494	1206.528	1.610
100	199.534	1206.528	0.165	7000	1988.318	1206.528	1.648
250	246.11	1206.528	0.204	10000	2332.781	1206.528	1.933

Tabla A2.3. Determinación del límite de detección del huevo blanco: Muestra "o" (149µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	39.501	812.029	0.049	500	100.273	812.029	0.123
10	43.564	812.029	0.054	1000	143.333	812.029	0.177
20	48.189	812.029	0.059	2000	262.62	812.029	0.323
30	77.54	812.029	0.095	3000	408.684	812.029	0.503
40	37.104	812.029	0.046	4000	571.807	812.029	0.704
50	37.001	812.029	0.046	5000	959.995	812.029	1.182
100	124.712	812.029	0.154	7000	1085.136	812.029	1.336
250	67.623	812.029	0.083	10000	1506.256	812.029	1.855

Tabla A2.4. Determinación del límite de detección del huevo blanco: Muestra "p" (149µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	63.153	860.219	0.073	500	140.381	860.219	0.163
10	103.008	860.219	0.120	1000	207.42	860.219	0.241
20	42.651	860.219	0.050	2000	296.587	860.219	0.345
30	90.243	860.219	0.105	3000	473.581	860.219	0.551
40	39.4	860.219	0.046	4000	676.798	860.219	0.787
50	31.699	860.219	0.037	5000	1284.417	860.219	1.493
100	127.829	860.219	0.149	7000	1128.891	860.219	1.312
250	96.664	860.219	0.112	10000	1568.467	860.219	1.823

Tabla A2.5. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra "A" (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	141.367	943.672	0.150	500	185.322	943.672	0.196
10	140.266	943.672	0.149	1000	300.618	943.672	0.319
20	126.256	943.672	0.134	2000	432.75	943.672	0.459
30	142.797	943.672	0.151	3000	370.836	943.672	0.393
40	243.723	943.672	0.258	4000	876.544	943.672	0.929
50	186.771	943.672	0.198	5000	702.734	943.672	0.745
100	258.496	943.672	0.274	7000	1314.095	943.672	1.393
250	233.907	943.672	0.248	10000	1932.867	943.672	2.048

Tabla A2.6. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra "B" (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	120.762	852.612	0.142	500	203.65	852.612	0.239
10	138.323	852.612	0.162	1000	259.997	852.612	0.305
20	125.249	852.612	0.147	2000	372.369	852.612	0.437
30	126.721	852.612	0.149	3000	391.232	852.612	0.459
40	297.639	852.612	0.349	4000	774.454	852.612	0.908
50	254.288	852.612	0.298	5000	636.472	852.612	0.746
100	372.581	852.612	0.437	7000	1167.51	852.612	1.369
250	280.474	852.612	0.329	10000	1689.927	852.612	1.982

Tabla A2.7. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra "C" (149µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	73.83	370.698	0.199	500	122.118	370.698	0.329
10	70.634	370.698	0.191	1000	204.067	370.698	0.550
20	60.101	370.698	0.162	2000	360.053	370.698	0.971
30	70.672	370.698	0.191	3000	322.156	370.698	0.869
40	147.263	370.698	0.397	4000	831.301	370.698	2.243
50	126.526	370.698	0.341	5000	714.712	370.698	1.928
100	167.497	370.698	0.452	7000	453.238	370.698	1.223
250	151.709	370.698	0.409	10000	665.336	370.698	1.795

Tabla A2.8. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra "D" (149µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
8	71.809	403.987	0.178	500	114.364	403.987	0.283
10	67.969	403.987	0.168	1000	201.407	403.987	0.499
20	64.812	403.987	0.160	2000	258.347	403.987	0.639
30	81.129	403.987	<u>0.201</u>	3000	253.63	403.987	0.628
40	196.834	403.987	0.487	4000	668.042	403.987	1.654
50	148.49	403.987	0.368	5000	572.229	403.987	1.416
100	215.947	403.987	0.535	7000	945.51	403.987	2.340
250	173.557	403.987	0.430	10000	1698.324	403.987	4.204

Tabla A2.9. Determinación del límite de detección del huevo blanco: Muestra “ m' ” (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	172.942	705.122	0.245	2000	615.146	705.122	0.872
50	138.361	705.122	0.196	3000	820.094	705.122	1.163
100	178.476	705.122	0.253	4000	948.449	705.122	1.345
250	195.048	705.122	0.277	5000	1221.436	705.122	1.732
500	297.977	705.122	0.423	7000	1450.122	705.122	2.057
1000	420.884	705.122	0.597	10000	1686.959	705.122	2.392

