

304434  
2<sup>4</sup>eje.



**UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR**

---

---

**ESCUELA DE INGENIERIA  
ESTUDIOS INCORPORADOS A LA UNAM**

**EFEECTO DE LAS RADIACIONES GAMMA COMO UN  
PROCESO DE ESTERILIZACION EN LA ESTABILIDAD  
DE LOS COLORANTES DE: BETABEL Y COCHINILLA**

**T E S I S**  
Que para obtener el Título de  
**INGENIERO EN ALIMENTOS**  
p r e s e n t a

**PATRICIA SANCHEZ ORTEGA**

Director y Asesor de Tesis: **Dra. Sara Esther Valdes Martinez**

*México, D. F.*

1994

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS:**

Por haberme dado la vida y la gran Familia que tengo, por permitirle a mi mamá estar aún con nosotros.

### **A MIS PADRES:**

Por ser las grandiosas personas que son por que gracias a ustedes soy lo que soy ahora, termine una carrera y soy alguien en la vida.

Gracias por sus desvelos su lucha día con día para poder darme una educación y formación.

Gracias por formarme como ser humano, con sentimientos.

Aunque aveces soy muy latosa ustedes han sabido encaminarme, llevandome de la mano por un excelente camino, han sabido darme todo el amor, cariño y ternura que he necesitado en mi vida son mi guía, mi luz, mi gran ejemplo a seguir, son el mejor regalo y los mejores padres del mundo, gracias a Dios, por darme unos padres así como ustedes.

Los amo con todas mis fuerzas que Dios los bendiga siempre.

## **A MIS DOS GRANDES HERMANAS:**

**Carmina:** A veces tienes mal genio pero aún así has sabido ayudarme, darme consejos y siempre has estado conmigo te quiero muchísimo.

**Elizabeth:** Aunque a veces no hablamos mucho también te quiero y deseo lo mejor del mundo para ti.

**QUE DIOS LAS BENDIGA A LAS DOS**

## **A MIS GRANDES AMIGOS:**

**Maricruz:** Que te puedo decir muchísimas gracias por todo.

**Lourdes:** Siempre has estado conmigo desde hace mucho tiempo, gracias por ser como eres.

**Huberto:** Gracias por tus acertados consejos y tu apoyo.

**Karina:** Gracias por ser la persona que eres.

**LOS AMO A TODOS.**

### **A SARA VALDES:**

Gracias por tu ayuda, sin ti no hubiera terminado nunca. eres una persona grandiosa.

### **A MI ABUELO Y PEPE:**

Desgraciadamente no están aquí conmigo, para poder celebrar este gran triunfo para mí. Los amo mucho y que Dios los tenga en su Gloria siempre. Los extraño mucho.

### **A MIS PRIMOS:**

Juanita, Marisol, Alejandro, Arturo, Silvia y Alicia.  
Gracias por su apoyo y los grandes momentos juntos.

### **A MIS TIOS:**

Esther, Miguel, Lupita, Agustín y Lupe.  
Muchas Gracias.

**A todas aquellas personas  
que de un modo u otro me  
ayudaron hacer lo que soy  
ahora.**

**A SPECTRUM DE MEXICO**

**NICOLETE**

**ININ (INSTITUTO NACIONAL  
DE INVESTIGACIONES  
NUCLEARES)**

**PERLA LUNA Y EMILIA BUSTOS**

**GRACIAS A TODOS.**

INDICE

- 1.- JUSTIFICACION
- 2.- INTRODUCCION
- 3.- OBEJTIVO GENERAL
- 4.- OBJETIVOS PATICULARES

CAPITULO I

- 1.- GENERALIDADES DE LOS COLORANTES
  - 1.1 COLORANTES DEFINICIONES
  - 1.2 CLASIFICACION DE LOS COLORANTES
  - 1.3 COLORANTES CERTIFICADOS
    - 1.3.1 PIGMENTOS
    - 1.3.2 LACAS
  - 1.4 COLORANTES NO CERTIFICADOS
  - 1.5 TOXICIDAD Y ESTUDIOS TOXICOLOGICOS DE LOS COLORANTES
    - 1.5.1 REQUERIMIENTOS PARA REGISTRO DE ADITIVOS
  - 1.6 LIMITACIONES DE LOS COLOARANTES NATURALES

CAPITULO II

COCHINILLA

- 2.1 COCHINILLA ASPECTOS IMPORTANTES
  - 2.1.1 HISTORIA
  - 2.1.2 ASPECTOS BIOLOGICOS DE LA COCHINILLA
- 2.2 METODO DE OBTENCION
- 2.3 DEFINICIONES DE DERIVADOS DE COCHINILLA
- 2.4 QUIMICA DEL ACIDO CARMINICO

CAPITULO III

BETABEL

- 3.1 GENERALIDADES DEL BETABEL

### 3.2 PIGMENTOS DEL BETABEL

#### 3.2.1 BETALAINAS

### 3.3 ESTUDIOS QUE SE HAN REALIZADO SOBRE EL BETABEL

### 3.4 APLICACIONES DEL BETABEL COMO COLORANTE

## CAPITULO IV

### IRRADIACIONES

#### 4.1 HISTORIA

#### 4.2 DIFERENTES FUENTES DE IRRADIACION

#### 4.3 FUENTES DE RADIACIONES GAMMA

#### 4.4 INTERACCION DE LA RADIACION CON LA MATERIA

#### 4.5 DISTRIBUCION DE LA DOSIS

#### 4.6 PRINCIPALES EFECTOS QUIMICOS DE LAS RADIACIONES IONIZANTES

#### 4.7 EFECTO DE LAS RADIACIONES IONIZANTES SOBRE ALGUNOS

COMPONENTES IMPORTANTES EN LOS ALIMENTOS

A) CARBOHIDRATOS

B) PROTEINAS Y AMINOACIDOS

C) LIPIDOS

D) VITAMINAS

E) ENZIMAS

#### 4.8 EFECTOS SOBRE MICROORGANISMOS

##### 4.8.1 CONSIDERACIONES IMPORTANTES

##### 4.8.2 DOSIS DE INACTIVACION

#### 4.9 SEGURIDAD TOXICOLOGICA

#### 4.10 REGLAMENTACION MEXICANA SOBRE LOS ALIMENTOS IRRADIADOS

## CAPITULO V

### METODOLOGIA

#### 5.1 JUSTIFICACION

5.2 OBJETIVOS

5.3 CUADRO METODOLOGICO

CAPITULO VI

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

6.1 ANALISIS MICROBIOLOGICOS

6.2 ESPECTRO DE ABSORBANCIA

6.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON DERIVADA DE FOURIER

6.4 ESTUDIO DE INGENIERIA DE CALIDAD POR MEDIO DE UN ANALISIS DE  
TAGUCHI

CAPITULO VII

CONCLUSIONES

APENDICE I

APENDICE II

BIBLIOGRAFIA

## JUSTIFICACION

La restricción en el uso de colorantes sintéticos, ha traído como consecuencia una tendencia al aumento del uso de colorantes naturales. Por lo anterior ha renacido el interés por los mismos, siendo necesario contar con más estudios que permitan su aplicación con seguridad en diferentes productos alimentarios. Debido a las condiciones de elaboración de los colorantes naturales, las posibilidades de contaminación microbiana son elevadas, no propiamente por el proceso, sino por el manejo subsecuente del producto hasta llegar al los consumidores, entendiéndose como consumidores, a los productores de los alimentos.

Si a esto aunamos, la posibilidad de exportación de las colorantes naturales como materia prima, la calidad bacteriológica del producto es de vital importancia, es necesario asegurar que los productos estén exentos de contaminación microbiana, el uso de radiaciones como un medio de esterilización puede ser un método opcional para la conservación de ellos. Por lo anterior es de vital importancia conocer el efecto de las radiaciones ionizantes en la estabilidad tintorea de los pigmentos.

## INTRODUCCION

Los colorantes son muy utilizados en la industria de los alimentos, debido a que constituyen un factor muy importante para la aceptación de los alimentos por parte del consumidor, al ser uno de los parámetros mas importantes en la calidad total (18,22,47).

Por cultura y tradiciones principalmente, es muy difícil aceptar un alimento que no presente el color "típico" con el que la mayoría de los consumidores lo han identificado, así por ejemplo para nuestra sociedad actual, sería sumamente difícil aceptar una leche color verde , o una carne morada. Probablemente estos colores podrían ser añadidos al producto sin afectar o alterar el resto de sus características organolépticas como sería el sabor, la textura, el olor, sin embargo, el simple hecho de que determinado producto tenga un color "fuera de lo normal" es motivo suficiente para que el consumidor, la rechace de inmediato (22,27).

El color, es una de las primeras impresiones que reciben las personas al momento de adquirir un producto, a menos que este tenga un empaque muy vistoso en el cual se impida que el consumidor se de cuenta del color real del producto, o quizás de algún modo no se percate de este, sin embargo cuando esto sucede, el color es tal vez el factor determinante para su aceptación (22).

Se han hecho estudios organolépticos, así como estudios estadísticos, los cuales indican que dependiendo del color, así como de la intensidad de este, los jueces evaluarán el producto y formarán un juicio, tal vez determinante, mucho antes de probar el alimento, haciendo en determinados casos un juicio injusto, de la calidad del alimento (22,27,36).

En cuanto a radiación se refiere, este método de conservación ha tenido un enorme auge en los últimos años, debido a que ha probado ser, hasta el momento un método efectivo y seguro para la esterilización de los alimentos, alargando así su vida de anaquel. Desgraciadamente en algunos casos en los cuales no se ha aplicado la radiación a dosis adecuadas o tal vez aun siendo las dosis adecuadas, el alimento sufre decoloraciones y cambios sensoriales. Por lo que es entonces importante investigar el efecto que estas radiaciones producen en el color, que como ya se dijo anteriormente, es un factor determinante para la aceptación del alimento por el consumidor.

Las radiaciones, no son del todo aceptadas por las sociedades, debido a la falta de información que las personas tienen acerca de las mismas. Muchas personas, al momento de oír hablar acerca de radiaciones, piensan de inmediato en la segunda guerra mundial y de las mutaciones que estas provocaron a los habitantes de Hiroshima, así como del incidente pasado de Chernoville y de muchos otros incidentes que han ocurrido a lo largo de la historia. Sin embargo la gente ignora que esta nueva tecnología, se puede usar para

el bien de la humanidad, como en el caso de la irradiación de los alimentos que alargan su vida de anaquel.

Poco se ha publicado de la gran ventaja que tienen las radiaciones para la conservación de los alimentos, existen publicaciones en las revistas de ciencia como es el caso de: JOURNAL OF FOOD SCIENCE, FOOD TECHNOLOGY, FOOD CHEMYSTRY, etc., revistas que no están al alcance de muchas personas. Por lo anterior se dice que las utilidades de la radiaciones en los alimentos se encuentran en sus inicios, y principalmente en nuestro país (2,9,11,24,47,49).

Otro factor importante que tal vez la gente a veces ignora, es que para poder irradiar un alimento, las industrias se basan en legislaciones, hechas por organizaciones como la FDA, y que son ya cantidades probadas y que hasta ese momento no han causado alteración alguna en los animales de experimentación . Ahora bien, se podría dar el caso de que en un futuro, se llegara a disminuir las dosis permitidas hasta el momento, como ha pasado con los diversos aditivos que se encuentran en el mercado, esto podría suceder si se encontrara alteración en terceras generaciones, lo que significa años de experimentación toxicológica, o sencillamente porque la tecnología avanza día con día, y tal vez en lugar de disminuir las dosis, se compruebe una mayor eficacia en cuanto al alargamiento de la vida de anaquel de los alimentos, entonces las dosis aumentarían.

La radiación es también utilizada como un método coadyudante de algún otro proceso de conservación, como el caso de la

congelación donde se utiliza para asegurar el exterminio total de todos los microorganismos dañinos al producto o alimento (19,40,45,48,49,57).

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diferentes niveles de radiaciones ionizantes sobre la estabilidad y carga microbiana de los colorantes naturales: Cochinilla y Betabel.

## OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Evaluar el efecto de diferentes niveles de radiación ionizante, sobre la estabilidad del betabel ante variables como: pH, temperatura, oxígeno, y luz.

2.1 Determinar el efecto de diferentes niveles de radiación ionizante, en la carga bacteriana de algunos pigmentos naturales.

## CAPITULO I

### 1.- GENERALIDADES DE LOS COLORANTES

#### 1.1 Colorantes definiciones

a) Son todas aquellas sustancias que se fijan sobre otras proporcionando color y presentando cierta estabilidad sobre los mismos (22,27).

b) Los aditivos llamados colorantes, son definidos como cualquier tintura, pigmento u otra sustancia hecha por un proceso de síntesis, o de algún derivado de un vegetal, animal, mineral o cualquier otra forma de extracción que para el cuerpo humano no produzca alteración en el mismo, o alguna reacción con sustancias que pueden provocar daño (22,26,27).

#### 1.2 Los colorantes se clasifican como:

- a) colorantes certificados
- b) colorantes no certificados

Los colorantes certificados son compuestos que son químicamente sintetizados con un alto grado de pureza. Esta certificación fue originada y/o elaborada por la Pure Food and Drug Act de 1906.

Los colorantes no certificados son los obtenidos de fuentes naturales, ya sea de origen vegetal, animal, o mineral, y son compuestos naturales-identicos, sintetizados naturalmente.

Los colorantes no certificados están exento de certificación a diferencia de los certificados que necesitan para su uso de la aprobación (principalmente en los Estados Unidos) de la FDA y en México del Sector Salud. (1,2,25,26,42,43)

### 1.3 Colorantes Certificados:

Los colores permitidos por la FDA hasta 1989 se muestran a en la tabla. TABLA 1

Existen dos tipos de colorantes certificados: los pigmentos y lacas.

#### 1.3.1 PIGMENTOS

Los pigmentos o tinturas, son solubles en agua y descubren su color cuando son disueltos en un solvente. Los más importante en estos colorantes es su gran poder de coloración ya sea en forma granular, liquida, la mezcla sin brillo, pasta y en dispersión. La forma en la cual se va a aplicar el pigmento o tintura depende y es seleccionada para cada alimento en particular después de considerar algunos factores como: la formulación de los parámetros de proceso, empaque y los requerimientos de vida media en el producto final. En

**COLORES PERMITIDOS  
POR FDA HASTA 1989.**

<b>COLOR</b>	<b>MATIZ O BRILLO</b>
<b>AZUL # 1</b>	<b>AZUL BRILLANTE</b>
<b>AZUL # 2</b>	<b>AZUL ROYAL</b>
<b>VERDE # 3</b>	<b>VERDE MAR</b>
<b>ROJO # 3</b>	<b>ROJO AGUA</b>
<b>ROJO # 40</b>	<b>ROJO ANARANJADO</b>
<b>AMARILLO # 6</b>	<b>ANARANJADO</b>

**TABLA # 1.**

la tabla # 2 se muestran las diferentes formas de un pigmento, sus ventajas y desventajas y sus aplicaciones típicas a los productos alimenticios, primordialmente.

### 1.3.2 Lacas

Son definidas por la FDA como la sal de aluminio o de calcio de los pigmentos sobre un sustrato de alumina.

Las lacas son ideales para colorear productos con grasas y aceites y se les llama colores directos.

Las lacas se preparan por una precipitación de los pigmentos en una base insoluble, hidrato de alumina, la cual tiene la función de hacer el pigmento insoluble en muchos mas solventes, incluyendo dentro de estos al agua. Las propiedades de la laca son determinadas de acuerdo a las condiciones de proceso como son principalmente: pH, temperatura, y a la agitación principalmente, y por consiguiente la manera en la cual es añadida la laca al alimento.

La fuerza de tintura o de coloración de la laca mejoran con un tamaño de partícula pequeño y cuando estas partículas aumentan en número.

Los principales factores que afectan la estabilidad de las lacas son: presencia de metales, pH muy extremos, bajos contenido de

## FORMAS DE UN PIGMENTO

FORMA	PUREZA (%)	VENTAJAS	DESVENTAJAS	APLICACION
ESTANDAR	88-93	FACIL DILUION, MEZCLA UNIFORME Y BAJO COSTO.	CARACTERISTICAS POBRES DE FLUJO	BEBIDAS Y PRODUCTOS EXTRUIDOS
GRANULAR	88-93	LIBRE FLUJO	NO BUENO PARA PRODUCTOS DE BAJA VELOCIDAD DE DILUION, COSTO MAS ELEVADO QUE LA ANTERIOR.	DONDE EL COLOR SE DISUELVA PRIMERO
LIGLIDA	1-9	FACIL USO LISTO PARA USARSE	INCREMENTA EL ESPACIO PARA SER ALMACENADA	DULCES, PANADERIA Y QUESO
PLACA	88-93	INCREMENTA LA APARENCIA VISUAL DE LA MEZCLA	APLICACION LIMITADA	BASE PASA BEBIDAS Y POSTRES
PASTA	4-10	ESTABILIDAD BUENA EN EL COLOR	ELEVADO COSTO Y APLICACION LIMITADA	GOMAS DE MASCAR Y DULCES
DISPERSION		COLOR OPACO	ELEVADO COSTO Y APLICACION LIMITADA	GOMAS DE MASCAR

FIGURE 2. BENZENE D. JUNE. APPLICATIONS OF FOOD COLORANTS. FOOD TECHNOLOGY, APRIL 1972.

LA FORMA GRANULAR DE LOS PIGMENTOS SE EMPLEA EN UN 15% EN LA INDUSTRIA DE LOS ALIMENTOS.

TABLA 2

humedad y la exposición de el producto final a la luz (13,18,22,26,27,50,61).

#### 1.4 Colorantes no Certificados

La mayoría de estos, que se emplean en la industria de los alimentos son de origen vegetal, se encuentran en número muy reducido. Los colorantes existentes en el mercado incluyen pigmentos como: cúrcuma, cochinilla, clorofila, achiote, betabel, bixina, y annatto entre otros.

La cochinilla es el colorante natural mas utilizado debido a su gran estabilidad, a diferencia del resto de los colorantes rojos.

Dentro de los colorantes no certificados, existe una clasificación mas, los llamados "colorantes naturales idénticos" (18,22,26,27). Estos colorantes son las contra partes idénticas y sintéticas de los colorantes naturales obtenidos de una fuente natural, son sintetizados como copia exacta, químicamente, de los colorantes naturales.

En la tabla 3, se muestra la clasificación de los colorantes naturales idénticos mas usados en la industria de los alimentos:

El nivel de uso de los colorantes naturales, ha tenido en los últimos años una gran demanda a pesar de que su costo esta por encima de los colorantes sintéticos. Los colorantes naturales tienen una amplia gama de colores por lo que se hace aún mas difícil el manejo de estos a diferencia de los colorantes sintéticos.

Los colorantes sintéticos son muy estables, mientras que los colorantes naturales son inestables a condiciones como: luz, pH y oxígeno principalmente, los cuales afectan, de diferentes formas disminuyendo su vida de anaquel, cambiando su solubilidad, provocando perdida del poder tintorial etc (18,22,26,27).

#### 1.5 TOXICIDAD Y ESTUDIOS TOXICOLOGICOS DE LOS COLORANTES.

La FDA, realiza una serie de investigaciones en forma periódica, sobre la toxicidad de los colorantes sintéticos primordialmente, aunque también los realiza en los colorantes naturales. Esto ha dado como resultado, que algunos colorantes que habían sido aceptados en un determinado momento, se prohíban en un presente o en un futuro.

En 1973 se encontró mediante investigaciones japonesas que el violeta número 1 es un agente carcinogénico en porcentaje del 5% en la dieta de ratas, que son los animales de laboratorio más ampliamente utilizados para investigaciones toxicológicas.

# CLASIFICACION DE LOS COLORANTES NATURALES.

## ORGANICOS:

### I) VEGETALES:

#### 1.- ANTOCIANINAS

- A) MALVIDINA
- B) PRONIDINA
- C) DELFINIDINA
- D) PETUNIDINA
- E) CIANDINA

#### 2.- BETALAINAS:

- A) BETAXANTINAS
- B) BETACIANINAS

#### 3.- CAROTENIOIDES:

- A) CAROTENO
- B) LICOPENO
- C) XANTOFINAS
- D) VIXINA
- E) CANXANTINA
- F) APOCAROTENAL

#### 4.- CLOROFILA COMO LA A,B,C.

#### 5.- FLAVONOIDES

#### 6.- KAEMEFEROLES, KERATINA MERCITINA

### II) ANIMALES:

#### 1.- ACIDO CARMINICO IRINIIDES

#### 2.- ACIDO KERMESICO

#### 3.- ANTRAKINONAS

### III) MISCELANEOS:

#### 1.- IRIDOIDES

- A) Md
- B) A

## INORGANICOS

#### 1.- DIOXIDO DE TITANIO

#### 2.- AZUL NITRAMARINO

## MINERALES

#### 1.- NEGRO CARBON

#### 2.- ACIDO DE HIERRO

TABLA # 3

El rojo #1 en cantidades hasta de un 3% provoca daños hepáticos que pueden llegar inclusive a ser mortales.

Dichas reglamentaciones varían de un país a otro. Por ejemplo el rojo #40 fue aprobado para su utilización en alimentos en 1974 en E.U por la FDA, pero no fue así para la Sociedad Económica Europea en donde esta prohibido.

En 1988 se prohibió la utilización del rojo #4 y en 1990 la utilización del rojo #3, (FDA).

