



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**PROPIEDAD Y DETECCIÓN DE LUMINISCENCIA  
DE LA OSTRAS (*Crassostrea virginica*) MEXICANA  
IRRADIADA CON CESIO-137**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**KARINA GUADALUPE FAUSTINO FENTANEZ**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**                   **Profesor:** Juan Manuel Navarrete Tejero  
**VOCAL:**                           **Profesor:** Sofía Guillermina Burillo Amezcua  
**SECRETARIO:**               **Profesor:** Epifanio Cruz Zaragoza  
**1er. SUPLENTE:**           **Profesor:** Federico Nieto Pineda  
**2° SUPLENTE:**               **Profesor:** Bruno Christian Landeros Rivera

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

Laboratorio de Luminiscencia y Dosimetría en la  
Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica  
Instituto de Ciencias Nucleares UNAM

**ASESOR DEL TEMA:**

---

Dr. Epifanio Cruz Zaragoza

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

---

Dra. María Inés Gil Tolano

**SUSTENTANTE:**

---

Karina Guadalupe Faustino Fentanez

## **ÍNDICE GENERAL.**

RESUMEN .....	1
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 HIPÓTESIS: .....	5
1.2 OBJETIVOS: .....	6
1.2.1 Objetivo general:.....	6
1.2.2. Objetivos particulares: .....	6
1.3 Justificación.....	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	8
2.1. Generalidades de la ostra. ....	8
2.1.1. Propiedades nutricionales de las ostras.....	10
2.1.2. Riesgos sanitarios de ostras crudas. ....	11
2.1.3. Producción de ostras en México. ....	12
2.2. La radiación.....	15
2.2.1. La Radiación ionizante.....	16
2.2.2. El Cesio-137. ....	20
2.3. Irradiación de alimentos. ....	21
2.4. Detección de alimentos irradiados. ....	24
2.5. Regulación y Normatividad. ....	26
2.6. Fracción mineral de los alimentos. ....	27
2.6.1 Caracterización de la fracción mineral. ....	28
2.7. Defectos en los sólidos cristalinos. ....	29
2.8. La luminiscencia.....	31
2.9. Luminiscencia térmicamente estimulada (TL). ....	33
2.10. Luminiscencia fotoestimulada (PSL). ....	36
Capítulo III. METODOLOGÍA .....	38
3.1. Obtención de los poliminerales. ....	38
3.2 Caracterización de las muestras. ....	39
3.3 Irradiación de las muestras. ....	40
3.4 Medidas de termoluminiscencia (TL). ....	41
3.5 Medidas de luminiscencia fotoestimulada (PSL).....	42

3.6 Caracterización TL y PSL del sólido. ....	43
3.6.1 Limite de detección TL y PSL. ....	43
3.6.2 Reproducibilidad de la señal TL.....	43
3.6.3 Decaimiento de la señal TL y PSL (Fading).....	44
3.6.4 Blanqueo de la señal TL y PSL.....	45
3.7 Parámetros cinéticos calculados por el método de Levantamiento inicial (IRM). ....	46
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	49
4.1 Caracterización de la fracción inorgánica.....	49
4.2. Luminiscencia térmicamente estimulada (TL). ....	50
4.2.1. Límite de detección.....	50
4.2.2 Comportamiento termoluminiscente a diferentes dosis. ....	52
4.2.3. Efecto de la dosis en la respuesta TL. ....	58
4.2.4. Blanqueo térmico de las señales TL. ....	60
4.2.5. Blanqueo con lámpara Solar.....	63
4. 2.6. Reproducibilidad de las señales luminiscentes.....	64
4.2.7. Desvanecimiento de la señal TL por almacenamiento (fading).....	67
4.2.8. Parámetros cinéticos calculados por el Método de Levantamiento Inicial .....	70
4.3. Luminiscencia fotoestimulada (PSL). ....	72
4.3.1. Límite de detección y comportamiento de PSL de las muestras irradiadas. ....	72
4.3.2. Blanqueo con lámpara Solar.....	75
4.3.3. Fading.....	76
CONCLUSIONES.....	78
ANEXO.....	82
BIBLIOGRAFÍA. ....	83

## **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 2.1: Valor nutritivo de los principales moluscos capturados en México .....	11
Tabla 4.1: Límite de detección .....	52
Tabla 4.2: Intervalo de respuesta lineal TL .....	60
Tabla 4.3: Porcentaje de pérdida de la señal durante el fading.....	70
Tabla 4.4: Parámetros cinéticos calculados .....	73
Tabla 4.5: Resultados PSL de muestra irradiada a diferentes dosis. ....	74

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 2.1. Estructura de la ostra .....	9
Figura 2.2. Producción de moluscos bivalvos en América latina de 1980 a 2005	13
Figura 2.3: Participación porcentual de la producción de ostras en México .....	14
Figura 2.4. Ubicación de las lagunas de la Mandinga .....	15
Figura 2.5: Espectro electromagnético.....	16
Figura 2.6: Poder de penetración de los rayos $\alpha$ , $\beta$ y $\gamma$ .....	18
Figura 2.7: Mecanismo de pérdida de energía de los fotones gamma.....	19
Figura 2.8: Esquema de decaimiento del Cs-137.....	21
Figura 2.9: Símbolo internacional de irradiación .....	27
Figura 2.10: Defectos: vacantes e intersticiales .....	30
Figura: 2.11 Defecto: Antisitio .....	30
Figura 2.12 Defecto de Schottky y defecto de Frenkel .....	31
Figura 2.13: Mecanismo de fluorescencia y fosforescencia .....	33
Figura 2.14: Representación de niveles de energía del proceso TL. ....	36
Figura 3.1: Conchas de ostras <i>Crassostrea virginica</i> .....	38
Figura 3.1: Poliminerales obtenidos de la concha de ostra. ....	39
Figura 3.2: Irradiador Gamacell-300 de Cs-137. ....	40
Figura 3.3: Equipo Harshaw TLD 3500. ....	41

Figura 3.4: Equipo SUERRC PPSL.....	42
Figura 3.5: La lámpara Solar.....	45
Figura 3.6: Levantamiento inicial de una curva de brillo termoluminiscente.....	47
Figura 3.7: Aplicación del IRM a la porción del levantamiento inicial .....	48
Figura 4.1: Difractograma de poliminerales de ostra de tamaño de partícula $\leq 149$ $\mu\text{m}$ .....	50
Figura 4.2: Curvas de brillo (muestra A) de los poliminerales de la ostra sometidos a diferentes dosis .....	53
Figura 4.3: Curvas de brillo (muestra B) de los poliminerales de la ostra sometidos a diferentes dosis .....	54
Figura 4.4: Curvas de brillo (muestra C) de los poliminerales de la ostra sometidos a diferentes dosis .....	56
Figura 4.5: Curvas de brillo de TL para los tres tamaños de partícula, a dos dosis de 120 y 1.0 kGy.....	57
Figura 4.6: Respuesta TL de los poliminerales (Muestra A, B y C) en función de la dosis de exposición. ....	59
Figura 4.7: Respuesta lineal (4-2000 Gy) para las tres muestras A, B y C .....	60
Figura 4.8: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra (Muestra B1) sometidos a blanqueo térmico .....	61
Figura 4.9: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra (Muestra B2) sometidos a blanqueo térmico .....	62
Figura 4.10: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra expuestos a blanqueo con lámpara solar: Muestra B1 y Muestra B2.....	64
Figura 4.11: Curvas de brillo de la reproducibilidad de los poliminerales de la ostra irradiados a 1000 Gy: Muestra B1 y Muestra B2.....	65
Figura 4.12: Promedio de la respuesta TL de la muestra B1 y B2 de los poliminerales irradiados a 1 kGy .....	65
Figura 4.13: Curvas de brillo de la reproducibilidad los poliminerales de la ostra, irradiados a 1000 Gy y sometidos a tratamiento térmico de 250°C por 3 minutos: Muestra B1 y Muestra B2.....	66
Figura 4.14: Promedio de la respuesta TL de la muestra B1 y B2 de los poliminerales irradiados a 1 kGy y sometidos a tratamiento térmico de 250°C por 3 minutos .....	67
Figura 4.15: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra (Muestra B1') durante el fading.....	68

Figura 4.16: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra (Muestra B2') durante el fading.....	69
Figura 4.17: Determinación de la energía de activación de la muestra B1. ....	71
Figura 4.18: Determinación de la energía de activación de la muestra B2. ....	71
Figura 4.19: Emisión fotoluminiscente (PSL) de conchas de ostra. Cuentas por ciclo en función del tiempo. ....	74
Figura 4.20: Repeticiones de medidas PSL a 550 Gy.....	74
Figura 4.21: Emisión PSL de ostra pulverizada expuesta a blanqueo con lámpara Solar: a) Muestra D1 y c) Muestra D2). Repuesta PSL en función del tiempo: b) Muestra D1 y d) Muestra D2. ....	76
Figura 4.22: Emisión de la señal PSL por fading: a) Muestra D1 y c) muestra D2. Decaimiento de la respuesta PSL en función del tiempo: b) muestra D1 y d) muestra D2.....	77

## RESUMEN

En esta tesis se analizaron las propiedades de termoluminiscencia (TL) y de luminiscencia fotoestimulada (PSL) de la fracción inorgánica presente en la concha de la ostra Mexicana (*Crassostrea virginica*) proveniente de la laguna de la Mandinga, Veracruz, de alto consumo en México.

Para el análisis por el método de termoluminiscencia es necesaria la extracción de polimineraleos contenidos en las conchas de ostras. En este trabajo se propone una metodología con lo que se obtiene un buen rendimiento de la fracción inorgánica. Se usó la Difracción de Rayos X para identificar la composición química de la concha de ostra.

Para las medidas termoluminiscentes (TL) se trabajó con polimineraleos de diferentes tamaños:  $\leq 74$ ,  $\leq 149$  y  $\leq 250$   $\mu\text{m}$ . Antes de irradiar las muestras, se realizaron medidas de fondo, las cuales se utilizaron para determinar el límite mínimo de detección, para la muestra con partículas  $\leq 74$   $\mu\text{m}$  fue 60 Gy, mientras que para las muestras de tamaños  $\leq 149$  y  $\leq 250$   $\mu\text{m}$  fue a 40 Gy. Las muestras se expusieron a radiación gamma de  $^{137}\text{Cesio}$  en el irradiador Gamacell-3000 y se realizaron medidas de dosis-respuesta de 4 a 5000 Gy. Las curvas de brillo obtenidas presentan al menos cuatro picos en las temperaturas 120, 172, 279 y 385 °C. El intervalo fue lineal de 4-2000 Gy para la dosis en función de la respuesta TL. Todas las medidas TL se realizaron en un equipo Harshaw 3500 TL.

Se llevaron a cabo las medidas de pérdida de la respuesta TL por almacenamiento (Fading), blanqueo térmico, blanqueo óptico con lámpara Solar y reproducibilidad TL. Se usó el un tamaño de partícula  $\leq 149$   $\mu\text{m}$ , debido a que se observó el mejor comportamiento en las medidas de respuesta termoluminiscente. Para estas medidas TL, las muestras se expusieron a 1000 Gy, siendo una dosis adecuada para la irradiación de alimentos como las ostras, que se sabe reduce considerablemente la carga de microorganismos patógenos sin cambios de olor,

sabor y apariencia (Jakabi, *et al.*, 2002).

En el caso de la luminiscencia fotoestimulada (PSL), se utilizaron las conchas pulverizadas sin lavado con ácido clorhídrico, de igual forma se expusieron a radiación gamma de  $^{137}\text{Cs}$ . Las muestras fueron irradiadas a dosis de 10 Gy a 3.0 kGy y se midió su respuesta en un equipo SURRC PSSL. Se determinó el límite de detección con resultado positivo de 5424 cuentas totales. Se realizó medidas de decaimiento de la señal por almacenamiento y blanqueo óptico con lámpara Solar y las muestras inicialmente fueron irradiadas a 700 Gy.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede decir: i) la fracción inorgánica presente en las conchas de la ostra tienen propiedades termoluminiscentes y de luminiscencia fotoestimulada que son útiles para la identificación de este tipo de alimentos después de haber sido sometidos a irradiación, además de que este tratamiento es adecuado para la sanitización de alimentos de origen marino, ii) la respuesta TL en un amplio intervalo de dosis puede ofrecer la identificación tanto a dosis bajas como altas gracias a la presencia de los iones impurezas presentes en la red de la fracción inorgánica de la ostra.

El contenido de esta tesis se divide en cuatro capítulos, en el primero se presentan los objetivos, hipótesis y justificación de este trabajo. En el capítulo dos se habla sobre generalidades de las ostras, la irradiación y conceptos para entender los fenómenos de termoluminiscencia y luminiscencia fotoestimulada. En el tercer capítulo, se describe la metodología utilizada para la extracción de la fracción inorgánica, las condiciones de irradiación de los poliminerales, así como de los métodos utilizados para la detección de alimentos irradiados. Al final, en el cuarto capítulo se analizan los resultados obtenidos de la caracterización termoluminiscente y de luminiscencia fotoestimulada, y se termina con una revisión de la bibliografía sobre la irradiación de alimentos y en particular sobre la ostra.

# CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El término radiación se refiere normalmente a la radiación electromagnética; ésta se clasifica de acuerdo con la energía y frecuencia. Cuando se refiere a irradiar un alimento, se expone el mismo a una fuente emisora de radiación ionizante, tales como los fotones gamma, de electrones acelerados o rayos X. Durante este proceso, el alimento no se calienta, como ocurre cuando se somete a microondas, ni retiene radiación y tampoco se vuelve radiactivo y no daña la salud de quien lo consume. La ventaja principal de la irradiación de alimentos es que destruye a las bacterias nocivas y otros microorganismos que pueden producir intoxicaciones alimentarias (EUFIC, 2016). La finalidad de la irradiación comercial es esencialmente lograr la esterilización y/o alargar la vida de anaquel de un alimento, que redunde en beneficio de mejora higiénico-sanitario y en ahorro económico para su preservación.

La irradiación cada vez cobra mayor importancia en los países desarrollados o países con dificultades climatológicas para la producción agrícola, actualmente hay muchos alimentos que son sometidos a este proceso, desde especias, frutas, verduras y productos pesqueros. Dentro de estos últimos, se encuentran las ostras, que son moluscos bivalvos, se caracterizan por tener un cuerpo blando encerrado en dos valvas calcáreas (Sevilla, 1993). Este alimento constituye uno de los más balanceados ya que proporciona vitaminas A, B, C y D, así como fosfatos, cloruros, sales de magnesio, carbohidratos y proteínas en cantidades considerables (Guerrero, 2009). El consumo de ostras es principalmente en crudo o semicrudo, tanto en la Comunidad Europea como en Estados Unidos y Canadá, así como en otros países no se recomienda consumirlas crudas pues es muy probable que contengan microorganismos patógenos tales como *Escherichia Coli*, *Salmonella spp.* y *Vibrio spp.* (Gardner y Watts, 1957; Brands, *et al.*, 2005; Plaza y Gabriele, 2008; Wright, *et al.*, 2009; Martínez-Urtaza, *et al.*, 2010) que están asociados a enfermedades gastrointestinales, infecciones e incluso la muerte de los consumidores (Thupila, *et al.*, 2011; CDC, 1993). El riesgo sanitario por el consumo de ostras se debe

principalmente a la bacteria *Vibrio vulnificus* que se encuentra mayormente en los meses de verano debido al calor en las masas de agua.

En cuanto a producción de ostras, México ocupa el cuarto lugar en América Latina después de Chile, Brasil y Perú (FAO, 2008). Las ostras se encuentran posicionadas en el lugar 6 de la producción pesquera en México, en las exportaciones se encuentran en el lugar número 23 siendo Estados Unidos de América su principal destino (SAGARPA, 2013). La ostricultura se realiza en el Pacífico y Golfo de México, de todas las especies de moluscos de gran potencial acuícola destacan el ostión Japonés *Crassostrea gigas* y el ostión del Océano Pacífico *Crassostrea corteziensis* y el del Golfo de México *Crassostrea virginica*.

Al ser utilizada la irradiación alimentos es importante su detección, existen diferentes métodos tales como: físicos, químicos, biológicos y microbiológicos y del ADN (IAEA, 1991, 2000a, 2000b). Algunos de los métodos físicos son los basados en la luminiscencia, cuando el calor es la fuente para estimular la emisión de luz se le llama termoluminiscencia (TL). Este está basado en la detección de la luz emitida por los minerales presentes en el alimento, donde la estructura de las curvas de brillo y la respuesta TL dependen de la composición del polimineral (Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012a corregido; Gómez-Ros, *et al.*, 2006; Correcher, *et al.*, 2004). La TL es ampliamente aplicada para la identificación de productos alimenticios irradiados tales como hierbas, especias, frutas, verduras y algunos tipos de mariscos (Furetta, 2003; EN 1788, 2001; Sanderson, *et al.*, 1989; MAFF, 1993; Carmichael y Sanderson, 2000; Beneitez, *et al.*, 1994; Gómez-Ros, *et al.*, 2006; Guzmán, *et al.*, 2011). En las cochas de ostras generalmente hay poliminerales como la calcita, y debido a su entorno medioambiental puede contener cuarzo y feldespato, los cuales presentan propiedades termoluminiscentes. Cuando la luz infrarroja (IR) estimula la liberación de fotones (producto de la desexcitación de los electrones y recombinación de defectos en el material) se le llama luminiscencia fotoestimulada (PSL), para este análisis se considera el alimento completo.

En este trabajo de tesis, se estudiaron la respuesta TL y PSL de los minerales extraídos de conchas de ostras irradiadas en el intervalo de 0.004 a 5.0 kGy y de 0.01 a 3.0 kGy, respectivamente. Se obtuvo una curva de de brillo compleja que puede ser atribuido a una distribución compleja de subniveles de trampas en el gap. Los parámetros cinéticos, tales como la energía de activación ( $E$ ) y el factor ( $s$ ) de frecuencia de las trampas responsable de la emisión TL se evaluaron usando el modelo cinético de primer orden y el método de levantamiento inicial (IRM). Además, se estudiaron los efectos de Fading, tratamiento térmico y óptico, sobre la respuesta TL y PSL para investigar la posibilidad de detectar el alimento irradiado.

## **1.1 HIPÓTESIS:**

La fracción inorgánica presente en la concha de la ostra Mexicana (*Cassostrea virginica*) guardan información que ayuda a identificar si la muestra ha sido expuesta a radiación gamma. Se generan defectos en su estructura cristalina y mediante la estimulación con calor (termoluminiscencia) o luz (luminiscencia fotoestimulada) pueden lograrse recombinaciones principalmente de los pares electrón-hueco para producir fotones luminosos.

## 1.2 OBJETIVOS:

### 1.2.1 Objetivo general:

Medir y analizar la respuesta termoluminiscente y de luminiscencia fotoestimulada de la fracción inorgánica presente en las conchas de ostras expuestas a radiación gamma de  $^{137}\text{Cs}$ .

### 1.2.2. Objetivos particulares:

- Extraer los poliminerales presentes en las conchas de las ostras encontrando una metodología adecuada.
- Identificar la composición química de la fracción inorgánica extraída de las conchas de ostras utilizando Difracción de Rayos X.
- Analizar las medidas de respuesta termoluminiscente (TL) y de luminiscencia fotoestimulada (PSL)
- Para las medidas termoluminiscentes: determinar el límite de detección, pérdida de respuesta TL por almacenamiento, reproducibilidad de las señales, blanqueo térmico y solar.
- Para las medidas de luminiscencia fotoestimulada: determinar el límite de detección, pérdida de la respuesta por almacenamiento y blanqueo solar.
- Analizar el comportamiento de las curvas de brillo termoluminiscentes y de luminiscencia estimulada

### 1.3 Justificación.

Dentro de los productos pesqueros de mayor consumo y producción en México se encuentran las ostras, un molusco bivalvo con importantes propiedades nutrimentales además de un buen sabor. Las ostras se alimentan del agua del lugar en el que se desarrollan por lo que muchas veces pueden contener microorganismos patógenos como la bacteria *Vibrio vulnificus* lo cual representa una grave amenaza de infección, capaz de causar problemas de salud pública y hasta mortal para el consumidor. Por lo anterior es importante cuidar la inocuidad de este alimento implementando procesos de sanitización, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Food and Drug Administration (FDA) recomiendan el uso de la radiación como una tecnología aprobada para el tratamiento de alimentos crudos como la ostra. Sin embargo, la FDA no ha sugerido un método de identificación de la ostra irradiada, en cambio la Comunidad Europea ha adoptado claramente una norma (EN13751, 2002) para usar el método físico de PSL y de TL en alimentos con contenido de feldespatos y cuarzos. De aquí la importancia de desarrollar metodologías de obtención de la fracción inorgánica del alimento y de mejorar los métodos luminiscentes aplicables al alimento Mexicano.

La radiación gamma es un método efectivo que además de reducir la carga microbiana permite alargar la vida de anaquel, situación que es muy ventajosa frente a otros métodos como el ahumado, salación, o lavados con agua caliente. En México no existe un control de detección sobre los alimentos irradiados por lo que es importante su estudio. En esta tesis se propone el uso del método de termoluminiscencia y luminiscencia fotoestimulada para la identificación de alimentos sometidos a este proceso, en particular, el caso de la ostra de origen Mexicano.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.

En este capítulo se describen características de la ostra, su valor nutricional, la producción en México. Así como la importancia de la irradiación de alimentos, en especial de los productos pesqueros debido a los microorganismos patógenos que estos pueden contener. En este caso se utilizó un irradiador con una fuente emisora de fotones gamma de  $^{137}\text{Cs}$ .

Se resumen los métodos de detección para alimentos irradiados; en este trabajo de tesis se utilizó la termoluminiscencia (TL) y la luminiscencia fotoestimulada (PSL). Con el primer método se utiliza la fracción inorgánica separada del alimento mientras que con el segundo, se puede trabajar con el alimento entero; también se describen los conceptos necesarios para poder entender estos fenómenos.

### 2.1. Generalidades de la ostra.

Los bivalvos son uno de los seis grupos de animales que forman *phylum molusca*, se caracterizan por tener un cuerpo blando encerrado en dos valvas calcáreas. En algunos miembros del phylum la capacidad de movimiento es limitada y depende de un solo pie extensible, las ostras en particular no lo tienen y una vez finalizado el estado larvario pierden su movilidad.

Las ostras son moluscos bivalvos sedentarios, carecen de sifones y presentan una marcada asimetría ante la porción anterior y posterior, su estructura se muestra en la figura 2.1. Cuando llegan a la etapa adulta se desarrollan sobre un sustrato más o menos firme adheridas a las raíces de los mangles, rocas, piedras o bien a restos de otros organismos. Para el estudio anatómico de las ostras, *Stenzel* (1991) divide su cuerpo en dos porciones de la siguiente manera:

- Masa visceral: se extiende desde la charnela hasta el musculo aductor, contiene todos los órganos y aparatos del ostión entre los que se encuentran el aparato digestivo, excretor, reproductor, músculos, sistema nervioso, circulatorio.

- Branquias-manto-concha: constituida por material calcáreo que protege a las partes blandas del ostión.



**Figura 2.1: Estructura de la ostra.**

La concha es una de las características más sobresalientes de los moluscos, la cual tiene una composición química y cuyo contenido mineral inorgánico es de gran interés para el desarrollo de este trabajo de tesis. El mecanismo de formación de estas se describe a continuación: las conchas están constituidas por dos capas, una superficial no calcificada, denominada periostraco y la porción calcificada, constituida por el mesostraco e hipostraco, siendo su composición química de carbonato de calcio. El mesostraco está constituido por cristales de aragonita, mientras que el hipostraco puede estar compuesto por cristales de calcita, aragonita o ambos. Estos cristales de diferentes formas dan a las conchas diferencias en dureza y textura.

Las conchas se forman a partir del borde del manto, el cual está constituido por tres pliegues. El pliegue externo se encarga de la formación de la capa externa de la concha formada por proteínas con textura coriácea que varía de fina película casi imperceptible hasta gruesa capa con ornamentación que llega a ocultar totalmente la estructura de la porción calcificada.

El segundo pliegue se encarga de secretar una matriz o base orgánica, la cual actúa como sustrato de fijación para los cristales de carbono de calcio. El tercer pliegue y la pared interna del manto se encargan de la liberación de gránulos de materia orgánica, de material proteico soluble y del control de la composición química del líquido paleal (Aldana y Baqueiro, 1995).