Tabla A2.10. Determinación del límite de detección del huevo blanco: Muestra “ n' ” (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	188.984	871.161	0.217	2000	597.543	871.161	0.686
50	122.909	871.161	0.141	3000	690.432	871.161	0.793
100	169.2	871.161	0.194	4000	894.121	871.161	1.026
250	260.366	871.161	0.299	5000	1074.098	871.161	1.233
500	310.372	871.161	0.356	7000	1390.439	871.161	1.596
1000	380.773	871.161	0.437	10000	1400.629	871.161	1.608

Tabla A2.11. Determinación del límite de detección del huevo blanco: Muestra “ o' ” (149µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	119.808	654.814	0.183	2000	263.996	654.814	0.403
50	76.258	654.814	0.116	3000	389.887	654.814	0.595
100	88.392	654.814	0.135	4000	500.253	654.814	0.764
250	109.456	654.814	0.167	5000	695.964	654.814	1.063
500	129.415	654.814	0.198	7000	960.435	654.814	1.467
1000	161.188	654.814	0.246	10000	1097.745	654.814	1.676

Tabla A2.12. Determinación del límite de detección del huevo blanco: Muestra “ p' ” (149µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	114.333	603.488	0.189	2000	197.082	603.488	0.327
50	88.683	603.488	0.147	3000	250.558	603.488	0.415
100	90.154	603.488	0.149	4000	265.488	603.488	0.440
250	112.617	603.488	0.187	5000	326.114	603.488	0.540
500	123.815	603.488	0.205	7000	600.789	603.488	0.996
1000	130.835	603.488	0.217	10000	642.305	603.488	1.064

Tabla A2.13. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra “ A' ” (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	172.154	942.506	0.183	2000	408.742	942.506	0.434
50	202.478	942.506	0.215	3000	570.871	942.506	0.606
100	180.887	942.506	0.192	4000	722.168	942.506	0.766
250	174.67	942.506	0.185	5000	933.729	942.506	0.991
500	190.49	942.506	0.202	7000	1115.428	942.506	1.183
1000	287.328	942.506	0.305	10000	1453.114	942.506	1.542

Tabla A2.14. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra “ B' ” (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	208.436	1215.79	0.171	2000	706.231	1215.79	0.581
50	203.61	1215.79	0.167	3000	946.52	1215.79	0.779
100	186.598	1215.79	0.153	4000	1109.988	1215.79	0.913
250	214.102	1215.79	0.176	5000	1310.299	1215.79	1.078
500	262.599	1215.79	0.216	7000	1520.186	1215.79	1.250
1000	579.458	1215.79	0.477	10000	1690.364	1215.79	1.390

Tabla A2.15. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra “ C' ” (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	122.675	656.602	0.187	2000	266.486	656.602	0.406
50	104.906	656.602	0.160	3000	394.495	656.602	0.601
100	111.352	656.602	0.170	4000	511.336	656.602	0.779
250	99.163	656.602	0.151	5000	717.859	656.602	1.093
500	114.487	656.602	0.174	7000	934.443	656.602	1.423
1000	179.701	656.602	0.274	10000	1049.767	656.602	1.599

Tabla A2.16. Determinación del límite de detección del huevo rojo: Muestra “ D' ” (74µm)

Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}	Dosis (Gy)	TL _{irradiada} (nC)	Fondo (nC)	TL _{irradiada} /TL _{fondo}
20	130.582	608.583	0.215	2000	242.361	608.583	0.398
50	105.471	608.583	0.173	3000	396.404	608.583	0.651
100	97.305	608.583	0.160	4000	473.337	608.583	0.778
250	100.334	608.583	0.165	5000	574.904	608.583	0.945
500	119.451	608.583	0.196	7000	772.466	608.583	1.269
1000	165.29	608.583	0.272	10000	928.311	608.583	1.525

APENDICE III. Tablas de decaimiento y blanqueo de la señal TL.

Tabla A3.1. Fading de la respuesta TL del cascarón blanco, expuesto inicialmente a 3 kGy.