Por lo anterior, el uso de los colorantes naturales a tenido un gran auge en los últimos años, además de la tendencia, principalmente en Europa a lo natural.

En 1906 la FDA tenía una lista de colorantes sintéticos de 80, dicha lista a venido decayendo hasta la lista actual que se conoce ahora, de los cuales solo ocho son considerados completamente seguros y son : amarillo 5 y 6, naranja 3, rojo cítrico 2, rojo 40, azul 2 y 1, y verde 3.

#### 1.5.1 REQUERIMIENTOS PARA REGISTRO DE ADITIVOS

Es importante conocer los requerimientos necesitamos para poder registrar un aditivo, ya que en muchas ocasiones se pasa por alto los puntos abajo mencionados y se piensa que es muy sencillo

utilizar determinado aditivo solo porque es funcional. Por lo anterior se exponen los siguientes puntos.

Las pruebas toxicológicas incluyen:

- 1.- Estudios de toxicidad aguda en ratas.
- 2.- Estudio de toxicidad subcrónica en ratas de 90 días de duración.
- 3.- Estudios de alimentación crónica en por lo menos dos especies de animales.
- 4.- Un estudio teratológico
- 5.- Un estudio de reproducción múltiple usando primordialmente ratones.
- 6.- Una prueba de mutagenicidad (44).

#### 1.6.- LIMITACIONES DE LOS COLORANTES NATURALES

-Los pigmentos son una fuente menos definida y es muy posible que cambien su contenido variando el método de extracción o las condiciones.

-Los colorantes naturales tienen una firmeza tintoreal más baja que los colorantes artificiales por lo que entonces se requiere de una adición de colorante natural, lo que trae como consecuencia un incremento considerable del costo de un determinado producto además de que inicialmente estos colorantes son más caros ( 43,49).

-La estabilidad de los colorantes naturales contra el calor, luz, oxígeno, conservadores y pH, es baja, variando lógicamente de colorante a colorante por que, en el caso de la cochinilla , esta soporta temperaturas de hasta 115°C y pH de 5, por mencionar ejemplos (21,27,62).

-Los colorantes naturales tienen características aromáticas fuertes, principalmente el betabel y sus derivados.

-A excepción del betabel y las antocianinas, la gran mayoría de los colorantes naturales son solubles en aceites y requieren de modificaciones químicas para su uso y estabilizantes para su dispersión en alimentos.

## CAPITULO II

### COCHINILLA

#### 2.1 COCHINILLA ASPECTOS IMPORTANTES.

##### 2.1.1 HISTORIA

Desde la antigüedad en los países próximos al mediterráneo se daba especial importancia a los colores púrpuras y escarlatas y se cree o se supone que el cultivo de la "grana" como comunmente se le conoce al insecto que se utiliza para extraer el colorante cochinita, se remota al periodo Tulteque (Clavijero y Humboldt) (siglo décimo de nuestra era).

En cuanto a los tintes escarlatas que se apreciaban en el Mediterráneo, estos se podían obtener apartir de los insectos Margarodos polinucos y Kermes vermilio originarios de la parte este de Europa, sur de Francia y España respectivamente.

El ácido carmínico y la cochinita se han obtenido desde tiempos remotos del insecto hembra *Dactylopius coccus* costa, que se encuentra como párasito en las partes aéreas del cactus *Opuntia* y *Nopalea*. Dicho colorantes es extraido del insecto justo antes de ovopositar, ya que en este momento el colorante puede constituir hasta un 22% del peso seco del insecto.

Se conocen dos tipo de cochinita principalmente: La fina y La Silvestre. En el caso de la fina, se utilizaba para obtener el

colorante de una forma continua y la segunda es la que crecía de forma espontanea en el campo o en las nopaleras de las casas y que no se destinaba a la extracción del colorante. Los aztecas la cultivaban para ofrecer el colorante como tributo o impuesto, debido a su gran colorido.

Los Españoles hicieron que la producción de la grana se incrementara en el siglo XVI e intentaron, sin tener éxito, introducir el cultivo a zonas como Honduras. La cochinilla ya cultivada se exportó a Cádiz y de ahí a las Islas Canarias durante los años de 1824-1827, y fue aquí donde el cultivo tuvo gran auge.

Dichas exportaciones se intensificaron, lo que promocionó el desarrollo de plagas en el nopal y en el insecto como tal. Esto aunado al auge y necesidades el cultivo de maíz cereales y otras plantas alimenticias fue poco a poco desplazando el cultivo de la cochinilla hasta que llegó a su menor actividad en 1818.

Después de la guerra de independencia, volvió a incrementarse el cultivo de cochinilla por lo que se originó la competencia entre los diferentes países productores y por consecuencia lógica los precios de dicho colorante fueron cayendo. Fue entonces, cuando más o menos en 1884, aparecieron los colorantes artificiales, a un costo mucho más bajo en comparación con la cochinilla, causando el desplazamiento de este producto a nivel mundial.

En los últimos años, el colorante de la cochinilla, ha adquirido nueva demanda por su elevada estabilidad y por que los colorantes sintéticos cada vez son menos, los permitidos por la FDA. (43,44)

#### 2.1.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LA COCHINILLA

La clasificación de la Cochinilla es:

CLASE: INSECTA

ORDEN: HOMOPTERA

SUB-ORDEN: STERNONHYNCHA

FAMILIA: DACTYLOPIDAE

GENERO: DACTYLOPIUS

ESPECIE: COCCUS

Dicha clasificación fue hecha por el investigador Costa en 1835, quien la clasificó como *Dactylopius Coccus*.

Las hembras tienen el cuerpo cubierto por una secreción blanca algodonosa o polvorulenta y miden 2-5 mm de diámetro. Presentan antenas de 6-7 artejos, pequeñas y cortas. Las patas tienen un desarrollo normal de todas sus partes, pero son cortas. La abertura anal es una hendidura transversa, cuyo borde anterior presenta una banda esclerosada, la cual no tiene aspecto celular.

Las hembras adultas viven fijadas en las superficies de los nopales donde insertan sus estilotas. Se presupone que pueden

reproducirse tanto en forma sexual como asexual. Los machos tienen cabeza, tórax y abdomen bien definidos, un par de alas mesotorácicas y dos balancines, carecen de órganos bucales, tienen una vida corta y un tamaño más pequeño que el de las hembras, el abdomen termina en dos largos filamentos cerosos. Tanto las hembras adultas como las crías, se alimentan de los jugos de las pencas de los nopales chupándolos ávidamente.

El ciclo biológico es sencillo, pasando por los estados de huevo, ninfa y adulto. Durante su ovoposición, los huevecillos quedan debajo del cuerpo de la hembra y eclosionan en un período de 15min hasta 6 hrs., en este período no se puede distinguir a las hembras de los machos. Las ninfas en un lapso de 48hrs, insertan sus estilotas en el tejido del nopal para alimentarse, quedando fijas por el resto de su vida. Cuando las hembras se van desarrollando, al mismo tiempo va aumentando su volumen y sus patas se retraen atrofiándose así como las antenas. Cuando se tienen condiciones ideales, el cultivo de insectos requiere de 90 días para su desarrollo desde el estado huevo al adulto y las hembras están listas para ovopositar por lo que se inicia un nuevo ciclo. La ovoposición de la hembra dura unos 15 días y cada una de estas pone en promedio 350 huevecillos, cuando esta operación termina el cuerpo del insecto se contrae hasta su muerte.

Las plantas en las cuales se cultiva la cochinilla son el Nopal de Castilla (Opuntia ficus-indica) y el Nopal de San Gabriel (Opuntia tormentosa). En forma silvestre vive sobre el nopal Pluma o Nopal Castarrita (Opuntia pilifera).

Las condiciones ecológicas de los lugares en los que actualmente se cultiva la cochinilla son: Cañadas y pequeños valles de pendiente suave, cuyas alturas sobre el nivel del mar varían entre 1,200 y 1,400m. En suelos delgados y calizos, que en grandes extensiones dejan expuestos el sustrato rocoso. El promedio de temperatura es de 21.7°C y el de precipitación pluvial es de 6600mm (27,62).

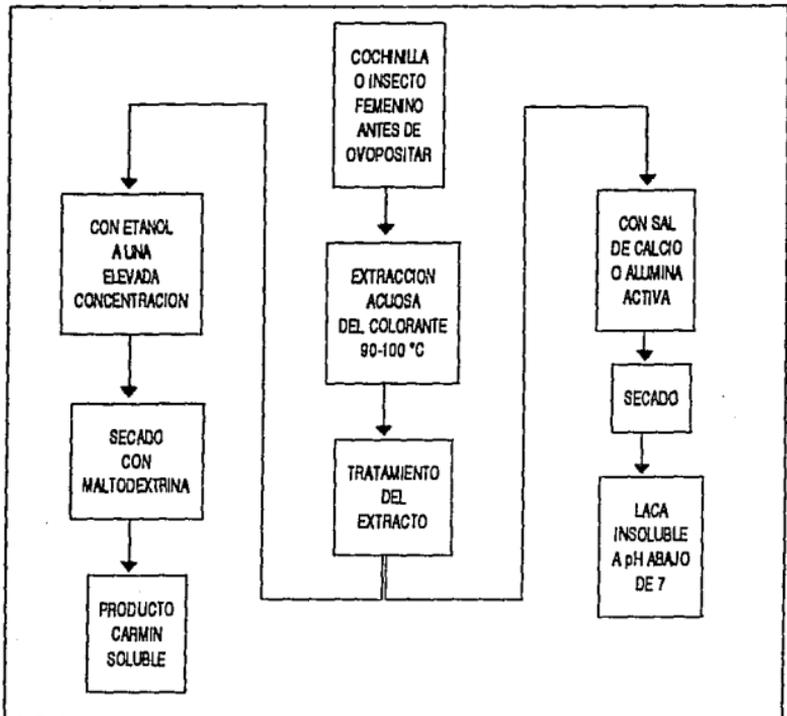
## 2.2 METODO DE OBTENCION

En el cuadro #1 se esquematiza el método de obtención del pigmento así como de la laca de aluminio del ácido carmínico.

El ácido carmínico que es el principio activo de la cochinilla, se encuentra hasta en un 22% del peso seco del insecto. Gran parte del ácido carmínico puede ser extraído por el tratamiento del insecto femenino seco con agua caliente. Aunque los rendimientos pueden ser incrementados si la preparación seca es pulverizada, pero los subsecuentes estados de purificación se vuelven más difíciles. En los dos casos, cantidades variables del pigmento quedan unidos a los residuos insolubles.

Generalmente se requieren de 4-5 kgrs de cochinilla en bruto para poder producir 1 kgr de carmín comercial. Los procesos de extracción acuosa pueden ser continuos o por lote con temperaturas entre 90 y 100 grados centígrados.

METODO DE OBTENCION DEL PIGMENTO  
(EXTRACTO ACUOSO) Y LA LACA  
DEL ACIDO CARMINICO.



CUADRO # 1

Los pasos siguientes del proceso involucran un tratamiento al extracto con sales de aluminio. En función del producto final pretendido, el complejo resultante puede ser tratado con etanol a alta concentración para precipitar un carmín soluble, también se podría aislar, en esa forma, la cual resulta ser insoluble abajo de un pH 7 por adición de una sal de calcio a la solución final.

El aislamiento de un ácido carmínico puro depende de la habilidad para formar un complejo insoluble con plomo y los métodos basados en la precipitación de plomo aún parecen ser usados en la preparación del ácido carmínico con fines histológicos. Se ha establecido mediante investigaciones que los mejores rendimientos pueden ser obtenidos si el insecto es tratado con soluciones acuosas de enzimas proteolíticas en presencia de agentes surfactantes adecuados y la purificación es altamente simplificada usando una cromatografía de intercambio iónico.

### 2.3 DEFINICIONES DE DERIVADOS DE COCHINILLA

1.- Cochinilla.- Es el insecto Dactylopius coccus del cual se extrae el ácido carmínico.

2.- Acido Carmínico.- O mejor conocido como rojo cochinilla, es una antraquinona derivada, siendo el principio activo del colorante.

Se conoce también con el nombre de carmin a la sal de aluminio alcalina (laca) preparada en forma directa del ácido carmínico teniendo un 10% mínimo de este último.

En el mercado existen preparaciones como:

a) Carmin.- Es de color rojo claro y se obtiene por medio de una extracción acuosa de la cochinilla utilizando enzimas proteolíticas. Se usa en alimentos donde la base principal sea agua o alcohol como son los siguiente: Las bases para bebidas, bebidas líquidas y aderezos para ensaladas. Da coloraciones claras en soluciones diluidas en agua y contiene como mínimo un 50% del ácido carmínico como poder colorante.

b) Carmin ácido estable: Es de color rojo claro, se obtiene por medio de una extracción acuosa y tratamiento proteolítico a partir de la cochinilla. Su uso se prefiere en alimentos donde la base principal sea agua o alcohol. Cuenta con un mínimo de 2.5% de ácido carmínico como poder colorante disponible.

c) Acido líquido.- Es una solución de color rojo magenta, está principalmente compuesto por carmin, agua, hidróxido de amonio, sosa y glicerina. Se obtiene por medio de una extracción acuoso-enzimática a partir de la cochinilla. Tiene un mínimo de 3.3% de ácido carmínico como poder colorante. Se utiliza en alimentos cuya base es agua y con un pH superior a 3.5 como el caso de yogurts y malteadas.

d) Carmin-laca: De color rojo magenta , se obtiene por extracción acuosa-enzimática a partir de la cochinilla. Debe tener un poder colorante no menor del 50% de ácido carmínico, puede ser usado en productos farmacéuticos, cosméticos y confitería.

#### 2.4 QUIMICA DEL ACIDO CARMINICO

Recientes investigaciones muestran que el núcleo de la antraquinona del ácido carmínico tiene una estructura como muestra la figura # 1; con un grupo carboxil en la segunda posición.

La estructura del ácido carmínico es descrita correctamente como 7-c-d-glucopiranosil-3,5,6,8-tetrahidroxil-1-metil-9,10-dioxi-2-ácido antracencarboxílico, y se consideraba que la configuración estereoquímica de la ligadura c-glucosil, es la responsable de la reactividad del ácido carmínico para formar complejos con una variedad de metales.

Los carmines pueden ser aislados en forma directamente soluble en los solventes base agua bajo un amplio rango de pH o en forma insoluble abajo de pH 7. En la práctica comercial, los carmines insolubles pueden ser solubilizados por un tratamiento en medio acuoso arriba de un pH de 7, antes de la adición en alimentos o bebidas (22,27).

Los siguientes pasos del proceso involucran un tratamiento del extracto con sales de aluminio. El complejo resultante puede ser

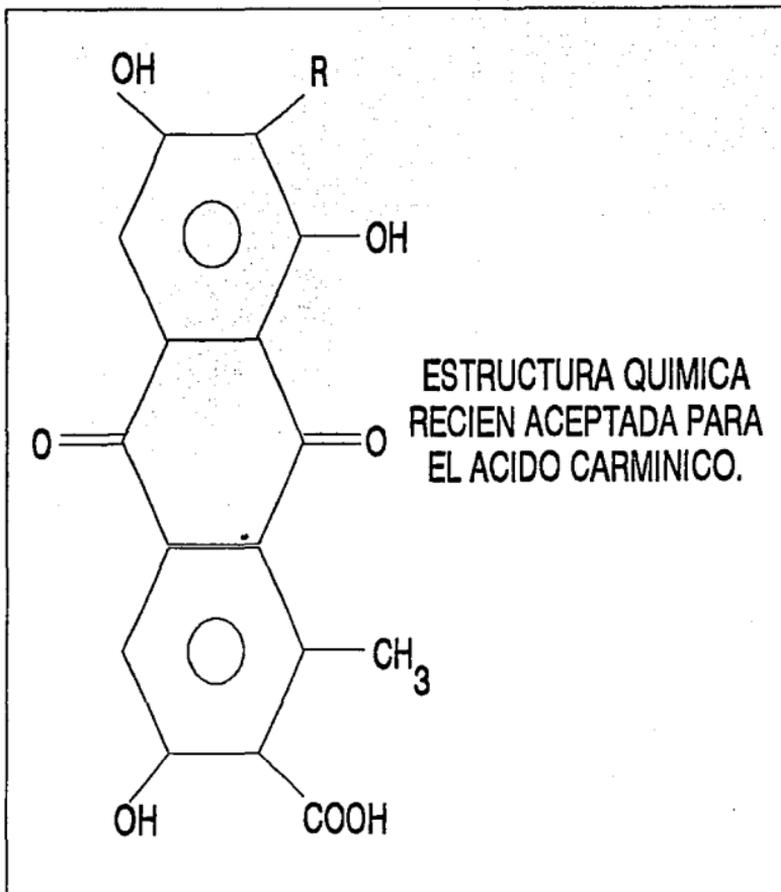


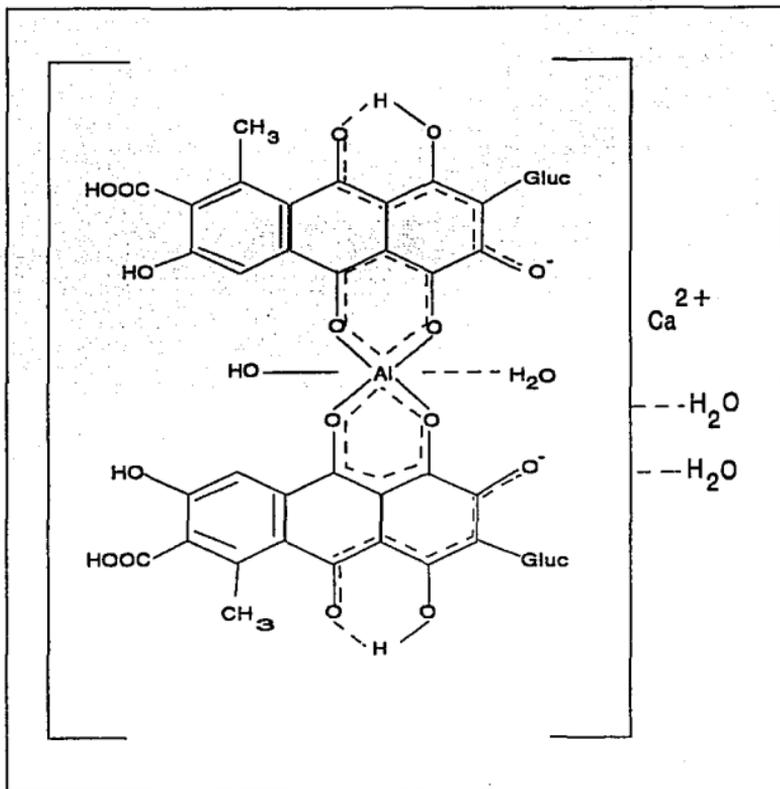
FIGURA # 1.

tratado con etanol a alta concentración para precipitar un carmín soluble, alternativamente puede ser aislado en esa forma, la cual es insoluble abajo de pH de 7, por adición de una sal de calcio a la solución final.

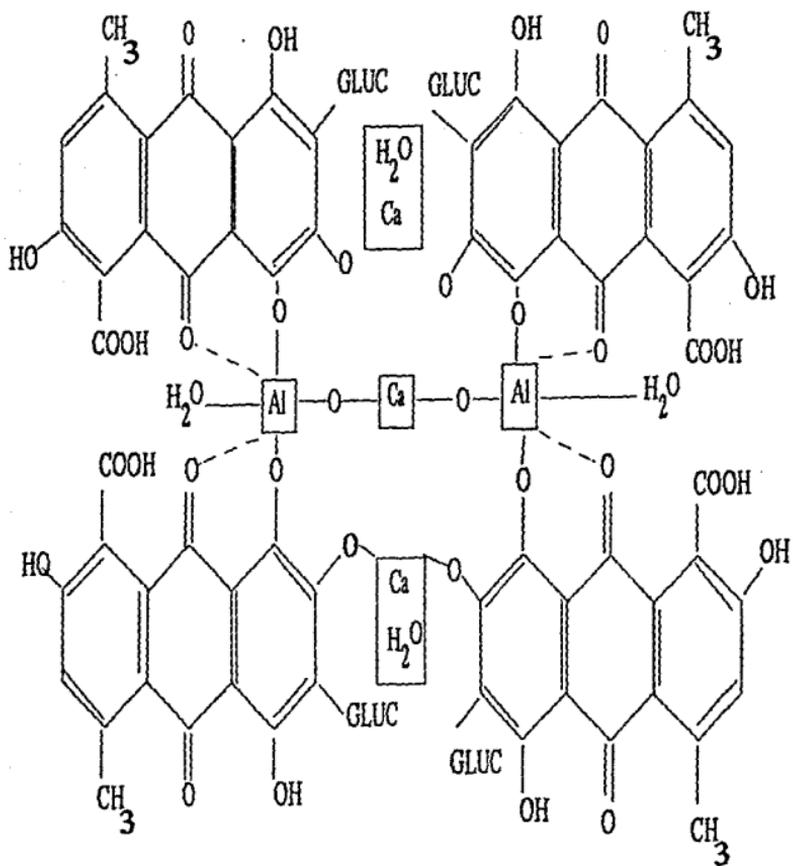
La clave para la permanencia tecnológica y propiedades de pigmentación de todos los carmines, es la presencia del complejo ácido carmínico metal. Los factores fisico-químicos bajo los cuales la formación y estructura eventual de estos complejos se lleva a cabo, es motivo de numerosas investigaciones.

En la figura #2 y #3 , se presentan dos estructuras sugeridas para la formación de complejos ácidos carmínico-metal (27,61).