### **2.1.1. Propiedades nutricionales de las ostras.**

La utilización de las ostras en la alimentación humana data de la época prehistórica cuando el consumo del alimento dependía fundamentalmente de su abundancia, accesibilidad y sabor en crudo. Existen evidencias de su uso por el hombre al encontrar sus conchas en hacimientos de basura de esa época localizados en Dinamarca, Francia, Portugal, entre otros lugares. También los griegos y romanos incluían ostras en sus banquetes, las cuales eran consideradas verdaderas exquisiteces alimenticias.

En México, de acuerdo con informes verbales y por restos encontrados se infiere que los antepasados que habitaban en la zona costera incluían ostras en su alimentación (Sevilla, 1993).

Este alimento ha adquirido mayor importancia, incorporándose a la dieta y aumentando su consumo. Esto se debe a sus cualidades alimenticias, constituyendo uno de los alimentos más balanceados pues proporcionan vitaminas A, B, C y D, así como fosfatos, cloruros, sales de magnesio, compuestos glicerofosfóricos, carbohidratos y proteínas en cantidades considerables y de fácil digestión pues, en comparación con la carne de res que tiene proteína digerible en 63%, la de las ostras se digiere al 100% (Guerrero, 2009).

*Nilson y Coulson* (1939) señalan que las ostras son una fuente de hierro, cobre y yodo, sólo por debajo del contenido en el hígado de res y de cerdo. Por otro lado, al comparar las ostras con la leche, los citados autores refieren que en cantidades equivalentes se encontró que las ostras y otros mariscos proporcionan la mitad de calcio (Ca), cinco veces más la cantidad de magnesio (Mg) y más fósforo (P). Además, contienen en su tejido muscular importantes niveles de arginina y ácidos aspártico y glutámico libres, en mayor cantidad que los que se

encuentran en el pescado. Con toda esta variedad de nutrimentos, la ostra se ubica como un excelente alimento del humano.

En la tabla 2.1 se muestra una comparación del valor nutritivo de los principales moluscos capturados en México; se observa que las ostras tienen un contenido bajo de grasa y que la cantidad de calcio y hierro son mayores con respecto a las demás especies.

**Tabla 2.1. Valor nutritivo de los principales moluscos capturados o producidos en México (Guerrero, 2009).**

Especie	Porción comestible	Calorías	Proteínas (g)	Grasa (g)	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Hierro (mg)
Calamar		78	16.40	0.90	12	119	0.50
Ostra	1.0	42	6.30	0.40	147	85	8.42
Pulpo	0.75	72	12.60	2.00	39	109	2.53
Sepia	0.75	74	14.02	1.47			
Almeja	1.0	74	10.17	2.53			

Base: 100 g

### 2.1.2. Riesgos sanitarios de ostras crudas.

Las ostras se han convertido en uno de los alimentos preferidos por los consumidores, sin embargo, su consumo es principalmente en crudo o semi-crudo lo cual pone en alto riesgo la salud del consumidor debido a que las ostras pueden contener alta carga de microorganismos patógenos por lo que se tiene el riesgo de adquirir enfermedades graves o morir (Thupila, *et al.*, 2011; CDC, 1993).

Este riesgo se debe principalmente a que las ostras se alimentan al filtrar el agua del área circundante, donde la microflora prolifera ya que no hay un control de la calidad de esta y donde también hay vertidos de diversos contaminantes de origen riesgosos. Consecuentemente concentran patógenos en sus tejidos; al consumir estos moluscos contaminados, crudos o con poca cocción, las bacterias ingresan al tubo digestivo y se multiplican rápidamente en el cuerpo humano (Guerrero, 2009).

El principal riesgo sanitario por el consumo de ostras se debe a la bacteria *Vibrio vulnificus* que se encuentra mayormente en los meses de verano en las áreas costeras cálidas, tal como el Golfo de México. *Vibrio vulnificus* se encuentra en concentraciones más altas durante los meses de verano, cuando el agua está más caliente (FDA, 2006) y se vuelve un medio muy adecuado para su proliferación. Se ha estimado que de abril a octubre de cada año, el 40 % o más de los ostiones capturados en las costas del Golfo de México pueden contener a este patógeno (Parker y Maurer, 1994).

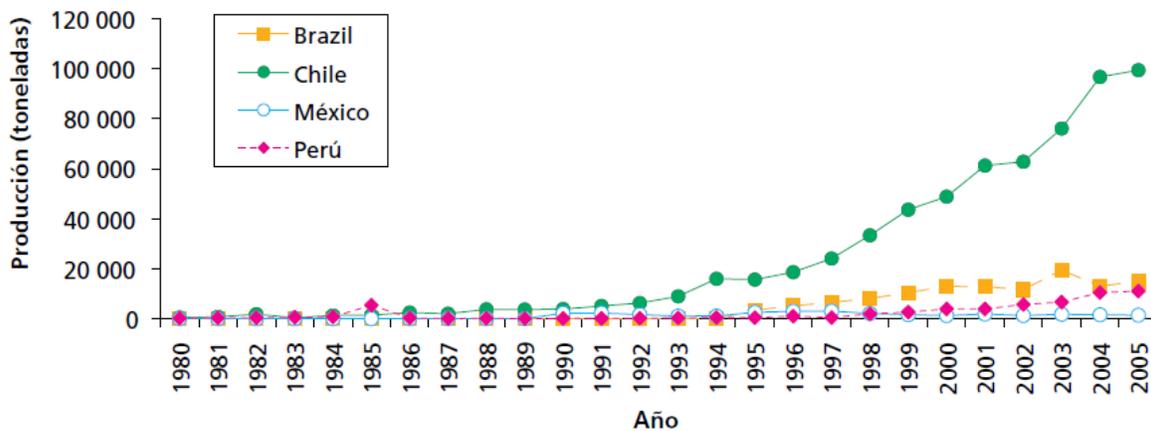
Así también debido a su gran capacidad para concentrar microorganismos presentes en el agua los moluscos podrían transformarse en un foco de infección productores de hepatitis u otras enfermedades. Este peligro surge cuando hay coliformes en el agua, que suelen proceder de descargas de aguas negras o de inundaciones.

En cuanto a *Crassostrea virginica*, uno de los principales agentes patógenos es *Perkinsus marinus*, siendo la perkinosis una infección de los moluscos de mar. Es un protozoario que se distribuye geográficamente desde Massachusetts hasta las costas de Venezuela, Puerto Rico y Cuba, pasando por el Golfo de México (Guerrero, 2009).

### **2.1.3. Producción de ostras en México.**

Los moluscos representan en la acuicultura marina uno de los grupos más importantes desde el punto de vista productivo y económico. Las actividades acuícolas desde hace varios decenios, han estado enfocadas al cultivo de especies de elevado interés productivo o de precio alto en el mercado como es el caso de las ostras.

Como se puede observar en la figura 2.2, en la producción de ostras, México ocupa el cuarto lugar en América Latina después de Chile, Brasil y Perú (FAO, 2008).

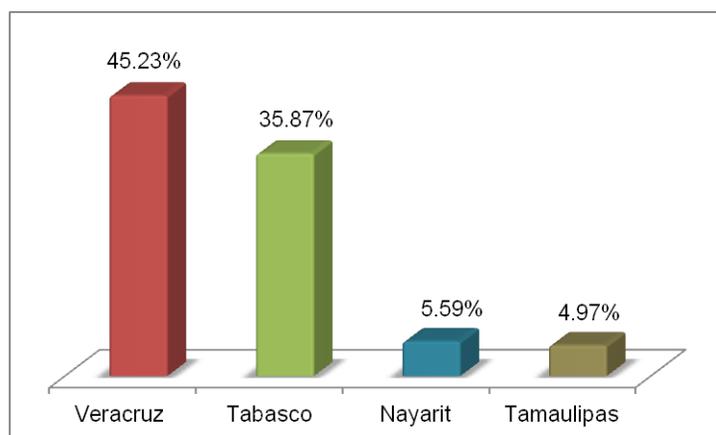


**Figura 2.2: Producción de moluscos bivalvos en América latina de 1980 a 2005. Fuente: FAO**

En México, la ostra por su volumen se encuentra posicionada en el lugar 6 de la producción pesquera, la tasa media de crecimiento anual de la producción es de 1.17%. En las exportaciones se encuentran en el lugar número 23 de las especies pesqueras y sus principales destinos son Estados Unidos de América, Hong Kong y Corea del Sur (SAGARPA, 2013).

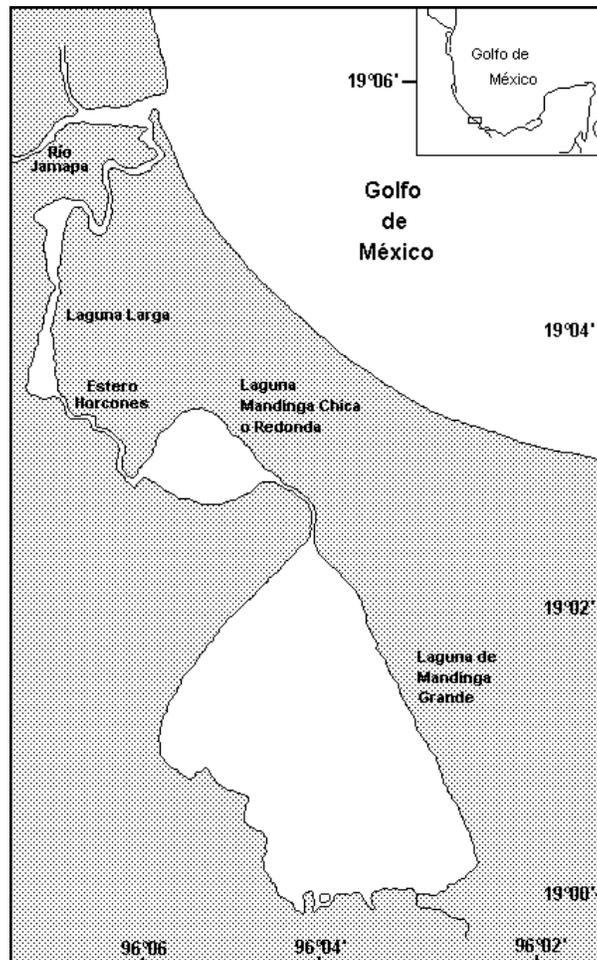
Es importante mencionar que actualmente uno de cada seis productos alimenticios se importan para su consumo en Estados Unidos. En el caso de productos marinos ha alcanzado hasta 80% y frutas frescas hasta 50%, así como hortalizas frescas, té, cacao y café. Estos datos hacen atractiva la exportación de productos Mexicanos hacia el mercado norteamericano, pero México sigue rezagado en tecnología competitiva de tratamientos de sanitización para los alimentos, principalmente los de origen marino.

La ostricultura se realiza en el Pacífico y Golfo de México, de todas las especies de moluscos de gran potencial acuícola destacan el ostión Japonés *Crassostrea gigas* y el ostión *Crassostrea corteziensis* para el Pacífico; *Crassostrea virginica* para el Golfo. En México es el Estado de Veracruz tiene la mayor producción de ostras con participación porcentual de 45.23 % (Figura 2.3)



**Figura 2.3: Participación porcentual de la producción de ostras en las principales entidades.**  
**Fuente: SAGARPA**

Debido a que Veracruz es el principal estado productor de ostras, para esta Tesis se utilizaron las provenientes de la laguna de la Mandinga, en la figura 2.4 se observa la ubicación de esta laguna entre 19° 00' y 19° 06' de latitud norte y los meridianos 96° 02' y 96° 06' de longitud oeste. El sistema lagunar tiene una orientación norte-sur en tanto que la costa cercana adopta una dirección noroeste-sureste, conformando la punta de Antón Lizardo. Hacia el noroeste las lagunas se separan del mar por una barrera de médanos. La laguna está asociada al río Jamapa, el cual nace con los deshielos del Pico de Orizaba, recorre 150 km; corre de oeste a este y recibe varios afluentes de los ríos *Huatusco*, *Cotaxtla*, *Totolapan*, y finalmente desemboca en el Golfo de México, en el lugar conocido como Boca del Río próximo a la Ciudad de Veracruz (Investigación UAM-I, [investigacion.izt.uam.mx/ocl/VERACRUZ/Lmandinga.doc](http://investigacion.izt.uam.mx/ocl/VERACRUZ/Lmandinga.doc)).

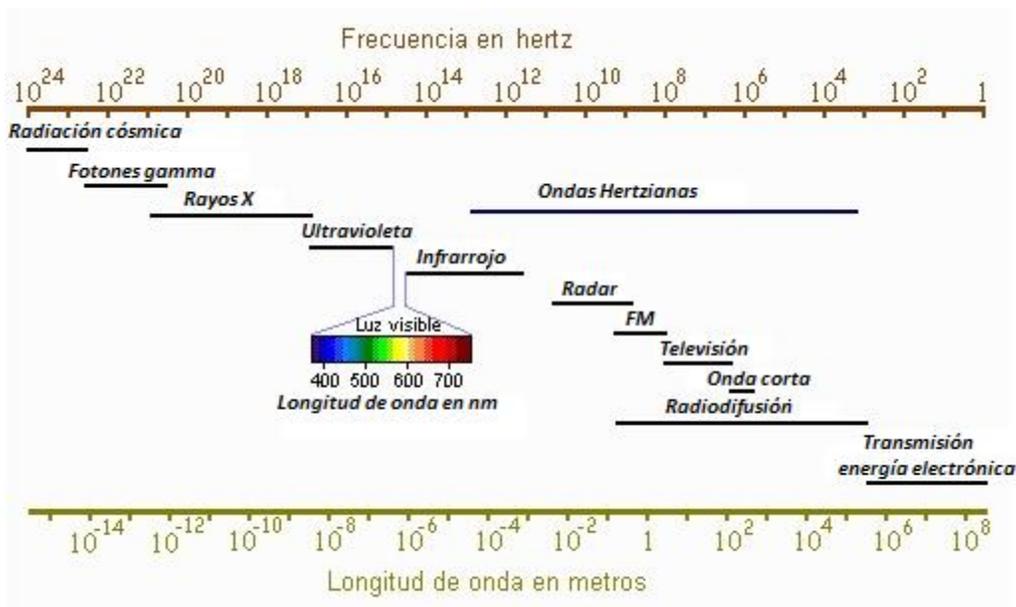


**Figura 2.4:** Ubicación de las lagunas de la Mandinga: mandinga grande y mandinga chica.

## 2.2. La radiación.

La radiación puede ser considerada como la emisión y propagación de energía a través del espacio o de un medio material en forma de ondas o de partícula; por ejemplo, la emisión de ondas electromagnéticas, de luz, etc. El término radiación o energía radiante se refiere normalmente a la radiación electromagnética ionizante y no ionizante. Se le clasifica de acuerdo a la frecuencia; ondas de radio, microondas, infrarrojo, visible, UV, ultravioleta, rayos X y fotones y (Morton, 1997).

Los diferentes tipos de energía se representan en el espectro electromagnético (figura 2.5) el cual es una ordenación de los diferentes tipos de radiación, abarca un intervalo enorme de longitudes de onda y de frecuencias (Skoog, 2001).



**Figura 2.5: Espectro electromagnético.**

La mayoría de los intervalos del espectro electromagnético son de uso en nuestra vida diaria. Así por ejemplo, la región de microondas viene siendo ampliamente utilizada para calentar alimentos y bebidas. La industria alimentaria utiliza frecuentemente la región ultravioleta (UV) para esterilizar o minimizar efectos microbiológicos. Los rayos X y foton gamma son generalmente utilizados en medicina como ayuda en tratamiento médico que evita la intervención directa de cirugía y que representa una gran ayuda en cualquier diagnóstico clínico.

También los foton gamma y los rayos X son utilizados para irradiar alimentos con el objetivo de esterilizar y/o alargar la vida de anaquel y pueden retrasar procesos de maduración o aniquilando microorganismos encargados de la putrefacción, etc.

### 2.2.1. La Radiación ionizante

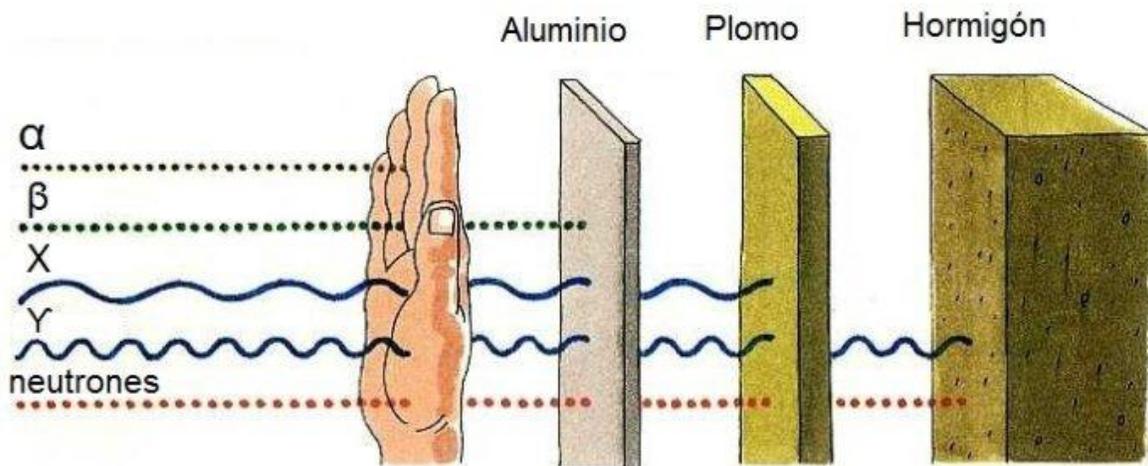
La radiación que emiten los materiales radiactivos puede producir ionizaciones, motivo por el cual se llaman radiaciones ionizantes, debido a la suficiente energía para provocar electrones libres y también la excitación de los átomos de la materia que interactúan con la radiación.

En un material o fuente radiactiva, los átomos se desintegran al azar y en ese proceso se emite la radiación, y según el caso, pueden ser de varios tipos y de energías distintas desde keV hasta millones de electronvoltios. Cuando la radiación atraviesa la materia, deja a los átomos excitados y ionizados a lo largo de su trayectoria. Incluso una cantidad pequeña de ionización, dependiendo de la energía, puede perturbar un sistema delicado como una célula viva que se le puede provocar ionización y excitación con rompimiento posible de su información genética (Kane y Sternheim, 1989)

Las radiaciones emitidas por un núcleo radiactivo son de 4 tipos: partículas  $\alpha$ , partículas  $\beta$ , neutrones y radiación  $\gamma$  (Navarrete y Cabrera, 1993).

- Partículas alfa: constituidas por el aglutinamiento de dos protones y dos neutrones, parecida a un núcleo de helio.
- Partículas beta: se producen por la transformación de un protón en un neutrón en un núcleo, tienen carga.
- Fotones gamma: cuantos de energía electromagnética moviéndose a la velocidad de la luz, sin carga.
- Neutrones: partículas pesadas y sin carga, ionizan de manera indirecta.

Las partículas  $\alpha$ ,  $\beta$  y fotones  $\gamma$  tienen diferentes niveles de energía y difieren en su capacidad para penetrar materiales. Si para comparar damos el valor de 1 al poder de penetración de las partículas  $\alpha$ , las partículas  $\beta$  tendrían un valor de 100 y los fotones  $\gamma$  tendrían un valor de 10,000. Mientras las partículas alfa apenas penetran las capas superficiales de la piel, las partículas beta pueden penetrar desde una fina hoja de papel hasta el grosor de un dedo de tejido vivo, dependiendo de la energía de esas partículas. Los fotones gamma, son tan energéticos que solo pueden ser detenidos por una pesada hoja de plomo o varios metros de agua u hormigón o concreto de alta densidad (figura 2.6).



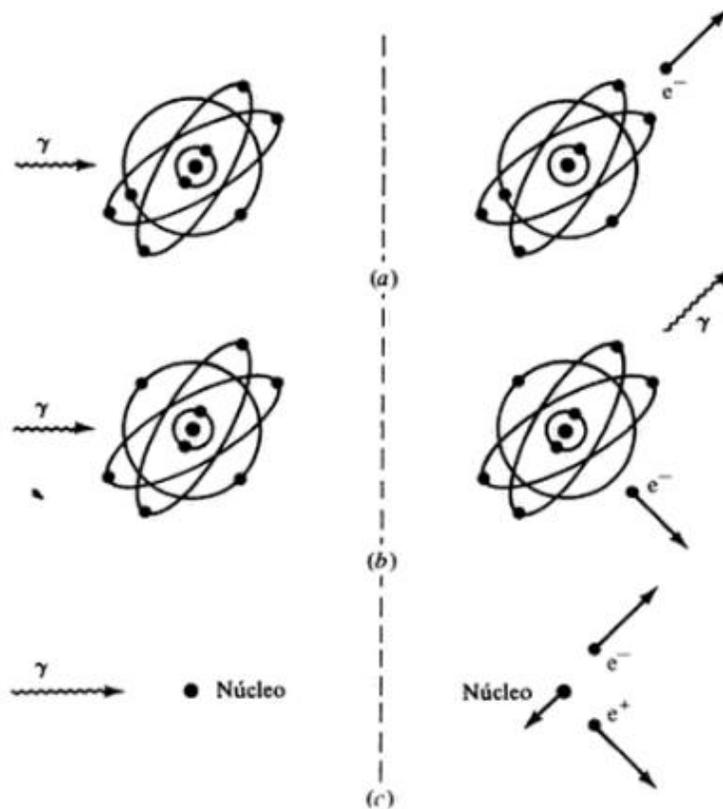
**Figura 2.6: Poder de penetración de las partículas  $\alpha$ ,  $\beta$ , fotones  $\gamma$  y neutrones.**

En este trabajo son de interés los fotones gamma por lo que a continuación se describen algunos aspectos.

Los fotones gamma, no tienen masa ni carga y son emitidos desde el núcleo de un átomo radiactivo natural o artificial. No producen directamente ionización apreciable; en vez de ello, interactúan y ceden energía a los electrones, los cuales a su vez producen la ionización, por consiguiente tienen una gran penetración en la materia.

Los fotones gamma tienden a transferir energía a los electrones mediante tres procesos principalmente (figura 2.7): el efecto Fotoeléctrico, el efecto Compton y la Producción de Pares, los cuales se explican brevemente a continuación.

*-Efecto Fotoeléctrico:* para los fotones gamma con energías inferiores a 0.1 MeV, el proceso más importante es el efecto fotoeléctrico. Consiste en que el fotón se encuentra con un electrón del material y le transfiere toda su energía, desapareciendo el fotón original. El electrón secundario adquiere toda la energía del fotón en forma de energía cinética, y es suficiente para desligarlo de su átomo y convertirlo en proyectil. Este proceso es más probable para los electrones de capas internas y para átomos de número atómico elevado.



**Figura 2.7: Mecanismo de pérdida de energía de los fotones gamma. (a) Efecto fotoeléctrico, el fotón  $\gamma$  es absorbido por un átomo y es expulsado un electrón de una capa interna. (b) Efecto Compton, parte de la energía y el ímpetu son transferidos a un electrón atómico. (c) Producción de pares, el fotón  $\gamma$  desaparece, generándose un par electrón-positrón, parte del ímpetu es transferido al núcleo. (Kane y Sternheim, 1989).**

- *Efecto Compton*: a energías de aproximadamente 1 MeV, predomina el efecto Compton; esto es una colisión fotón-electrón en la que el fotón gamma transfiere parte de su energía a un electrón atómico.

-*Producción de Pares*: a energías superiores a 1 MeV, es posible que el fotón gamma produzca un par electrón-positrón. Esto puede ocurrir en las proximidades de un núcleo cuando la energía del fotón gamma es mayor que la masa total de las dos partículas.

La probabilidad de absorción de los fotones gamma disminuye habitualmente cuando crece la energía. Por consiguiente, a medida que aumenta la energía del foton gamma, la absorción se hace más lenta y la radiación se hace más penetrante o más dura (Kane y Sternheim, 1989).

### 2.2.2. El Cesio-137.

Los isótopos usados en la irradiación de alimentos son el  $^{60}\text{Co}$  y el  $^{137}\text{Cs}$ , aunque cada vez es menor el uso del cesio-137, sin embargo, es importante investigar los efectos de la radiación gamma de este núcleo en alimentos.