Tiempo de almacenamiento (días)		0	7	14	30	60	130	180	300	330
Resp. TL (nC) a 74µm	M	2879.21	2092.636	1939.521	1971.678	1851.417	2104.806	2022.042	1760.785	2276.318
	N	2257.552	2434.547	2253.329	2233.472	1675.679	2136.331	2190.79	1588.983	2295.73
	Prom.	2568.381	2263.592	2096.425	2102.575	1763.548	2120.569	2106.416	1674.884	2286.024
Resp. TL (nC) a 149µm	O	1797.094	1316.165	1084.629	1453.218	1060.715	1067.545	1341.441	1461.048	1700.626
	P	1813.123	1127.937	1046.073	1462.105	863.75	1154.659	1420.379	1388.508	1768.035
	Prom.	1805.109	1222.051	1065.351	1457.662	962.233	1111.102	1380.91	1424.778	1734.3305
Resp. TL (%)	74µm	100	88.13	81.62	81.86	68.66	82.56	82.01	65.21	89.01
	149µm	100	67.70	59.02	80.75	53.31	61.55	76.50	78.93	96.08
Fading (%)	74µm	0.00	11.87	18.38	18.14	31.34	17.44	17.99	34.79	10.99
	149µm	0.00	32.30	40.98	19.25	46.69	38.45	23.50	21.07	3.92

Tabla A3.2. Fading de la respuesta TL del cascarón rojo, expuesto a 3 kGy.

Tiempo de almacenamiento (días)		0	7	27	60	130	180	300	330
Resp. TL (nC) a 74µm	M	1498.187	1704.097	1648.905	1566.661	1675.039	1278.050	2259.2	1822.162
	N	1632.32	1610.27	1498.369	1521.615	1597.503	1278.767	2241.029	1822.147
	Prom.	1565.254	1657.1835	1573.637	1544.138	1636.271	1278.409	2250.1145	1822.155
Resp. TL (nC) 149µm	O	1068.263	1068.263	1068.263	1068.263	1068.263	1452.821	1068.263	1557.349
	P	1235.299	1098.296	1057.081	1118.773	1310.223	1530.534	1244.543	1558.573
	Prom.	1151.781	1083.2795	1062.672	1093.518	1189.243	1491.678	1156.403	1557.961
Resp. TL (%)	74µm	100.00	69.56	73.65	69.94	68.62	72.72	56.815	80.981
	149µm	100.00	99.60	93.68	91.89	94.56	102.84	128.99	134.725
Fading (%)	74µm	0.00	30.44	26.35	30.06	31.38	27.28	43.19	19.02
	149µm	0.00	0.40	6.32	8.11	5.44	-2.84	-28.99	-34.73

Tabla A3.3. Blanqueo térmico de las muestras de cascarón blanco y rojo de 74 μ m.

Temperatura (°C)	Respuesta TL(nC) 74 μ m		Respuesta TL(%)		Decaimiento (%)	
	N Blanco	B Rojo	N Blanco	B Rojo	N Blanco	B Rojo
0	1496.826	1043.085	0	0	0.00	0.00
60	1558.032	1058.648	104.09	101.49	-4.09	-1.49
100	1528.23	1114.827	102.10	106.88	-2.10	-6.88
150	1507.293	1086.742	100.70	104.19	-0.70	-4.19
175	1845.948	--	123.32	--	-23.32	--
200	1068.924	1068.924	71.41	102.48	28.59	-2.48
250	1231.374	1040.542	82.27	99.76	17.73	0.24
300	650.101	821.327	43.43	78.74	56.57	21.26
350	851.451	1063.587	56.88	101.97	43.12	-1.97
400	1085.444	1087.493	72.52	104.26	27.48	-4.26

APÉNDICE IV. Resultados de la detección PSL de los cascarones blanco y rojo lavados

Tabla A4.1. Resultados PSL del cascarón blanco con 3 lavados HCl 37.1%/1h e irradiados entre 200 a 10 000 Gy.

Dosis	Cascarón blanco 1			Cascarón blanco 2			Cascarón blanco 3			Cascarón blanco 4		
	Cuenta total	Relectura	Identif									
200	3525	--	/	-46	--	-	-1020	--	-	454		-
500	-281	--	-	1827	--	/	867	--	/	-638	--	-
700	38041	2127 (5.59%)	+	1116	1367 (122.49%)	/	982	-11 (-1.12%)	/	1974	578 (29.28%)	/
1000	72	-433 (601.39%)	-	1077	1713 (159.05%)	/	2436	1893 (77.71%)	/	1879	1878 (99.95%)	/
1500	4588	1921 (41.87%)	/	1625	1517 (93.35%)	/	790	1425 (180.38%)	/	2894	530 (18.31%)	/
2000	1665	-1353 (-81.26%)	/	-1353	-373 (27.57%)	-	-315	1499 (-475.87%)	-	4184	879 (21.01%)	/
3000	3073	1657 (53.92%)	/	-1361	-1354 (99.49%)	-	1195	4400 (368.20%)	/	4094	786 (19.20%)	/
4000	-2442	5658 (231.70%)	-	2556	5671 (221.87%)	/	-2068	62 (- 3.00%)	-	-1045	3888 (-372.06)	-
5000	4496	380 (8.45%)	/	7239	3822 (52.80%)	+	5550	586 (10.56%)	+	7943	--	+
6000	3964	2744 (69.22%)	/	6294	2183 (34.68%)	+	4896	4799 (98.02%)	/	7130	-1442 (-20.22%)	+
8000	309	4131 (178.91)	/	-405	4521 (1116.30%)	-	4304	867 (20.14%)	/	5239	151 (2.88%)	+
10000	4582	4626 (100.96%)	/	3820	2403 (62.91%)	/	-4301	49 (- 1.14%)	-	6404	3466 (54.12%)	+