FIGURA 2



ESTRUCTURA SUGERIDA PARA UN  
COMPLEJO CARMIN-METAL.



ESTRUCTURA PARA EL COMPLEJO  
ACIDO CARMINICO ALUMINIO

FIGURA # 3

### CAPITULO 3

#### B E T A B E L

##### 3.1 GENERALIDADES DEL BETABEL

El betabel es una planta que viene de Europa, al inicio y hasta hace poco tiempo fue empleada como hortaliza. Su centro de diversificación fue la región oriental del Mediterráneo.

Antes de conocerse como hortaliza, el betabel se utilizaba como un agente mejorador del color del vino, ya que se pensaba que mientras más intenso fuera el color de este, sería por consecuencia lógica de una mejor calidad.

En México, se le conoce también como remolacha azucarera.

Su clasificación taxonómica es la siguiente:

FAMILIA: CHENOPODIACEAE

ORDEN: CENTROSPERMA

GENERO: BETA

ESPECIE: VULGARIS

NOMBRE CIENTIFICO: BETA VULGARIS

NOMBRE COMUN: BETABEL

Los betabeles que se van a secar se cosechan con un estado de madurez ligeramente rebasando el óptimo.

##### 3.2 PIGMENTOS DEL BETABEL

El betabel contiene pigmentos rojos y amarillos, que en conjunto son denominados betalainas. Estas están formadas por dos tipos de compuestos: betacianinas y betaxantinas.

Las betacianinas son de color rojo violáceo y su principal componente es la betanina, formando de un 75% a un 95% del total de las betacianinas. Su naturaleza es altamente iónica debido a que contiene tres grupos carboxilo, dos de ellos con un pKa de 3.4 y otro con un pKa de 2.0, además de un grupo fenólico con un pKa de 8.5, características que hacen a la betanina de muy difícil separación de las betaxantinas.

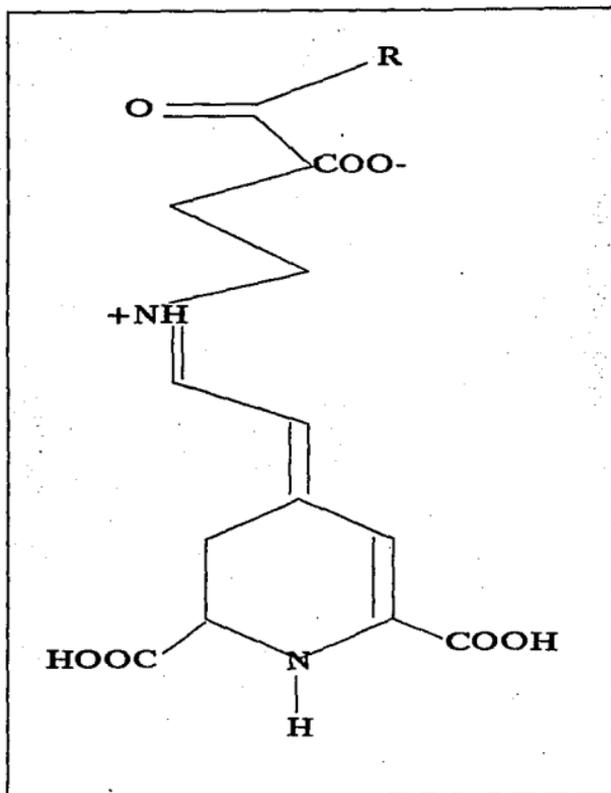
Las betaxantinas están formadas principalmente por los vulgaxantinas I y II, que imparten un color amarillento y son mucho más lábiles que las betacianinas en relación de la primera.

### 3.2.1 BETALAINAS

Se encuentran en un número restringido de plantas y estas proveen de color a algunas flores y frutas, en las tonalidades que van del amarillo a través de varios tonos de naranja y rojo a violeta.

En la figura # 4, se muestra la estructura química de la betalaina.

FIGURA #4



ESTRUCTURA QUIMICA DE LA BETALAINA

**INDUCCION QUIMICA:** Se conoce algunas hormonas y modificadores de crecimiento que valga la redundancia, modifican la producción de betalainas en un organismo. Ejemplo de esto es la kinetina que es capaz de reemplazar el requerimiento de luz para la producción de dicho pigmento. Los estudios sugieren que la kinetina, como la luz, actúa a dos diferentes niveles, principalmente en la activación de genes y por control, en la disponibilidad de compuestos ricos en energía. Se ha reportado que otros agentes químicos que incrementan la producción de betalaina son: tirosina y dopa.

Las betalainas están formadas por:

**-BETACIANINAS:** Por un largo periodo de tiempo se les considero incorrectamente como antiocianinas nitrogenadas. Se ha demostrado que las betacianinas y antiocianinas no coexisten en la misma planta o familia y que tienen estructuras diferentes, las cuales indican diferentes patrones de síntesis. Una forma de diferenciarlas es por medio de soluciones débiles ácidas, ya que las betacianinas emigran hacia el ánodo y las antiocianinas hacia el cátodo. Las betacianinas difieren una de la otra en:

- 1) Su estequiometría del c-15
- 2) La naturaleza de su modelo glucosídico en el c-5
- 3) La esterificación de los grupos de azúcar, carboxilo e hidroxilo.

DISTRIBUCION: es limitada, solo se encuentra presente en 10 familias de betabel y son las siguientes: Chenopodiaceae, Didieraceae, Amaranthaceae, Nyctaginaceae, Stegnospermaceae, Phytolaccaceae, Ficoidaceae, Portulacaceae, Basellaceae y Cactaceae. (3,5,13,16,31,65,66,67,72).

### 3.3 ESTUDIOS QUE SE HAN REALIZADO SOBRE EL BETABEL

En 1960, Lucas y colaboradores realizaron un estudio de betabeles enlatados determinando que el procesamiento a elevadas temperaturas provocaba una disminución considerable en la intensidad del color hasta un color tal que la tonalidad llegaba a un anaranjado claro.

Otro factor de constante estudio por todos los investigadores, en el betabel es la acción del oxígeno sobre la estabilidad del colorante, en este punto se ha determinado, que tan solo una pequeña cantidad de oxígeno; hablamos de un 6%, en el espacio vacío de algunas latas, es suficiente para causar un severo ennegrecimiento cerca de la superficie de las mismas.

Igualmente en presencia de metales como Fe <sup>-2</sup>, Cu <sup>+2</sup> y Fe <sup>+3</sup>, causa una pérdida gradual del color rojo a un tono anaranjado. En cambio en la adición de agentes quelantes como el ácido etilendiaminico tetracético, actúa como una prevención del oscurecimiento.

La estabilidad del betabel depende en gran medida de pH y de la temperatura. El rango de mayor estabilidad se encuentra entre pH's de 4 a 7. A pH's bajos el color se degrada a un amarillo pálido y a pH's altos se va hasta un color violeta muy intenso.

#### 3.4 APLICACIONES DEL BETABEL COMO COLORANTE

En la tabla # 5 se presentan los usos más comunes del betabel como colorante.

Se tienen mejores resultados en alimentos en los cuales durante el proceso no se utilizan elevadas temperaturas, debido a la degradación tan drástica, que sufre el betabel.

Su utilización es cada vez más extensa, se puede utilizar en mezcla con otros colorantes ya sea artificiales o naturales, con el fin de aumentar su estabilidad y obtener una gamma de colores más grande (5,22,27).

## USOS MAS COMUNES DEL BETABEL COMO COLORANTE

MEZCLAS DE ALIMENTOS SECOS	SOPAS SECAS, SOBRE TODO SOPAS DE TOMATE, MEZCLAS DE ESPECIES Y PROTEINAS DE SOYA.
ALIMENTOS ENLATADOS	PRODUCTOS DE TOMATE ENLATADOS COMO KETCHUP, SALSA PARA PIZZAS, FRUTAS Y VEGETALES ENLATADOS TALES COMO CEREZAS Y FRESAS.
ALIMENTOS EN ESCABECHE	RABANOS PICANTES Y OTRAS ESPECIES EN ESCABECHE.
PRODUCTOS DE CARNE	SALCHICHAS, ESPECIES MIXTAS ESPECIALES PARA LA CARNE INDUSTRIAL Y HAMBURGUESAS.
PRODUCTOS DE LECHE	HELADOS, CREMA PARA SANDWICH Y CHOCOLATES CON CREMA Y FRUTAS.
POSTRES Y DULCES	JALEA DE FRUTAS, PASTELES, MERMELADAS Y GELATINAS.

TABLA #5

## CAPITULO IV

### IRRADIACIONES

#### 4.1 HISTORIA

Los rayos X se utilizaron en 1916 para eliminar los huevecillos, larvas y adultos de la plaga Lasioderma serricorne, la cual producía enormes pérdidas en la industria del tabaco. Poco después, en 1947, se incrementó el interés por la utilización de las irradiaciones como un método de conservación de los alimentos, fue entonces que Arno Brasch y Wolfgang Huber ex-ciudadanos alemanes, descubrieron los aceleradores de electrones y el capacitron, además de ser los fundadores de la Electronized Chemicals Corporation en Brooklyn, New York.

Ellos reportaron que los alimentos podrían ser esterilizados por medio de las vibraciones de los electrones de alta energía, pero en productos como la leche producían olores y sabores desagradables debido a la irradiación, por lo que entonces, para disminuir dichos efectos, fue necesario aplicarla en ausencia de oxígeno y a bajas temperaturas, por lo que el costo del producto, se incrementaba enormemente, no costando el proceso.

Los estudios continuaron, modificando los aparatos, utilizando entonces las irradiaciones con partículas alfa y luz ultravioleta, pero pronto pasaron a ser de poca importancia debido a su poca penetración sobre la superficie del producto. Los rayos gamma no eran

aún estudiados, debido a que los isótopos no estaban aún disponibles en gran escala; sin embargo, la USAEC (United States Atomic Energy Commission) realizaba ya estudios de los rayos gamma, a mitad de los años 50's, que fue cuando comenzaron a fabricar reactores con hasta 235,000 curies empleando como fuente Co-60.

En 1943 en Oak Ridge, Tennessee, E.U; a principios de la década de los sesentas cuando se llevan acabo los primeros esfuerzos de investigación sobre la eficacia e inocuidad de los tratamientos con radiaciones ionizantes aplicados a los alimentos.

En 1960 en Canadá, se irradiaban papas, para evitar la germinación, con una fuente de Co-60, se irradiaban con excelentes resultados hasta 15,000 TON por mes. A partir de entonces, poco a poco ha crecido el interés en el uso de las irradiaciones con rayos gamma, provenientes de Co-60.

Los resultados de las investigaciones realizadas durante este periodo, permitieron que en 1976 el Comité Mixto aprobara el tratamiento con radiaciones ionizantes de solo algunos productos alimenticios y después de 1976 el número de productos que podían ser irradiados aumentó en gran medida.

El empleo de este sistema de conservación, quedó confirmado en 1984 con el proyecto de reglamentación, propuesto por la oficina de Administración de Alimentos y Medicamentos de los E.U. (FDA).

A mediados de ese mismo año, en China se estableció un grupo consultivo internacional sobre irradiación de alimentos, integrado por Argentina, Bangladesh, Canadá, Egipto, Filipinas, Francia, Hungría, México, Irak, Israel, Los Países Bajos, República Federal de Alemania, Siria, Tailandia y Turquía. Posteriormente otras naciones se han unido a este grupo de investigadores.

En el cuadro # 2 se presentan los productos y países en los cuales está permitida la irradiación de alimentos hasta 1988. En el cual se ve claramente la amplia difusión que ha tenido la irradiación en los últimos años, así como la variedad de productos que en este momento se irradian en el mundo, sin ningún problema hasta el momento.

La irradiación de alimentos, por sus características de seguridad, higiene, reducción de costos y volumen de alimentos susceptibles de ser tratados tienen un futuro promisorio y será un aporte a la mejora de la calidad y disponibilidad de los alimentos en el mundo (19,31,33,57,58,65).

#### 4.2 DIFERENTES FUENTES DE IRRADIACION

Se les llama radiaciones ionizantes porque todos son capaces de convertir átomos y moléculas en iones, removiendo electrones. Las radiaciones ionizantes pueden ser partículas cargadas energéticamente, tales como los electrones o fotones de elevada



energía, tal como los rayos X o los rayos gamma. No todos los tipos de radiaciones ionizantes pueden utilizarse para alimentos.

La FAO/IAEA/WHO Joint Expert Committee on Irradiated Foods y el Codex General Standart for Irradiated Foods recomiendan irradiaciones para los alimentos como sigue:

1) En el caso de los rayos gamma, que estos provengan de un radioisotopo de Co-60 o Cs-137.

2) Rayos X generados por máquinas cuyas fuentes operen a/o abajo de un nivel de energía de 5MeV.

3) Electrones generados por máquinas cuyas fuentes operen a/o abajo de un nivel de enrgía de 10 MeV.

El ev (electrovolt) es la unidad de energía que se utiliza para medir y describir la energía de los electrones y de otro tipo de irradiación.

La energía de 1 ev es equivalente a la energía cinética adquirida por un electrón cuando comienza a acelerarse a través de una diferencia de potencial de 1 volt. El ev es la unidad más pequeña de energía, por lo que es más común hablar de los KeV (kiloelectrovolt= 1000 eV ) o de los MeV ( megaelectrovolt= 1 millon de eV) y a su vez 1 MeV es igual a  $1.602 \times 10^{-13}$  Joule (J).

Los rayos gamma y los rayos X forman parte de un espectro electromagnético (figura 5). Las cuales van desde una baja energía con una muy alta longitud de onda, hasta una gran energía con una longitud de onda pequeña, como es el caso de las radiaciones cósmicas. Las ondas de radio, infrarrojo y la luz visible no se consideran radiaciones ionizantes.

Cuando la radiación ionizante penetra dentro de un medio, en este caso de un alimento, toda o gran parte de la energía es absorbida por dicho medio. A esto se le llama dosis absorbida. La unidad que se utiliza para medir dicha dosis es el Gray (Gy) que es igual a la absorción de 1J/Kg. Un Kgy (kilogray) es igual 1000 Gy.

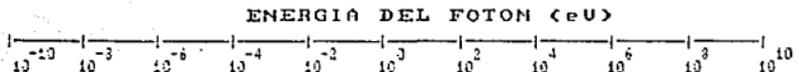
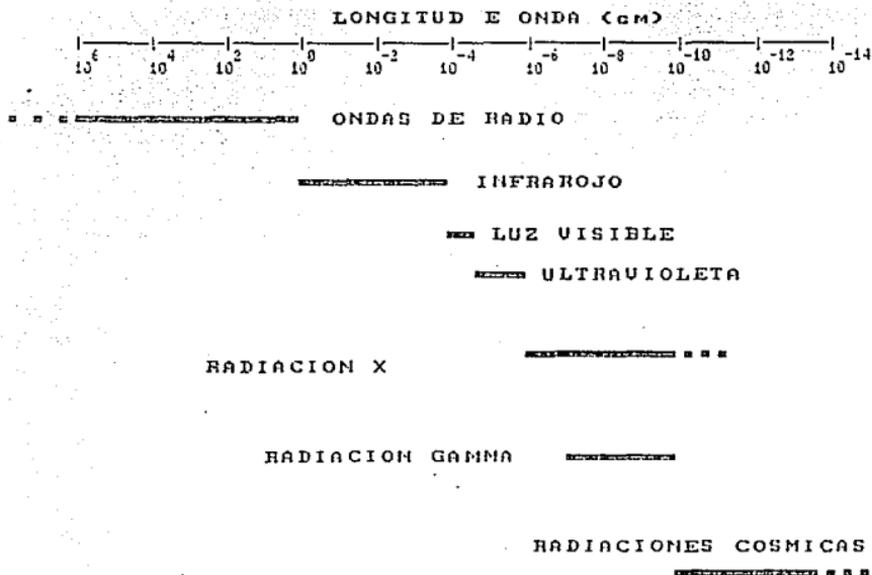
La energía absorbida por unidad de tiempo se le llama velocidad de dosis. Las fuentes de rayos gamma proveen relativamente velocidades de dosis bajas, generalmente de 100 a 10,000 gray's/hrs a diferencia de los aceleradores de electrones que dan una velocidad de dosis muy elevada de  $10 \text{ e } 4$  hasta  $10 \text{ e } 9$  gray's/segundo.

#### 4.3 FUENTES DE RADIACIONES GAMMA

Antes de pasar a las fuentes de radiaciones gamma, debemos entender lo que es una desintegración de radioisótopos.

La desintegración de los radioisótopos está relacionada con la liberación de una o más formas de radiación, dichas formas son las siguientes:

ESPECTRO ELECTROMAGNETICO DE LOS  
 RAYOS GAMMA Y LOS RAYOS X  
 FIGURA # 5



a) Partículas alfa, que son núcleos de helio moviéndose rápidamente y consisten de 2 protones y 2 neutrones.

b) Partículas beta positivas y negativas que son positrones o electrones a gran velocidad.

c) Fotones de rayos gamma, que son paquetes de ondas electromagnéticas moviéndose a la velocidad de la luz.

d) Neutrones que son partículas que no tienen carga y con una masa cercana a la de los protones.

A la velocidad de decaimiento radioactivo se le conoce como vida media y se define como el tiempo requerido para la desintegración de la mitad de átomos para dar sustancias radioactivas 20-40.

Para obtener los rayos gamma, inicialmente se utilizaba el Cs-137, pero su uso fue prohibido por el presidente Carter en 1977.

Debido a lo anterior se buscaron otras fuentes de rayos gamma, dando origen a la utilización del Co-60.

EL Co-60 es insoluble en agua, tiene una vida media de 5.27 años y da una emisión de radiación gamma con una energía de 1.17 y 1.33 MeV, con una radiación beta de 0.31 MeV. El Co-60 llega a una

forma estable por medio de su desintegración, llegando a Níquel 28-60.

El Cs-137 y el Co-60 se transportan en cápsulas o cilindros de acero para evitar las emisiones radioactivas al medio ambiente, antes de llegar a su destino (31,33,52,53,58).

#### 4.4 INTERACCION DE LA IRRADIACION CON LA MATERIA

La interacción de la radiación con la materia se basa en 2 procesos fundamentales, los cuales son:

- a) Proceso primario o de efecto directo
- b) Proceso secundario o de efecto indirecto

El proceso primario implica el impacto directo de las radiaciones sobre las moléculas, formándose, como resultado, fragmentos moleculares, iones y moléculas excitadas. El proceso secundario involucra, la formación de compuestos diferentes a los originales.

La elevación de la temperatura, que se da en cualquier forma de irradiación, depende de la dosis de la irradiación y del calor específico del material que se sometera a la irradiación.

Por ejemplo una dosis de 10 Kgrys causa una elevación de la temperatura como sigue:

- 2.3 K en agua ( $C_p = 1.0031 \text{ cal/g C}$ )
- 6.2 K en proteína seca ( $C_p = 0.3821 \text{ cal/g C}$ )
- 7.1 K en Carbohidratos secos ( $C_p = 0.3343 \text{ cal/g C}$ )
- 12.5 K en vidrio ( $C_p = 0.1910 \text{ cal/g C}$ )

Por lo que entonces a una dosis baja, se tiene una baja elevación de la temperatura ( 3 Kgy).

Esta pequeña elevación de la temperatura, es el resultado de un complejo proceso de la interacción de la radiación con la materia.

Cuando los rayos gamma, interactúan con el absorbedor, pueden ocurrir tres tipos de interacción:

- El efecto foto-eléctrico
- El efecto Compton
- Formación de pares de electrones y positrones.

La absorción fotoeléctrica ocurre con fotones de energía abajo de 0.1 MeV y la producción de pares con la energía de los fotones arriba de 1.0 MeV. Ambos son de mínima importancia en el caso de la irradiación de alimentos, donde predomina el efecto Compton.

Dicho efecto se esquematiza en la figura # 6, donde un fotón incidente, interactúa con un átomo absorbedor, de tal modo que un electrón del orbital sea expulsado. El incidente continúa después de la colisión en dirección cambiante y con menos energía que la

# EFFECTO COMPTON

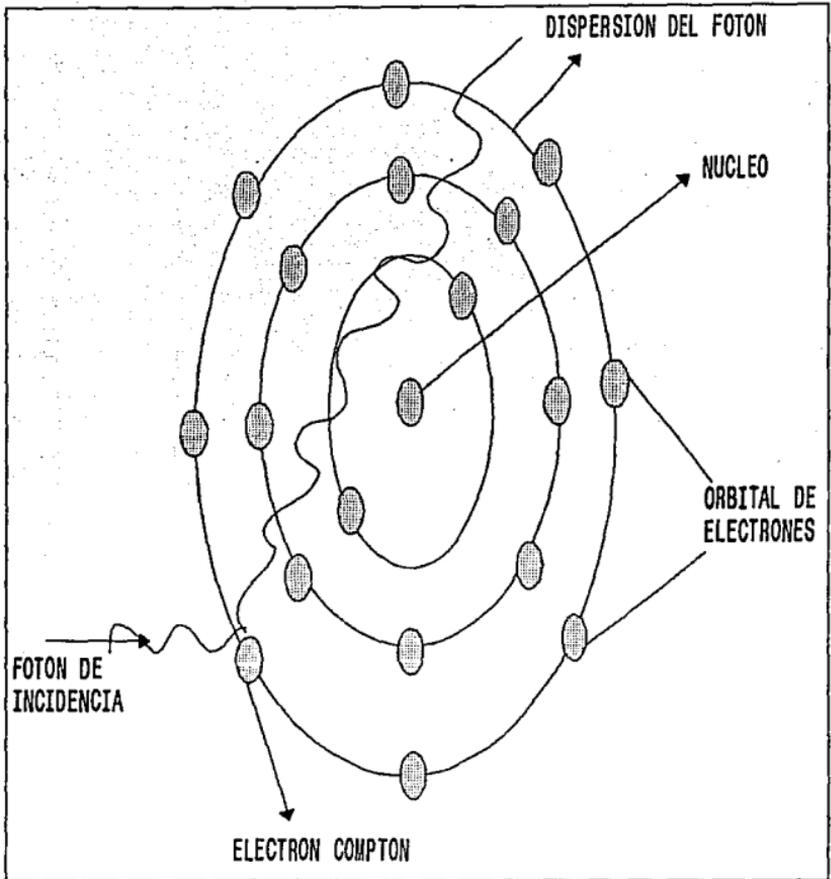


FIGURA # 6

original. El electrón expulsado (electrón Compton) tiene suficiente energía cinética para causar excitaciones y ionizaciones en los átomos absorbedores.