Para el trabajo de esta tesis se utilizó un irradiador autoblandado Gammacell-3000 Elan con cesio-137, fuente emisora de fotones gamma. Este radioisótopo se puede obtener mediante el reprocesamiento de combustible nuclear gastados y también se puede producir en explosiones atómicas, pero con mayor control en reactores nucleares. Cuando el uranio-235 se somete a fisión, el promedio de las masas de los fragmentos es de 118, pero se encuentran muy pocos cerca de ese promedio. Es mucho más probable que se dividan en fragmentos desiguales, y las masas más probables están alrededor de 95 y de 137. La mayoría de estos fragmentos de fisión son altamente inestables y algunos de ellos como el cesio-137 y el estroncio-90, son extremadamente peligrosos cuando se liberan al medio ambiente.

La duración de las fuentes radiactivas se define con el concepto de vida media y es el tiempo que tarda en reducirse su actividad a la mitad, en el caso del  $^{137}\text{Cs}$  tiene una vida media de casi 30 años.

En la figura 2.8 se observa el esquema de decaimiento del  $^{137}\text{Cs}$ . Después de 30 años, que es la vida media de este radioisótopo, el 92% decae, emitiendo beta negativa con neutrino y luego un fotón gamma de 0.662 MeV. Esta es la energía utilizada para fines prácticos; el 8% de los casos se emite solo una beta con neutrino, con una energía de 1.17 MeV, decayendo finalmente a  $^{137}_{56}\text{Ba}$  el cual es estable.

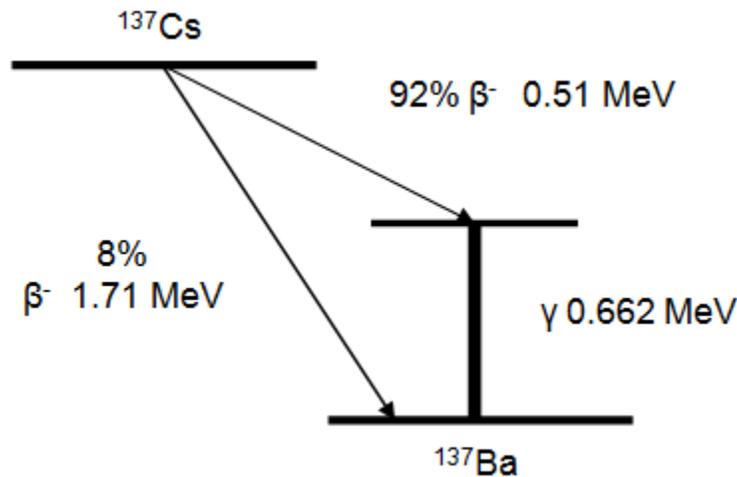


Figura 2.8: Esquema de decaimiento del  $^{137}\text{Cs}$  con vida media de 30 años.

### 2.3. Irradiación de alimentos.

Cuando se habla de irradiar un alimento, éste se expone a un campo de radiación ionizante o no ionizante. Puede ser una fuente emisora de radiación tales como los fotones gamma, de electrones acelerados o rayos X, etc. La irradiación de alimentos es un método más de conservación, aunque en México oficialmente no existe una norma, que presenta dos cualidades básicas: alargar la vida media del producto y aumentar las cualidades higiénico-sanitarias del mismo. En México se irradian actualmente más de 14,000 toneladas al año tanto para consumo nacional como para exportación (Cruz-Zaragoza, 2004), pero no se cuenta tampoco con normas para la aceptación de los métodos de detección de los alimentos irradiados.

Se calcula que cada año se irradian y comercializan en el mundo más de 500,000 toneladas de alimentos irradiados y esta cifra va en aumento. Los países que irradian más de 10,000 toneladas al año incluyen a Bélgica, Japón, Países bajos, Sudáfrica y URSS. Entre los productos más frecuentemente irradiados se encuentran las hierbas y especias, frutas, verduras, arroz, patatas, cebollas, salsa y pescado (Calderón, 2000; EN 1788, 2001; Sanderson, *et al.*, 1989; MAFF, 1993; Carmichael y Sanderson, 2000; Beneitez, *et al.*, 1994; Gómez-Ros, *et al.*, 2006; Guzmán, *et al.*, 2011).

Hay tres tipos de aplicaciones generales y categorías de dosis para los alimentos tratados con radiaciones ionizantes (Morton, 1997):

- Dosis baja: menor que 1 kGy
  - inhibición de la germinación
  - retraso de la maduración
  - desinfestación de insectos
- Dosis media: 1 a 10 kGy
  - reducción de los microorganismos alterantes
  - reducción de los patógenos no esporulados
  - retraso de la maduración
- Dosis alta: 10 a 50 kGy
  - reducción de los microorganismos a niveles de esterilidad

Dependiendo de la finalidad específica del tratamiento y los efectos de la dosis, se definen como sigue:

**Radurización:** tratamiento de los alimentos con una dosis de radiación ionizante suficiente, para incrementar su vida media reduciendo sustancialmente el número de microorganismos alterantes.

**Radición:** tratamiento de los alimentos con una dosis de radiación ionizante suficiente, para reducir el nivel de patógenos no esporulados, incluyendo parásitos, hasta un nivel detectable.

**Radapertización:** tratamiento de los alimentos con una dosis de radiación suficiente para reducir el nivel de microorganismos a niveles de esterilidad.

Durante el proceso de irradiación, el alimento no se calienta, como ocurre cuando se somete a microondas, ni retiene radiación. La ventaja principal de este proceso es que destruye las bacterias nocivas y otros microorganismos que pueden producir intoxicaciones alimentarias.

En el caso de alimentos como los mariscos o alimentos del mar, la irradiación puede utilizarse para eliminar microorganismos patógenos y prolongar

su conservación sin que se deteriore la textura del producto, como ocurriría en caso de someterlos a tratamientos térmicos (EUFIC, 2016).

Uno de los problemas que inciden en los cultivos y producción de moluscos son los relacionados con los aspectos sanitarios, estos surgen a causa de las enfermedades infecciosas producidas por moluscos bivalvos, relacionadas con las condiciones de insalubridad del medio en el que se desarrollan. La organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO) estima que el 25% de toda la producción de productos pesqueros obtenidos en el mundo entero se pierden después de la recolección. En gran parte debido a los insectos, a la infestación de roedores y debido a un manejo inadecuado del alimento. En México existe una alta pérdida cerca de 30% y mermas por contaminantes, roedores o caducidad de los productos frescos (Cruz-Zaragoza, 2004). Ello es una razón importante adoptar métodos como la tecnología de irradiación para la conservación y sanitización de productos frescos o secos en México, en donde un alto porcentaje cerca del 60% vive en la pobreza. Un alimento bien conservado y sanitizado puede ayudar a alimentarlos mejor y llegar hasta los lugares más apartados de centros comerciales.

Como se mencionó en el apartado 2.1.2, uno de los microorganismos que más afecta a las ostras son el género *Vibrio*. Las especies que pertenecen a este género son relativamente sensibles a la irradiación de dosis bajas y generalmente se puede eliminar fácilmente. Kilgen, *et al.* (1995,1999) evaluaron ostras vivas del Golfo de México contaminadas con niveles naturalmente altos de *Vibrio vulnificus* ( $4.6 \times 10^5$  NMP/g). Ostras comercialmente cosechadas, procesadas y envasadas se irradiaron a dosis de 1.0 kGy y la población de microorganismos se redujo a 0.9 NMP/g y no tuvo efecto significativo sobre la mortalidad del marisco vivo después de 14 días de almacenamiento a 40°C. Estos datos dan cuenta de la potencialidad del uso de la radiación en la conservación y sanitización de la ostra Mexicana.

## 2.4. Detección de alimentos irradiados.

En los últimos años el proceso de alimentos por irradiación ha presentado un avance significativo; esto ha llevado a que los consumidores principalmente europeos demanden que este tipo de alimentos deberían ser etiquetados claramente como tales y deberían estar disponibles los métodos capaces de diferenciar entre los productos irradiados y los no irradiados.

Todo método de identificación depende de tres etapas: la primera tiene lugar durante o inmediatamente después de que la irradiación produzca sus efectos, la segunda etapa mientras el fenómeno es preservado como una memoria de la ionización y la tercera es la medida. Un método de detección debe ser específico para la irradiación, es decir, no debe haber otros procesos que produzcan los mismos cambios en los alimentos. Además, el cambio producido debe ser lo suficientemente grande para que sea posible medirlo y detectarlo a lo largo de la vida propia del alimento. También deben considerarse algunas características antes de seleccionar el método de detección (Calderón, 2000; Anderle, *et al.*, 1996; Alberti, *et al.*, 2011).

- a) Su selectividad para detectar ingredientes irradiados mezclados con alimentos no irradiados.
- b) Dependencia del resultado con las variables del proceso: tasa de dosis, temperatura, etc.
- c) Dependencia con las variables de almacenamiento antes de después de la irradiación.
- d) Precisión y reproducibilidad.

Los métodos actualmente disponibles para la detección de alimentos irradiados, están basados en cambios físicos, químicos, biológicos y microbiológicos, que, aunque mínimamente, son inducidos en el alimento durante el proceso de irradiación (Molins, 2004). Estos métodos se pueden clasificar de la siguiente manera:

- MÉTODOS FÍSICOS
  - Espectroscopia de Resonancia Magnética Electrónica (ESR)
  - Método de luminiscencia
  - Medición de la viscosidad
  - Medición de la impedancia eléctrica
- MÉTODOS QUÍMICOS
  - Hidrocarburos
  - Alquilciclobutanonas
  - *Orto*-tirosina
  - Evolución del gas
- MÉTODOS DEL ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (ADN)
  - Ensayo cometa de ADN
  - Electroforesis de agarosa del ADN mitocondrial
  - Detección inmunológica de bases de ADN modificados
- MÉTODOS BIOLÓGICOS
  - Cambio en la carga microbiana
  - Técnica de filtro directo epifluorescente combinada con recuento aerobico de placas (DEFT/APC)
  - Ensayo de lisado de límulo amebocito combinado con recuento bacteriano Gram-negativo (LAA/GNB)
  - Ensayo del medio embrión para medir la inhibición de la germinación de las semillas.

Los alimentos que pueden ser irradiados comercialmente para la eliminación de microorganismos patógenos, extensión de la vida comercial, propósitos de descontaminación, cuarentena e inhibición de la formación de brotes se pueden detectar utilizando: espectroscopía ESR, TL, metodología de hidrocarburos o de 2-alkilciclobutanona. La fiabilidad y reproducibilidad de estos métodos han sido rigurosamente probadas mediante experimentos con muestras ciegas, es decir, indistinguibles entre ella, entre varios laboratorios en el Mundo (Sanderson, *et al.*, 2003)

El desarrollo de métodos de discriminación tales como PSL, el -ensayo cometa- de ADN, los métodos microbiológicos DEFT/APC y LAL/GNB, el ensayo

del medio embrión y la evolución de los gases proporcionan el medio de identificación de un gran número de muestras para el tratamiento de irradiación sin la necesidad de un equipo caro. Las muestras positivas a un tratamiento de radiación, utilizando estos métodos, se deberían reanalizar utilizando uno o más de los métodos normalizados (Molins, 2004).

## **2.5. Regulación y Normatividad.**

Actualmente la irradiación no está permitida en todos los países, aunque se considere como un método eficaz para eliminar microorganismos patógenos, insectos, etc. en muchos alimentos. Ello en parte a la falta de educación del consumidor en el tema, y otra parte por omisiones políticas o económicas de grupos con intereses de control sobre la producción o comercialización de los alimentos en amplias regiones del Mundo o entre países. En México existía la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-033-SSA1-1993, BIENES Y SERVICIOS. IRRADIACIÓN DE ALIMENTOS. DOSIS PERMITIDAS EN ALIMENTOS, MATERIAS PRIMAS Y ADITIVOS ALIMENTARIOS, la cual fue cancelada el 06 de Septiembre del 2005. En esa Norma se mencionaba como límite máximo 5 kGy y como mínimo 2 kGy para el caso de pescados y productos del mar, y 10 kGy para otros productos secos como las especias y condimentos.

En la NORMA GENERAL DEL CODEX PARA LOS ALIMENTOS IRRADIADOS (CODEX STAN 106-1983) se menciona que la dosis máxima en un alimento no deberá exceder 10 kGy. El tratamiento con radiaciones ionizantes altas ha sido autorizado por la FDA para alimentos como las ostras con el objetivo de reducir el riesgo por intoxicación alimentaria (Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012a corregido). Para el caso de la Comunidad Europea, numerosos países consumen y tienen la legislación más clara sobre la aceptación de los alimentos irradiados. También existen países como Alemania que solo aceptan a las especias y condimentos irradiados pero no productos frescos, aunque es una percepción histórica y cultural más que la ventaja o desventaja de la tecnología de irradiación en los alimentos.

En el caso de Estados Unidos, la FDA exige que los alimentos que fueron irradiados tengan el símbolo internacional aceptado para los alimentos irradiados, llamado de Radura (Figura 2.9), así también debe haber una declaración que diga “manipulado por irradiación” o “manipulado con irradiación”. Sin embargo, en nuestro país no existe tal exigencia por la Secretaría de Salud tampoco por COFEPRIS. Esta situación hace una asimetría de competencia con los socios comerciales como Estados Unidos y Canadá y otros países como los del Asia con quienes México mantiene relaciones comerciales en el rubro de alimentos. Cabe decir, que cada vez es más importante para México que tome las medidas legales para normar los criterios sobre los alimentos irradiados pues el país cada vez requiere mayor entrada de divisas y logre competencia comercial con sus socios.



**Figura 2.9: Símbolo internacional de irradiación (Radura) aceptado en la Comunidad Europea, en Estados Unidos y en Canadá.**

## **2.6. Fracción mineral de los alimentos.**

Existe una cantidad de minerales que de una manera u otra están constituidos en los alimentos, los cuales gracias a sus defectos intrínsecos y/ radicales que pueden formarse bajo la radiación pueden ofrecer información valiosa. Estos defectos en los minerales inorgánicos pueden ser portadores de información útil como el de la dosimetría termoluminiscente, luminiscencia y espectroscopia óptica o de resonancia paramagnética electrónica (EPR) (Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012b; Carmichael, *et al.*, 1994; Bortolin, *et al.*, 1996). Este tipo

de información indirecta, ya que no forma parte intrínseca del alimento en sí, puede ser útil para establecer parámetros que sirvan para discriminar la presencia de alimentos irradiados. Esos defectos puntuales han estado presentes durante la irradiación de los mismos guardando, en la mayoría de las ocasiones esta información en forma de daño o defectos en la red cristalina.

Aunque es difícil formular una abreviada definición de la palabra mineral, se suele aceptar la siguiente: Un mineral es un sólido homogéneo por naturaleza con una cierta composición definida y una disposición atómica ordenada. Normalmente se forma mediante un proceso inorgánico (Hurlbut y Klein, 1996)

Los minerales se suelen clasificar según criterios químicos-estructurales, es decir, se establecen distintas clases en función del anión o aniones predominantes en una estructura, por lo que se tienen las siguientes clases:

- Sulfuros
- Haluros
- Óxidos
- Hidróxidos
- Carbonatos/nitratos
- Boratos
- Sulfatos
- Cromatos, tungstenatos y molibdatos
- Fosfatos, arseniados y vanadatos
- Silicatos

### **2.6.1 Caracterización de la fracción mineral.**

Como se mencionó anteriormente, los minerales presentes en los alimentos guardan información en forma de daño o defectos en la red cristalina después de ser expuestos a algún tipo de radiación ionizante. En el caso de la TL, las curvas de brillo serán diferentes dependiendo de los minerales presentes en la muestra de estudio por lo que es importante su caracterización. Cabe decir, que en este trabajo de tesis se separó la fracción inorgánica de las conchas de ostras a las

cuales se les realizó Difracción de Rayos X para determinar el tipo de mineral presente en la concha de la ostra de Origen Mexicana.

## 2.7. Defectos en los sólidos cristalinos.

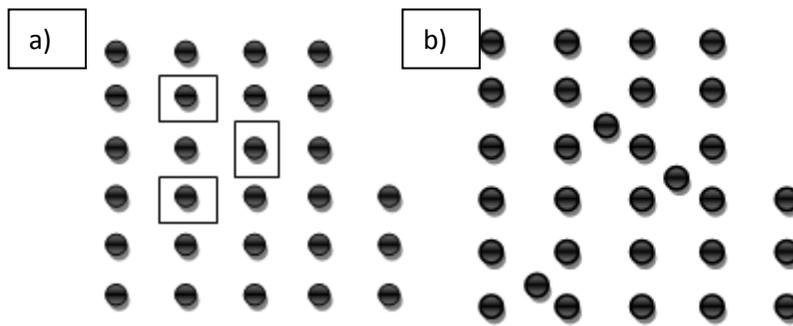
Al incidir radiación ionizante en los alimentos, se generan defectos en los sólidos cristalinos de la fracción inorgánica. Estos defectos no modifican la estructura del alimento, pero guardan información que ayuda a saber si éste ha sido irradiado. Un defecto en un sólido representa cualquier anomalía (composicional, estructural, vibracional) presente en un cristal, la cual no puede predecirse por la teoría clásica del cristal reticular.

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

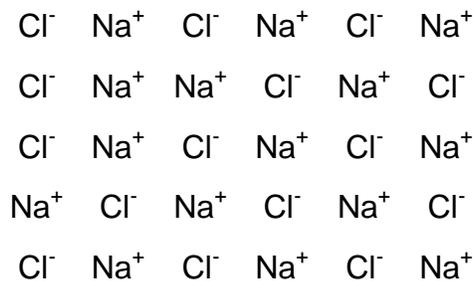
1. **Defectos puntuales:** son aquéllos defectos que afectan a un átomo o a un número muy reducido de ellos. Los defectos puntuales se clasifican en:
  - **Defectos intrínsecos:** su aparición tiene lugar en un cristal con una composición química definida y son considerados como propios o característicos de esa estructura.
    - Un defecto tipo *vacante* es aquel que simplemente representa la ausencia de un átomo o ión en una red cristalina; este átomo o ión puede estar cargado negativamente (anión) o positivamente (catión). La vacante electrónica o hueco representa la ausencia de un electrón atómico en cualquiera de los niveles considerados. Su ausencia viene considerada en el nivel electrónico como la presencia de un exceso de carga positiva o, lo que es lo mismo, la aparición de un hueco.
    - Los defectos *intersticiales* aparecen cuando se quitan átomos de la superficie y se colocan en posiciones intersticiales a la red. La red

sufrirá cierta distorsión alrededor del átomo intersticial dependiendo del tamaño del ión y la magnitud de esta distorsión dependerá principalmente de la energía repulsiva y del espacio existente en los intersticios de la estructura (Brown, 1970). En la figura 2.10 se muestran los defectos de tipo vacante y los intersticiales.

- Mientras que un antisitio, es un ión que ocupa un lugar equivocado en la red (figura 2.11).



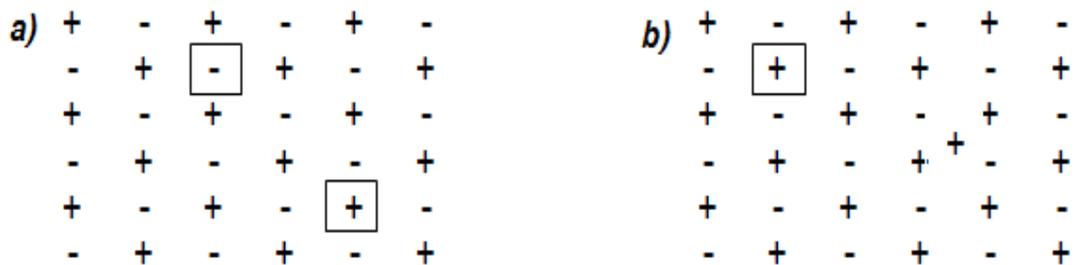
**Figura 2.10:** a) Las vacantes se producen cuando los átomos se separan de los nodos de la red en el interior del cristal y se colocan sobre la superficie. Los intersticiales se muestran en el caso b)



**Figura: 2.11 Antisitio.** Supone la existencia de un elemento en un sitio equivocado (catión en posición de anión).

- **Defectos extrínsecos:** dentro de estos defectos se encuentran las impurezas. Una impureza representa la existencia de un átomo extraño en la estructura de un compuesto que viene definido por una composición química determinada.

- **Asociación de defectos:** un defecto tipo Schottky (figura 2.12a) representa la ausencia de cationes y aniones de sus posiciones normales en la estructura cristalina. Normalmente y dado que este tipo de defectos viene asociado a cristales de tipo iónico donde es esencial una compensación de carga eléctrica. El número total de vacantes de tipo catiónico debe ser igual al número de vacantes aniónicas o, lo que es lo mismo, un defecto de tipo Schottky representa un par de vacantes del signo opuesto. Un defecto de tipo Frenkel (figura 2.12b) representa también un defecto de tipo dual. En este caso se tiene la ausencia de un catión o anión de su lugar normal de la red y su localización en un lugar no equivalente de la misma, por ejemplo en un intersticio.



**Figura 2.12: a) Defecto de Schottky b) Defecto de Frenkel.**

- Defectos Lineales:** afectan a una fila reticular (conjunto de átomos en una dirección).
- Defectos Planares:** representan una anomalía que afecta a un plano reticular. En general a este tipo de defectos se les conoce con el nombre de politipos.
- Defectos Tridimensionales:** afectan a un conjunto de átomos o parte de una estructura cristalina.

## 2.8. La luminiscencia.

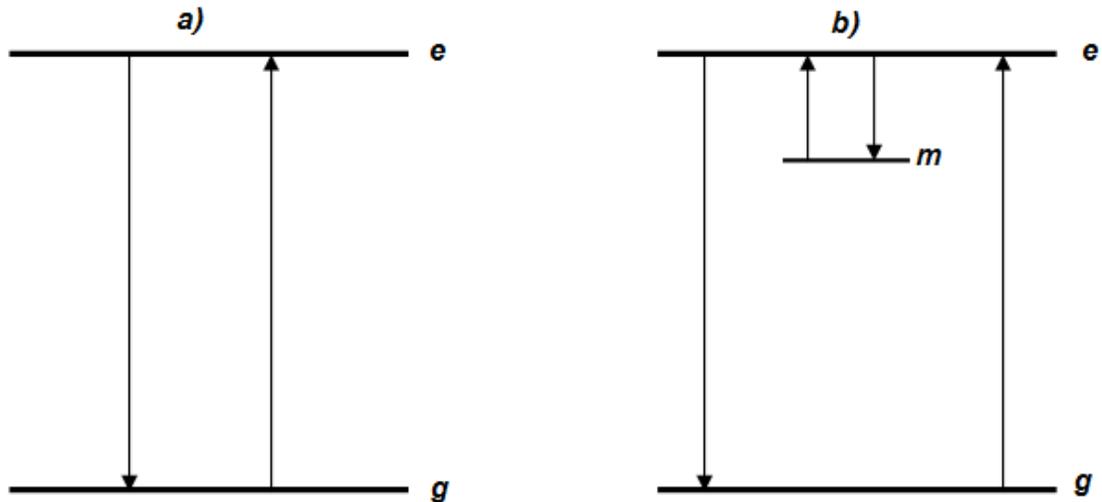
La luminiscencia es el fenómeno que experimentan algunos materiales capaces de absorber energía y de volver a emitir nueva energía en forma de luz

visible. Los fotones de luz emitida se generan por transiciones electrónicas en el sólido. Se absorbe energía al promover un electrón al estado excitado. La energía absorbida se aporta como radiación electromagnética de energía superior (que causa transiciones desde la banda de valencia a la banda de conducción) tal como la luz ultravioleta, o de otras fuentes tales como electrones de alta energía o energías térmica, mecánica o química (Callister, 1996). De aquí que los iones impurezas tengan un papel relevante por sus transiciones dentro de un sólido, del cual se podrá obtener información radiológica como el efecto de las dosis gamma en la propiedad del mineral.