*Nota: (+) positivo; (-) negativo; (/) intermedio

**Nota: Las muestras irradiadas fueron releídas (segunda medida PSL) y se reportan en las tablas 1 y 2, entre paréntesis se indica el porcentaje de señal remanente después de realizarse la primera lectura PSL.

Tabla A4.2. Resultados PSL de muestras de cascarón rojo con 3 lavados HCl 37.1%/1h e irradiados a dosis entre 200 a 10 000 Gy.

Dosis	Cascarón rojo 1			Cascarón rojo 2			Cascarón rojo 3			Cascarón rojo 4		
	Cuenta total	Relectura	Identif	Cuenta total	Relectura	Identif	Cuenta total	Relectura	Identif	Cuenta total	Relectura	Identif
200	514	428 (83.27%)	-	783	-27 (-3.45%)	/	707	261 (36.92%)	/	512	244 (47.66%)	-
500	-305	3858 (- 1264.92)	-	985	164 (16.65%)	/	461	229 (49.67%)	-	1863	1226 (65.81%)	/
700	-1169	2423 (- 207%)	-	2340	1422 (60.77%)	/	529	-24 (-4.54%)	-	2478	-118 (-4.76%)	/
1000	3941	4680 (118.75%)	/	1332	3506 (263.21%)	/	1666	1096 (65.79%)	/	207	666 (321.74%)	-
2000	6426	-4216 (-65.61)	+	1744	3048 (174.77%)	/	-244	1112 (-455.7%)	-	1951	3074 (157.56%)	/
3000	7207	242 (3.36%)	+	2342	3776 (161.23%)	/	2958	-767 (-25.93%)	/	2354	359 (15.25%)	/
4000	0	1316	-	358	1078 (301.12%)	-	1586	760 (47.92%)	/	-414	2320 (-560.39%)	-
5000	4117	7931 (192.64%)	/	-1529	242 (-15.83%)	-	3717	-1203 (-32.36%)	/	2325	-1450 (-62.37%)	/
6000	1599	252 (15.76)	/	4363	-1637 (-37.52%)	/	2043	2498 (122.27%)	/	51	1(1.96%)	-
8000	5609	6402 (114.14%)	+	3840	-1968 (-51.25%)	/	3468	-552 (-15.92%)	/	-4869	2053 (-42.16%)	-
10000	2431	-475 (-19.54%)	/	2455	2893 (117.84%)	/	-1965	-2047 (104.17%)	-	4190	298 (7.11%)	/

*Nota: (+) positivo; (-) negativo; (/) intermedio

**Nota: Las muestras irradiadas fueron releídas (segunda medida PSL) y se reportan en la tabla, entre paréntesis se indica el porcentaje de señal remanente después de realizarse la primera lectura PSL.

APÉNDICE V. Tablas de decaimiento de la respuesta PSL

Tabla A5.1. Fading del cascarón Blanco sin lavados						
	3000Gy		5000Gy		6500Gy	
tiempo (días)	Cuenta total	%Decaimiento	Cuenta total	%Decaimiento	Cuenta total	%Decaimiento
0	278	0.00	1727	0.00	2247	0.00
7	390	-40.29	706	59.12	800	64.40
14	686	-146.76	469	72.84	988	-23.50
30	389	-39.93	428	75.22	610	38.26

Tabla A5.2. Fading del cascarón Rojo sin lavados						
	3000Gy		5000Gy		6500Gy	
tiempo (días)	Cuenta total	%Decaimiento	Cuenta total	%Decaimiento	Cuenta total	%Decaimiento
0	1789	0.00	1401	0.00	1066	0.00
7	838	53.16	519	62.96	670	37.15
14	522	70.82	423	69.81	399	62.57
30	653	63.50	476	66.02	260	75.61