Debido a que los electrones Compton son producidos cuando los fotones de los rayos gamma interactúan con el medio, causan ionizaciones y excitaciones del mismo modo que un acelerador de electrones, la radiación ionizante que induce cambios químicos en el medio irradiado, es la misma en los rayos X o gamma o aceleradores de electrones (31,33).

#### 4.5 DISTRIBUCION DE LA DOSIS

Ya que la mayoría de los alimentos, tienen una gran cantidad de agua, es necesario mostrar la forma de penetración de las irradiaciones en la misma (figura 7).

Cuando un rayo de electrones penetra en un medio acuoso, la dosis debajo de la superficie del producto es más elevada que en la superficie misma, esto es debido a la formación de electrones secundarios (baja energía) más eficientemente absorbida que la energía de los electrones primarios. También, la distribución de los electrones causa escapes de electrones secundarios desde la superficie en dirección opuesta al rayo de electrones primarios. Mientras más y más electrones primarios pierdan su energía debido a la interacción con las moléculas de la materia, la dosis absorbida decrece conforme se incrementa la profundidad o el espesor del

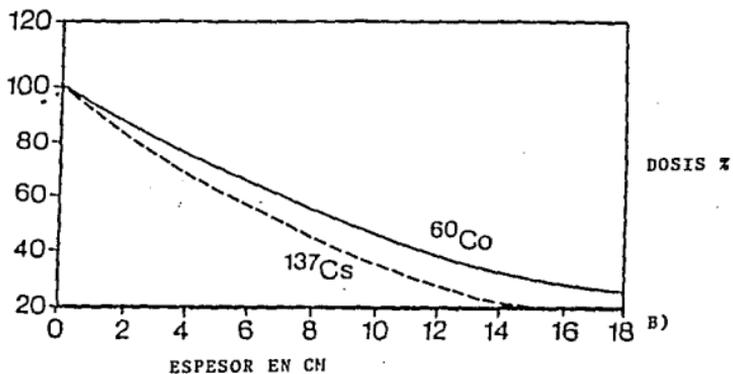
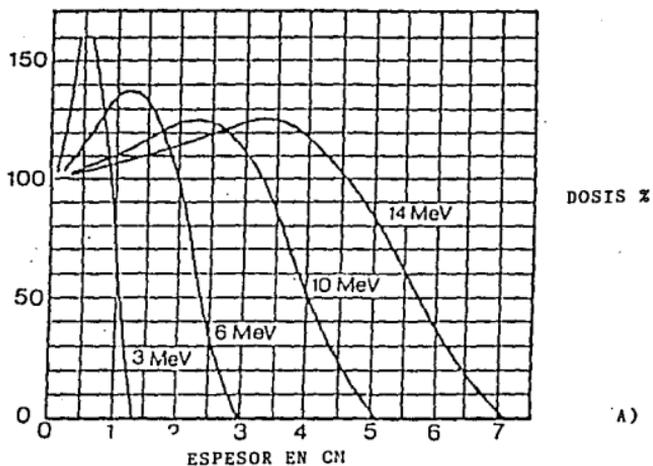


FIGURA # 7

distribucion de la dosis en el agua como  
funcion del espesor

A) CON ELECTRONES A DIFERENTE ENERGIA

B) RADIACIONES GAMMA DE Co-60

producto que va a ser irradiado, debido a esto, se debe irradiar por todos los lados del producto, para que sea uniforme la dosis que se le aplique al mismo. En contraste con lo anterior, la dosis dada por los rayos gamma, decae de forma continua.

Por lo anterior, la irradiación por ambas partes de un producto, con rayos gamma, permite una distribución de dosis más uniforme como se muestra en la figura 8. Si la densidad del medio irradiado es menor que la densidad del agua, como es el caso de alimentos muy grasosos o alimentos deshidratados, porosos, la profundidad de penetración es muy grande. Como se muestra en las figuras 7 y 8, la distribución de la dosis no es uniforme, aunque la densidad del producto si lo sea (31,52,58).

#### 4.6 PRINCIPALES EFECTOS QUIMICOS DE LAS RADIACIONES IONIZANTES

Existen dos tipos de efectos principales denominados primarios y secundarios:

Los efectos primarios no son específicos, la estructura es formada al azar y son por medio de una vía accidental, por los electrones Compton, sin tener ninguna preferencia por ninguna molécula o átomo. Los electrones que se eliminan de los átomos o moléculas en el proceso primario, tienen la energía suficiente para causar más ionizaciones, disociaciones o excitaciones. Si el material irradiado es un sólido, la reacción causada por los electrones

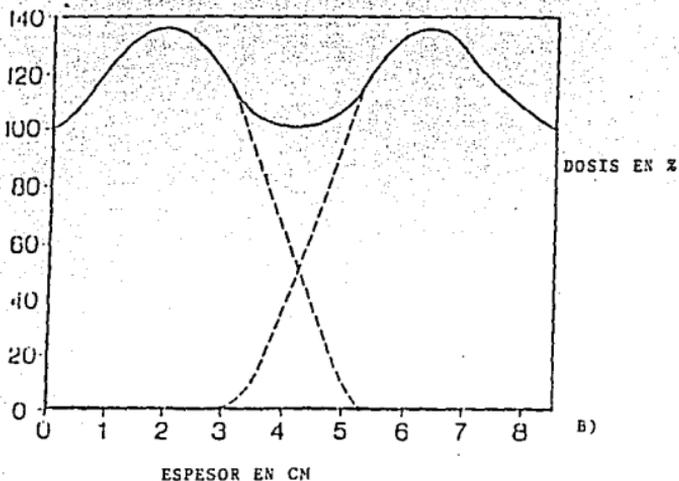
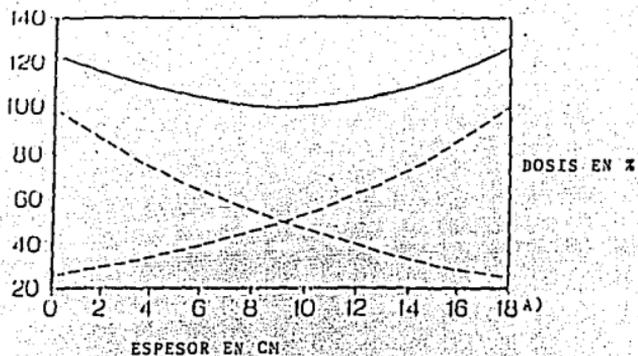


FIGURA # 8

PROFUNDIDAD DE LA DISTRIBUCION DE LA DOSIS EN:

A) CON Co-60 RAYOS GAMMA

B) CON ELECTRONES DE ENERGIA DE 10 MeV

segundos, terceros, etc. , ocurre muchas veces cerca de la ionización.

Las moléculas excitadas pueden sufrir una desexcitación, por un instante, dando como resultado una energía en forma de luz (fluorescencia) o posiblemente reciban energía adicional debido a las interacciones resultando una disociación o una ionización.

Los efectos secundarios, ocurren como resultado de la elevada reactividad de los radicales libres producidos durante el efecto primario, estos radicales sufren reacciones entre si.

Donde los efectos primarios, son impredecibles y los secundarios dependen básicamente de la estructura química de los compuestos y de la cantidad de impurezas y aditivos que dicho compuesto contenga. La sustancia que reacciona rápidamente con los radicales libres, se le conoce como sustancia depuradora y a la que produce más radicales reactivos se le llama sustancia sensibilizadora.

En moléculas muy grandes, la energía dada por la irradiación (absorbida) es distribuida de forma desigual en toda la molécula, lo que da como consecuencia, una gran variación en la densidad del electrón donde los enlaces son muy débiles, cosa que también ocurre cuando las moléculas absorben energía térmica, y que es común en la irradiación, por lo tanto, no es de sorpresa que existan rompimientos en los enlaces en el mismo lugar de la molécula, por ende, los

productos resultantes del rompimiento debido a la irradiación, calor o cualquier otra forma de energía, dan como resultado compuestos iguales o muy similares.

El proceso que deja o conduce a todos los productos finales hacia su estabilidad, como resultado de la irradiación de algún medio, se le conoce como radiólisis, y a los productos resultantes de los efectos primarios y secundarios se les conoce como productos radiolíticos. Dichos procesos ocurren solo en fracciones de microsegundo.

En el caso de materiales sólidos secos y congelados, la reactividad de los radicales libres, es muy baja a diferencia de los otros, no existe agua entonces, la difusión entre ellos es muy restringida, y los radicales libres casi no se mueven. Tal restricción disminuye cuando el producto toma agua del medio ambiente.

Estos radicales libres van a estar no solo en el alimento, sino ocurre también dentro de los microorganismos y las células vegetales.

#### 4.7 EFECTO DE LAS RADIACIONES IONIZANTES SOBRE ALGUNOS COMPONENTES IMPORTANTES EN LOS ALIMENTOS.

##### A) CARBOHIDRATOS

Se encuentran en la mayoría de los alimentos, tanto en condiciones húmedas o secas, son altamente sensibles a las irradiaciones dando como resultado una serie de productos incluyendo hidrógeno, bióxido de carbono, aldehídos, cetonas, ácidos y otro tipo de carbohidratos de cadena corta.

Cuando están en una solución acuosa, ocurre una degradación oxidativa, tanto por efectos directos como indirectos, generalmente son atacados por radicales -OH. Los efectos indirectos son los que juegan el papel más importante en dichas reacciones. En el caso de los sacáridos más bajos, la oxidación produce al final ácidos. Los aldehídos son producidos por rupturas o separaciones en los anillos.

#### B) PROTEINAS Y AMINOACIDOS

Ya que las proteínas están compuestas por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, el estudio de las reacciones de los aminoácidos es vital para entender las complejas reacciones causadas por la radiación de las proteínas.

Los principales cambios radiolíticos en una solución acuosa de un aminoácido simple alifático, son tanto: de aminación como descarboxilación. Los radicales producidos reaccionan por vía dismutación.

El hecho de que exista mayor cantidad de amoniaco y ácido piruvico indica que la deaminación juega el papel más importante que

la descarboxilación. La presencia de oxígeno durante la irradiación no altera el espectro de los productos radiolíticos, pero si tiene influencia en el rendimiento de los productos. Ocurre entonces una deaminación oxidativa en lugar de una aminación reductiva.

La cistina, cisteína y metionina actúan como protectores porque ellos reaccionan más rápidamente con los radicales libres a diferencia del resto de los aminoácidos. Los productos finales, más estables producidos por la hidrólisis de la cisteína son principalmente el hidrógeno, sulfito de hidrógeno, alanina y cistina. Cuando la cistina es irradiada sufre una hidrólisis o desdoblamiento de los puentes disulfuro y esta es la reacción más importante. La histidina es el aminoácido más sensible a las radiaciones, la deaminación es la reacción predominante en este caso.

Los aminoácidos muy sensibles a la irradiación, son más estables cuando se encuentran formando una cadena proteica y menos accesibles a las reacciones con los radicales libres. Existe otro factor que contribuye a la elevada resistencia de las proteínas a la irradiación comparada con la forma aislada de los aminoácidos: Debido a la estructura rígida de las moléculas proteicas, los radicales formados como resultado de la irradiación son mantenidos en una posición tal que tienen una gran oportunidad de recombinación.

Los iones metálicos de hierro, cobre y zinc, particularmente cuando limitan el anillo porfirínico de las proteínas, modifican principalmente las reacciones de los radicales secundarios formados

sobre la proteína, introduciendo nuevas vías para reaccionar, que involucran la transferencia de electrones intramoléculares.

Las proteínas globulares, irradiadas en soluciones diluidas, sufren reacciones de agregación, lo que da como resultado un incremento en la viscosidad.

Una gran energía de irradiación depositada en una proteína irradiada provoca aparentemente una desnaturalización de la misma, cambios en la estructura secundaria y terciaria, pero naturalmente dicha desnaturalización es mucho menor que la provocada por calor.

El daño provocado por la irradiación, se puede determinar por medio de un análisis cromatográfico de los aminoácidos provenientes de las proteínas hidrolizadas. En experimentos realizados no se ha encontrado ningún cambio significativo en la composición de los aminoácidos que las conforman hasta dosis de 50KGry.

### C) LIPIDOS

En dosis abajo de 50KGry, los cambios en índices comunes de la cantidad de la grasa son pequeños. Pero ocurren cambios indeseables en el sabor, incluso en dosis abajo de 20KGry, y en dosis arriba de 1 MGry se producen cambios significativos tanto en las características físicas como en las químicas.



Los radicales libres formados por división de esta forma, se les agrega un hidrógeno obtenido por extracción de otras moléculas, o ellos mismos pierden un hidrógeno o se combinan con otros radicales libres. Por esta vía se forman un gran número de sustancias radiolíticas estables.

Los efectos de la irradiación en los lípidos en conclusión, son muy similares a los producidos por el calor. Los compuestos responsables del sabor a irradiación en las grasas aún no se han identificado.

#### D) VITAMINAS

Como es de esperarse el efecto de las radiaciones sobre las vitaminas será elevado, dependiendo del medio en donde se encuentren. En un sistema simple como una solución de agua, especialmente en dilución, las radiaciones muestran un gran efecto y mientras más complejo sea el medio se reduce en gran medida la sensibilidad de las vitaminas como es el caso de los alimentos.

Las vitaminas se clasifican en solubles en agua o grasa, lo que depende de sus estructuras químicas y al mismo tiempo también de esto depende la respuesta hacia la irradiación. Dentro de las vitaminas solubles en agua, la tiamina B, es la más sensible, debido a que su estructura química la hace más susceptible al ataque de electrones.

La vitamina C (ácido ascórbico) , es también sensible a la irradiación y forma produciendo al ser irradiada el ácido dehidroascórbico además de otros productos. El efecto de la radiación depende de la concentración de esta vitamina en el agua. Otras vitaminas solubles en agua son sensibles a la radiación, como la riboflavina, vitamina B-12 y la biotina. La niacina, ácido pantotéico y el ácido fólico son las vitaminas más resistentes.

En cuanto a las vitaminas solubles en grasa, la vitamina E es la más sensible a la irradiación. La vitamina A, carotenoides y la vitamina D, sufren igualmente un cambio radiolítico. La vitamina D es muy resistente en dosis abajo de 50RGry.

Las dosis que generalmente se utilizan en la irradiación de los alimentos no afecta, entonces la estabilidad de las vitaminas, hablamos de 10RGry, que es la dosis más empleada para alimentos.

#### E) ENZIMAS

Las enzimas son importantes constituyentes de los tejidos vivos y como algunos alimentos son organismos vivos como las frutas y las verduras frescas, es de vital importancia el efecto que producen las irradiaciones sobre las mismas, ya que todas las enzimas son proteínas, sería de esperarse que tuvieran reacciones iguales a las descritas por las proteínas, sin embargo las enzimas exhiben ciertas características funcionales específicas.

La actividad de la enzima es usualmente un índice sensible y conveniente de detección de la acción de la irradiación en estas proteínas.

Como es de esperarse, cuando un alimento contiene enzimas y este es irradiado, las enzimas participan en los cambios que tendría el alimento debido a la irradiación. Las enzimas son mucho más sensibles a las irradiaciones cuando están en una solución acuosa diluida, en el momento que se incrementa la concentración de las enzimas, se requiere más radiación para causar la misma inactivación. El pH del medio así como la cantidad de oxígeno presentes, son factores que afectan la inactivación y por lo tanto la desnaturalización de las enzimas.

En el caso de las enzimas secas, estas, debido a la ausencia de agua, son mucho más resistentes a las irradiaciones que las enzimas en dilución. En un sistema complejo, como es el caso de todos los alimentos, las enzimas están muy bien protegidas por los otros componentes, por lo que entonces, se necesita una fuerte dosis de irradiación para que estas se inactiven y por lo tanto se vean afectadas.

En términos generales, los diferentes compuestos que conforman un alimento, pueden sufrir alteración por irradiación, si y solo si, se encontraran de manera aislada, y en solución acuosa, por ende un alimento como tal es difícil afectarlo por medio de irradiaciones, en cuanto a estructura se refiere.

#### 4.8 EFECTOS SOBRE MICROORGANISMOS

##### 4.8.1 CONSIDERACIONES IMPORTANTES

Una de las aplicaciones importantes en la irradiación de los alimentos, es destruir microorganismos, así como esporas que causen daño a la salud del consumidor.

Existen diferentes teorías del como las irradiaciones afectan a los microorganismos y a las esporas, entre ellos se piensa que la formación de tóxicos radiológicos en las células de los microorganismos, así como severos daños en la membrana los alteran. Hoy en día se sabe que el DNA ( ácido desoxiribonucleico ) es el principal blanco de las irradiaciones. Estas moléculas quizás son ionizadas o excitadas, y dichos cambios causan serios problemas en el microorganismos hasta llegar a su muerte, a estos primeros cambios en las estructura de las células se les denomina efectos directos de la irradiación. Alternativamente, la irradiación interactua con otros átomos o moléculas en la célula particularmente con agua, por lo que se produce radicales libres, los cuales se difunden por toda la célula y dañan el DNA, a estos efectos se les denomina efectos indirectos, y son sumamente importantes en el caso de las células vegetativas, que contienen un mínimo de 80% de agua.

Considerando que la sensibilidad de las macromoléculas es proporcional a su peso molecular, Pollard estimo que una dosis de 0.1 KGry causa un daño al DNA del 2.8% en las células de las bacterias,

0.14% en las enzimas y 0.005% a los aminoácidos de las células. Este daño al DNA del 2.8% puede ser letal y fácil de reconocer por la disminución en el número de colonias a diferencia del daño producido en los aminoácidos 0.005% el cual es muy difícil de detectar aún con aparatos electrónicos.

Debido a que el daño en una molécula cualquiera dentro de los microorganismos, causado por la irradiación es proporcional al peso molecular, se explica entonces, que los insectos sean aún más sensibles a la irradiación a diferencia de las bacterias, ya que en estos, el tamaño, y por lo consiguiente el peso molecular del DNA, son menores, por lo que el daño es mucho mayor, en los insectos.

Otro factor que tiene efecto sobre la influencia de la irradiación es el arreglo estructural del DNA en la célula, como se sabe, dicho arreglo es de doble hélice. Cuando se lleva acabo una división celular, dicha hélice se abre para ser copiada, cuando se encuentra separada el DNA es mucho más sensible a la irradiación a diferencia de la forma de doble hélice, por lo anterior en la fase de crecimiento la resistencia a la irradiación es mayor, siendo menor en la fase logarítmica de crecimiento.

#### 4.8.2 DOSIS DE INACTIVACION

Cuando se incrementa la dosis de irradiación, el número de organismos vivos decrece de forma exponencial, la cantidad de dosis varia de una especie a otra, para obtener el mismo efecto. La media

La dosis letal es la dosis requerida para matar 90% de la población por lo tanto es la dosis de reducción decimal y se determina mediante la siguiente fórmula:

$$D_{10} = D / \log N_0 - \log N$$

donde:

$N_0$  = número inicial de organismos presentes

D = Dosis

N = el número de organismos después de la irradiación

$D_{10}$  = dosis de reducción decimal

$D_{10}$  se puede determinar también de forma gráfica, donde la pendiente será igual a  $-1/D_{10}$ , graficando la dosis (x) KGry contra el porcentaje de sobrevivientes (y).

La especificación del medio que se está irradiando es importante ya que los valores de  $D_{10}$  difieren de forma considerable.

En un medio bajo en grasa, los microorganismos son más resistentes a las radiaciones porque existe una mayor cantidad de proteína, la cual sirve como protección para los microorganismos.

La efectividad de la dosis, sobre la muerte de los microorganismos depende de diferentes factores como el medio, la temperatura durante la irradiación, contaminación inicial y el almacenamiento del producto después de ser irradiado, al igual que la

presencia o ausencia de oxígeno en donde la sensibilidad a la irradiación de las bacterias se incrementa con la presencia de oxígeno aunque no siempre es claramente observable, solo es notable cuando se burbujea de forma continua el oxígeno durante la irradiación, lo cual no se hace en la irradiación de los alimentos.