En general, la luminiscencia se clasifica en fosforescencia y fluorescencia, según el tiempo que dura la emisión de luz después de la absorción. Para la emisión luminiscente el tiempo es de  $\tau \leq 10^{-8}$  s, el proceso puede ser clasificado como fluorescencia, mientras para  $\tau \geq 10^{-8}$  el proceso es fosforescencia. Considerando un nivel de energía del estado fundamental  $g$  y nivel de estado excitado  $e$  (figura 2.13); la fluorescencia es la emisión de luz que sigue la excitación de un electrón de estado  $g$  al  $e$  y su subsecuente regreso al nivel  $g$ . Por otro lado, si el regreso al estado fundamental es retrasado por una transición dentro y fuera de un estado metaestable  $m$ , entonces puede resultar mucho más tiempo de retardo entre la excitación y emisión y en este caso el proceso es conocido como fosforescencia (Chen y McKeever, 1997). Este último caso acontece en los sólidos como los poliminerales que componen a la concha de la ostra (Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012a).

- a) *Fosforescencia*: Existen sustancias cuyos átomos pueden permanecer en un estado excitado durante algún tiempo apreciable que puede ser incluso de algunas horas. Se dice que estos átomos están en un estado metaestable. Los sólidos con esa propiedad, son denominados sustancias fosforescentes y pueden emitir luz en la oscuridad durante algún tiempo después de haber sido excitadas o bien luminiscer bajo la acción de un agente de excitación ya sea calor o luz o incluso con estrés mecánico o en una disolución química. La fosforescencia es, pues, la emisión de luz u otro tipo de radiación electromagnética por un átomo o electrones excitados que persiste después de cesar el estímulo que la provocó (Ortega, 1994).

b) *Fluorescencia*: Se conoce con el nombre de fluorescencia la emisión de luz u otra emisión electromagnética por un átomo excitado, la cual se extingue al cesar el estímulo excitante que la provoca.



**Figura 2.13:** (a) El nivel excitado  $e$  y el estado de energía fundamental  $g$  muestran la absorción y emisión del proceso de fluorescencia. (b) El nivel metaestable  $m$  da lugar a un retraso entre la excitación y emisión durante el proceso de fosforescencia.

## 2.9. Luminiscencia térmicamente estimulada (TL).

Actualmente hay diferentes métodos para la detección de alimentos irradiados, uno de los métodos físicos es el basado en el fenómeno de la luminiscencia. Este es un conjunto de fenómenos físicos que ocurre en minerales sensibles en los cuales incide un tipo de energía sobre el material de estudio, estimulando en el mismo una respuesta en forma de fotones (Furetta, 2003) que a su vez es generada por la recombinación de defectos electrónicos (pares electrones-huecos), cuando el calor es la fuente para estimular la emisión de luz se le llama termoluminiscencia (TL).

Para que el fenómeno de TL pueda ser observado se establecen algunas condiciones:

- a) El compuesto a estudiar debe, preferiblemente, ser un sólido cristalino o amorfo.
- b) Ser aislante o semiconductor con presencia de iones impurezas en la red del sólido.
- c) Haber sido expuesto a una fuente de energía ionizante o no, natural o artificial.

De acuerdo a las condiciones antes mencionadas para el sólido, la termoluminiscencia se puede explicar con la teoría de bandas: una banda de estados electrónicos completamente llena a la temperatura cero (banda de valencia), se separa de otra que está totalmente vacía al cero absoluto (banda de conducción) y a la mitad entre ellas estará el nivel más elevado ocupado todavía y a este se le llama nivel de energía de Fermi. Al agregarse los átomos se traslaparán los subniveles originando regiones estrechas de energías prohibidas llamada también gap de energía. Así se tienen las bandas de valencia y conducción. A temperaturas más altas algunos electrones de la banda de valencia pueden adquirir la suficiente energía térmica para excitarse y pasar a través de la banda prohibida con el fin de convertirse en electrones “de conducción” en la banda de conducción que hasta entonces estaba vacía. Los estados vacíos que quedan en la banda de valencia se comportan como huecos positivamente cargados.

La excitación térmica de un electrón de la banda de valencia a la de conducción corresponde físicamente a la superposición de un electrón de la pareja del enlace por medio de la agitación térmica de la red. La excitación de un electrón deja un defecto localizado en la estructura del enlace del cristal, que se puede identificar como un estado de banda de valencia que podría ser ocupado por un electrón, pero que en realidad está vacío. Este defecto constituye el “hueco”. Tanto el electrón libre como el hueco son migratorios; el electrón libre puede vagar dentro del cristal en una forma aleatoria, del mismo modo el hueco puede desplazarse porque un electrón de un enlace adyacente al hueco puede moverse con suma facilidad hacia el hueco, completando así la pareja de enlace en el sitio original del hueco (Rose, *et al*, 1968). Sin embargo otra forma, además de la

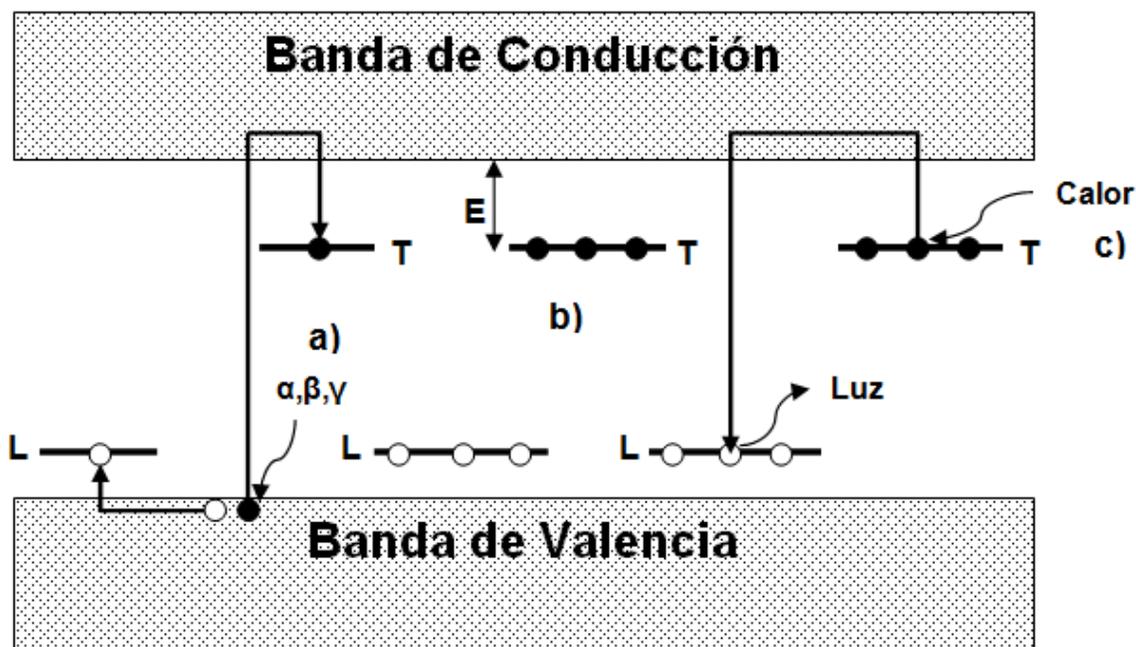
energía térmica para el electrón, también puede excitarse al electrón o ionizar para que éstos vayan hacia a la banda de conducción dejando atrás un hueco en la banda de valencia. Después de cierto tiempo el electrón puede ser retenido en alguna “trampa” como la vacancia en la red del sólido y esperar a un estímulo por ejemplo con calor o luz para que éste se libere de la trampa profunda o superficial con cierta energía de activación, y vaya el electrón a otro sitio (cercano a una impureza) para que ocurra la recombinación y emita fotones luminosos que serán detectados en forma de curvas de brillo por un detector sensible (Pérez Cruz, 2016).

De manera más general, fenómeno de termoluminiscencia se puede explicar en tres etapas:

- I. **Ionización:** la energía ionizante arranca electrones de los orbitales atómicos, generando de esta forma pares electrón-hueco. El electrón viaja hacia la banda de conducción hasta que queda atrapado en algún defecto cristalino. A este defecto se le denomina *trampa*.
- II. **Almacenamiento o concentración de defectos:** las trampas normalmente relacionadas con algún tipo de defecto o imperfección cristalina, están localizados en la denominada zona prohibida (o banda gap) y su posición, de energía respecto a la banda de conducción (energía de activación  $E_c$ ), puede estar más o menos alejada de las correspondientes bandas de conducción y valencia. A menor energía  $E_c$ , mayor probabilidad de que el electrón intente salir de esa trampa y por tanto la probabilidad de éxito es mayor. A mayor dosis de radiación al sólido habrá mayor concentración de defectos electrónicos, los cuales se asume que son proporcionales a la dosis impartida al polimineral. De aquí que se piense como si fuera una etapa de almacenamiento de energía provocada por la dosis.
- III. **Recombinación:** cuando el electrón es activado térmicamente, el mismo abandona la trampa gracias a que logra una energía de activación ( $E$ ) necesaria para vencer su barrera hacia el escape y

después de cierto número de intentos llamado parámetro de frecuencia (s) que debe estar de acuerdo a la vibración de la red cristalina, viaja hasta que se recombina con huecos atrapados o bien con iones intersticiales, produciendo fotones. En esta situación, la recombinación ocurre cerca o junto a una impureza al que se le conoce con el nombre de centro de recombinación.

En la figura 2.14 se observa un esquema del fenómeno de termoluminiscencia, considerando las etapas antes mencionadas.



**Figura 2.14:** Representación de niveles de energía del proceso de TL. a) Ionización debido a la exposición de radiación ( $\beta$ ,  $\gamma$ , rayos X ó UV) con captura de electrones y huecos en defectos, la T indica trampa y L es un centro luminiscente, respectivamente. b) Almacenamiento de energía de radiación durante cierto tiempo, si la salida de energía es insignificante el tiempo de vida de los electrones en las trampas tiene que ser mucho más largo que el tiempo de almacenamiento de la muestra. Este tiempo de vida es dependiente de la energía E de profundidad de la trampa. c) Al calentar la muestra, los electrones son expulsados de las trampas de electrones y algunos de ellos llegan a los centros de luminiscencia (L). Si es así, la luz se emite como resultado de la recombinación de estos centros (Botter-Jensen y Roskilde, 2008).

## 2.10. Luminiscencia fotoestimulada (PSL).

Un método rápido para la detección de alimentos irradiados se basa en la luminiscencia fotoestimulada (PSL) que utiliza luz, en lugar de calor. Este

fenómeno se usa frecuentemente para estimular la emisión de fotones de materiales biorgánicos irradiados tales como calcita o silicatos. El método de PSL cuenta con la posibilidad única para analizar los sistemas inorgánicos, ya sea extraídos o en presencia de materia orgánica (Marchesani, *et al.*, 2012).

La fracción inorgánica como los silicatos (cuarzos y feldespatos) almacena energía en forma de portadores de carga que pueden ser atrapados en los sitios estructurales, intersticiales o por las impurezas, una vez expuesto el silicato a la radiación ionizante (Grzegorz, *et al.*, 2006).

Los minerales presentes en la muestra cuando son irradiados liberan cargas libres que están atrapadas en los subniveles del gap. Estos defectos electrónicos son atrapados se estimulan mediante luz de longitud de onda apropiada, como el infrarrojo (IR) que puede provenir de un arreglo de diodos. Cuando la luz IR incide sobre las muestras se liberan las cargas retenidas en las trampas metaestables y se tiene la emisión de luz, que proviene de la recombinación de las cargas en los centros de recombinación luminiscentes y se puede medir con un detector sensible (Sukdeb, *et al.*, 2010).

Para el análisis de PSL, se considera el alimento completo, tanto la parte orgánica e inorgánica, además de ser un método rápido. Aunque en general, la desventaja de la PSL reside en que su detección luminiscente depende fuertemente de la cantidad de feldespato y cuarzo que contengan los poliminerales obtenidos del alimento. Pero cuando el método de PSL sea insuficiente para el análisis del alimento irradiado puede auxiliarse del fenómeno de TL que resulta en general más sensible aún en dosis bajas que pueda recibir el alimento de interés.

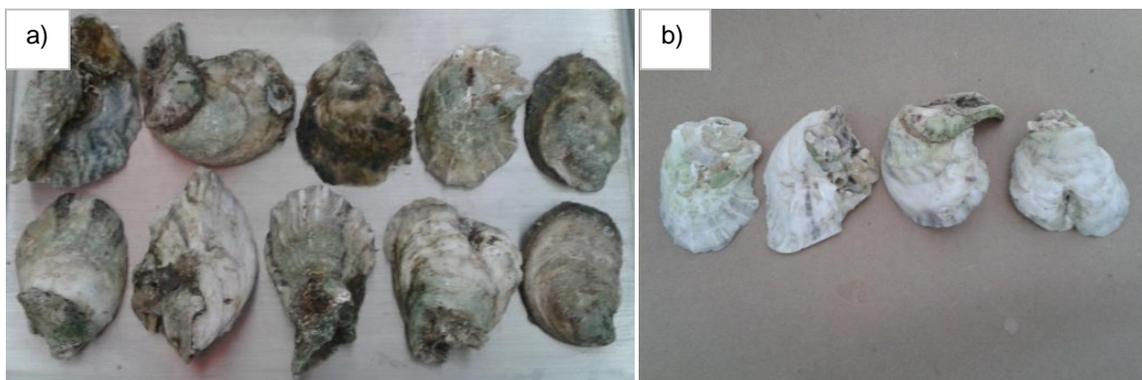
## Capítulo III. METODOLOGÍA

En este capítulo se describe la metodología utilizada para la obtención de poliminerales de conchas de ostras de la especie *Crassostrea virginica*. Así también los equipos, reactivos y condiciones en que se realizaron las irradiaciones, y las mediciones de termoluminiscencia (TL) y de luminiscencia fotoestimulada (PSL) para cada uno de los experimentos. Todo el trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Luminiscencia y Dosimetría en la Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica del Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM.

Las muestras utilizadas en este trabajo fueron ostras (*Crassostrea virginica*) adquiridas en el mercado de la Viga de origen mexicano cultivadas en la laguna de la Mandinga en el Estado de Veracruz.

### 3.1. Obtención de los poliminerales.

La metodología para la obtención de los poliminerales fue de la siguiente manera: primero se eliminó la parte orgánica, para esto las conchas se lavaron con agua bidestilada (figura 3.1a) y posteriormente con peróxido de hidrógeno (figura 3.b) quedando con una coloración más blanca. Al adicionar el  $H_2O_2$  se observó un ligero burbujeo debido a la materia orgánica.



**Figura 3.1: Conchas de ostras, a) lavadas con agua bidestilada, b) lavadas con  $H_2O_2$**

Las conchas se pulverizaron obteniéndose un polvo blanco y se recogieron en un tubo de ensaye. Se lavaron con HCl al 37 %, y se observó la formación de CO<sub>2</sub> debido a la reacción con el carbonato cálcico que compone a las conchas. Se realizó un lavado final con agua bidestilada para eliminar los residuos de HCl y lograr los poliminerales de la ostra.



**Figura 3.2: Poliminerales obtenidos de la concha de ostra.**

Por último, los poliminerales se dejaron secar, quedando como se observa en la figura 3.2. Una vez obtenidos los poliminerales, se separaron en tres tamaños diferentes de partícula utilizando tamices de diferentes aberturas, obteniéndose tamaños de  $\leq 74$ ,  $\leq 149$  y  $\leq 250$   $\mu\text{m}$ .

De acuerdo a la metodología mencionada, se obtuvieron los poliminerales con un rendimiento de 2.24 % de cada 52.518 g de polvo de las conchas. Se ha considerado que se obtuvieron 1.160g por cada 52.518 g de polvo de la concha de las ostras.

### **3.2 Caracterización de las muestras.**

La emisión de termoluminiscencia puede variar según el tipo de poliminerales que la emitan. La identificación de la composición de la fracción inorgánica, se realizó mediante un equipo de Rayos X en el Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Química UNAM.

### 3.3 Irradiación de las muestras.

Para las medidas de termoluminiscencia, los poliminerales de distintos tamaños de partícula se colocaron en discos de aluminio de 6 mm de diámetro. Se depositó 10 mg de cada muestra de manera homogénea en cada uno de los discos, estos se colocaron en una pequeña caja cubierta totalmente para evitar el paso de la luz del medio ambiente, la cual puede afectar a la emisión termoluminiscente (TL).

Para el caso de las medidas de luminiscencia fotoestimulada (PSL) se utilizaron las conchas de ostra pulverizadas sin lavado con HCl. Se depositaron 2 gramos de la muestra en bolsas de plástico y se evitó su exposición a la luz del ambiente.

Las muestras tanto para TL y PSL fueron irradiadas en el Gamacell-3000 Elan (figura 3.3) que fue adquirido mediante un proyecto apoyado por el CONACYT e instalado en 2015 en la Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica del Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM. Este irradiador cuenta con dos fuentes emisoras de fotones gamma de  $^{137}\text{Cs}$ . La razón de dosis de este equipo es de 10.82 Gy/min; para obtener la dosis deseada, las muestras son expuestas por tiempos determinados. El intervalo de dosis utilizado fue de 4 a 5,000 Gy para las medidas de TL y de 10 a 3,000 Gy para las medidas de PSL.



**Figura 3.3 Irradiador Gamacell-3000 con fuentes de  $^{137}\text{Cs}$ , emisor gamma. Las muestras se irradiaron en la cámara interior donde se observa el símbolo de presencia de radiación.**

### 3.4 Medidas de termoluminiscencia (TL).

El análisis termoluminiscente se realizó con el equipo Harshaw TLD 3500 (figura 3.4), el cual cuenta con una plancheta para la colocación de la muestra individual. El sistema de calentamiento lineal se hace mediante un termopar soldado a la plancheta. Las medidas TL se hacen mediante un flujo de nitrógeno ( $N_2$ ) para evitar señales espúreas. El tubo fotomultiplicador que detecta la emisión de la luz producida por la muestra, está conectado a un amplificador que amplifica la señal eléctrica en unidades de carga. El sistema está conectado a un software para la captura de los datos de la intensidad TL en función de la temperatura de calentamiento, generando una curva de brillo que es particular para cada tipo de material dosimétrico o termoluminiscente.

Se realizó primero una medida inicial en el equipo TLD sin muestra, con el objetivo de determinar la señal de fondo del sistema y evitar con esto una alteración de los resultados de la respuesta TL. Enseguida, se realizó una medida TL de las muestras sin irradiar aún, llamada medida de fondo de las muestras tal como se obtuvieron de las conchas de ostras. Las condiciones de medida en el equipo para las muestras irradiadas fueron de 30 a 450°C, con una razón de calentamiento de 2°C/s para lograr una buena resolución de las curvas de brillo y tratar de observar todos los picos o máximos a lo largo de la curva de brillo de las muestras.



**Figura 3.5: Equipo Harshaw TLD 3500.**

### 3.5 Medidas de luminiscencia fotoestimulada (PSL).

Como una característica importante de las propiedades luminiscentes de la muestra en estudio, se realizó un análisis de luminiscencia fotoestimulada (PSL, por sus siglas en inglés). Este método permite analizar al alimento completo, en el que no es necesario la separación del polimineral del resto de la ostra, basta con lavarla y secarla. Además de que las medidas son más rápidas en comparación con el equipo TLD Harshaw 3500. Sin embargo, cabe notar que la eficacia del método PSL depende en gran parte de la presencia de poliminerales eficientes en el alimento para emitir luz detectable. Razón por la cual en la detección de alimentos irradiados debe también tenerse en cuenta el uso de la TL para el análisis de las ostras.

Las medidas PSL se realizaron en el equipo SUERRC PPSL (*Irradiated Food Screening System*) (figura 3.5). Este cuenta con un compartimiento en el cual se coloca la muestra para analizar. Para estimular a la muestra, el equipo cuenta con un arreglo de fotodiodos que emite un haz de luz en el infrarrojo en 840 nm (800-900 nm). El tubo fotomultiplicador que detecta la emisión de la luz producida por la muestra está conectado a un amplificador y a su vez acoplado a un software para obtener los datos del conteo de fotones en función del tiempo.



Figura 3.5: Equipo SUERRC PPSL con un arreglo de diodos infrarrojos.

Se realizó una medida de luminiscencia fotoestimulada sin la muestra para eliminar cualquier interferencia del equipo que pudiera afectar las mediciones. Así también, antes de irradiar las muestras se realizaron medidas de fondo para evitar información residual de previas irradiaciones o de irradiación natural. Las condiciones de medida fueron de 1-60 segundos.

### **3.6 Caracterización TL y PSL del sólido.**

#### **3.6.1 Limite de detección TL y PSL.**

Una propiedad luminiscente importante es el límite de detección para decidir si la muestra ha sido expuesta a radiación intencional previa o radiación de fondo proveniente de la naturaleza. Por lo que es importante conocer a que dosis se puede garantizar que las muestras han sido irradiadas y lograr un control de calidad de las mismas, para evitar nuevamente posibles procesos de irradiación.

En el caso de termoluminiscencia, el límite de detección se determinó con la siguiente relación  $TL_i/TL_{ni}$ , donde  $TL_i$  es la respuesta TL de una muestra irradiada y  $TL_{ni}$  es la respuesta TL de la muestra no irradiada. Este criterio permite definir si la muestra fue sometida a una irradiación previa o no. Cuando el valor del cociente es apenas mayor a 1, entonces el valor de dosis correspondiente es la mínima detectable por este método.

Para la luminiscencia fotoestimulada, en el equipo se definen tres condiciones: la condición negativa cuando resulta un valor menor a 700 cuentas en 60s, la intermedia con un valor igual o mayor a 700 cuentas y menor a 5000 cuentas y la condición positiva con un valor mayor a 5000 cuentas en 60 segundos.

#### **3.6.2 Reproducibilidad de la señal TL.**

Dada la importancia que las señales de las muestras sean reproducibles para mayor confiabilidad de las medidas, se realizó la reproducibilidad de las

señales para la muestra con tamaño de partícula  $\leq 149 \mu\text{m}$  por duplicado. Este tamaño presentó el mejor comportamiento en la respuesta TL, respecto de los otros tamaños de partícula ( $\leq 74 \mu\text{m}$  y  $\leq 250 \mu\text{m}$ )

De acuerdo a las medidas de respuesta termoluminiscente se determinó que la dosis adecuada para realizar este experimento fuera a 1000 Gy por encontrarse en el intervalo lineal dosis-respuesta, además de ser una dosis adecuada para irradiar las ostras (Thupila, *et al.*, 2011; Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012a).

Los polimnerales fueron irradiados a la dosis fija de 1000 Gy, en un ciclo de 10 repeticiones de irradiación y medidas TL. Dado que las medidas tomadas presentaron un coeficiente de variación ( $CV > 5\%$ ) (ver anexo), indicando que los datos no presentan una buena reproducibilidad, por lo que las muestras fueron sometidas a un tratamiento térmico a una temperatura de  $250^{\circ}\text{C}$  durante 3 min realizando nuevamente el experimento de reproducibilidad con el fin de mejorarla.

### **3.6.3 Decaimiento de la señal TL y PSL (Fading).**

Para observar la pérdida de la señal TL a temperatura ambiente, los polimnerales fueron irradiados a dosis de 1kGy, almacenados en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente. Periódicamente, se realizaron medidas TL, considerando desde el día cero hasta el día 202 de almacenamiento.

En el caso del decaimiento de la señal PSL, las muestras fueron irradiadas a dosis de 700 Gy. Se almacenaron en las mismas condiciones ya mencionadas, y las medidas se llevaron a cabo desde el día cero hasta dos meses de almacenamiento.

Este experimento da información de la liberación de las cargas de sus trampas y la pérdida o disminución de la respuesta TL y PSL.

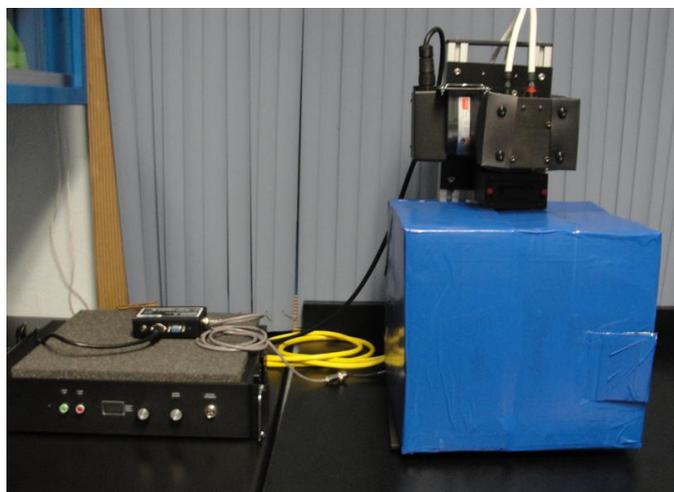
### 3.5.4 Blanqueo de la señal TL y PSL.

#### a) Blanqueo térmico TL

Una curva de brillo puede presentar varios máximos llamados picos TL y/o una banda de brillo muy ancha, es decir sería una estructura compleja. La forma experimental de analizarla es mediante un tratamiento térmico, el cual consiste en calentar la muestra a diferentes temperaturas, lo que permite despoblar las trampas localizadas a menores temperaturas, quedando solo las trampas de mayor temperatura, siendo estas las más estables. Con este blanqueo térmico se producen picos TL casi aislados, lo cual ayuda al análisis de las curvas de TL. Para este tratamiento se consideraron los poliminerales con tamaño de partícula  $\leq 149 \mu\text{m}$  por duplicado irradiados a 1.0 kGy, calentadas durante 3 minutos en una mufla tubular en el intervalo de temperatura de 75-450°C.

#### b) Blanqueo con lámpara solar TL y PSL

Con el fin de simular las condiciones ambientales y de estimular las trampas poco profundas o localizadas a bajas temperaturas, se realizó un blanqueo con lámpara solar (figura 3.6). Se realizó un monitoreo del decaimiento de la señal TL y PSL emitida por los poliminerales expuestos a luz UV.



**Figura 3.6: La lámpara Solar.**

El desvanecimiento de la señal TL se analizó en las muestras de tamaño de partícula  $\leq 149 \mu\text{m}$  por duplicado y para el caso de la PSL se consideraron las

conchas de ostras pulverizadas también en muestras duplicadas. Los poliminerales utilizados para la TL fueron irradiados a 1kGy y para la PSL se irradiaron a 700 Gy. Enseguida fueron expuestas ante una lámpara Solar que emite un haz de luz en el intervalo del UV a infrarrojo, (300-850nm), con intensidad de 0.2 soles calibrada con ventana de cuarzo. Se expusieron a diferentes intervalos de tiempos (0 - 60 minutos), seguido de una medida TL y PSL, respectivamente.

### **3.7 Parámetros cinéticos calculados por el método de Levantamiento inicial (IRM).**

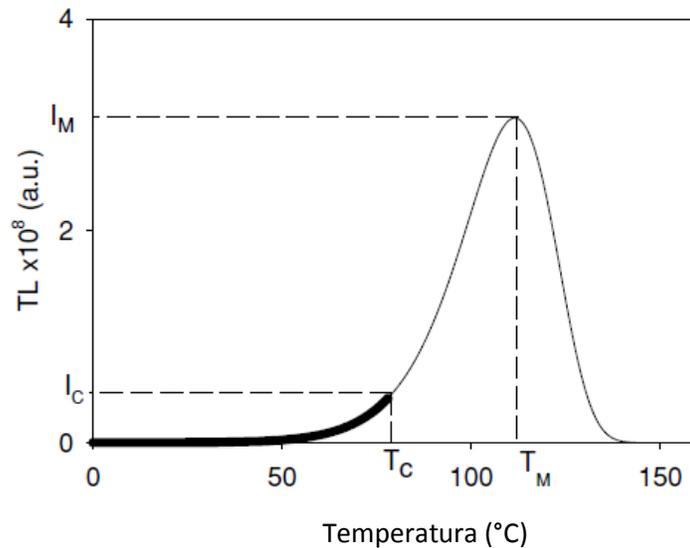
Las trampas responsables de atrapar a los electrones, están asociadas con cierta posición, distribución en el gap, y con una energía de activación. Una trampa superficial presenta una menor energía y por lo tanto los portadores de carga o electrones que se encuentren atrapados en ella serán los primeros en ser liberados cuando la red del material es calentada. Pero cuando las trampas se encuentran localizadas a una mayor energía de activación o profundidad, el material deberá ser calentado a mayor temperatura para que los portadores de carga sean liberados, es decir, es necesaria una mayor energía.

Esta energía asociada a las trampas, también conocida como energía de activación ( $E$ ), puede ser determinado mediante el método de levantamiento inicial (IRM, por sus siglas en inglés), así como otros parámetros cinéticos (Garlick y Gibson, 1948). Este método considera la parte inicial del levantamiento (parte de menor temperatura) de una curva de termoluminiscencia (figura 3.7). En ese intervalo, el número de electrones atrapados puede considerarse constante y su dependencia con la temperatura  $T$  puede suponerse despreciable en esta región (Pagonis, *et al.*, 2006).

El método es válido para un intervalo de temperatura limitado por un valor  $T_c$  correspondiente a una intensidad  $I_c$ , lo cual estaría entre 10-15% de los datos iniciales de la intensidad TL máxima ( $I_{máx}$ ). Asumiendo que  $n(T)$  no cambia en

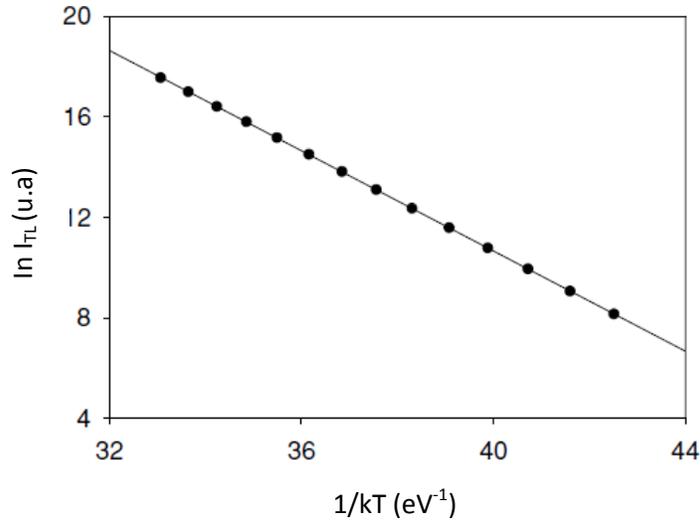
ese intervalo referido, la emisión TL puede ser descrito por la siguiente relación tipo Arrhenius:

$$I(T) = ce^{\left(-\frac{E}{kT}\right)} \quad (1)$$



**Figura 3.7: Levantamiento inicial de una curva de brillo termoluminiscente (Pagonis, et al., 2006).**

Donde  $I$  es la intensidad de la señal TL,  $c$  es una constante,  $T$  es la temperatura en (K),  $E$  es la energía de activación (eV) y  $k$  es la constante Boltzman ( $8.617 \times 10^{-5}$  eV/K). Para resolver la ecuación (1), se realiza una gráfica de  $\ln(I)$  contra  $1/kT$ , para obtener una línea recta (figura 3.8) cuyo valor de la pendiente se relaciona al valor de la energía de activación ( $E$ ), el cual es un valor aproximado por la suposición realizada de sobre los primeros datos de la curva de brillo correspondiente.



**Figura 3.8: Determinación del parámetro de la energía de activación mediante el método IRM (Pagonis, et al., 2006).**

El factor de frecuencia ( $s$ ) se interpreta como el número de veces por segundo que un electrón interactúa en la red para que logre escapar de su trampa, este factor se puede despejar de la ecuación de cinética de primer orden (2)

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

Obteniéndose la siguiente relación (3):

$$s = \frac{\beta E}{kT_M^2} * e^{\left(\frac{E}{kT_M}\right)} \quad (3)$$

Los parámetros cinéticos  $E$  y  $s$  son característicos de cada  $T_M$  en cada curva de brillo, y el factor de frecuencia debe ser del orden de la cantidad de vibración de una red cristalina.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS

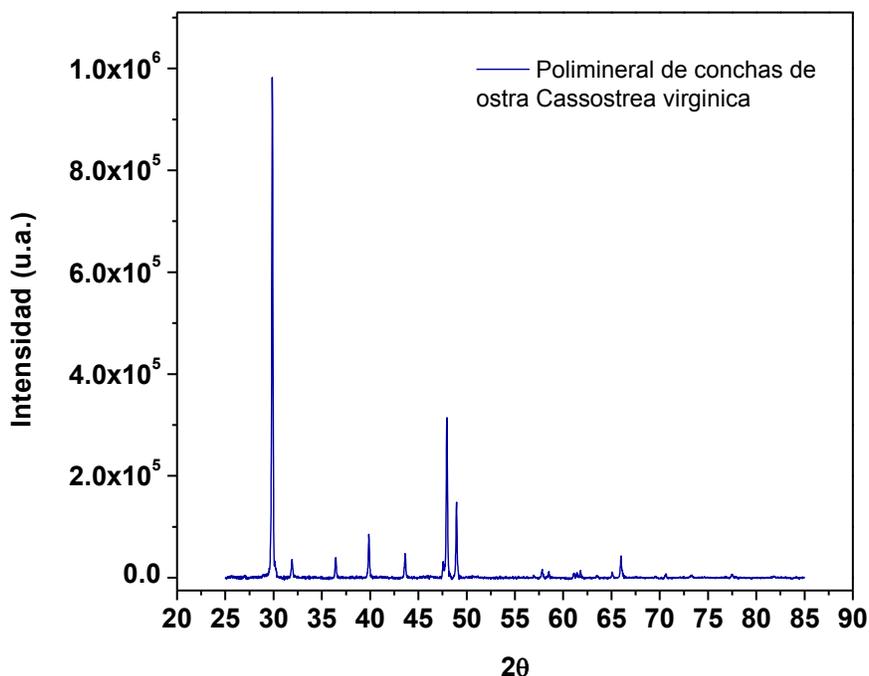
Las ostras son un alimento altamente consumido por su buen sabor y su valor nutrimental aunque existe el riesgo de causar problemas de salud puesto que su consumo es mayormente en crudo. Este riesgo se debe principalmente a la bacteria *Vibrio vulnificus*. Por lo que es importante implementar procesos de sanitización, y la irradiación es un método efectivo, recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una tecnología para el tratamiento de alimentos crudos como la ostra, que además de reducir la carga microbiana permite alargar la vida de anaquel.

Al irradiar un alimento es importante su detección; en este trabajo de tesis se utilizaron los métodos de termoluminiscencia (TL) y luminiscencia fotoestimulada (PSL), además de estudiar sus propiedades de respuesta TL.

A continuación, se presenta la caracterización de la fracción inorgánica obtenida de las ostras, que llamaremos A( $\leq 74\mu\text{m}$ ), B( $\leq 149\mu\text{m}$ ) y C( $\leq 250\mu\text{m}$ ). Las muestras fueron sometidas a radiación ionizante gamma para posteriormente usar los métodos de TL y PSL. Dado que las curvas de TL no son reproducibles se realizó un proceso de estabilización que consiste en un tratamiento térmico a  $250^{\circ}\text{C}$ , obteniendo evidencia de mejoras en la estabilidad y reproducibilidad de la señal

### 4.1 Caracterización de la fracción inorgánica.

Los poliminerales de tamaño de partícula  $\leq 149\mu\text{m}$  se caracterizaron por difracción de rayos X, los cuales se identificaron como Carbonato de Calcio en fase Calcita con señales características en  $2\theta = 29.84^{\circ}$ ;  $39.79^{\circ}$ ;  $43.69^{\circ}$ ;  $47.89^{\circ}$ . El difractograma de la muestra se puede observar en la figura 4.1.



**Figura 4.1:** Diffractograma de poliminerales de ostra de tamaño de partícula  $\leq 149 \mu\text{m}$

## 4.2. Luminiscencia térmicamente estimulada (TL).

### 4.2.1. Límite de detección.

Para encontrar el límite de detección se consideran las respuestas TL de los poliminerales sin irradiar, los cuales son considerados como medidas de fondo y se compararan con la respuesta TL obtenida a dosis baja. Esta propiedad es muy importante, pues la información obtenida de los poliminerales permite definir si las muestras han sido previamente irradiadas o no.

Para determinar el límite de detección de cada muestra se considera la relación  $TL_i/TL_n$ , donde  $TL_i$  es la respuesta TL de una muestra irradiada y  $TL_n$  es la respuesta TL de una muestra no irradiada. Un valor mayor a 1, significa que a partir de esa dosis de irradiación, la lectura de referencia (fondo) ya no causa interferencia y se considera a esa dosis como el límite de detección.

En la tabla 4.1 se observa que para el caso de la muestra A después de 60 Gy ya es posible identificar si una muestra fue irradiada, pues el valor de la relación  $TL_i/TL_n$  es mayor a 1. Mientras que para las muestras B y C el límite de

detección se determinó a partir de 40 Gy. Como, esta relación  $TL_i/TL_n$  presenta valores mayores a 1 no se sabe exactamente a partir de que dosis es el límite de detección. Debido a ello, se interpolaron los datos para conocer las dosis en que la relación  $TL_i/TL_n$  es igual a 1, obteniendo lo siguiente: para la muestra A fue a 42.85 Gy, para la muestra B a 34.46 Gy, mientras que para la muestra C fue a 35.66 Gy. A mayor tamaño de la partícula el límite de detección es menor en comparación con la partícula más pequeña. Con estos resultados es posible afirmar que a dosis altas, del orden de kGy, se logra una mayor ionización lográndose curvas de brillo más claras en su estructura.

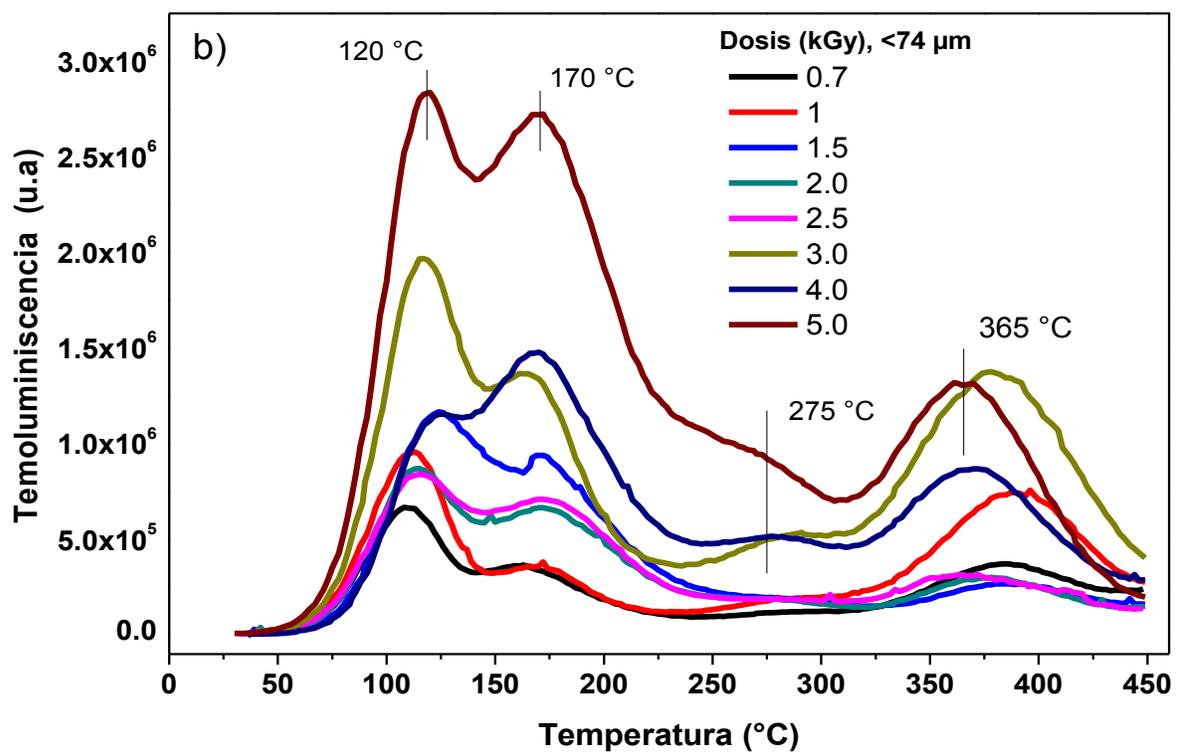
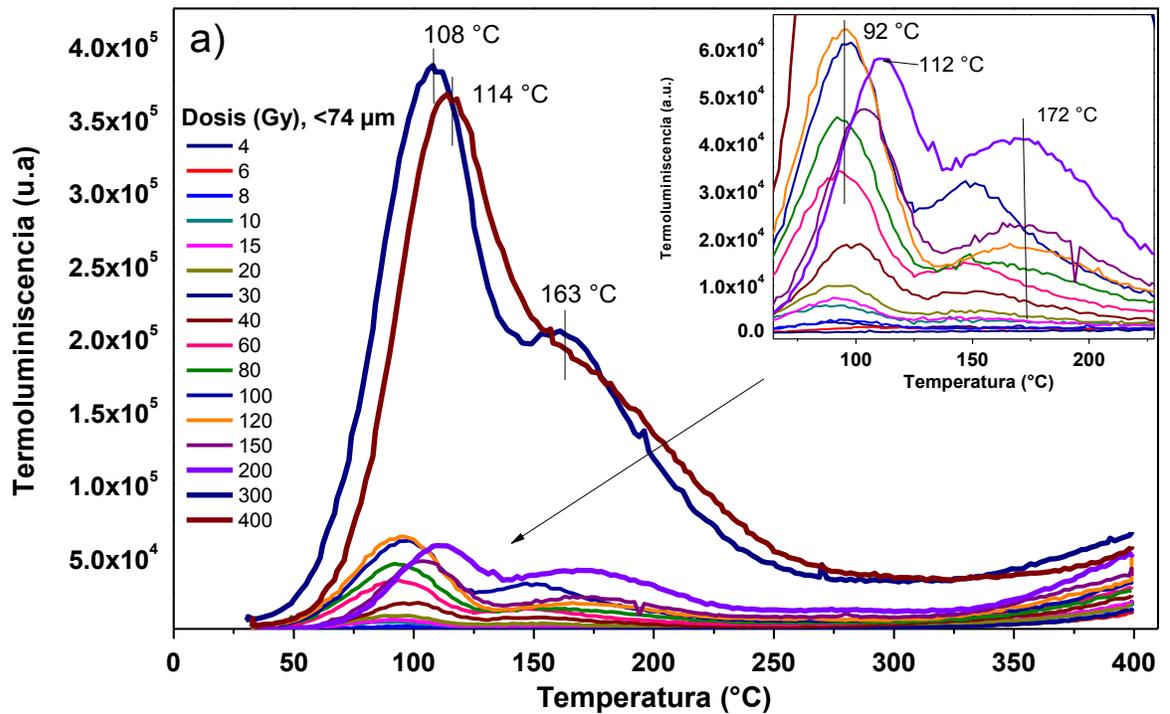
**Tabla 4.1. Límite de detección para diferentes tamaños de partícula de los poliminerales de la ostra. La señal TL de fondo promedio fue de 110.28 nC. Los subrayados indican los valores mayores a 1 obtenidos del cociente  $TL_i/TL_{ni}$**

<b>Dosis (Gy)</b>	<b>Muestra A (<math>\leq 74\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Muestra B (<math>\leq 149\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Muestra C (<math>\leq 250\mu\text{m}</math>)</b>
4	0.4271	0.511	0.4623
6	0.3063	0.4998	0.4214
8	0.3667	0.5313	0.454
10	0.5814	0.5983	0.5979
15	0.5075	0.5667	0.6727
20	0.6269	0.7103	0.6727
30	0.2693	0.6784	0.7086
40	0.9132	<u>1.4364</u>	<u>1.1696</u>
60	<u>1.5223</u>	1.8067	1.4852
80	1.7171	1.548	1.8862
100	2.3314	1.1636	2.3376

#### 4.2.2 Comportamiento termoluminiscente a diferentes dosis.

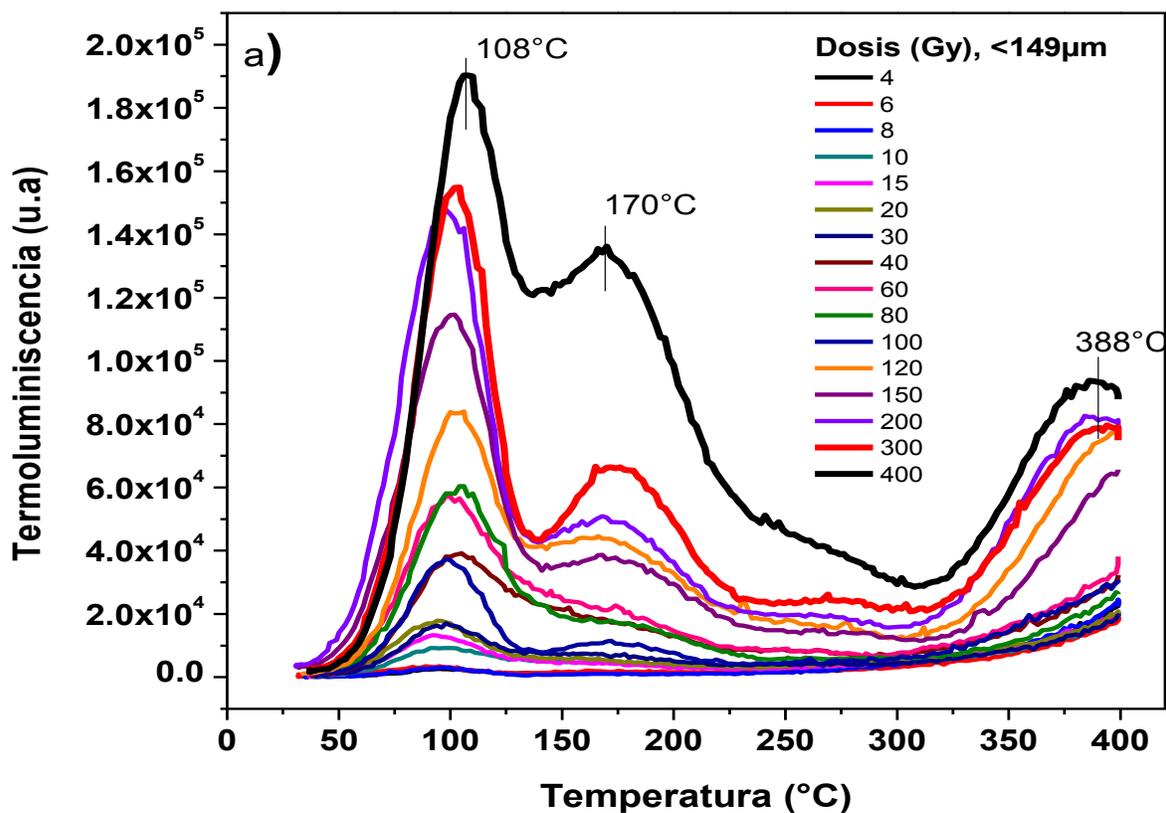
Para las muestras de los poliminerales extraídos de las conchas de otras se midió la señal de termoluminiscencia (TL) inicial. Las muestras fueron expuestas a radiación gamma de  $^{137}\text{Cs}$  en un intervalo de dosis bajas de 4-400 Gy y a dosis altas de 0.7-5.0 kGy. La exposición a radiación ionizante gamma fue realizada para cada una de las muestras. Las curvas de brillo fueron obtenidas a una razón de dosis de 10.82 Gy/min con una razón de calentamiento de  $\beta = 2 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$  en obscuridad, desde una temperatura ambiente alrededor de 25  $^\circ\text{C}$  hasta una temperatura final de 450  $^\circ\text{C}$ . Se mantuvieron las mismas condiciones experimentales para las mediciones.