#### 4.9 SEGURIDAD TOXICOLOGICA

Por naturaleza, los alimentos tienen isótopos como es el plomo  $^{210}\text{Pb}$ , carbono  $^{14}\text{C}$  potasio  $^{40}\text{K}$ , entre otros. Estos isótopos podrían convertirse en isótopos altamente radioactivos, si se les administrara una irradiación gamma muy elevada. La fuente más comúnmente usada es la del  $^{60}\text{Co}$ , dicha fuente tienen una energía de 1.33 MeV, energía que es sumamente pequeña para poder inducir radioactividad en los alimentos, solo una pequeña porción de isótopos radioactivos se encontrarían en un alimento si este fuera irradiado con 14 MeV de energía y por otro lado los radioisótopos que producen hasta 20 MeV, tienen vidas medias de solo unas cuantas horas por lo que entonces sería imposible que un alimento quedara radioactivo después de una irradiación en las dosis más comunes en los alimentos (10KGry).

Los estudios toxicológicos realizados hasta 1990 por la Agencia Internacional de Energía Atómica sobre alimentos irradiados utilizando animales de laboratorio y en algunos casos humanos, dándoles en su dieta diaria alimentos irradiados a las dosis comunes y hasta arriba de 50 KGry, no mostraron alteración de anomalías

histológicas, ni problemas de cáncer por lo que no se considera a los alimentos irradiados como un peligro toxicológico a las dosis estudiadas, que son las más utilizadas (10 KGry ) en la irradiación de los alimentos.

En la tabla 6 se muestran , los países, productos, y dosis permitidas hasta 1991 por la JOIN FAO/IAEA DIVISION OF NUCLEAR TECHNIQUE IN FOOD AND AGRICULTURE INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, VIENNA.

#### 4.10 REGLAMENTACION MEXICANA SOBRE ALIMENTOS IRRADIADOS

A la Secretaria de salud le compete el control sanitario de la irradiación en alimentos, con base en la ley general de salud y sus reglamentos por lo que permitirá la irradiación de alimentos: cuando se justifique plenamente la exposición de radiaciones ionizantes específicas, con el fin de reducir la carga microbiana o la de microorganismos patógenos no esporulados, inhibir la brotación, retardar la maduración, ampliar la durabilidad de los alimentos o la desinfección de insectos y parásitos; pero en ningún caso se permitirá para ocultar defectos de calidad sanitaria o para disimular alteraciones o contaminaciones en los alimentos.

Los tipos de radiación ionizante que se permiten son los siguientes:

-Radiación gamma de fuentes encapsuladas de los radionucleidos Cobalto 60 y Cesio 137.

LISTA DE LOS PAISES QUE IRRADIAN ALIMENTOS  
HASTA 1951

PAIS	PRODUCTOS	PROPOSITO	DOSIS	
ARGENTINA	PAPAS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA	2.5	
	PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.03-0.15	
	CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.02-0.15	
	GRANOS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.02-0.15	
	ESPECIES	DESCONTAMINACION	10	
ALEMANIA	ESPECIES Y HIERBAS	DESCONTAMINACION	15	
BANGLADESH	POLLO	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA Y DESCONTAMINACION	7	
	PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	TRIGOS GRANDES Y PRODUCTOS DERIVADOS DE ESTOS	INHIBICION DE LA GERMINACION Y DESINFESTACION DE INSECTOS	1	
	PESCADO	EXTENSION VIDA MEDIA DESCONTAMINACION	2.2	
	CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	GRANOS	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
	FRUTA Y PANA	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA Y DESCONTAMINACION	1	
	COMARCAS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA, DESINFESTACION DE IN-	1	
	MANGOS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA, DESINFESTACION DE IN-	1	
	ESPECIES	DESCONTAMINACION, DESINFESTACION DE INSECTOS	10	
BELGICA	PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	CEBOLLAS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA	0.15	
	CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	FRUTA	INHIBICION DE LA GERMINACION	10	
	PIENTA ELANCA Y HERBAS	DESCONTAMINACION	10	
	PAPAYA	DESCONTAMINACION	10	
	FRUTA ARABICA	DESCONTAMINACION	10	
	ESPECIES (35 DIFERENTES)	DESCONTAMINACION	10	
	CARAMELOS	DESCONTAMINACION	5	
	TEC. NEREALES	DESCONTAMINACION	10	
BRAZIL	GRANOS	DESCINFESTACION DE INSECTOS	1	
	PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	1	
	CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	1	
	FRUTALES	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
	TRIGO	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	0.5	
	TRIGO	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
	MARINA DE TRIGO	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
	ESPECIES	DESCONTAMINACION Y DESINFESTACION DE INSECTOS	10	
	PAPAYAS	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
	CEBOLLAS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA	1	
	PESCADO Y PRODUCTOS DERIVADOS	DESCONTAMINACION Y DESINFESTACION DE INSECTOS	2.2	
	POLLO	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA Y DESCONTAMINACION	7	
	BULGARIA	PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.3
CEBOLLAS		INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
GRANOS		INHIBICION DE LA GERMINACION	0.3	
CONCENTRADOS DE CEREAL		DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
FRUTA FRESCA		EXTENSION DE LA VIDA MEDIA	2.5	
CANADA		PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.1
		CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15
	TRIGO, MARINA DE TRIGO	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	0.25	
	ESPECIES	DESCONTAMINACION	10	
	CEBOLLA EN POLVO	DESCONTAMINACION	10	
CHILE	PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	PAPAYA	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
	GRANO Y MARINA	DESCONTAMINACION DE INSECTOS	1	
	CEBOLLAS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA	1	
	POLLO	DESCONTAMINACION	1	
	CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	GRANOS	INHIBICION DE LA GERMINACION	1	
	PESCADO Y PRODUCTOS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA, DESCONTAMINACION Y DESINFESTACION DE INSECTOS	2.2	
	GRANOS DE CACAO	DESCONTAMINACION Y DESINFESTACION DE INSECTOS	1	
	BATILES	DESCONTAMINACION Y DESINFESTACION DE INSECTOS	1	
MANGOS	EXTENSION DE VIDA MEDIA, DESINFESTACION DE INSECTO	1		
ESPECIES Y COND.	DESCONTAMINACION Y DESINFESTACION DE INSECTOS	10		
CHINA	PAPAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.20	
	CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	CEBOLLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.15	
	CACAHUATES	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.10	
	GRANOS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.45	
	MANGOS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.45	
	FRUTILLAS	INHIBICION DE LA GERMINACION	0.45	
	MANZANAS	EXTENSION DE LA VIDA MEDIA	0.4	







-Rayos X generados por máquinas, con energías que no exceda de 5 MeV.

-Electrones generados por máquinas con energías que no excedan de 10 MeV.

Por lo que se refiere a los establecimientos de irradiaciones iónicas a los alimentos, para que puedan trabajar, ya sea del sector público, social o privado de nivel industrial, deberán contar con licencia sanitaria de funcionamiento y con la autorización correspondiente de la Comisión Nacional de Energía Nuclear y salvaguardias para su control.

Dichos establecimientos además deberán ser inscritos en el registro Nacional y en el Internacional, tramitando ante la comisión conjunta FAO/IOEA. Por lo que se refiere a las instalaciones de irradiación, deberán estar diseñadas de manera que satisfagan todos los requisitos de seguridad radiológica y de eficiencia; pueden ser de dos tipos, una de irradiación continua y otra por lotes.

El control de los alimentos irradiados, deberá efectuarse por métodos aceptados para comprobar las dosis absorbidas y acompañado de una vigilancia de los parámetros físicos del proceso autorizado.

Deberán conservarse los registros de la intensidad de las radiaciones aplicadas a los productos por más de un año y estos

deberán ser mostrados a los inspectores debidamente autorizados por la Secretaría de Salud y por la comisión, así también, para la toma de muestras para su control respectivo.

El titular de la autorización para irradiar alimentos será el responsable directo de la operación, funcionamiento, seguridad radiológica ante la Secretaría de Salud y la Comisión Nacional de Energía Nuclear y Salvaguardias.

El establecimiento donde se procesan alimentos irradiados deberá contar con un responsable, con grado profesional y especialidad de física nuclear, con las siguientes responsabilidades:

a) Que cada lote de producto se irradie conforme a los límites establecidos.

b) Que cada lote se someta a comprobación de la dosimetría.

d) Que cada lote sea remitido con la documentación que ampare el lote.

El responsable del establecimiento de irradiación, deberá manifestar por escrito y archivar el procedimiento de irradiación en un libro de control. Los resultados de las mediciones, los cálculos de dosis, procedimientos de dosimetría cuantitativa para cada tipo de producto y expedir la constancia de la dosis suministrada para cada

lote de producto, señalando la fecha de irradiación y el número del código de identificación del lote.

A fin de proteger la salud del consumidor cada lote de producto deberá ser evaluado en su aspecto de dosis de irradiación, nutricional y microbiológico.

Los productos que ingresen al establecimiento, deberán colocarse apartados y debidamente etiquetados, de los productos irradiados que salgan a fin de evitar una confusión peligrosa, deberá colocarse en cada envase de producto irradiado una etiqueta de color que lo señale.

En cuanto al material primario de los envases de alimentos irradiados, deberá ser de material resistente, a la irradiación y no produzcan sustancias que vayan a alterar, adulterar o contaminar los alimentos y resulten perjudiciales a la salud; por lo que los fabricantes de dichos productos deberán demostrar ante la Secretaría de Salud y la comisión, la inocuidad de los envases para cada tipo de producto.

Respecto a la venta o suministro de productos irradiados, se requiere que la etiqueta tenga dimensiones apropiadas, con relación a las del producto unitario, con caracteres visibles, en la que figuren todos los textos reglamentarios, con un texto visible que los identifique que diga "Tratados por irradiación" y presentar la figura que internacionalmente los identifique, asimismo en su documentación.

En el caso de contenedores con producto a granel, por ejemplo: papas, el citado texto deberá figurar también en los documentos correspondientes. En ambos casos, se precisará el establecimiento y la identificación del lote.

Los productos irradiados para exportación deberán cumplir con las disposiciones por las reglas establecidas por la Comisión del Codex Alimentarius en lo relativo a lo etiquetado, comercio internacional, documentación embarque, factura de cada lote y deberá acompañarse de un certificado expedido por la Secretaría en el que se constarán todos los datos relativos a su identificación.

Los productos irradiados de importación para su venta en el país, requieren de la autorización expresa de la Secretaría, para lo cual es necesario que el interesado presente un certificado expedido por la autoridad sanitaria del país de origen, en el que consten el registro internacional, el tipo de fuente de irradiación utilizada, las dosis y demás datos relativos al proceso (11,14,18,22,30,32).

## CAPITULO V METODOLOGIA

### 5.1 JUSTIFICACION

Debido a las condiciones de elaboración de los colorantes naturales, las posibilidades de contaminación microbiana son elevadas, no propiamente por el proceso, sino por el manejo del producto. Esta situación aunada a la baja estabilidad de estos productos frente a colorantes artificiales y a la diferencia en costos, continua poniendo en desventaja a los naturales frente a los colorantes sintéticos.

La posibilidad de exportación de los colorantes naturales como materia prima no debe perderse de vista por lo cual, la calidad bacteriológico del producto es de vital importancia. Es necesario asegurar que los productos que pueden ser exportados, estén exentos de contaminación microbiana. El uso de radiaciones como un medio de esterilización puede ser un método opcional para la conservación de ellos.

Por otra parte es importante tomar en cuenta la limitación cada día mayor en cuanto al uso de los colorantes sintéticos por evidencia toxicológica adversa, por lo que se ha observado en los últimos tiempos una tendencia al aumento del uso de los colorantes naturales, lo que a su vez provoca la necesidad de desarrollar la industria de dichos colorantes, siendo necesario contar con estudios de los

colorantes naturales que proporcionen información acerca de estos y su potencial de aplicación en alimentos.

En base a lo anterior se plantearon como objetivos del presente trabajo los siguiente:

## 5.2 OBJETIVOS

1.- OBJETIVO GENERAL. Evaluar el efecto de diferentes niveles de radiación ionizante sobre la estabilidad y carga microbiana del pigmento cochinilla y polvo integro de betabel.

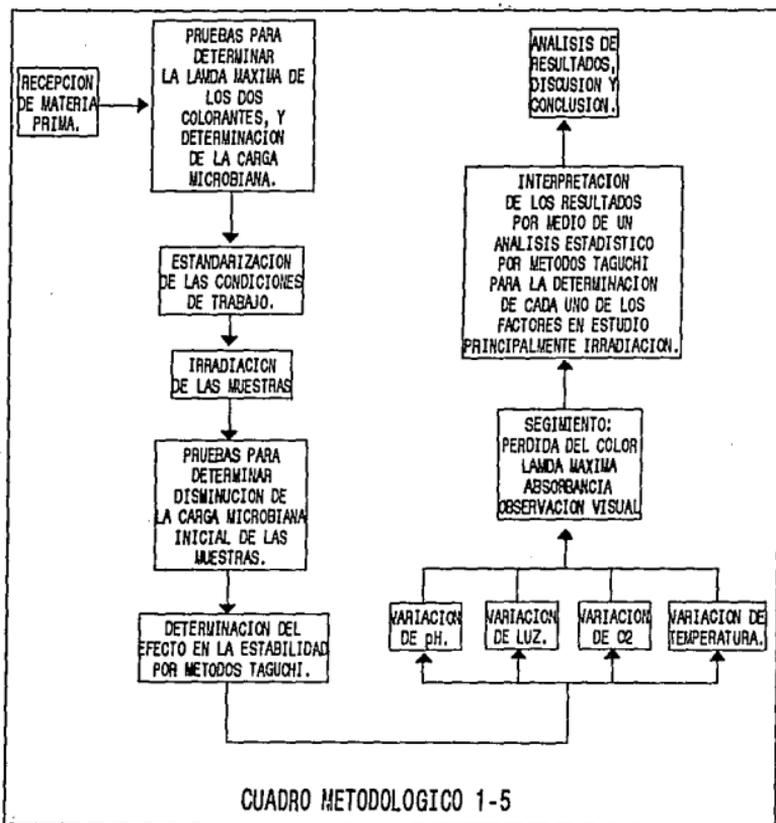
### 2.- OBJETIVOS PARTICULARES

a) Evaluar el efecto de diferentes niveles de radiación ionizante sobre la estabilidad de algunos pigmentos naturales ante variables como pH, temperatura, oxígeno y luz.

b) Determinar el efecto de diferentes niveles de radiación ionizante, en la carga bacteriana de cochinilla y polvo de betabel integro.

## 5.3 CUADRO METODOLOGICO

En el cuadro número 1.5 se muestra la metodología seguida en el presente trabajo.



a) Recepción de Materia Prima: Se estudiaron los colorantes naturales: Cochinilla (Dactilopius coccus costa) y Betabel (Beta vulgaris). Ambas muestras fueron proporcionadas por la Compañía: SPECTRUM de México S.A de C.V.

Dichas muestras fueron colocadas en frascos color ámbar para evitar la degradación que, en un determinado momento, pudieran sufrir los colorantes antes de ser irradiados. Para la irradiación de las muestras de Betabel, se colocaron 50 grs en frascos color ámbar contando con un total de seis frascos para cada muestra. Uno destinado al blanco y el resto para los diferentes niveles de irradiación : 1, 5, 10, 20 y 30 KGy (kilograys=KGy= 1 Joule/Kg) respectivamente. Para el caso de la cochinilla se colocaron 7 grs de muestra en cada frasco, ya que de este colorantes no se contaba con suficiente muestra como para poner 50 grs por frasco.

b) Antes de irradiar se llevaron a cabo pruebas para determinar la lambda máxima de los colorantes.

Se realizó un barrido en la región visible de 370 a 560 nm (nanómetros) para las muestras de Betabel y Cochinilla que sirvieron como blanco antes de la irradiación de las muestras.

La cochinilla se solubilizó en agua destilada al 0.05% agregando 200 ppm de benzoato de sodio como conservador, tanto para el caso de los muestras a 70 °C como de las puestas a temperatura ambiente. Posteriormente se filtraron en una tela de angel, papel

filtro de poro grande y por último en un papel Whatman #42. Luego se colocaron en vasos de precipitado de 250 ml, cubiertos con papel aluminio y fueron puestos en refrigeración a 10°C por 24 hrs; para obtener la máxima estabilidad y, seguido a esto, se realizó la lectura del espectro, en un espectrofotómetro Beckmann DV-50 (27,61).

En el caso del betabel, la muestra se solubilizó en agua destilada al 1% con 200ppm de benzoato de sodio como conservador, ácido cítrico en concentraciones de 100ppm con el propósito de precipitar fibra y proteína, para obtener un producto más estable. A continuación las muestras se colocaron en vasos de precipitado y se cubrieron con papel aluminio, se dejaron en un refrigerador casero durante 48 hrs a una temperatura de 10°C. Transcurrido este periodo se filtró la muestra en manta de cielo, seguido de la filtración en un papel filtro de poro grande y por último se hicieron pasar por un papel Whatman #42, después el filtrado se centrifugo a 3000 rpm durante 30 minutos y entonces se tomó el espectro en la región visible de 340-560 nm, para obtener el pico máximo de absorvancia en un espectrofotómetro Beckmann DV-50. Una vez determinado el pico máximo se paso a la estandarización de las condiciones de trabajo, en donde solamente se leía como cambia la absorvancia en dicho pico a las diferentes condiciones de experimentación (pH, luz, oxígeno, Temperatura e irradiación) (48).

c) Evaluación de la carga microbiana: Se prepararon diluciones decimales de la muestra con el colorante homogeneizado con el medio

de cultivo adecuado (agar Mc Conkey= coliformes, Agar soya-triticaseina=bacterias mesófilas aerobias) .

Después de incubar las placas a 37 °C durante 72 hrs se calcula el número de microorganismos por gramo basandose en el número de colonias obtenidas.

Se determinaron mesófilos aerobios y coliformes con las técnicas descritas en el apéndice # I

d) Irradiación de las muestras: Las muestras colocadas en frascos color ámbar antes de la irradiación. fueron transportadas al ININ (Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares) para ser irradiadas a: 1, 5, 10, 20 y 30 KGy en un irradiador gammacell 220 (figura 1-5), con una fuente de Co-60, que emite irradiaciones gamma.

Después de haber irradiado las muestras, se llevaron a cabo los pruebas de carga microbiana y estabilidad.

La carga de mesófilos aeróbios y coliformes fue evaluada, empleando las técnicas indicadas en el Apéndice I.

e) Determinación del efecto de las irradiaciones sobre la estabilidad de los colorantes.

Con el objeto de evaluar el efecto de la irradiación sobre la estabilidad de los colorantes y ante factores como pH, luz, temperatura y oxígeno, se empleo un diseño ortogonal L16 de Ingeniería de Calidad.

Tal diseño, se eligió de acuerdo al número y niveles de las variables, en donde se acuerdo tomar solamente dos niveles para cada variable, tomando como apoyo el diagrama Ishikawa, el cual de una manera esquemática indica los factores que tienen influencia en la estabilidad de los colorantes así como los niveles, como se muestra en la figura 2-5 (27,61,62).

Para realizar el análisis estadístico se toma como nivel máximo de la irradiación 10 Kgy por ser la dosis más empleada en la irradiación de los alimentos.

De acuerdo a las indicaciones del cuadro de Taguchi correspondiente al arreglo ortogonal L-16, se prepararon los diferentes muestras, tomando el número 1 como nivel bajo y el número 2 como nivel alto, por lo que si se observa el cuadro del apéndice II (tabla 1-A) en donde todos los niveles corresponden al número 1, el ejemplo para cochinilla queda: irradiación : 0 Kgy

D	luz	: con luz
E	aire	: con aire
C	pH	: 9
B	temperatura	: ambiente

y así sucesivamente.

La manera de determinar el tipo de arreglo se muestra en el apéndice II.

El gráfico lineal que se empleo es el que se muestra la figura 2-5 (5,27,52,61).

Para las condiciones de ausencia y presencia de luz, se empleo papel aluminio y una caja de cartón de 30X30 cm aproximadamente, completamente sellada de la luz.

Para la presencia de luz se empleó con la ayuda de un foco de 100 Watts puesto a una distancia directa de las muestras de 35 cm, en un cuarto oscuro.

Para la ausencia de oxígeno, los tubos que contenían las muestra fueron burbujeados con nitrógeno durante 10 segundos, dicho burbujeo se realizaba cada vez que el frasco con tapón rosca era abierto para medir la absorbancia.

Los dos diferentes pH's (3 y 9) se ajustaron con ácido clorhídrico e hidróxido de sodio respectivamente con la ayuda de un potenciómetro y un agitador de vidrio.

Las Temperaturas elegías fueron: temperatura ambiente y temperatura de 70 grados centígrados, para el primer caso, las muestras eran colocadas al medio ambiente y en el segundo caso, se

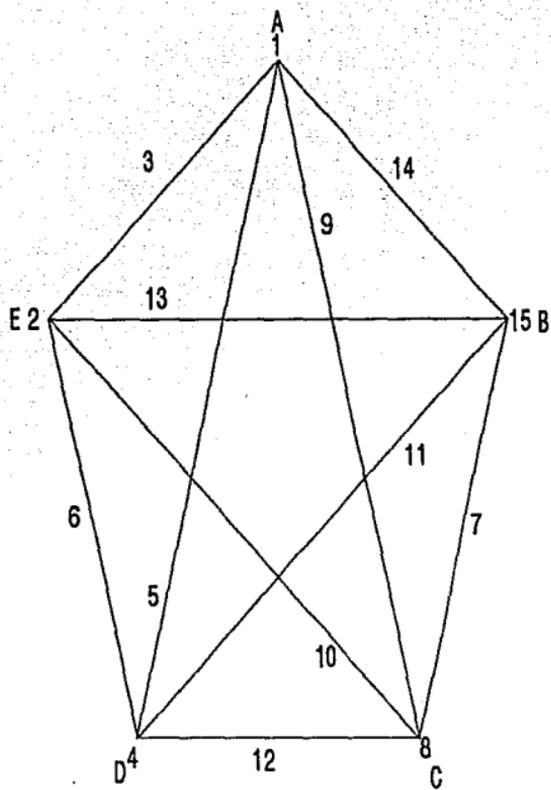


FIGURA 2-5 GRAFICO LINEAL UTILIZADO  
 PARA EL ANALISIS POR METODOS TAGUCHI  
 GRAFICO L16

requirió la ayuda de una estufa de incubación para mantener siempre constante la temperatura de 70 grados centígrados.

f) Seguimiento: Pérdida de color: una vez especificado el tipo de arreglo ortogonal y sabiendo las condiciones de los 16 experimentos, (apéndice II) se paso a la experimentación, tomando lecturas cada hora, por 5 horas en el caso de las muestra a 70°C, dichas lecturas fueron suficientes para observar una degradación drástica del color. En el caso de las muestras a temperatura ambiente, las lecturas se realizaron cada 24 hrs por 5 días, ya que de igual manera, transcurrido dicho tiempo, existia ya una degradación severa en el color, así como una disminución importante de la absorbancia.

Seguido a lo anterior se continuó con la interpretación de los resultados mediante el análisis estadístico-matemático de los métodos Taguchi y proseguir con los pasos que continuan en el cuadro metodológico.

## CAPITULO VI

### RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

#### 6.1 ANALISIS MICROBIOLOGICOS

Los análisis microbiológicos se determinaron mediante la técnica descrita en el Apéndice I, los resultados de los mismos se muestran en la tabla 1-6.

Como lo muestra los resultados de la tabla , para el caso del betabel, la cantidad de microorganismos presentes en las muestras sin tratamiento alguno, fue muy baja, la carga de mesófilos aerobios por gramo de muestra de de  $6.5 \times 10^4$  en la dilución  $10^{-1}$  y de 5000 colonias por gramo, en la dilución  $10^{-2}$ . En el caso de la Cochinilla, se presentaron  $8 \times 10^4$  colonias de mesófilos aerobios por gramo en la dilución de  $10^{-1}$  .

En base a los resultados obtenidos sobre el efecto de las radiaciones ionizantes, a las dosis normalmente usadas en la industria de los alimentos (10 KGRy) sobre las muestras de ambos colorantes estudiados son suficiente para destruir la carga microbiana inicial que estuvo presente. El uso de rayos gamma como medio de esterilización de los colorantes se recomienda no sea a niveles mayores de 10 KGRy, ya que estos provocan cambios visuales en la intensidad y tonalidad de los colorantes, siendo este efecto mucho más acentuado para la Cochinilla que para el Betabel (14,22,32).

# RESULTADOS

## TABLA 1-6

MUESTRA	DILUCION	COLIFORMES PROMEDIO DE LAS LECTURAS	MESOFILIOS PROMEDIO DE LAS LECTURAS
BETABEL BLANCO	10-1	NEGATIVO	65 e3 col/g
	10-2	NEGATIVO	5 e3 col/g
BETABEL 1 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
BETABEL 5 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
BETABEL 10 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
BETABEL 20 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
BETABEL 30 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
COCHINILLA BLANCO	10-1	NEGATIVO*	8 e4 col/g
COCHINILLA 1 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
COCHINILLA 5 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
COCHINILLA 10 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
COCHINILLA 20 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*
COCHINILLA 30 KGy		NEGATIVO*	NEGATIVO*

\* EN TODAS LAS DILUCIONES

## 6.2 ESPECTRO DE ABSORBANCIA

Para determinar la longitud de onda de máxima absorbancia de las muestras se corrió el espectro de las muestras en la zona visible del espectro de la luz encontrando que la máxima absorbancia, para la Cochinilla es de 510 nm (nanómetros), dato que coincide con lo reportado en la literatura (20,26), donde se reporta como longitud de onda máxima 510nm de absorbancia para la cochinilla. Para el caso del Betabel, la longitud de onda máxima encontrada experimentalmente fue de 520nm, lo cual también coincide con lo reportado en la literatura que es de 520 nanómetros (20,26).

En el caso de ambos colorantes se observó un cambio en la tonalidad del colorante así como en la intensidad de los mismos después de la irradiación por lo que se realizó un análisis de espectroscopia de infrarrojo con derivada de Fourier, para observar cambios en la estructura que pudieran relacionarse con los cambios en tonalidad e intensidad.

## 6.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON DERIVADA DE FOURIER

Los barridos en el rango infrarrojo fueron llevados a cabo en un espectroscopio de infrarrojo con derivada de Fourier. Las muestras fueron preparadas de la siguiente forma:

Con la ayuda de un cilindro, se comprimió el polvo de las muestras para hacerlas pastilla e inmediatamente después, se colocaron dentro del espectroscopio para realizar el barrido de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  como longitud de onda , de 0 a 100 como % de transmitancia y de 2 a 0.01 de absorbancia.

Los resultados del barrido se muestran en las gráficas de la 1-6 y 2-6. En estas, se muestran los barridos de colorante de la cochinilla sin irradiación (blanco) con el resto de las muestras sometidas a irradiación. De estas gráficas se observa, que la radiación no provoca un cambio como era de esperarse debido a que la irradiación es una forma de energía, se esperaba dicho cambio por medio de un rompimiento de la molécula por excitación de los electrones, en la estructura de la Cochinilla.

#### 6.4 ESTUDIO DE INGENIERIA DE CALIDAD POR MEDIO DE UN ANALISIS DE TAGUCHI

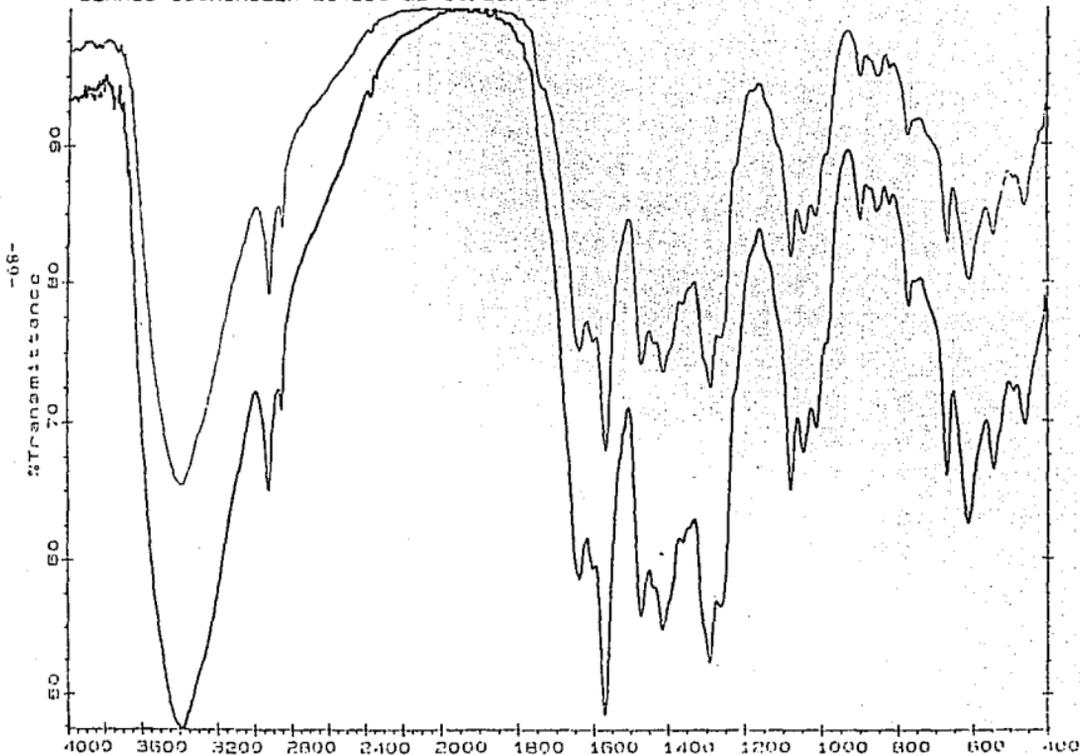
Las condiciones de cada muestra se determinan de acuerdo al arreglo ortogonal que se seleccionó, en este caso se trata de un arreglo ortogonal  $L_{16}$ , como se demostró en la metodología, de ahí, de acuerdo la tabla # 1-5 .

Dicho diseño de ingeniería de calidad tiene como objetivo, determinar con el mínimo de experimentos, la influencia de cada factor para la degradación de los colorantes, con el mínimo de error (61).

GRAFICA 1-6

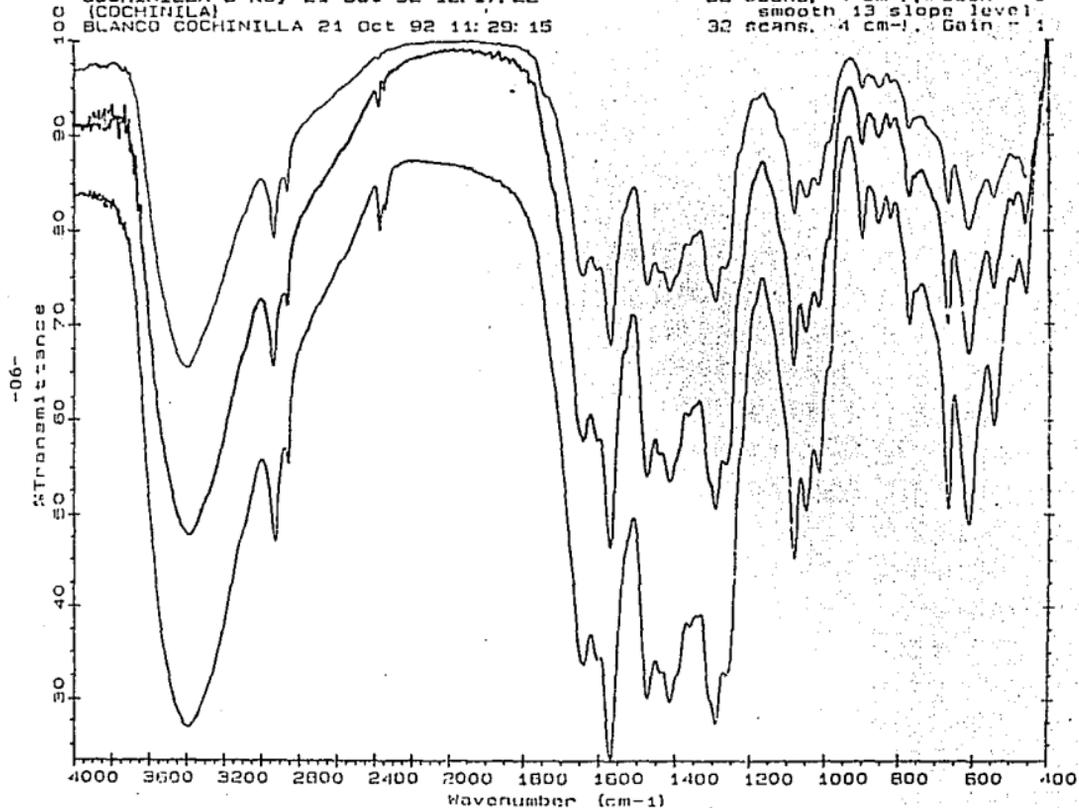
(COCHI1)  
COCHINILLA 1 Kgy 21 Oct 92 12:01:53  
(COCHINILA)  
BLANCO COCHINILLA 21 Oct 92 11:29:15

smooth 13 level  
32 scans, 4 cm-1, Gain -1  
smooth 13 slope level  
32 scans, 4 cm-1, Gain " "



(COCHI10) GRAFICA 2-6  
COCHINILLA 10 KGy 21 Oct 92 12:23:43  
(COCHI15)  
COCHINILLA 5 KGy 21 Oct 92 12:17:22  
(COCHINILA)  
BLANCO COCHINILLA 21 Oct 92 11:29:15

smooth 13 slope level  
32 scans, 4 cm-1, Gain - 1  
smooth 13 slope level  
32 scans, 4 cm-1, Gain - 1  
smooth 13 slope level  
32 scans, 4 cm-1, Gain - 1



El análisis estadístico empleado se incluye en el apéndice II.

Los resultados del análisis de Taguchi se muestran en las tablas 2-6 y 3-6 para Cochinilla y Betabel respectivamente, en estas tablas se muestra la influencia y la interacción a los diferentes tiempos estudiados.

En la parte inferior de la tabla se muestra la suma de los porcentajes, siendo en todos los casos mayor a 50%,

COCHINILLA: De la tabla # 2-6, se puede mostrar como el factor de mayor relevancia al aire, seguido de la temperatura y del pH, no encontrándose un efecto drástico para el caso de la irradiación. El nivel del aire es en 2 (con presencia de O<sup>2</sup>), el de la temperatura 2 (70 grados centígrados) y el del pH es el 1 (pH=3). Las condiciones favorables para la degradación de la Cochinilla que se encuentran en la literatura, concuerdan con las obtenidas en el presente estudio, (temperaturas elevadas, presencia de O<sup>2</sup>) (20,26,60). En el caso del pH, en la literatura se menciona que son sumamente resistentes a pH ácidos, pero en todos los estudios realizados dicho pH ácido de experimentación es de 5, por lo que no es comparativo, ya que el pH empleado en el presente estudio es menor.

El efecto de los diferentes factores puede esquematizarse de la siguiente manera para el caso de la Cochinilla:

CONTRIBUCION PORCENTUAL TABLA 3-6  
BETABEL

FACTOR	TIEMPO 1	TIEMPO 2	TIEMPO 3	TIEMPO 4	TIEMPO 5
A	0.7240	0.3390	1.0380	1.5140	1.2050
B	31.3020	71.8270	45.8240	38.6730	35.9090
C	1.6460	1.5830	3.1800	7.2390	9.5330
D	6.6770	3.7700	1.1730	0.8960	0.0000
E	2.9920	0.0000	1.0790	1.6810	1.2610
AXE	0.0000	0.1930	0.0000	0.3190	0.8250
AXD	0.7980	0.3160	0.9380	0.8350	0.3420
EXD	0.0590	4.2580	2.3470	1.7940	1.6470
BXC	5.2480	0.0470	11.4420	18.0150	19.5640
AXC	0.1760	4.0510	3.3610	1.7170	1.1510
EXC	0.0590	0.0230	0.0000	0.0010	0.2080
BXD	1.2220	0.3380	0.0000	0.0000	0.1830
CXD	3.7980	0.3290	2.2010	1.0990	1.4470
BXE	3.8590	0.4520	3.3470	0.6480	1.4140
AXB	4.0600	0.0250	2.2710	0.8350	0.3420
SUMA	66.3590	87.5560	75.9800	76.2170	75.6270
A= IRRADIACION B= TEMPERATURA C= pH D= LUZ E= AIRE X= INTERACCION					

CONTRIBUCION PORCENTUAL COCHINILLA TABLA 2-6

FACTOR	TIEMPO 1	TIEMPO 2	TIEMPO 3	TIEMPO 4	
A	1.2374	0.0000	0.0000	0.0091	A= IRRADIACION
B	14.4965	7.6805	17.0699	16.4116	B= TEMPERATURA
C	16.8675	9.9058	9.0279	11.7332	C= pH
D	3.1930	6.3996	4.4979	3.8155	D= LUZ
E	11.1296	21.4297	18.1454	16.8307	E= AIRE
AXE	1.9149	3.7678	2.1748	3.4820	X= INTERACCION
AXD	0.1884	0.2708	0.0000	0.0013	
EXD	0.1811	0.1017	0.0000	0.0143	
BXC	2.9447	0.3509	0.1638	1.9468	
AXC	2.0242	4.8870	4.7620	3.5740	
EXC	1.8881	4.1270	4.4945	3.3760	
BXD	0.0199	4.0000	0.0000	0.0000	
CXD	0.1752	0.3767	0.0000	0.0000	
BXE	0.9647	3.8268	1.2862	3.9971	
AXB	11.6385	6.0968	4.7638	4.3817	
SUMA	66.8645	69.2214	66.3866	69.5739	

aire > temperatura > pH > luz > irradiación

La interacción entre los factores estudiados, como se muestra en la tabla 2-6, no tiene gran importancia, excepto en el caso de la irradiación - temperatura, este resultado no puede considerarse lógico porque de antemano se sabe, que el factor de relevancia entre estos dos factores es la temperatura más no la irradiación. En términos generales, el resto de las interacciones es despreciable, y como se puede observar, la contribución porcentual se incrementa con forme pasa el tiempo aunque el efecto continua siendo irrelevante.

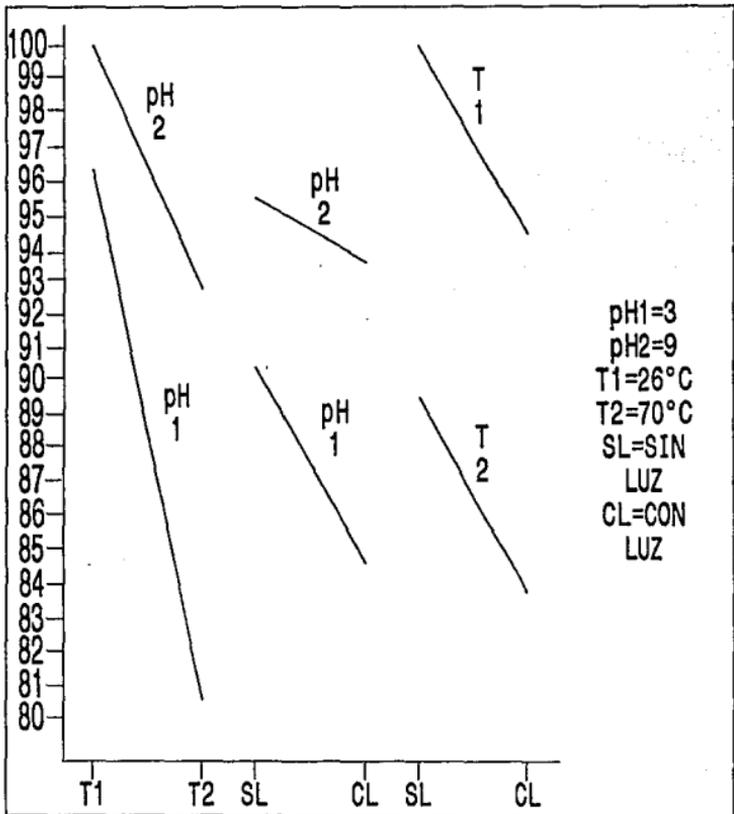
La contribución porcentual de las interacciones, es más elevada en el caso, en donde se encuentran los factores de mayor relevancia, como ya se mencionaron anteriormente: aire, temperatura y pH, principalmente. Además se tiene que poner hincapié, que la sumatoria de las interacciones de los factores es menor de 50%, por lo que no existe relevancia en estos resultados.

En la gráfica 3-6 se muestra claramente la influencia que tienen las interacciones de los factores de mayor relevancia (temperatura, pH y aire) en la concentración del colorante expresada en porcentaje. De donde obtenemos que las degradaciones más drásticas, ( menores concentraciones ), se obtienen cuando tenemos una presencia de un pH ácido (1), en condiciones de temperatura (2) 70 °C y la presencia de luz, de igual manera se noto una baja

# COCHINILLA GRAFICA

3-6

## INFLUENCIA DE LAS INTERACCIONES EN LA CONCENTRACION.



concentración en la interacción de la temperatura (2) 70 °C y la presencia de luz.

La mayor estabilidad , se obtienen manejando un pH (2) = 9 y una temperatura ambiente, así como la temperatura ambiente en interacción con la ausencia de luz.

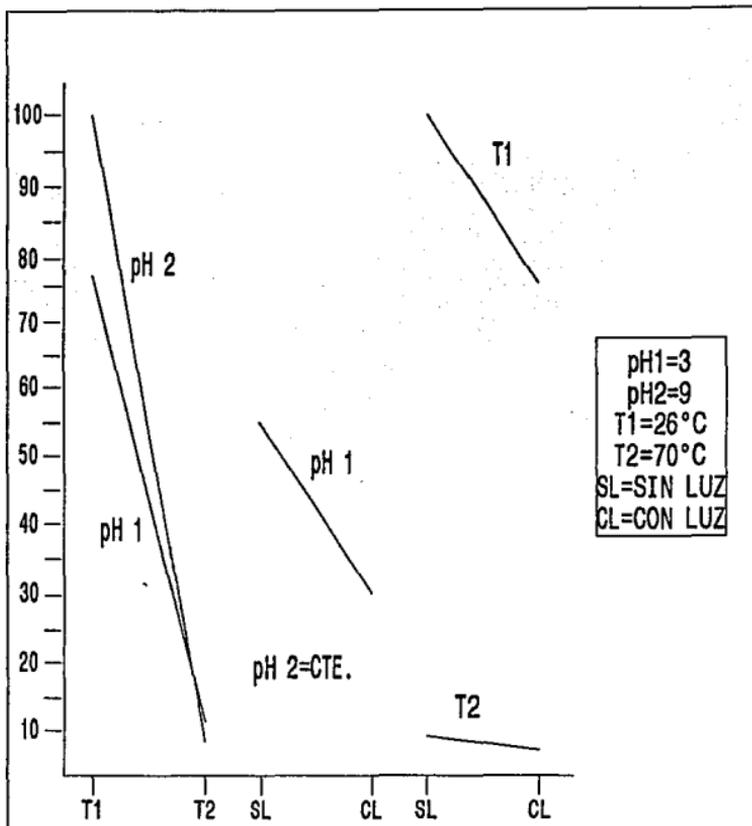
BETABEL: Tomando en cuenta la tabla # 3-6 , el betabel, es muy susceptible a la temperatura (principalmente a temperaturas elevadas) dejando atrás, el resto de los factores, así como a las interacciones, que frente a una contribución porcentual de 71 a 31 %, el resto se pueden considerar despreciables. EL segundo factor en importancia para el betabel es la luz y el aire, tomando en cuenta que nuevamente, la temperatura tienen una gran importancia en cuanto al porcentaje de degradación, se puede esquematizar el nivel de importancia de la siguiente manera: (20)

temperatura>>>>>luz>aire>pH>irradiación

La siguiente interacción en porcentaje de importancia se presenta entre aire e irradiación, esto es lógico, al ser el aire el factor que presenta mayor relevancia individual, observandose también en la interacción combinada, seguido a este la siguiente interacción de mayor efecto se presenta con el pH y después la irradiación, pero en el último caso es de mínima importancia a diferencia de los anteriores por lo que se puede considerar despreciable.