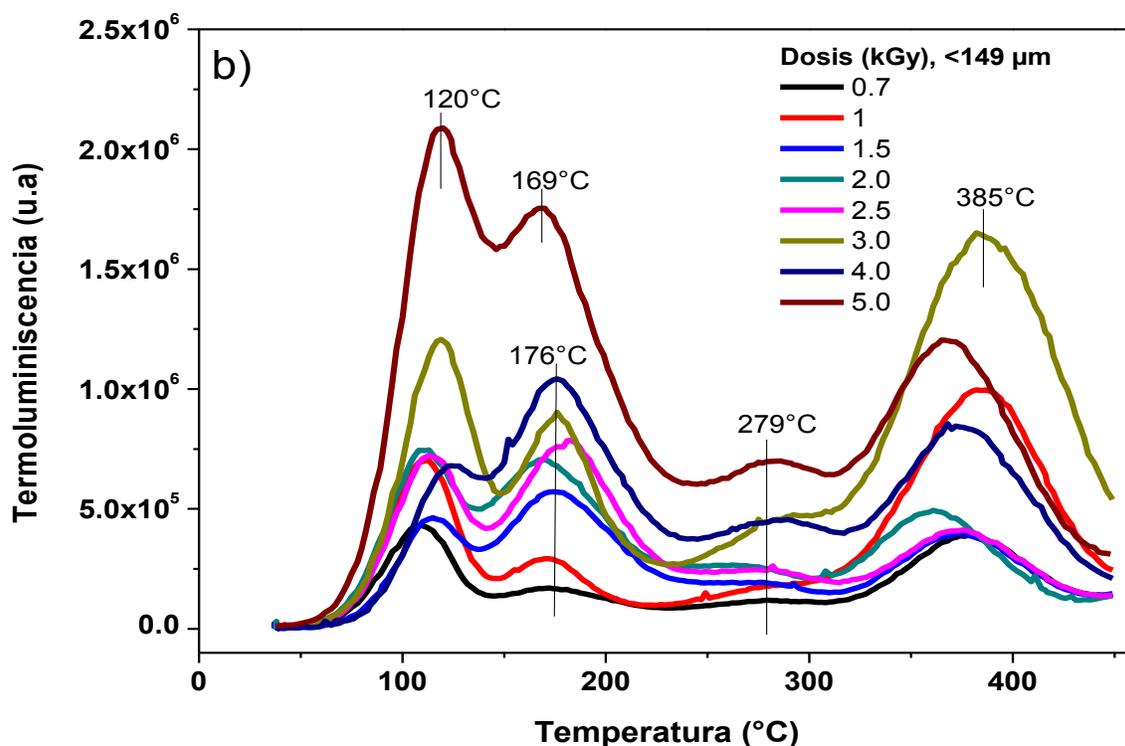
En la figura 4.2 se muestran las curvas de brillo TL de la muestra A. En un intervalo de dosis bajas (4-400 Gy), las curvas de brillo exhiben notablemente dos bandas de termoluminiscencia en una región de temperatura de 33 a 143  $^\circ\text{C}$  y de 143 a 263  $^\circ\text{C}$ . Los máximos de temperatura fueron entre 92 y 114  $^\circ\text{C}$  para el primer pico y un segundo pico TL localizado alrededor de 163 y 172  $^\circ\text{C}$ . Los picos TL aumentaron al incrementar la dosis de radiación como se observa en la figura 4.2a. Para un intervalo de dosis altas (0.7 a 5.0 kGy) (figura 4.2b), las curvas de brillo exhiben cuatro bandas TL, la de menor temperatura está localizada alrededor de 32 y 143  $^\circ\text{C}$ , con máximo en 120  $^\circ\text{C}$ ; la segunda banda TL entre 143 y 231  $^\circ\text{C}$  y su máximo en 170  $^\circ\text{C}$ . Además podemos notar la definición de dos bandas más, localizadas entre 231 hasta 308  $^\circ\text{C}$  y de 308 hasta 450  $^\circ\text{C}$ , cuyos máximos TL están localizados en 275 y en 365  $^\circ\text{C}$ , respectivamente, a diferencia de las curvas TL a baja dosis. El efecto de la exposición a diferentes intervalos de dosis sobre la muestra A es principalmente el corrimiento de los máximos de temperatura y el incremento en la señal TL, así como la definición de dos picos de TL localizados a altas temperaturas debido a los defectos que se genera en el material al incrementar la ionización por radiación.



**Figura 4.2:** Curvas de brillo de los poliminerales de la ostra sometidos a diferentes dosis de la muestra A ( $\leq 74 \mu\text{m}$ ). a) 4-400 Gy, b) 0.7-5.0 kGy.

En la figura 4.3 se muestran las curvas de brillo de la muestra B, a dosis bajas (figura 4.3a). La muestra presenta tres bandas de termoluminiscencia, la primera en el intervalo de 33-143°C con un máximo entre 98 y 108 °C. La segunda banda en el intervalo de 143-243°C con máximo entre 168 y 174 °C. La tercera banda en el intervalo 243-400°C, se observa otro pico en aproximadamente 388 °C. A dosis altas (figura 4.3b) se definen mejor los picos que aparecen a bajas temperaturas. A dosis altas se tienen cuatro bandas de termoluminiscencia: de 37 a 148°C con máximo en 120°C, la segunda banda que va de 148 a 240°C con máximo entre 169 y 176 °C, la tercera banda aparece entre 240 y 310°C, con máximo en aproximadamente 279°C, la última banda se encuentra de 310 a 450°C con otro máximo entre 370 y 385°C.





**Figura 4.3: Curvas de brillo de los poliminerales de la ostra sometidos a diferentes dosis de la muestra B ( $\leq 149 \mu\text{m}$ ): a) 4-400 Gy, b) 0.7-5.0 kGy.**

Las curvas de brillo de la muestra C se observan en la figura 4.4. A dosis bajas (figura 4.4a) se exhiben cuatro bandas de termoluminiscencia; la primera aparece en la región de temperatura de 37-137 °C con máximo entre 104 y 106 °C. La segunda banda fue de 137 hasta 227 °C con máximo en 174°C, la tercera región fue de 227 a 299°C con máximo en aproximadamente 276°C, y la última región de 299 a 450°C con máximo en 382 °C. A dosis altas (0.7-5.0 kGy) se sigue observando el pico localizado a menores temperatura alrededor 111 °C, así como los picos que corresponde a 173 y 386°C. A dosis altas (figura 4.4b) los picos que corresponden a 111 °C y 167 °C se combinan para formar uno solo debido a la distribución muy cercana de las trampas en el gap y por el efecto de la alta ionización, esto se observa a 2.0, 2.5 y 3.0 kGy, i.e., la ionización a dosis altas llenan estas trampas. También se observa la formación de un pico que no está bien definido en el intervalo de 225-306 °C que presenta un máximo de temperatura en aproximadamente 273°C. En el caso del pico de alta temperatura localizado en la región de 306 a 450°C, presenta un corrimiento hacia la derecha y aparece un pico entre 356 y 391 °C.

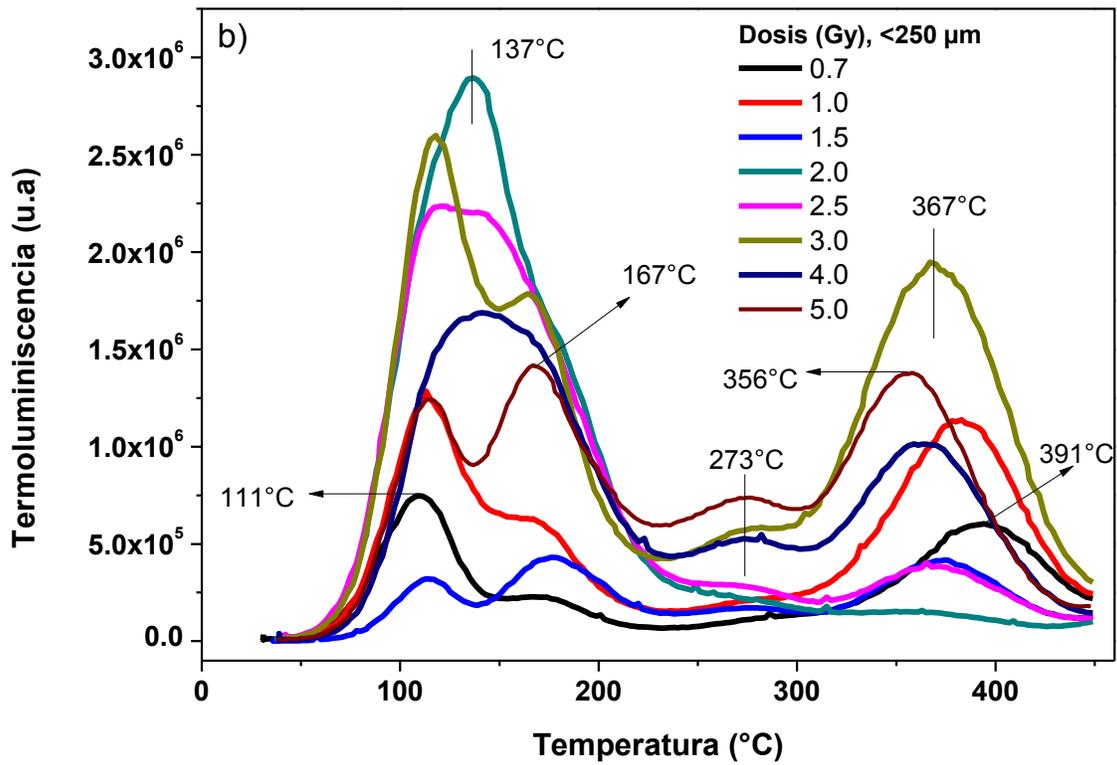
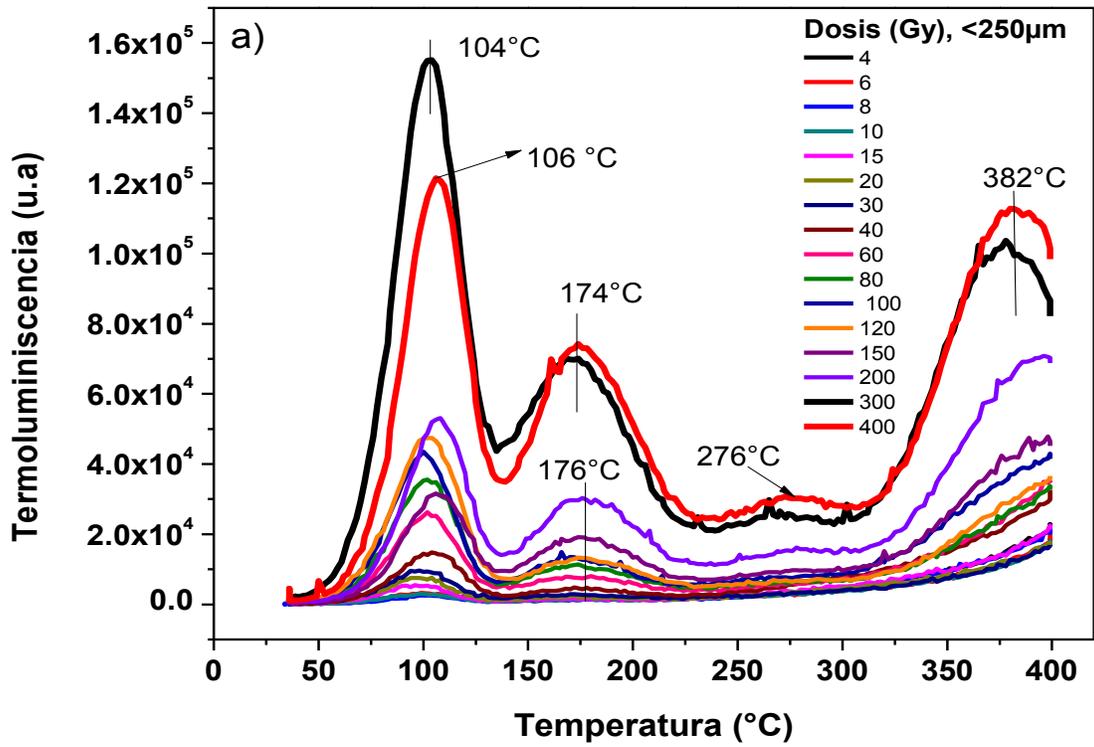
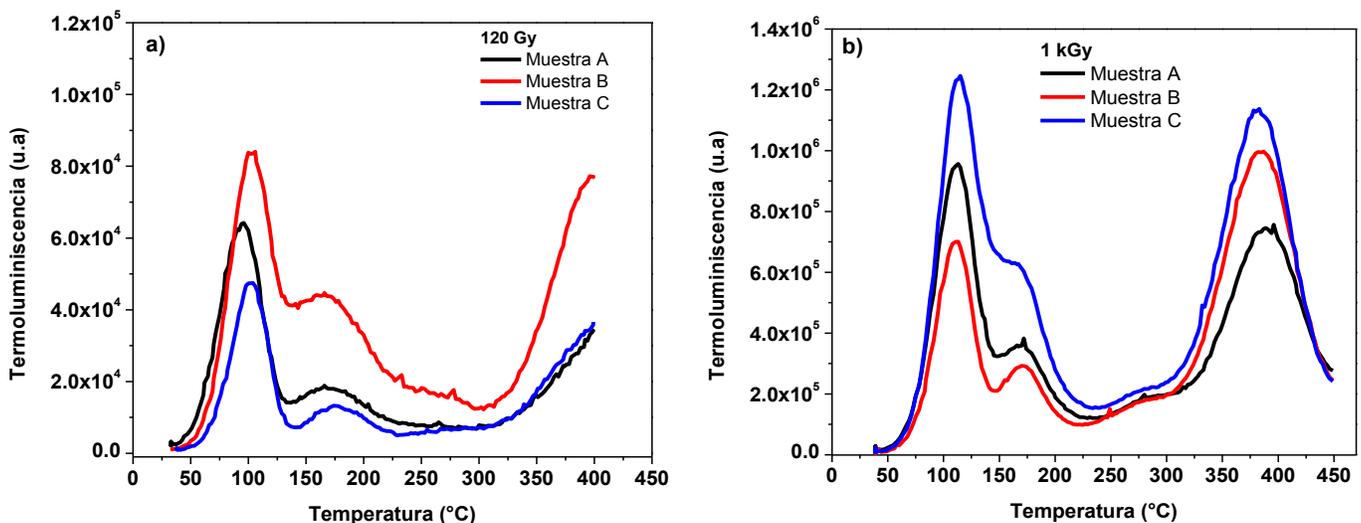


Figura 4.4: Curvas de brillo de los poliminerales de la ostra sometidos a diferentes dosis de la muestra C ( $\leq 250 \mu\text{m}$ ): a) 4-400 Gy, b) 0.7-5.0 kGy.

Aún a dosis altas del orden de kGy, la estructura o forma de las curvas de brillo son muy similares entre los tres tamaños de partícula:  $\leq 74$ ,  $\leq 149$  y  $\leq 250$   $\mu\text{m}$ .

En la figura 4.5 se muestran las curvas de brillo de los tres tamaños de partícula donde se consideran dosis de 120 Gy y 1.0 kGy. Se observa que a 120 Gy (figura 4.6a) la muestra B presenta la mayor intensidad y es posible apreciar 3 picos de TL, mientras que la muestra A y C presentan un comportamiento similar y solo es posible observar 2 picos TL. A dosis de 1.0 kGy (figura 4.6b), para los tres tamaños de partícula, los picos TL se definen mejor. Es posible observar 4 curvas de brillo.



**Figura 4.5: Curvas de brillo de TL para los tres tamaños de partícula: A( $\leq 74$ ), B( $\leq 149$ ) y C( $\leq 250$ )  $\mu\text{m}$ , a) 120 Gy b) 1.0 kGy.**

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, en los tres tamaños de partícula se tienen al menos 4 picos TL, los cuales se definen mejor a dosis altas. Esto es debido a la alta ionización que provoca el llenado más eficiente de las trampas. El primer pico aparece a 120°C, el segundo en 172°C. El tercero, aunque no está bien definido, aparece en 279°C, y el cuarto pico está localizado en 385°C.

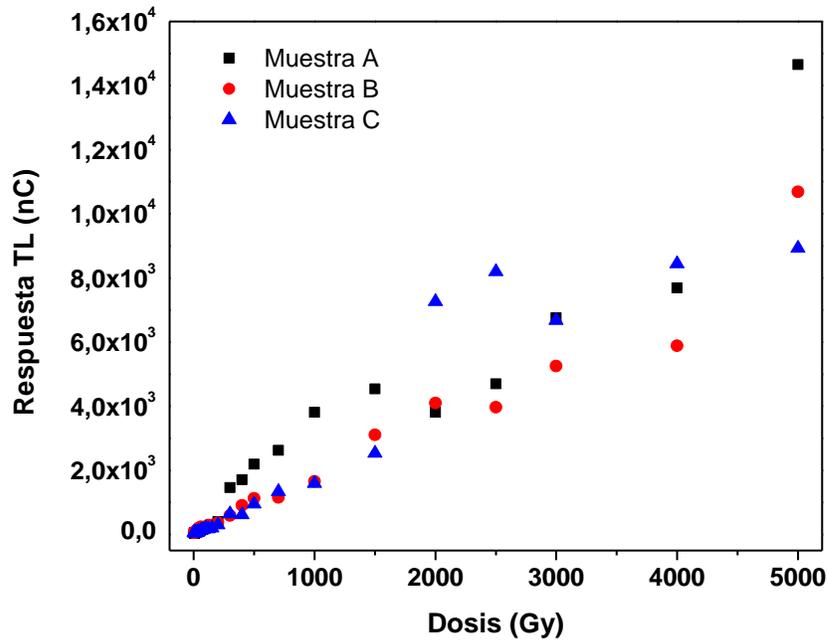
El primer pico localizado a 120 °C está asociado a la presencia de cuarzo, un pico característico de este material (Zimmerma, 1971) pues se encuentra regularmente en 110 °C. De acuerdo con Yassin y Abdel-Razek (Yassin y Abdel-

Razek, 2015) los picos de más altas temperaturas son característicos de calcita que consisten en dos picos localizados en 283 y 359 °C y a partir de 110 Gy aparece otro pico en 153 °C, estos resultados están de acuerdo a los obtenidos en esta tesis.

En todas las muestras se observa que los picos TL se desplazan a valores mayores de temperatura al aumentar la dosis. El corrimiento puede deberse a la liberación de trampas cercanas a la banda de conducción en el sólido que posteriormente vuelven a ser retenidas en trampas más profundas al aumentar la dosis.

#### **4.2.3. Efecto de la dosis en la respuesta TL.**

La señal TL aumentó como función de la dosis impartida pues a mayor dosis se produce un mayor número de cargas, hasta generar una saturación de la respuesta TL de los poliminerales presentes en el alimento. Se esperaría que a mayor tamaño de partícula la respuesta TL sea mayor, tal comportamiento no se observa en la figura 4.6. La muestra C ( $\leq 250 \mu\text{m}$ ) presenta mayor respuesta TL en comparación con la muestra A ( $\leq 74 \mu\text{m}$ ) después de 2 kGy, y a menor dosis ocurre lo contrario. Esto puede deberse en parte a la superficie de contacto de las partículas, ya que mientras mayor tamaño, puede haber autoabsorción de la emisión TL y como consecuencia también la intensidad disminuye (Hüseyin Toktamiş, Dilek Toktamiş, 2014) También podría deberse a que, aunque la composición sea la misma, la concentración de impurezas es la que varía y esto puede afectar la emisión termoluminiscente, situación observada en las fracciones poliminerales de alimentos irradiados (Teuffer, 2005).

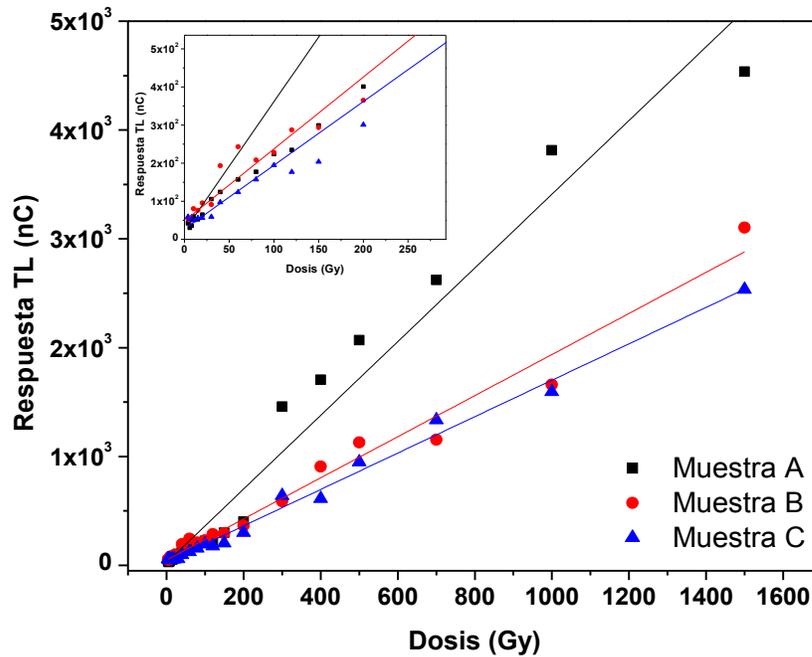


**Figura 4.6: Respuesta TL de los poliminerales a diferentes tamaños de partícula de la Ostra Mexicana, en función de la dosis de exposición, desde 4 a 5000 Gy. A( $\leq 74\mu\text{m}$ ), B( $\leq 149\mu\text{m}$ ) y C( $\leq 250\mu\text{m}$ ).**

Las muestras presentaron buena respuesta lineal en un intervalo de dosis de 4-2000 Gy, como se puede ver en figura 4.7. La muestra A presenta una respuesta lineal hasta 200 Gy, mientras que la muestra B hasta 2000 Gy y la C hasta 1500 Gy. En la tabla 4.2 se muestra este intervalo para los tres tamaños de partícula. Se observa que las tres muestras presentan un intervalo lineal de 4-200 Gy. Las muestras de los tres tamaños de partícula: A( $\leq 74\mu\text{m}$ ), B( $\leq 149\mu\text{m}$ ) y C( $\leq 250\mu\text{m}$ ), presentan zona de saturación después de 2000 Gy. El intervalo de respuesta lineal (80-2000 Gy) es similar también en ostras de origen europeo reportado recientemente por el grupo (Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012).

**Tabla 4.2: Intervalo de respuesta TL para los tres tamaños de partícula.**

<b>MUESTRA</b>	<b>RESPUESTA</b>	<b>DOSIS (Gy)</b>	<b>COEFICIENTE DE REGRESIÓN</b>
A	Lineal	4-200	0.9882
B	Lineal	4-2000	0.9653
C	Lineal	4-1500	0.991



**Figura 4.7: Respuesta lineal para las tres muestras obtenidas de la misma ostra.**

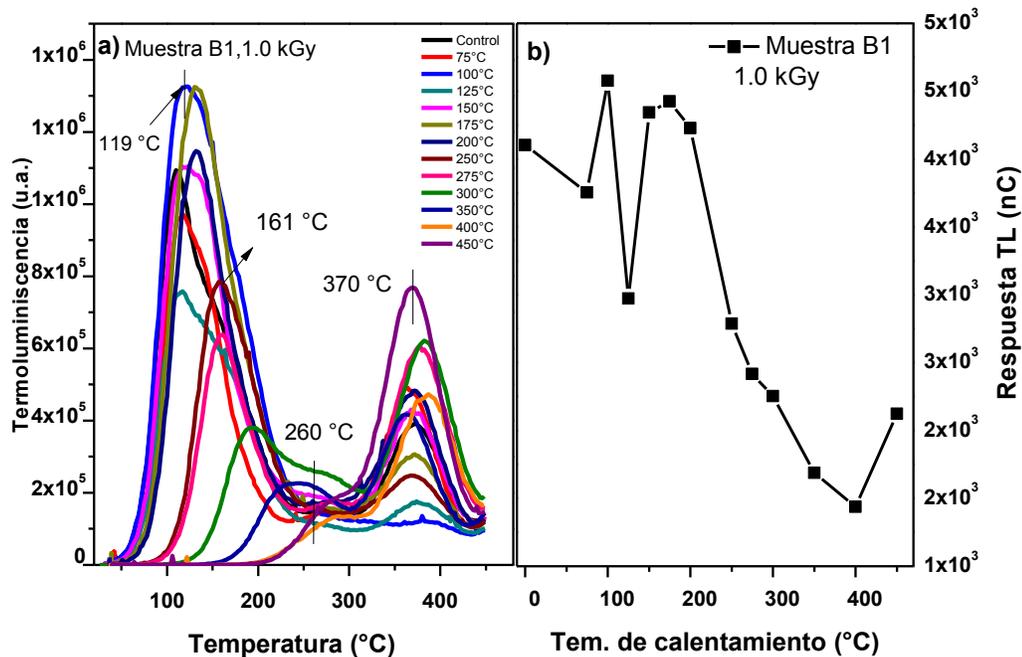
La muestra B ( $\leq 149\mu\text{m}$ ) presentó buena linealidad hasta 2000 Gy y además presentó curvas de brillo más estables, por lo que se eligió este tamaño de partícula para realizar las mediciones de blanqueo térmico, blanqueo solar, reproducibilidad y fading. Se decidió irradiar con 1000 Gy debido a que se encuentra dentro del intervalo lineal y de acuerdo a la literatura (Jakabi, *et al.*, 2002) esta es una dosis adecuada para la irradiación de alimentos como las ostras, reduciendo considerablemente microorganismos patógenos sin cambios de olor, sabor y apariencia.

#### 4.2.4. Blanqueo térmico de las señales TL.

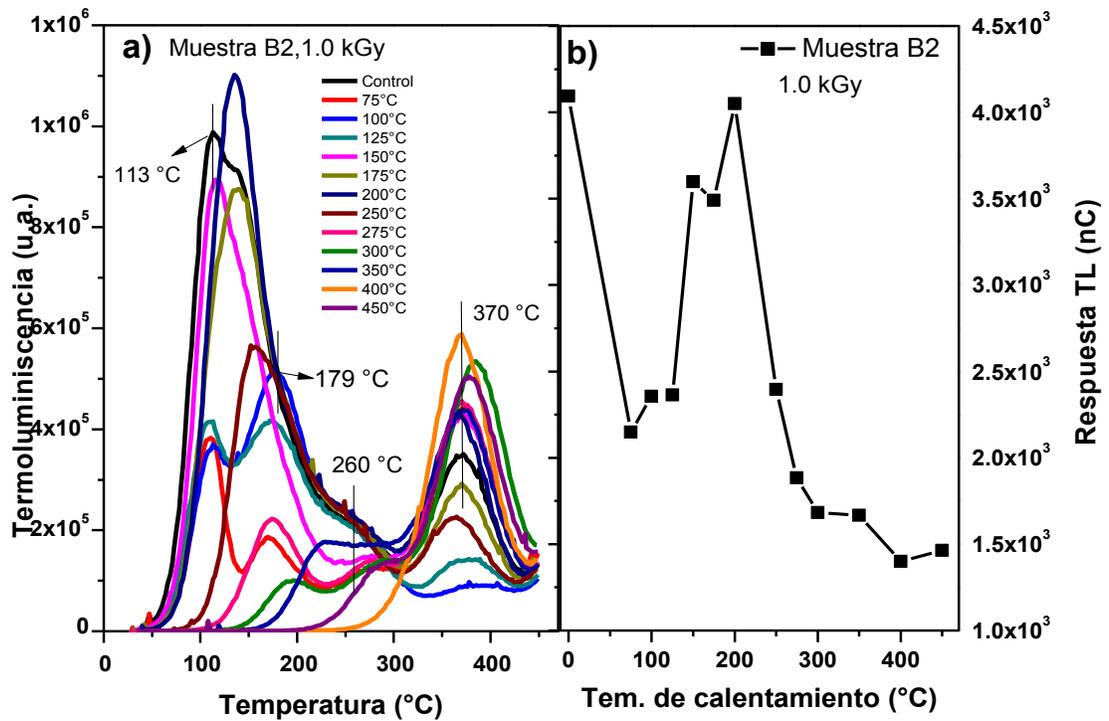
El blanqueo térmico es el desvanecimiento de la señal TL por efecto de la temperatura, el cual consiste en calentar la muestra durante un tiempo específico. Este proceso permite eliminar de la señal TL los picos más sensibles localizados a menores temperaturas, asociados a trampas superficiales. En cambio se mantienen los picos localizados a mayores temperaturas, los cuales están asociados a trampas de mayor profundidad, por lo que tienen una mayor

estabilidad térmica ante un borrado térmico. Para este análisis se consideraron dos sub-muestras del mismo lote de la muestra B que llamaremos B1 y B2. Las muestras fueron calentadas durante 3 minutos en un intervalo de 75-450°C a una dosis de 1kGy.

Se observó que para la muestra B1 (figura 4.8a), las curvas presentan al menos cuatro picos TL localizados aproximadamente en 119, 161, 260 y 370 °C. El primer pico TL es borrado a 250 °C, permaneciendo los picos dos, tres y cuatro. El segundo pico de TL es borrado a 350°C conservándose los de mayor temperatura. Con respecto a la muestra B2 (figura 4.9a), está conformada también de al menos cuatro picos TL localizados alrededor de 113, 179, 260 y 370 °C. El primer pico desaparece a temperatura de 250°C, el segundo pico TL es blanqueado a 350°C, manteniéndose los de alta temperatura. El tercer pico TL es blanqueado a 400 °C, prevaleciendo el pico de mayor temperatura.



**Figura 4.8: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra sometidos a blanqueo térmico. a) Curvas de brillo de la muestra B1 ( $\leq 149\mu\text{m}$ ) y b) Respuesta TL en función de la temperatura de calentamiento.**



**Figura 4.9: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra sometidos a blanqueo térmico. a) Curvas de brillo de la muestra B2 ( $\leq 149\mu\text{m}$ ) y b) Respuesta TL en función de la temperatura de calentamiento.**

Se esperaría que conforme aumenta la temperatura de calentamiento la señal TL debería disminuir, debido a que los electrones que estaban atrapados en las trampas superficiales están siendo liberados por efecto de la temperatura y los máximos de la curva de brillo se borrarían paulatinamente quedando los de mayor temperatura. En las figuras 4.8b y 4.9b se observa que en el intervalo de temperatura de 75-150°C para B1 y hasta 200 °C para B2, la respuesta TL es inestable. Esto pudiera estar asociado a que el material se sensibiliza por el ciclo de irradiación y medida TL (Engin B. y Güven O., 2000; Ponnusamy, *et al.*, 2012), logrando una estabilidad térmica a temperaturas mayores a 200°C, a partir del cual ocurre el comportamiento de decaimiento exponencial de la señal. Sin embargo, la recuperación TL que se presenta en el blanqueo térmico menor a 200 °C puede también estar asociada a una transferencia y reatrapamiento de cargas en trampas más profundas.

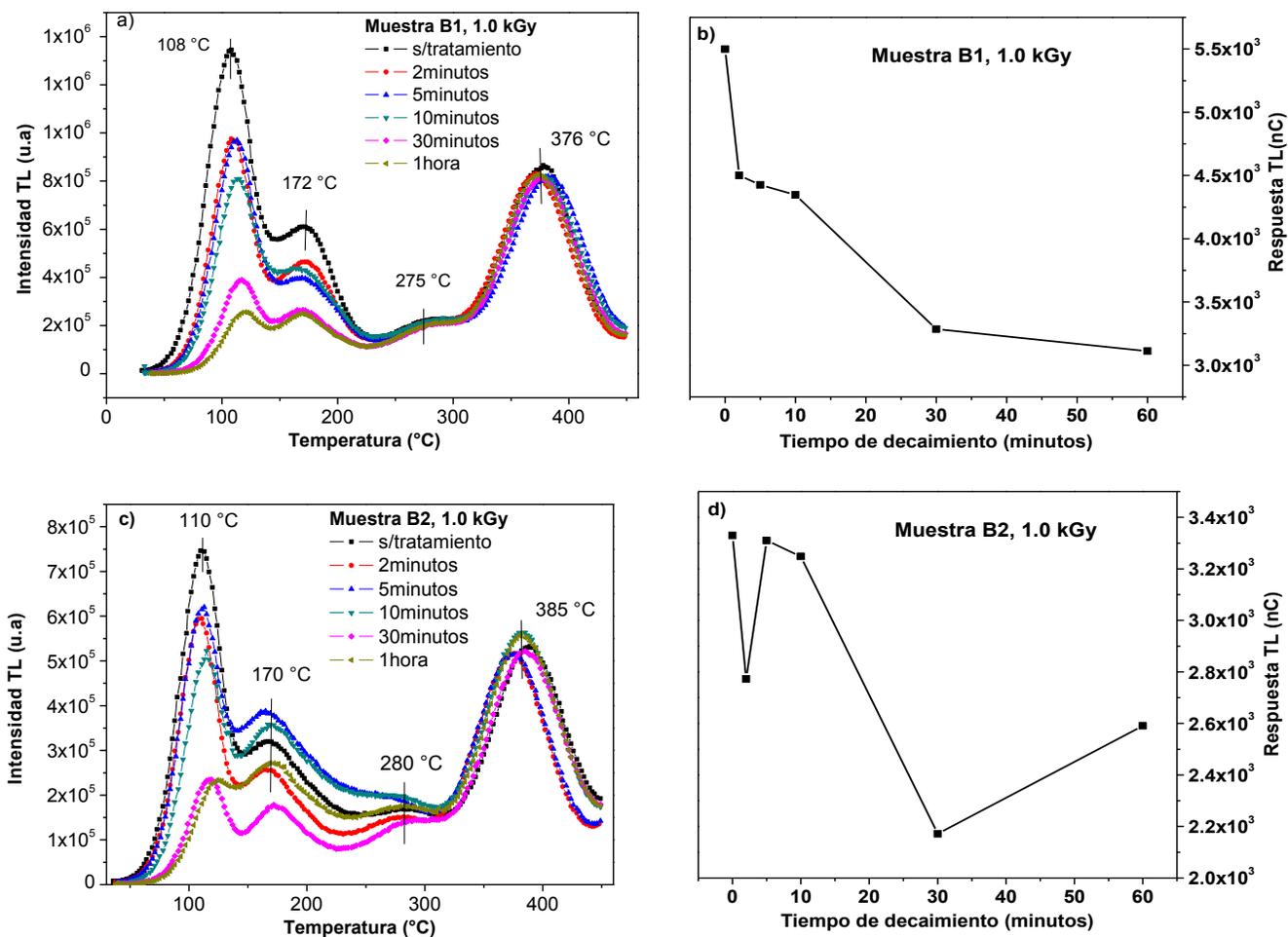
#### 4.2.5. Blanqueo con lámpara Solar.

Para analizar la estructura de las curvas de brillo se llevó a cabo un blanqueo óptico mediante una lámpara solar (300-800nm), con lo cual se observó un ligero desvanecimiento de la señal en comparación con el tratamiento térmico. El tiempo de exposición varió entre 0 a 60 minutos.

Para la muestra B1 (figura 4.10a), en un intervalo de 0-1 hora de exposición a la luz, los picos de menor temperatura, cuyos máximos están localizados en 108 y 172°C disminuyen en intensidad y prevalecen los de mayor temperatura localizados en 275 y 376°C. La señal de la muestra B1 disminuyó de manera exponencial de acuerdo con el tiempo de exposición a la luz como se puede observar en la figura 4.10b.

En el caso de la muestra B2 (figura 4.10c), en el mismo intervalo de exposición, los picos localizados a 110, 170 y 280°C disminuyen la intensidad quedando solo el último pico localizado a 385°C. La señal de la muestra B2 (figura 4.10d) presentó un aumento de la señal de TL cuando esta es expuesta a la luz por tiempos cortos 2-5min, lo cual puede atribuirse a un reatrapamiento de las cargas liberadas hacia trampas más profundas. Esto indica que la luz UV logra excitar a las cargas atrapadas en niveles menos profundos.

En el caso de las dos muestras, la intensidad de la lámpara solar no es suficiente para blanquear ópticamente la estructura cristalina de los poliminerales y solo afecta a los picos de menor temperatura, los más inestables térmicamente. Para las dos muestras, después de 5 min de exposición a la luz UV, todas las cargas inician un mecanismo de reatrapamiento y liberación de los electrones, así como la recombinación de otros defectos.



**Figura 4.10: Comportamiento TL de los poliminerales de ostra expuestas a blanqueo con lámpara solar. Curvas de brillo: a) Muestra B1 y c) Muestra B2. Respuesta TL respecto a la tiempo de exposición: b) Muestra B1 y d) Muestra B2.**

#### 4. 2.6. Reproducibilidad de las señales luminiscentes.

Al exponer las muestras a irradiaciones continuas es posible que estas sufran sensibilidad a la dosis, por lo cual es importante realizar medidas de la reproducibilidad. Los poliminerales fueron sometidos a una serie de 10 irradiaciones y medidas TL sucesivas a dosis de 1.0 kGy.

En las figura 4.11 se muestran las curvas de brillo para las muestras B1 y B2. El primer pico TL presenta una misma tendencia de crecimiento no muy pronunciado, el segundo pico presenta la mayor variación en la intensidad, lo cual puede deberse a una transferencia de cargas ya que hay trampas cercanas a la banda de conducción que pueden liberar lentamente a los electrones para reatraparse en las trampas de mayor temperatura entre 150 a 300 °C donde se

nota mayor variación de las curvas de brillo. El cuarto pico localizado entre 376 y 385 °C fue incrementando con las re-lecturas TL, este pico es sensible al proceso de re-irradiación. Este hecho implica el cuidado en el uso de las muestras en irradiaciones sucesivas, esta situación inestable de TL puede mejorarse con un borrado térmico post-irradiación a las muestras.

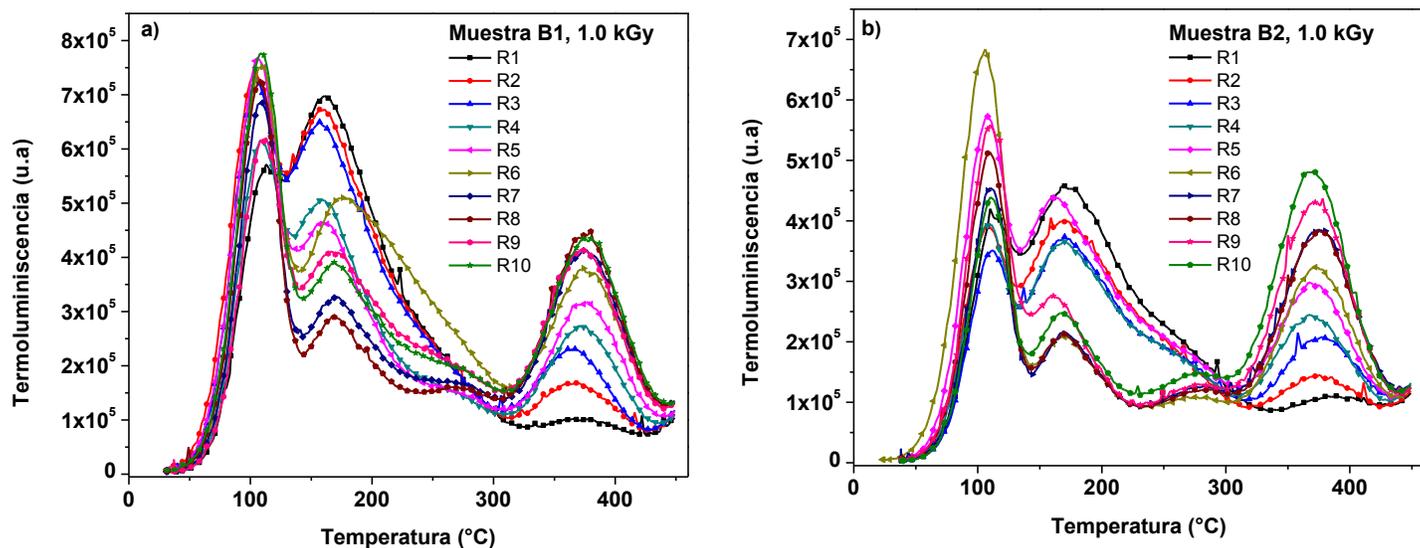


Figura 4.11: Curvas de brillo de la reproducibilidad TL de los poliminerales de la ostra irradiados a 1000 Gy: a) Muestra B1 y b) Muestra B2.

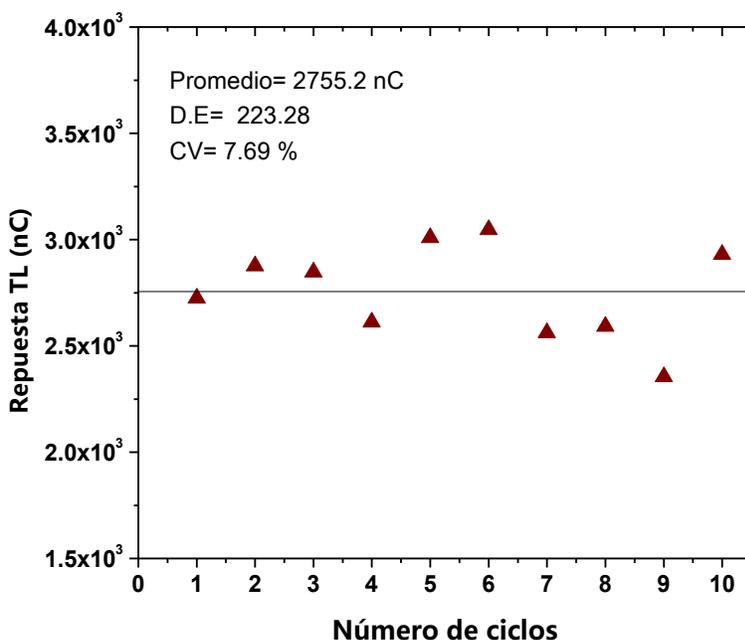
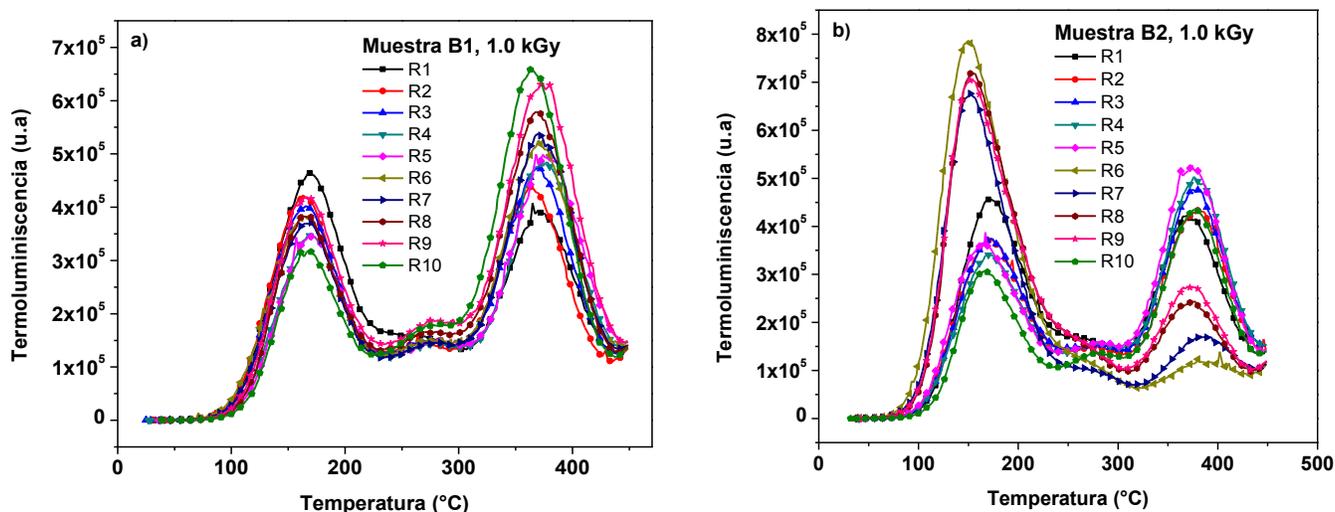


Figura 4.12: Promedio de la respuesta TL de la muestra B1 y B2 de los poliminerales irradiados a 1 kGy.

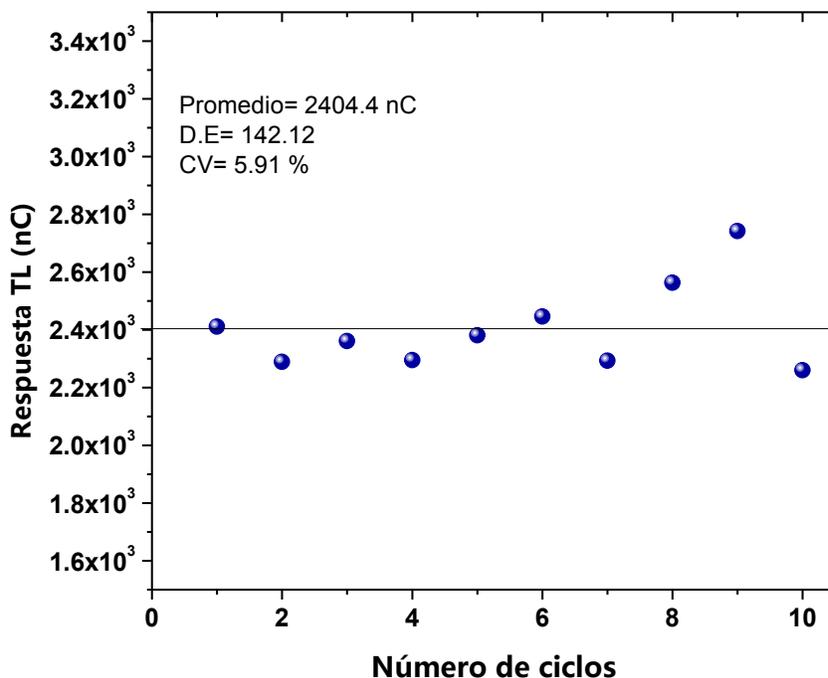
Los datos de la respuesta TL presentaron el CV de 7.69% (figura 4.12), además de curvas inestables y aparentemente no reproducibles, el resultado del CV es muy similar (7%) al obtenido en otras muestras de ostras (Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012). Debido a la inestabilidad fue necesario aplicar un tratamiento térmico a 250°C después del proceso de irradiación porque de acuerdo al experimento de blanqueo térmico (apartado 4.2.4), a esta temperatura se elimina el primer pico que es el más inestable.

En la figura 4.13 se observan las curvas de brillo obtenidas después del borrado térmico (250 °C) post-irradiación, en las cuales se observa que el primer pico TL desaparece, permaneciendo el segundo, tercer y cuarto pico, obteniendo así curvas TL más estables y mejoría en su reproducibilidad TL.



**Figura 4.13: Curvas de brillo de los poliminerales de la ostra, irradiados a 1000 Gy y sometidos a tratamiento térmico de 250°C por 3 minutos: a) Muestra B1 y b) Muestra B2.**

Al realizar de nuevo el experimento de repetibilidad pero ahora con tratamiento a 250 °C se obtiene una mejor reproducibilidad de CV= 5.91% (figura 4.14) con respecto a CV=7.69% sin tratamiento térmico. Con lo que se puede decir que el tratamiento es adecuado para lograr una mejor reproducibilidad y estabilización de las curvas de brillo.



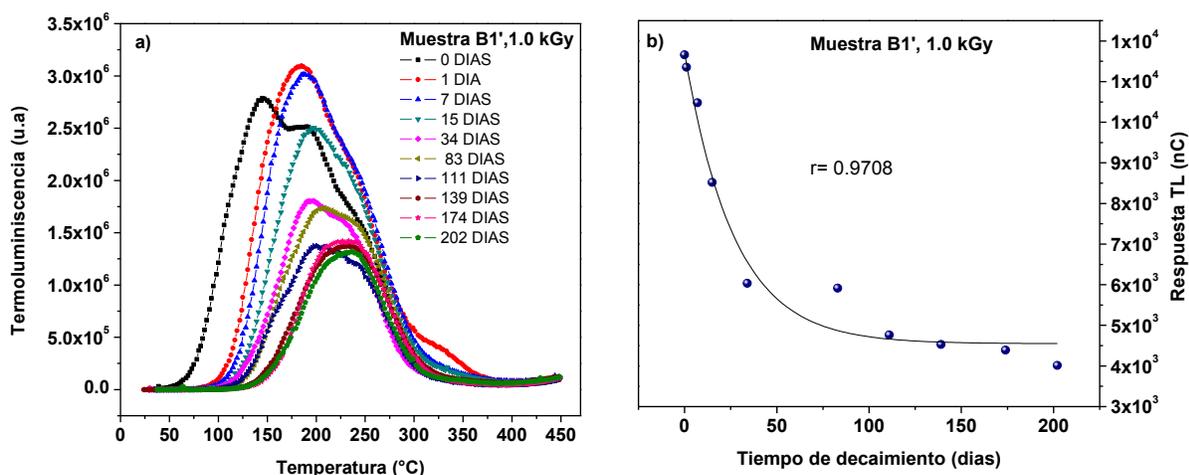
**Figura 4.14:** Promedio de la respuesta TL de la muestra B1 y B2 de los poliminerales irradiados a 1.0 kGy.