# BETABEL GRAFICA 4-6

## INFLUENCIA DE LAS INTERACCIONES EN LA CONCENTRACION.

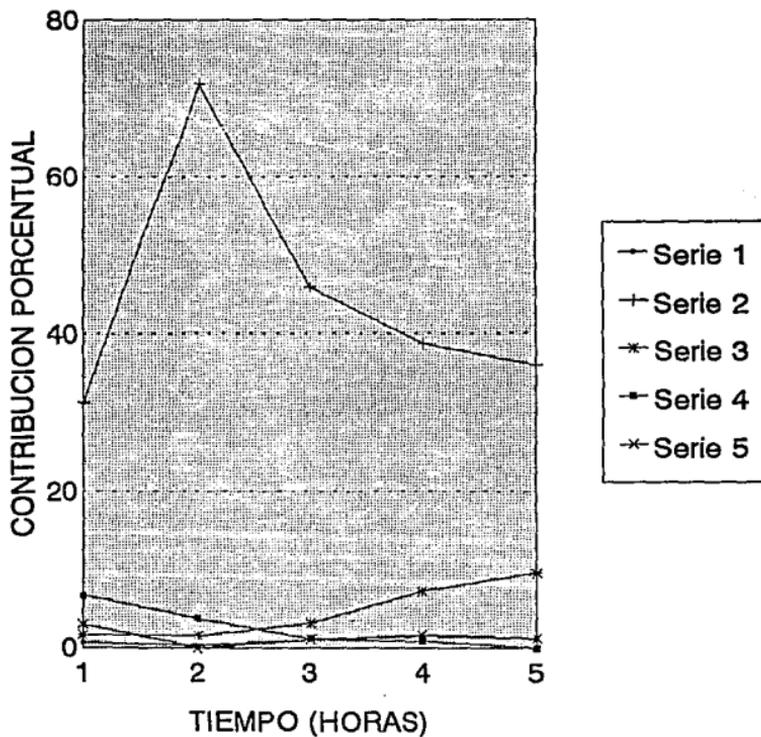


Si se toma en cuenta la gráfica 4-6, se observa que se tienen una degradación muy severa cuando se manejan temperaturas de 70 grados centígrados (Tem 1), independientemente si se trata de ausencia y/o presencia de luz, así como de una variación de pH, lo cual corrobora lo reportado en literatura (3,6,16,20,65,66).

Para finalizar, en las gráficas 5-6 y 6-6, se trata de expresar de manera gráfica las variaciones que existen entre los valores de contribución porcentual de los factores con respecto al tiempo de Cochinilla y Betabel respectivamente. Notándose que para el caso de pH, obtuvo mayor contribución en el tiempo 1, este tiende a disminuir para llegar a comportarse de manera constante no siendo el caso así, de la temperatura, la cual disminuye en importancia para finalmente aumentar y tender a ser constante. En el caso del aire este pasa de ser un factor de poca contribución a diferencia de los anteriores para aumentar y tender a ser constante al igual que el resto de los factores.

El hecho de que los factores tiendan a aumentar y disminuir, puede explicarse debido a la influencia del tiempo así como el avance que va tomando la degradación del colorante, sin importar la contribución porcentual de los factores. Los cuales tienden a ser constantes, por lo tanto existe un punto en que la degradación del colorante ya no avanza, llegando, a un punto crítico de estabilización.

VARIACION DE LOS DIFERENTES FACTORES CONTRA EL TIEMPO  
BETABEL



SERIE 1:IRRACIACION

SERIE 2:TEMPERATURA

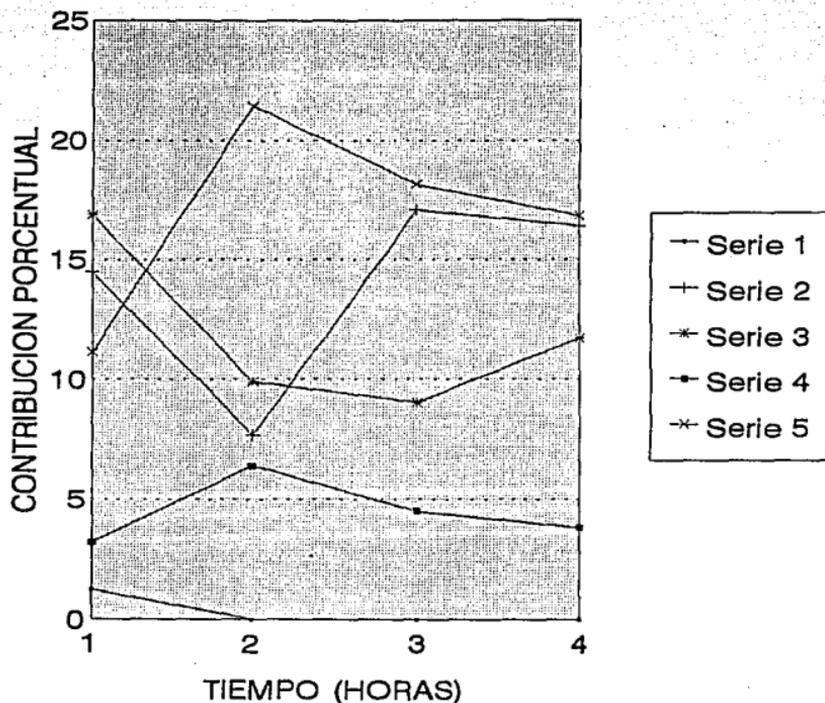
SERIE 3:pH

SERIE 4:LUZ

SERIE 5: AIRE

GRAFICA 6-6

VARIACION DE LOS DIFERENTES FACTORES CONTRA EL TIEMPO  
COCHINILLA



SERIE 1:IRRACIACION

SERIE 2:TEMPERATURA

SERIE 3:pH

SERIE 4:LUZ

SERIE 5: AIRE

GRAFICA 5-6

En el caso del Betabel (gráfica 6-6) ocurre exactamente lo mismo, a diferencia únicamente de que el factor de mayor relevancia, es la temperatura.

## CONCLUSIONES

Como conclusiones del presente estudio tenemos:

1.- La irradiación es un método eficiente y de vanguardia, para la esterilización de los colorantes naturales.

2.- La irradiación utilizada a las dosis normalmente usadas en la industria de los alimentos (10 KGRy) no afecta en absoluto la estabilidad de ninguno de los colorantes estudiados: Cochinilla y Betabel.

3.- No se recomienda el uso de mayores dosis a 20 KGRy para el caso de la Cochinilla, ya que se observaron cambios en la tonalidad del pigmento, aunque la estabilidad del mismo no se ve afectada.

4.- No es recomendable trabajar el pigmento de Betabel a temperaturas elevadas ya que se presenta una degradación extremadamente severa (96%), cuando se sometio a condiciones de temperatura de 70 grados centígrados.

5.- El Betabel, no es por tanto un colorante recomendable para productos de repostería, confitería y todo aquel proceso que involucre la utilización de temperaturas elevadas.

6.- Tomando en cuenta los resultados obtenidos para el colorantes de Betabel, no se recomienda utilizarlo en condiciones de acidez elevada.

7.- Se recomienda, utilizar elBetebel a temperaturas bajas, así como trabajar en ausencia de luz, aire y pH's con tendencia a la neutralidad. Esto reduce sensiblemente el potencial de aplicación en alimentos.

8.- El espectro de infrarojo con derivada de Fourier que se corrió para el caso de la Cochinillas, demuestra que no se presentó cambio alguno en la estructura química del colorantes.

9.- Por lo cual se puede concluir que la irradiación no provoca ningún cambio estructural en la Cochinilla.

10.- El factor de mayor relevancia en la degradación de la Cochinilla es la presencia de oxígeno.

11.- La importancia para la degradación, en orden descendente de los factores para la Cochinilla es como sigue:

aire > temperatura > pH > luz > irradiación

12.- De igual manera para el caso del Betabel queda:

Temperatura >>>>>> luz > aire > pH > irradiación

13.- La contribución porcentual de las interacciones, es más elevada en el caso donde se encuentran los factores de mayor relevancia, para ambos colorantes.

14.- La mayor estabilidad de la Cochinilla se obtiene manejando un pH = 9 y una temperatura ambiente, así como la temperatura ambiente y la ausencia de luz.

15.- La Cochinilla es resistente a condiciones de pH ácido, temperaturas elevadas arriba de 70 grados centígrados.

16.- Tomando en cuenta las condiciones de estabilidad por lo cual se puede utilizar para una amplia gama de productos alimenticios.

## APENCICE I

### DETERMINACION DE LA CUENTA MICROBIANA TOTAL EN PLACAS:

Se preparan diluciones decimales de la muestra colorante homogeneizado con el medio de cultivo adecuado. Después de incubar las placas a 30 grados centígrados durante 72hrs, se calcula el número de microorganismos por gramo de muestra, basandose en el número de colonias obtenidas en cajas de Petri elegías con diluciones que den resultados significativos.

### ENUMERACION DE LAS BACTERIAS MESOFILAS:

-Agar para el conteo bacteriano en placa:

Agar Soya-Tripticaseina	30 grs
Agua destilada	1000 ml

Se ajusta el pH a 7, se vierte en tubos en volúmenes de 15 ml y se esteriliza durante 20 minutos a 121 grados centígrados en autoclave. Antes de utilizarlos es necesario licuar el medio, sometiendo los tubos a baño maria, manteniendolos a temperatura de 45-48 C.

-Solución reguladora de peptona:

Peptona	10.0 grs
Cloruro de sodio	5.0 grs
Fosfato disodico hidrogenado	9.0 grs

Fosfato potásico dehidrogenado	1.5 grs
Agua Destilada	1000 ml

Se ajusta el pH a 7.0, se vierte en mmataces de 500 ml, en volúmenes de 225ml y en tubos con tapa rosca, en volúmenes de 9 ml. Se esteriliza durante 20 min a 121 grados centígrados en autoclave.

#### PROCEDIMIENTO.

Se pesa 1 gr de muestra y se añade a 100ml de solución reguladora de peptona. Se agita hasta homogeneizar perfectamente (+- 2.5 min). Se toma un mililitro de la mezcla con una pipeta volumétrica, y se vierte en un tubo que contenga 9 ml; de solución reguladora de peptona; se mezcla cuidadosamente.

Con la misma pipeta se toma 1ml de la primera dilución y se vierte en un segundo tubo con 9 ml de solución rreguladora; se homogeniza agitando cuidadosamente. De esta manera se obtiene la segunda dilución.

Se repite la operación dos veces más, obteniendose 4 diluciones, de cada una de las cuales se toma 1 ml mezclando uniformemente con 5 ml de agar para computo bacteriano, la mezcla anterior se vierte en cajas de Petri previamente marcadas y por duplicado, y se dejan solidificar.

Las cajas así preparadas se incuban, invertidas, durante 72 hrs a 30 grados centígrados.

Después de la incubación se cuentan todas las colonias de las cajas y se anotan los resultados por cada dilución contada.

Cuando las cajas examinadas no contienen ninguna colonia, el resultado se expresa de la siguiente manera: menos de 10 bacterias por gramo de muestra.

Cuando las cajas (dilución 1:10) contienen menos de 30 colonias, el resultado se expresa: menos de  $3 \times 10^2$  bacterias por gramo de muestra.

Cuando hay más de 30 colonias, se cuentan las colonias de las dos placas de una misma dilución y se calcula la media. La cual se multiplica por el inverso de la dilución correspondientes, obteniéndose el número de bacterias por gramo de muestra.

#### DETERMINACION DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES

Preparación de medios:

-Agar para el cómputo en placa:

Agar McConkey: Gelisato	17	grs
Polipeptona	3	grs

Lactosa	10	grs
Sales biliares	1.5	grs
Cloruro de Sodia	5	grs
Agar	13.5	grs
Rojo neutro	0.03	grs
Cristal violeta	0.001	grs

La manera de prpeararlo es disolviendo 50 grs del producto anterior en 1000 ml de agua destilada, obteniendose un medio con pH final de 7.0 El procedimiento es idéntico al descrito para la cuenta de baterías mesófilas.

## APENDICE II

### DISEÑO DE INGENIERIA DE CALIDAD

Para saber, la influencia que tienen las diferentes condiciones como: Temperatura, pH, Luz, Oxígeno y RADIACION en la estabilidad de los colorantes se realizó un diseño experimental de Ingeniería de Calidad por métodos Taguchi, para disminuir la cantidad de experimentos a solo 32, y así reducir el tiempo de experimentación y los costos del mismo, al mismo tiempo se garantiza el mínimo error y exactitud de los resultados con la mínima cantidad posible de experimentos.

Se determinó que el arreglo ortogonal del que se trataba, era un arreglo L16 mediante los grados de libertad, los cuales se calcularon de la siguiente forma:

$$VA=KA -1$$

donde VA= grados de libertad del factor A o N

KA= número de niveles

Para el caso del número de niveles, estos en todos los casos fueron dos, por lo que entonces:

$$VA= 2-1 = 1$$

$$VB= 2-1 = 1$$

$$VC= 2-1 = 1$$

$$VD= 2-1 = 1$$

$$VE= 2-1 = 1$$

Donde :

A= IRRADIACION

B= TEMPERATURA

C= pH

D= LUZ

E= AIRE

en donde las interacciones interesadas son:

- AXB interacción de la irradiación con la temperatura
- AXC interacción de la irradiación con el pH
- AXD interacción de la irradiación con la luz
- AXE interacción de la irradiación con el aire
- CXE interacción del pH con el aire
- CXB interacción del pH con la temperatura
- CXD interacción del pH con la luz
- EXB interacción del aire con la temperatura
- BXD interacción de la temperatura con la luz
- EXD interacción de la luz con el aire

Por lo que de esta forma se evalúan todas las interacciones posibles.

Los grados de libertad de las interacciones son:

$$V_{AXB} = V_A + V_B$$

V AXB = 1	V CXB = 1
V AXC = 1	V CXD = 1
V AXD = 1	V EXB = 1
V AXE = 1	V BXD = 1
V CXE = 1	V EXD = 1

La sumatoria para todos los grados de libertad tanto de las interacciones como de los factores =  $5+10 = 15$

Los grados de libertad totales; para un arreglo ortogonal es:

$V LN = N - 1$

V LN = grados de libertad TOTALES y n = NÚMERO DE EVENTOS

Tomando un arreglo L16 se cumple con las características de:

$V LN > 0 = V \text{ INTERACCIONES Y FACTORES}$

$V LN = 16 - 1 = 15$

$N = 16$

$15 = 15$

Por lo que se seleccionó un arreglo ortogonal L16.

El número designado del gráfico a cada factor es tomando en cuenta su importancia. El resto de los factores se asignaron en el orden en que se pensaba influenciaban más a las características a evaluar, aún cuando los resultados implican orden de prioridad.

De acuerdo a este arreglo, se obtuvo un diseño de resolución de 3, en el que todos los factores e interacciones pueden estimarse sin que exista confusión entre ellos. Se decidió hacer una sola repetición por evento para obtener un 90% de confiabilidad en la detección de un camino de aproximadamente  $1/3$  de la desviación estandar. El orden para realizar los eventos fue elegido por conveniencia, para disminuir costos, y tiempo en el caso principalmente de la cochinilla.

El cuadro para determinar las características de cada experimento, se muestra en la tabla # 1-a.

Una vez obtenidos los resultados se prosiguió al análisis estadístico de los mismos, en donde básicamente se utilizaron ANOVAS (5,27,52,61).

**TABLA PARA LOS EXPERIMENTOS  
ARREGLO ORTOGONAL L 16  
DE DOS VIAS  
INGENIERIA DE CALIDAD  
TAGUCHI**

TABLA 6

PRUEBA N	COLUMNA NO.															CLAVE
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13	14	15		
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1C08LSA27A
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2C08LSA97B
3	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2C08LSA37D
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1C08LSA97A
5	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	2	2	2	2C08LSA37D
6	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	1	2	1	1C08LSA97A
7	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1C08LSA97A
8	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2	2C08LSA97B
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2C08LSA37D
10	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	1C08LSA97A
11	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1C08LSA37A
12	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2C08LSA97B
13	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	2	2	2	1	1C08LSA37A
14	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	2C08LSA97B
15	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	1	1	1	2	1C08LSA37D
16	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1C08LSA97A

NOTA EN EL CASO DE LAS CLAVES, ESTAS INDICAN LA MUESTRA Y LAS CONDICIONES DE LA MISMA SEGUN EL CUADRO DE TAGUCHI. POR EJEMPLO, EN ESTE CASO LA PRIMERA LETRA ES LA LETRA DEL COLORANTE 0° COCHINILLA; LO SEGUNDO 10 O B = BOSIS DE 10 X6Y O BLANCO, LO TERCERO SA/CA° SIN AIRE, CON AIRE; LO CUARTO SL/CA° CON LUS O SIN LUS, LO QUINTO 3 O 9 ES EL VALOR DEL 1<sup>er</sup>, Y LO SEXTO 7A O 7B ES LA TEMPERATURA, YA SEA TEMPERATURA AMBIENTE (TA) O DE 70 C.

FUENTE: TAGUCHI TECHNIQUES FOR QUALITY ENGINEERING  
PHILLIPS J. ROSS  
McGRAW-HILL INTERNATIONAL EDITIONS

El análisis estadístico empleado es como sigue:

Con las absorbancias obtenidas en las longitudes máximas conforme el tiempo, que dependía de si era temperatura ambiente, donde las lecturas se realizaban cada 24 horas, o a 70 grados centígrados donde las lecturas se realizaban cada hora, y en base a la tabla de taguchi ( tabla # 1-A) se agrupaban los datos como muestra en la tabla # 2-A. Posteriormente, dichas absorbancias se traducen a concentraciones, tomando la inicial como un 100% y de ahí por medio de una regla de 3, se calculan las demás. Después se calcula la suma de cuadrados de cada factor para cada nivel:

$$SSA = (A1 - A2) \text{elevado } 2 / N$$

A1= suma de cuadrados del bloque que se trate del nivel 1

A2= suma de cuadrados del bloque que se trate del nivel 2

N= total de observaciones, que en este caso = 16

Posteriormente se calculan los grados de libertad para el factor del que se trate :

$$GLA = 2 - 1$$

porque se trata en todos los casos solo de dos niveles

después se calcula la varianza del factor

$$VA = SSA / GLA$$

después se calcula la suma de cuadrados totales para cada bloque (SST), seguido del cálculo de T (suma de todas las

observaciones) o sea, la suma de las absorbancias del bloque que se trate, después se calcula el SSM ( suma de cuadrados medios ) que es igual a T elevada al cuadrado entre N que es igual, como ya se dijo a 16. Después se calcula sstd que es igual SST- T, seguido del cálculo de ssa que es la suma de todas la varianzas (de cada factor de un bloque determinado), después se calcula SSE que es la suma total del error y es igual sstd menos ssa y por último se calcula la VE que es la varianza del error y es igual a SSE entre GLE (grados de libertad del error) que es igual a número total de observaciones menos 1, entonces en este caso es igual a 16 menos 1.

Para mayor entendimiento de lo anterior, se muestra la tabla # 2-A.

Después de lo anterior, fabricó una tabla, en donde se acomoda en orden ascendente, junto con la fuente, el SS y se procede a rearreglar el error debido a que en algunos casos es negativo, y se arregla como sigue:

si el error para el bloque 1 de la cochinilla es -0.00887 y el SS primero es de 0.38, entonces su error será:  $0.38 + (-0.00887)$ , lo que da como resultado un valor igual a 2.50113 y la si la segunda fuente tiene un SS de 2.13, su error será :  $2.50113 + 2.13$  y así sucesivamente. Los GLE se van acumulando de igual forma como se muestra en la tabla # 3-A, y la VE (varianza del error) será igual a E/GLE. Después, se calcula la Fcal que es igual a SS de cada factor entre VE (varianza del error), para saber a diferentes niveles de

confidencia, si existe o no diferencia significativa, comparando esta  $F_{cal}$ , con las reportadas en las tablas, seguido de esto se calcula la contribución porcentual de cada factor (Percent Contribution), la cual es la porción de la variación total observada en el experimento atribuida a cada factor significativo y/o interacción, es función de la suma del cuadrado de cada factor significativo. La contribución porcentual indica el poder relativo de los factores y/o de las interacciones para reducir la variación. Se calcula o es igual  $(SSA'/SST)*100$ . El  $SSA'$  es la suma de cuadrados esperada para un determinado factor y se calcula mediante:

$$SSA' = SS - VE$$

donde

$SS$  es la suma de cuadrados de cada factor y se calcula como ya se mencionó:  $SSA = (A_1 - A_2)$  elevado al cuadrado  $/N$ .

Otra forma para la interpretación de los resultados es mediante el método de observación, el cual consiste en arreglar el cuadro de taguchi (ver tabla 1-A) de acuerdo a las concentraciones obtenidas de las absorbancias para el primer tiempo, para saber que nivel de cada factor es el que afecta a la degradación del colorante. Para mejor entendimiento referirse a la tabla 4-A (5,9,21,27,52,61,62,66).

**EJEMPLO DEL CALCULO DE ANOVAS  
PARA UN SISTEMA DE DOS NIVELES  
SEGUN EL ESTUDIO DE TAGUCHI**

BLOQUE = LECTURAS	ABSORBIANCIAS				CONCENTRACION TOMANDO LA INICIAL 100					
	BLOQUE		No		BLOQUE No.					
	INICIAL	1	2	3	4	1	2	3	4	
EXPERIMENTO No.	INICIAL	1	2	3	4	INICIAL	1	2	3	4
1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	100	100	100	100	100
2	0.48	0.44	0.42	0.413	0.42	100	91.66	89.5	88.04	87.5
3	0.4	0.312	0.29	0.28	0.28	100	78	75.3	70	70
4	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	100	100	100	100	100
5	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	100	88.49	93.22	95.22	95.03
6	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	100	100	100	100	100
7	0.34	0.35	0.485	0.47	0.47	100	92.59	89	87.83	87.83
8	0.49	0.42	0.39	0.39	0.377	100	85.71	77.55	79.45	78.77
9	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	100	100	100	100	100
10	0.27	0.27	0.27	0.21	0.21	100	85.18	74.87	77.77	77.27
11	0.37	0.35	0.35	0.35	0.4	100	86.45	85.47	88.59	87.71
12	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	100	100	100	100	100
13	0.75	0.53	0.53	0.53	0.53	100	100	100	100	100
14	0.197	0.175	0.17	0.17	0.17	100	100	100	100	100
15	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	100	87.50	83.50	82.50	82.50

A) ABSORBIANCIAS DE LAS DIFERENTES MUESTRAS  
CONDICIONES: REFERIRSE A LA TABLA N 1-A

B) ABSORBIANCIAS REFERIDAS A CONCENTRACION  
TOMANDO LA PRIMERA ABSORBIANCIAS COMO 100

DESPUES LAS CONCENTRACIONES DE LA TABLA B) SE ELEVAN AL CUADRADO Y SE CALCULA SSV (N FACTOS) PARA EL NIVEL 1 Y EL NIVEL 2. ESTO LO DETERMINA EL CUADRADO DE TAGUCHI PARA UN ARREGLO ORTOGONAL L16. POR EJEMPLO PARA EL CASO DEL FACTOR A (IRRADIACION), EN EL CUADRADO DE TAGUCHI CUER TABLA 1-A), Y TOMANDO EL PRIMER BLOQUE O PRIMERA LECTURA PARA LOS 16 EXPERIMENTOS, EL NIVEL 1 DE A CORRESPONDE A LOS 8 PRIMEROS EXPERIMENTOS Y EL NIVEL 2 CORRESPONDE A LOS 8 EXPERIMENTOS RESTANTES, ENTONCES:

$$A1 = 100 + 91.6666 + 78 + 100 + 88.4955 + \dots + 92.5925$$

$$A2 = 85.71429 + 100 + 85.1651 + 96.4912 + \dots + 100$$

ENTONCES LA SSA TOTAL:  $SSA = (A1 - A2)^2 / N$  N= NO. TOTAL DE OBSERVACIONES = 16

- POSTERIORMENTE LA SST DEL PRIMER BLOQUE: SST= SUMA DE TODOS LOS CUADRADOS DE BLOQUE 1

- T= SUMA DE TODAS LAS ABSORBIANCIAS DEL BLOQUE 1

$$- SSN = T^2/N$$

$$- sst4 = SST - T$$

- ssa = SUMA DE TODAS LAS VARIANZAS DEL PRIMER BLOQUE

- VARIANZA DE X FACTOR  $U_4 = SSA/GL_4$

-  $GL_4 = 2-1$  2 PORQUE SON DOS NIVELES

$$- SSE = sst4 - ssa$$

-  $GLE$  (GRADOS DE LIBERTAD DEL ERROR) =  $N-1$

-  $V$  (VARIANZA DEL ERROR) =  $SSE/GLE$

ESTE PROCEDIMIENTO ES IGUAL PARA TODOS LOS BLOQUES PARA LOS DOS DIFERENTES COLORANTES: COCHINILLA Y BETABEL.

**TABLA 2-A**

METODO DE OBSERVACION  
EJEMPLO CON COCHINILLA

TABLA 4-A  
TIEMPO 1

CONCENTRACION	A	E	D	D	E	B	C	E	B	C	B	E	B	B
	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
106.6666	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1
100	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1
100	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1
100	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2
100	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2
100	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
100	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1
100	2	1	2	1	2	1	2	2	1	1	1	2	1	2
96.49122	2	1	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	2	1
95.59259	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	2
93.50288	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	2
91.66666	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
88.49557	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2
85.71428	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	1	2	2
85.18518	2	1	2	2	1	2	1	1	2	2	2	2	1	2
78	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2

POR EJEMPLO EN EL CASO DEL FACTOR C=H LAS LINEAS PUNTEADAS SE LOCALIZAN EN LA PARTE DONDE EL NIVEL 1 CER ESTE CASO SE PRESENTA. SEGUIDO LO INDICA QUE EL NIVEL 1 ES EL QUE DA LAS CONCENTRACIONES MAS BAJAS Y ASI SUSEQUIVAMENTE

**TABLA DE EJEMPLO, PARA CALCULO DE  
LA CONTRIBUCION PORCENTUAL Y DE  
EL TEST F PARA DETERMIANR LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA**

**EJEMPLO PARA COCHINILLA, TIEMPO 1**

FUENTE	SS	E	GLE	UE	F TABLAS				FCAL	SSA'	P%
					99%	95%	90%	8%			
BXD	0.54	0.3	1	0.371	405	161	39.9	1.453001	0.16956	0.189	
AXD	3.56	3.9	2	1.965	93.5	18.5	0.53	1.811041	1.59429	0.180	
CXD	4.19	8.1	3	2.787	34.1	18.1	5.54	1.547755	1.48285	0.175	
EXD	4.75	12.8	4	3.217	21.2	7.71	4.54	1.476136	1.53214	0.181	
BXE	13.42	26.2	5	5.258	16.8	6.61	4.06	2.352161	8.16171	0.964	
A	17.82	44.1	6	7.351	13.7	5.94	3.78	2.423861	10.46909	1.237	
AXC	27.33	71.4	7	10.205	12.2	5.59	3.59	2.677857	17.12409	2.024	
AXE	28.73	100.1	8	12.520	11.3	5.32	3.46	2.293896	16.19982	1.914	
EXC	30.49	138.6	9	14.516	10.6	5.12	3.36	2.100331	15.97317	1.802	
D	44.53	175.1	10	17.519	10.0	4.46	3.28	2.541935	27.81105	3.193	
BXC	44.92	220.1	11	20.009	9.65	4.84	3.23	2.244964	24.91077	2.944	
E	123.72	342.8	12	28.368	9.33	4.75	3.18	4.255647	94.15154	11.189	
AXB	185.23	478.0	13	36.773	9.07	4.67	3.14	3.677407	98.45681	11.638	
B	168.94	646.8	14	46.206	8.86	4.6	3.10	3.654029	122.6334	14.495	
C	199.07	845.9	15	56.398	8.68	4.54	3.07	3.330041	142.6912	16.867	

**TABLA 3-A**

LA F CAL SE COMPARA CON LA F DE TABLAS PARA SABER LA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA QUE EXISTE, Y ENTONCES, CUANDO SE ENCUENTRA QUE EXISTE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA, ES EL PUNTO DONDE SE TOMA MAYOR INTERES PARA LA CONTRIBUCION PORCENTUAL, LA SUMATORIA DE TODAS LA CONTRIBUCIONES PORCENTUALES DEBE SER MAYOR DE 50%, SI NO ES ASI, ESTO INDICA QUE EXISTEN FACTORES CON MAYOR CONTRIBUCION QUE NO SE TOMARON EN CUENTA.

- 1.- ABERS J.E AND R.E WROLSTAD. Causative factors of color deterioration in strawberry preserves during processin and storage. Journal of Food Science Vol.44 no.1. 1979 pg.75.
- 2.- ALUD M.D. V. VENUGOPAL, D.P.NERKAR AND P.M. NAIR. Bacterial Spoilage Profiles to Identify Irradiated Fish. Journal of Food Science. Vol.56 no. 2. 1991
- 3.- ATTOE E.L AND J.H VON ELBE. Oxigen Involvement in Betanine Degardation: effect of Antioxidants. Journal of Food Science vol.50 pg.06 1985.
- 4.- BELMONT LT. COL. S. EVANS JR. CMLC. An evaluation of Radiation Source as a means for processing Foods. Food Technology. December 1955.
- 5.- BILYK ALEXANDER. Extractive Fractionation of Betaïnes . Journal of Food Sience vo.44 1979 pag. 1249-1251.
- 6.- BILYK ALEXANDER, MYRON A. KOLODIJ AND GERALD M. SAPERS. Satabilization od red beet pigment with isoascorbic acid. Journal of Food Science vol.46 pag.1616 1981.
- 7.- BRANEN A. LARRY, MICHAEL DAVISON SEPPO SALMINEN. Food Additives. Ed Marcel Dekker INC 1990.
- 8.- BROWN L. THEODORE, H.EUGENE LEMAY, JR. Quimica La Ciencia Central.Prentice Hall.
- 9.- BRUHN H. CHRISTINE AND JONATHAN W. NOWLL. Consumer in-Stores Response to Irradiated Papayas.
- 10.- BURDITT A.K. JR, H.R MOFFITT. Efecos of gamma irradiation as a quarantine treatment on the development of cooling moth larvae. United States Department of Agriculture.
- 11.- BUSTOS RAMIREZ EMILIA, ROCABADO F. Irradiación de Alimentos. Memoria del Seminario Nacional realizado en México D.F. nov 1990. ININ.
- 12.- CLYDESDALE F.M. PH.D. AND F.J. FRANCIS PH.D. Food Colorimetry: Theory and Aplications. AVI 1975
- 13.- COLTEN E. AND ISRAEL SAGUY. Effect of Water Activity and Moisture Content on the Stability of Beef Powder Pigment. Journal of Food Science vol.48 1983 pg.703.
- 14.-DEKKER MARCEL, INC. Safety of Irradiate Foods. New York and Basel.
- 15.-DICKSON J.S AND R.B. MAXCY. Enumeration of Radiation-Resistant, Nonsporeforming Bacteria. Journal of Food Science. vol.50 1985.
- 16.- DRIVER A.G. AND FRANCIS F.J.Stability of Phytolaccanin, Betanin and FD and C red # 2 in dessert gels. Journal of Food Science vol.44 no.2 pag.518-520 1979.
- 17.- DZIEZAK D. JUDIE. Applications of Food Colorants. Food Technology, April 1987.
- 18.- ENGEL R.E. A.R POST AND R.C POST. Implementation of Irradiation of Pork For Trichina Control. Food Technology. July 1988.
- 19.- ESTRADA FLORES SILVIA. Estudio Técnico Económico para la Instalación de una planta de alimentos balanceados para camarón cultivado. Cuautitlan Izcalli. Edo. Mex. 1991.

20.- FARBSTOFF-KOMMISSION DFG DEUTSCHE FORSCHUNGSGEHEINSCHAFT. Farbstoffe für Lebensmittel. Zweite, bearbeitete Auflage, Germany 1988.

21.- FISZER W. J. ZABIELSKI. Preservation of Potatoes by Irradiation and Economic Considerations. Laboratory of Nuclear Methods in Agriculture. University of Agriculture. Poland.

22.- FOOD IRRADIATION NEWSLETTER. vol.15 no. 2 October 1991.

23.- FOOD TECHNOLOGY. INSTRUMENTATION FOR COLOR MEASUREMENT. APRIL 1987.

24.- FOOD COLORIMETRY: THEORY AND APPLICATIONS.

25.- FRANCIS F.J. Lesser-Known Food Colorantes. Food Technology. April 1987.

26.- GARCIA CASANOVA ZORAYDA, ZARAGOZA SANTAMARIA N.L. Estudio de la Estabilidad del colorante de la Cochinilla y su aplicación en alimentos. UNAM 1990.

27.- HASHISAKA A.E. J.R. MATCHES Y.BATTERS, F.P.HUNGATE AND F.M. DONG. Effects of Gamma Irradiation at -78 C on microbial Populations in Dairy Products. Journal of Food Science. vol.55 no.5 1990.

28.- HAYASHI TORU, ROSA BIAGIO, MASAYOSHI SAITO, SETSUKO TODORIKI AND MAKOTO TAJIMA. Effect of Ionizing radiation on sterility and functional qualities of Dehydrated Blood Plasma. Journal of Food Science. vol.56. no.1 1991.

29.- HILL G. CHARLES JR. AND RICHARD A. GRIEGER BLOCK. Kinetic Data: Generations interpretations and use. Food Technology February 1980 .

30.- HOLMES G. DAVID. Legal and Regulatory aspects of Dairy Ingredients used in Foods. Food Technology October 1982.

31.- HUANG A.S. AND J.H. VON ELBE. Kinetic of the Degradations and Regeneration of Betanine. Journal of Food Science vol.50 pag.115 1985.

32.- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES NUCLEARES, SECRETARIA DE SALUD, ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Irradiación de Alimentos, Memoria del seminario nacional realizado en México, D.F noviembre 1990.

33.- JAGUY.I., I.J.KOPELMAN AND S.MIZRAHI. Computer-Aided Determination of Beet pigments. Journal of Food Science vol.43 1978.

34.- JENKINS R.J., D.W. THAYER AND T.J. HANSEN. Effect of Low-Dose Irradiation and Post-Irradiation Cooking and Storage on the Thiamin Content of Fresh Pork. Journal of Food Science vol.54 no.6 1989.

35.- KADER ADEL. A. Potential Applications of Ionizing Radiation in Postharvest handling of Fresh Fruits and Vegetables. Food Technology. June 1986.

36.- KALAMN B. BKEKSSI. Introduction of Irradiation Technology into the Hunidian Food Industry. United State Department of Agriculture.

37.- KASSNER JAMES E. Modern Technologies in the Manufacture of Certified Food Colors. Food Technology.

38.- KATUSIN-RAZEN B. D. RAZEN, I.DVORNIK. Radiation Decontamination of dry Chamomile Flowers and Chamomile Extract. Yugoslavia.

39.- KAWAMURA YOKO, SADAU UCHIYAMA AND YUKIO SAITO. Improvement of the Half-embryo test for detection of Gamma-irradiated Grapefruit and its Applications to Irradiated Oranges and Lemons. Journal of Food Science vol.54 no. 6 1989.

- 40.- KIRN J.F., W.M.URBAIN, H.J. CZARNECKI. Characteristics of Electron-Irradiated Meats Stored at Refrigerator Temperatures. Food Technology. December 1956.
- 41.- KLINGER Y. Food Radiations in Israel and update.
- 42.- LABUZA T.P. AND D. RIBOLT. Theory and Applications of Arrhenius Kinetics to the Prediction of Nutrient Losses in Foods. Food Technology October 1982 pag.66.
- 43.- LASTARRIA-TAPIA H.J. N. SEQUEIROS. Efecto de la Radiación gamma en manzanas Delicias Almacenadas al medio ambiente y en refrigeración. Universidad Nacional Agraria. La Molina, Lima, Perú.
- 44.- LEBEPE S. R.A MOLINS, S.P CHARDEN, H. FARRAR IV AND R.P. SKOWRONSKI. Changes in Microflora and other Characteristics of Vacuum-Packaged Pork Loins Irradiated at 3.0 KGy. Journal of Food Science. Vol.55 no. 4 1990.
- 45.- LENZ M.K. AND LUND D.B. Experimental procedures for determining destruction kinetics of Food Components. Food Technology . February 1980 pg. 51.
- 46.- REINFRIEDE LIKER. In-vitro Pigment Production an alternative to color synthesis. Food Technology. april 1987.
- 47.- LODGE N. M.G. HOGG AND FLETCHER G.C. Gamma-Irradiation of Frozen Kiwifruit pulp. Journal of Food Science. vol 50 . 1985.
- 48.- MAHMOUD A.A., ROUSHDY H.H. Economic Evaluation of Radiation over Potatoes. IAFAS-271/6.
- 49.- MARKAKIS, PERICLES. Anthocyanins as Food colors. Food Science and Technology a Series of Monographs. Academic Press.
- 50.-MARTIN M.A., HOSSAIN M.N., AMIN M.R., RAHMAN S., ROKEYA B., AMALEK M. Pilot-scale studies on irradiation and storage of onions. Institut of Food and Radition Biology. Bangladesh Atomic Energy Commision. Dhaka, Bangladesh.
- 51.- MEGGOS HARRY N. Colors-Key Food Ingredients. Food Technology January 1984, pg 70-74.
- 52.- MOY J.H. Problems and Prospects of Irradiating Papaya. Department of Food Science and Human Nutrition. university of Hawaii at Manoa, Honolulu.
- 53.- M.O'MAHONY AND GOLDSTEIN L.R. Sensory Techniques for Measuring Differences in California Oranges Treated with doses of gamma-radiation. Journal of Food Science, vol 52, no 2. 1987.
- 54.- PASCH J.H. AND VON ELBE J.H. Betanine stability in Buffered solutions containing organic acids, metal cations antioxidants. Journal of Food Science, vol 44, no. 1 pag 72, 1979.
- 55.- PEDRERO L. DANIEL Y PANGBORD ROSE MARIE. Evaluación sensorial de los Alimentos. Métodos Analíticos. Ed Alhambra Mexicana.
- 56.- PRATT G.B. AND ECKLUND O.F. Organoleptic Studies of irradiated Foods. Food Technology, October 1956.
- 57.- PSZCZOLA DONALD E. Food irradiation counterfeiting the facts and claims of components. Food Technology. June 199-0 pg 92-97.
- 58.- RADCLIFFE F. ROBINSON. Some fundamentals of radioations sterilization. Food Technology. April 1954.

- 59.- RAO V.S. AND VAKIL U.K. Effects of gamma-radiation on cooking quality and sensory attributes of four legumes. Journal of Food Science. vol 50. 1985.
- 60.- REYES QUIROZ ROSSANA. Evaluación de la estabilidad y aplicación de una mezcla de colorantes de rojo Cochinilla y rojo no. 3. UNAM 1991.
- 61.- ROSS J. PHILLIP. Taguchi Techniques for Quality Engineering. McGraw-Hill International Editions. 1989, Singapore.
- 62.- ROSSE. Microbiología General. Ed Alhambra.
- 63.- ROSSETA L. NEWSOME OSPA SCIENCE ASSOCIATE. Perspective on food irradiation. Food Technology. February 1987.
- 64.- RYER ROBERT. Influence of radiation preservation of Foods on Military feeding. Food Technology. November 1956.
- 65.- SAPERS G.M. AND HORNSTEIN J.S. Varietal differences in colorant properties and stability of red beef pigments. Journal of Food Science. vol 44. pg. 1245-1248.1979.
- 66.- SHIH C.C AND WILEY R.C. Betacyanine and Betaxanthine Decolorizing enzymes in the Beet ( Beta vulgaris L. ) root. Journal of Food Science vol 47 pg 164. 1981.
- 67.- SINGER J.W. AND VAN ELBE J.H. DEgradation rates of vulgaxanthine. Journal of Food Science vol 45 pg. 489. 1980.
- 68.- TAYLOR R.J. Food Additives. Ed John Wiley and Sons.
- 69.- VAN DER LINDE H.J., BRODRICK H.T. Commercial Experience in introducing Radurized Foods to the South African Market. Chemistry Department. Nuclear Development Corporation of South Africa. prestonia South Africa.
- 70.- VOISINE RICHARD, GUY PARENT AND SAVOIEL LAURENT. Effect of gamma irradiation parameters on the In-Vitro digestibility of beta-lactoglobulin. Journal of Food Science Agriculture. vol 52 1990.
- 71.- WETZEL K., HUEBNER G., BAER H. Irradiation of onions spices and enzyme solutions in the German Democratic Republic. Zentralinstitut für Isotope und Strahlenforschung. Akademie der Wissenschaften der DDR, Leipzig German Democratic Republic.
- 72.- WILEY C. ROBERT, LEE YA-NIEN, SALADINI JOSEPH J., VYSS C. ROBERT AND TUPALIAN HARRY. Efficiency studies of a continuous diffusion apparatus for the recovery of Betalaines from the red table Beet. Journal of Food Science vol. 44 no. 1 pag 208 1979.
- 73.- WIRBICKI E. Technological and irradiation conditions on Chicken products used in USA army. United States Department of Agriculture.
- 74.- VOLTERS T.C., LANGERAK D.I., CURZIO O.A. AND CROI C.A. Irradiation Effect on Onion keeping-quality after Sea Shipment from Argentina to the Netherlands. Journal of Food Science. vol 55 no. 4. 1990.