#### 4.2.7. Desvanecimiento de la señal TL por almacenamiento (fading).

La pérdida de la señal TL a temperatura ambiente es un factor importante a evaluar en el material cuando se pretende su utilidad como dosímetro o detector de radiación, y en el caso de alimentos, para conocer el efecto del ambiente en la pérdida de la señal de los poliminerales. Si las muestras ionizadas por radiación se mantienen almacenadas por tiempos prolongados, los electrones tienden regresar a su estado energético más estable, es decir, que pueden liberarse de sus trampas, produciéndose así un decaimiento paulatino de la señal TL.

Se irradió el lote completo de poliminerales extraídos de las conchas de las ostras de tamaño  $\leq 149 \mu\text{m}$ . Se consideraron diferentes alícuotas cada vez que se realizaba una medida de fading, las medidas fueron por duplicado. El lote fue irradiado a 1 kGy y se almacenó en condiciones de obscuridad y a temperatura ambiente, hasta 202 días. A estas muestras las llamamos B1' y B2'

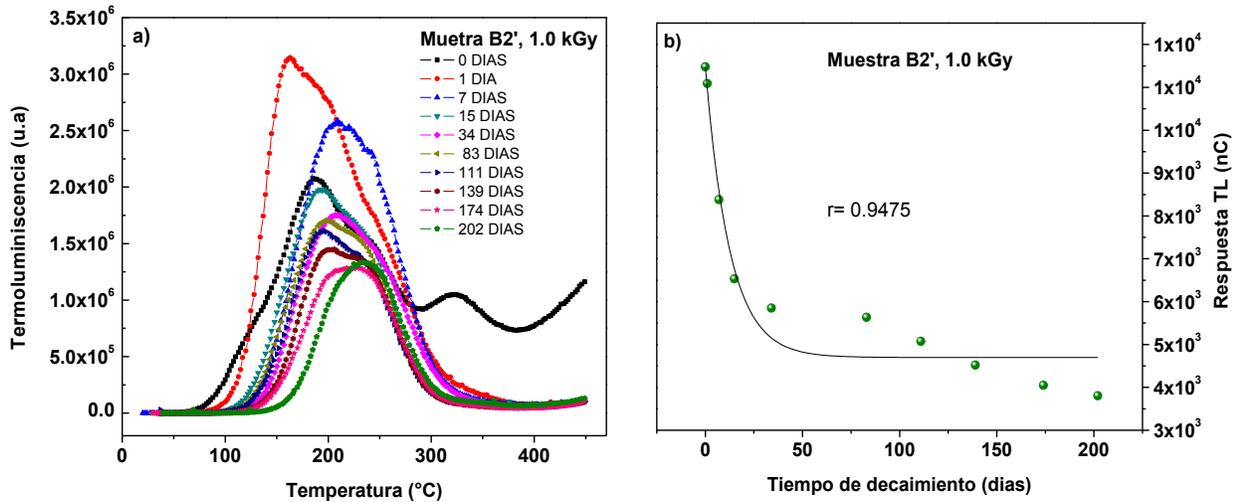
La muestra B1' presentó una pérdida de su primer pico de TL localizado alrededor de 144°C, así como un aumento en intensidad de su segundo pico localizado en 189°C, lo cual pudiera atribuirse también a una transferencia de carga (figura 4.15a). Después de 111 días de almacenamiento la muestra presenta cierta estabilidad. Este hecho puede atribuirse a la lenta liberación de las trampas superficiales, así como una estabilidad de las trampas más profundas. La respuesta TL fue graficada en función del tiempo (figura 4.15b), en donde se observa un decaimiento exponencial al aumentar los días de almacenamiento debido a la liberación y recombinación subsecuente de las cargas en los centros de recombinación. El decaimiento fue aproximado por la relación:  $y = Ae^x + y_0$



**Figura 4.15: a) Curva de brillo de la pérdida de la señal TL por almacenamiento b) Respuesta TL de los poliminerales de ostra en función del tiempo de almacenamiento.**

En la muestra B2' (figura 4.16a), se observa que después de un día de almacenamiento el primer pico localizado en aproximadamente 166°C presenta una mayor intensidad y después de 7 días de almacenamiento empieza a decaer la señal de termoluminiscencia. En la figura 4.16b se observa que el decaimiento de la respuesta TL es exponencial, del tipo:  $y = Ae^x + y_0$

La muestra B2', presenta un comportamiento similar a lo observado en la muestra B1', logrando una estabilidad del decaimiento de su señal TL al término de 139 días de almacenamiento. Para la muestra B1' y B2' se observa que las curvas de brillo se modifican conforme aumentan los días de almacenamiento, presentando un solo pico TL, probablemente a temperatura ambiente las trampas donde se encuentran los electrones se liberan paulatinamente de manera que los subniveles cercanos se van ocupando hasta llegar a niveles más profundos.



**Figura 4.16:** a) Curva de brillo de la pérdida de la señal TL por almacenamiento, b) respuesta TL de los poliminerales de la ostra en función del tiempo de almacenamiento.

Podemos mencionar además que hasta el día 34 de almacenamiento ocurre una rápida pérdida de la señal con 48.26% para la muestra B1' y 49.03% para la muestra B2'. Después del día 34 el decaimiento empieza a ser más lento y ambas muestras presentan una mayor pérdida de señal TL en un lapso de 202 días de almacenamiento, con 65.57% para la muestra B1 y 66.85% para la muestra B2 (tabla 4.3). Después de estos días de almacenamiento todavía es posible determinar el decaimiento debido a que la intensidad TL sigue disminuyendo, lo cual deja en claro que la TL es un fenómeno muy sensible para identificar al alimento que fue irradiado.

**Tabla 4.3: Porcentaje de pérdida de la señal durante el fading.**

Tiempo de almacenamiento (días)	Señal TL (nC)	Pérdida (%)	Señal TL (nC)	Pérdida (%)
	Muestra B1		Muestra B2	
0	11660	0	11480	0
1	11352	2.64	11090	3.40
7	10480	10.12	8380	27.00
15	8521	26.92	6534	43.08
34	6033	48.26	5851	49.03
83	5917	49.25	5634	50.92
111	4765	59.13	5072	55.82
139	4530	61.15	4519	60.64
174	4391	62.34	4049	64.73
202	4015	65.57	3806	66.85

#### **4.2.8. Parámetros cinéticos calculados por el Método de Levantamiento Inicial (IRM).**

El cálculo de energía de activación ( $E$ ) y factor de frecuencia ( $s$ ) se realizó por el Método de levantamiento inicial (IRM) (Garlick y Gibson, 1948; Pagonis, *et al.*, 2006). Este método considera la parte inicial del levantamiento (bajas temperaturas) de una curva de termoluminiscencia, en este intervalo el número de electrones atrapados puede considerarse constante y su dependencia con la temperatura puede suponerse despreciable.

Para el cálculo de los parámetros cinéticos se utilizaron las curvas de brillo obtenidas en el experimento de blanqueo térmico ya que es posible observar los picos termoluminiscentes de manera aislada. Se consideró la curva sin tratamiento térmico, la curva con blanqueo a 250°C ya que el primero pico se elimina. La curva de brillo con tratamiento térmico de 350°C, a esta temperatura el segundo pico desaparece, y por último se consideró la curva con tratamiento térmico a 450°C para la muestra B1 aunque el pico no se elimina por completo, y 400°C para la muestra B2 en este caso se logra aislar el último pico que es el más estable.

En las figuras 4.17 y 4.18, se muestran las gráficas de  $\ln(I)$  contra  $1/KT$  para las muestras B1 y B2 ( $\leq 149 \mu\text{m}$ ) respectivamente. Para cada recta obtenida se realizó regresión lineal para obtener la pendiente y con esto el valor de la

energía de activación. El factor de frecuencia se calculó utilizando la ecuación (3), con un factor de calentamiento  $\beta = 2^\circ\text{C/s}$ .

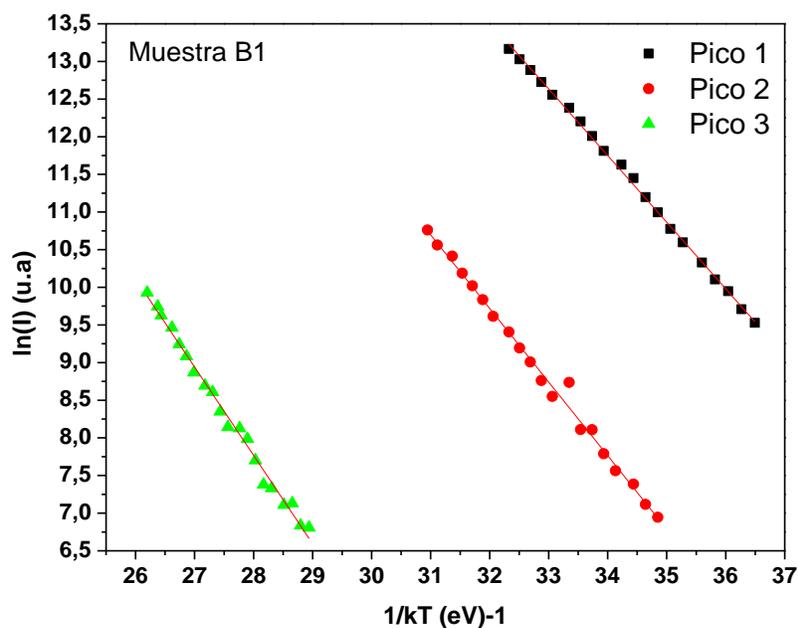


Figura 4.17: Determinación de la energía de activación de la muestra B1.

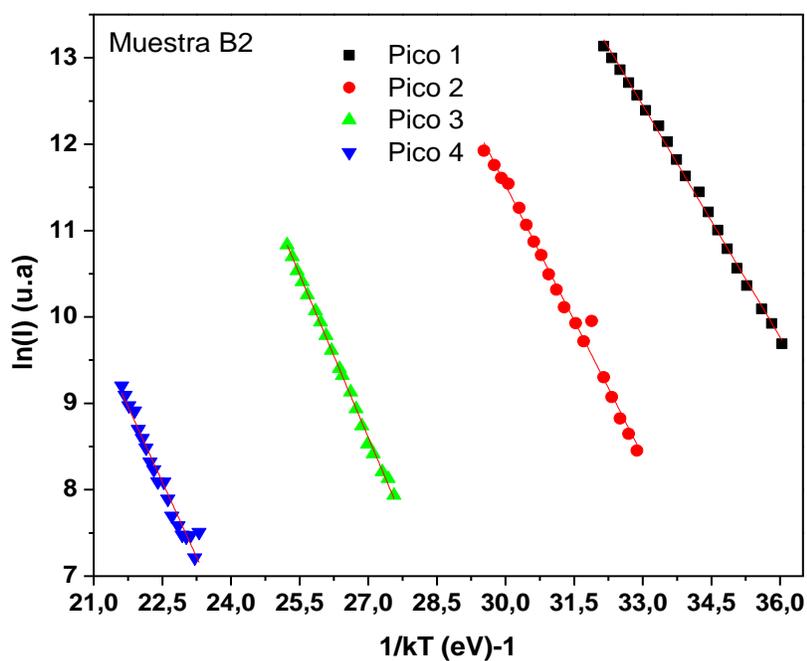


Figura 4.18: Determinación la energía de activación de los picos de la muestra B2.

En la tabla 4.4 se muestran los parámetros cinéticos calculados para los picos de las muestras B1 y B2, se observa que el valor de energía de activación aumenta en los picos de mayor temperatura ya que están asociados a trampas más profundas. En la muestra B1 aún a temperatura de 450°C no se logra eliminar por completo el pico 3 por lo que no se calcularon los valores de energía y factor de frecuencia. En la muestra B2 si se calculó los parámetros cinéticos para el pico 3 y se observa que el valor de energía de activación disminuye ligeramente.

Los valores obtenidos de energía de activación (0.88-1.17 eV) son similares a los obtenidos para el caso de ostra China y Sudafricana comercializadas en Europa (Cruz-Zaragoza, *et al.*, 2012), así como los obtenidos para el caso de calcita Coreana (Ki-Bum y Duk-Geun, 2014). Mientras que los valores de factor de frecuencia ( $10^{10}$ - $10^{13}$  s<sup>-1</sup>) son similares a los reportados para el caso de calcita natural (Yassin y Abdel-Razek, 2015).

**Tabla 4.4. Parámetros cinéticos calculados de las curvas de brillo obtenidas del experimento de blanqueo térmico de las muestras  $\leq 149 \mu\text{m}$ : B1 y B2.**

Muestra	Parámetros	P1	P2	P3	P4
B1	T(°C) de blanqueo	-	250°C	350°C	450°C
	E (eV)	0.885±0.008	0.978±0.088	1.174±0.024	-
	T <sub>M</sub> (°C)	119	161	260	370
	s (s <sup>-1</sup> )	4.4229x10 <sup>12</sup>	3.7934x10 <sup>12</sup>	1.6728x10 <sup>12</sup>	-
B2	T(°C) de blanqueo	-	250°C	350°C	400°C
	E (eV)	0.894±0.095	1.046±0.023	1.256±0.012	1.162±0.0512
	T <sub>M</sub> (°C)	113	179	260	370
	s (s <sup>-1</sup> )	9.027x10 <sup>12</sup>	7.5711x10 <sup>12</sup>	1.067x10 <sup>13</sup>	1.1533x10 <sup>10</sup>

### 4.3. Luminiscencia fotoestimulada (PSL).

#### 4.3.1. Límite de detección y comportamiento de PSL de las muestras irradiadas.

El método de luminiscencia fotoestimulada permite trabajar con el alimento completo, considerando la parte orgánica e inorgánica. Para este análisis se

utilizaron las conchas pulverizadas sin tratamiento con HCl, a la cual se le llamó muestra D.

Se realizó una medida de luminiscencia fotoestimulada (PSL) inicial, con la finalidad de eliminar cualquier interferencia que pudiera afectar las mediciones. Posteriormente, las muestras fueron expuestas a radiación gamma  $^{137}\text{Cs}$  en un intervalo de dosis de 10-3000 Gy en el irradiador Gammacell-3000 con una razón de dosis de 10.82 Gy/min en el sitio de irradiación. Las medidas se realizaron de 0-60 minutos en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente aproximadamente de 25 °C.

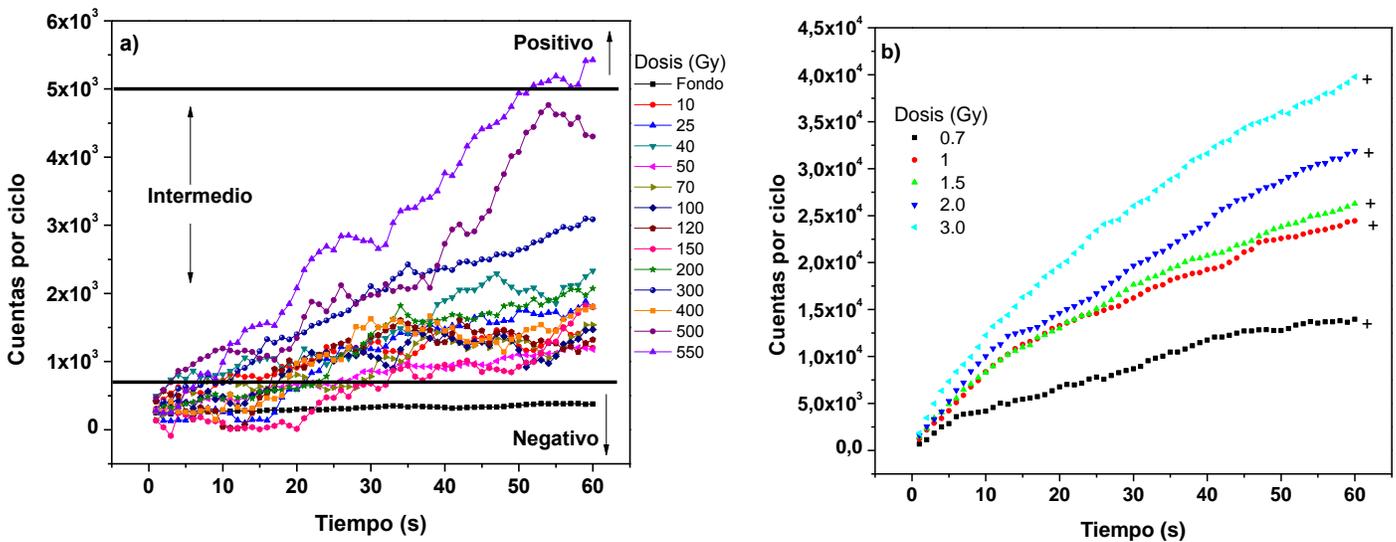
El equipo PSL define tres condiciones: Positivo cuando la muestra tiene un límite de cuentas de fotones que indican que ha sido irradiada ( $\geq 5000$  cuentas totales/ 60 segundos). La condición Negativo ( $< 700$  cuentas totales/ 60 segundos) indica que la muestra no ha sido irradiada mientras que la condición Intermedio ( $\geq 700$  cuentas totales/ 60 segundos) no se sabe con certeza si la muestra ha sido expuesta a radiación. En la tabla 3 se muestran algunos resultados de las medidas PSL, se observa que a dosis de 550 Gy se tiene un resultado positivo con 5424 cuentas totales, siendo a esta dosis el límite de detección.

**Tabla 4.5: Identificación por PSL de la muestra irradiada a diferentes dosis.**

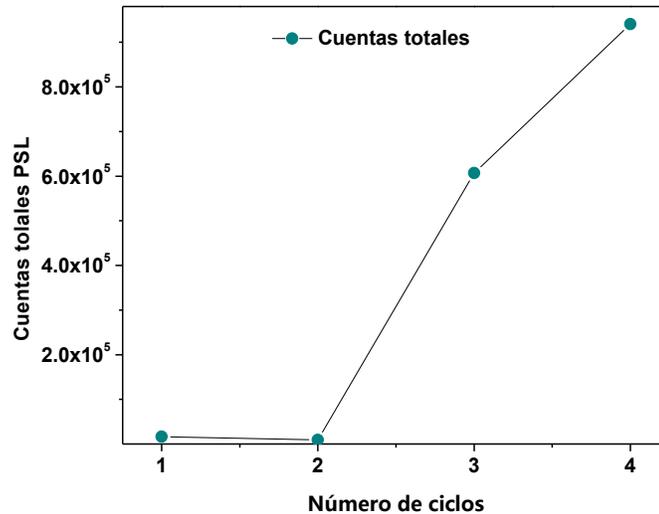
Dosis (Gy)	Cuenta final	Resultado
50	1177± 48	Intermedio
70	1536±52	Intermedio
100	1471±73	Intermedio
120	1320±50	Intermedio
150	1798±54	Intermedio
200	2070±90	Intermedio
300	3087±66	Intermedio
400	1808±55	Intermedio
500	4303±75	Intermedio
550	5427±77	Positivo

Analizando las curvas de PSL, en la figura 4.19a se observa que a dosis de 10 a 550 Gy las cuentas por ciclo van desde negativas, intermedias y positivas, presentando variación en comparación con dosis de 700 a 3000 Gy (figura 4.19b) donde se muestran más estables y las cuentas totales para todas las dosis son positivas.

Con la finalidad de corroborar que a partir de 550 Gy las cuentas totales PSL dieron positivo se realizaron cuatro repeticiones, como se observa en la figura 4.20 donde cada repetición muestra un valor mayor a 5000 cuentas totales.



**Figura 4.19: Emisión de luminiscencia fotoestimulada (PSL) de conchas de ostra. Cuentas por ciclo en función del tiempo.**



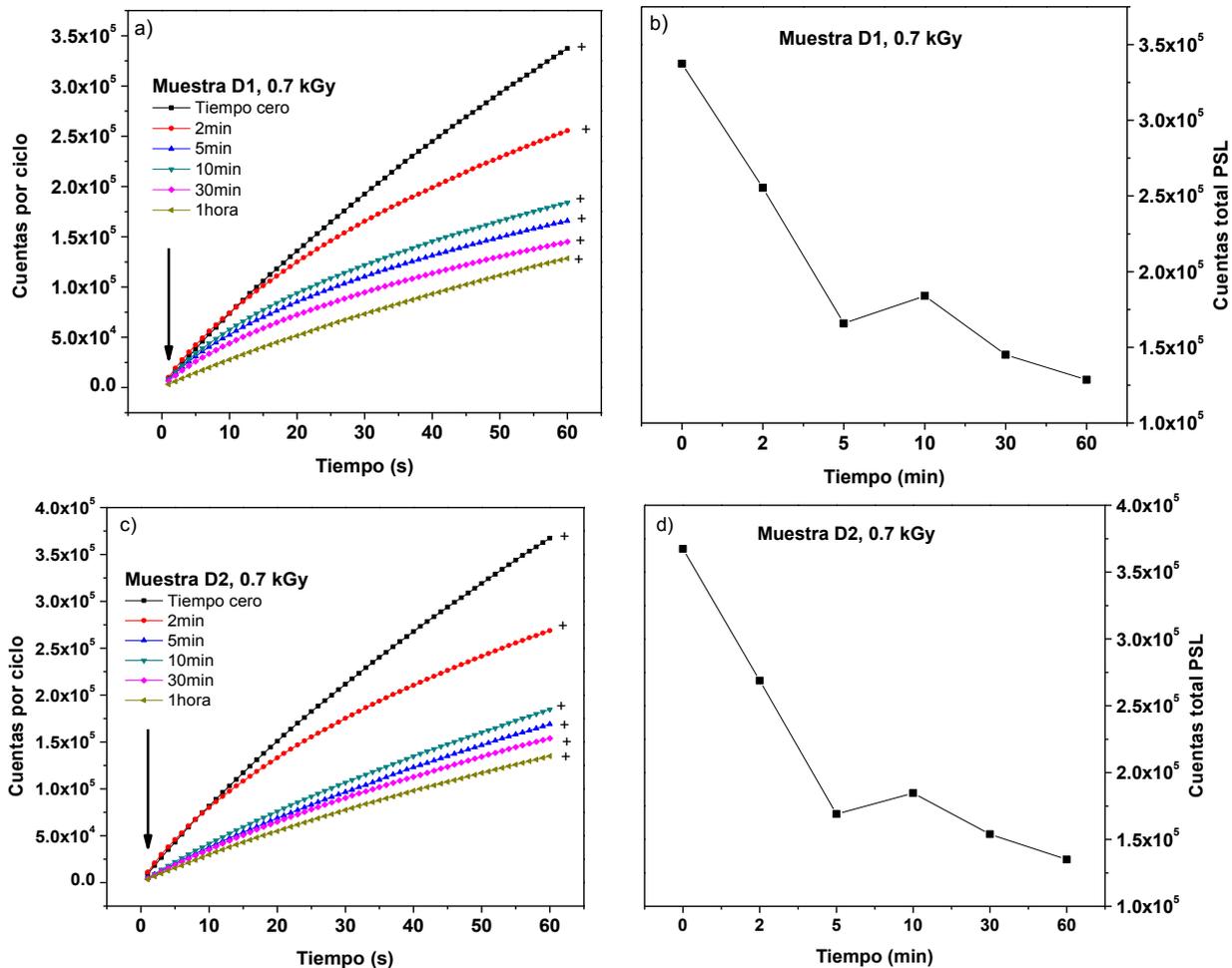
**Figura 4.20: Repeticiones de medidas PSL a 550 Gy.**

Para las medidas de blanqueo solar y fading de PSL se decidió utilizar la dosis de 700 Gy debido a que las cuentas totales son positivas y la curva es más estable que a 550 Gy.

#### 4.3.2. Efecto de la luz de lámpara Solar en PSL.

Para analizar la pérdida de la señal de PSL debido a la luz UV, se usó un simulador solar estimulando cargas poco profundas. El experimento se realizó por duplicado, nombrando a las muestras como D1 y D2, las cuales pertenecen al mismo lote.

En la figura 4.21a y 4.21c se observa el desvanecimiento de la señal para las dos muestras al aumentar el tiempo de exposición en la lámpara de 0.0-1.0 hora. En 10 minutos se obtuvo una pérdida de la señal PSL de aproximadamente 52%. Las muestras D1 y D2 presentaron en 60 minutos una pérdida de la señal de 63.28% y 61.88%, respectivamente. En la figura 4.21b y 4.21d se observa un decaimiento exponencial de las cuentas total PSL.

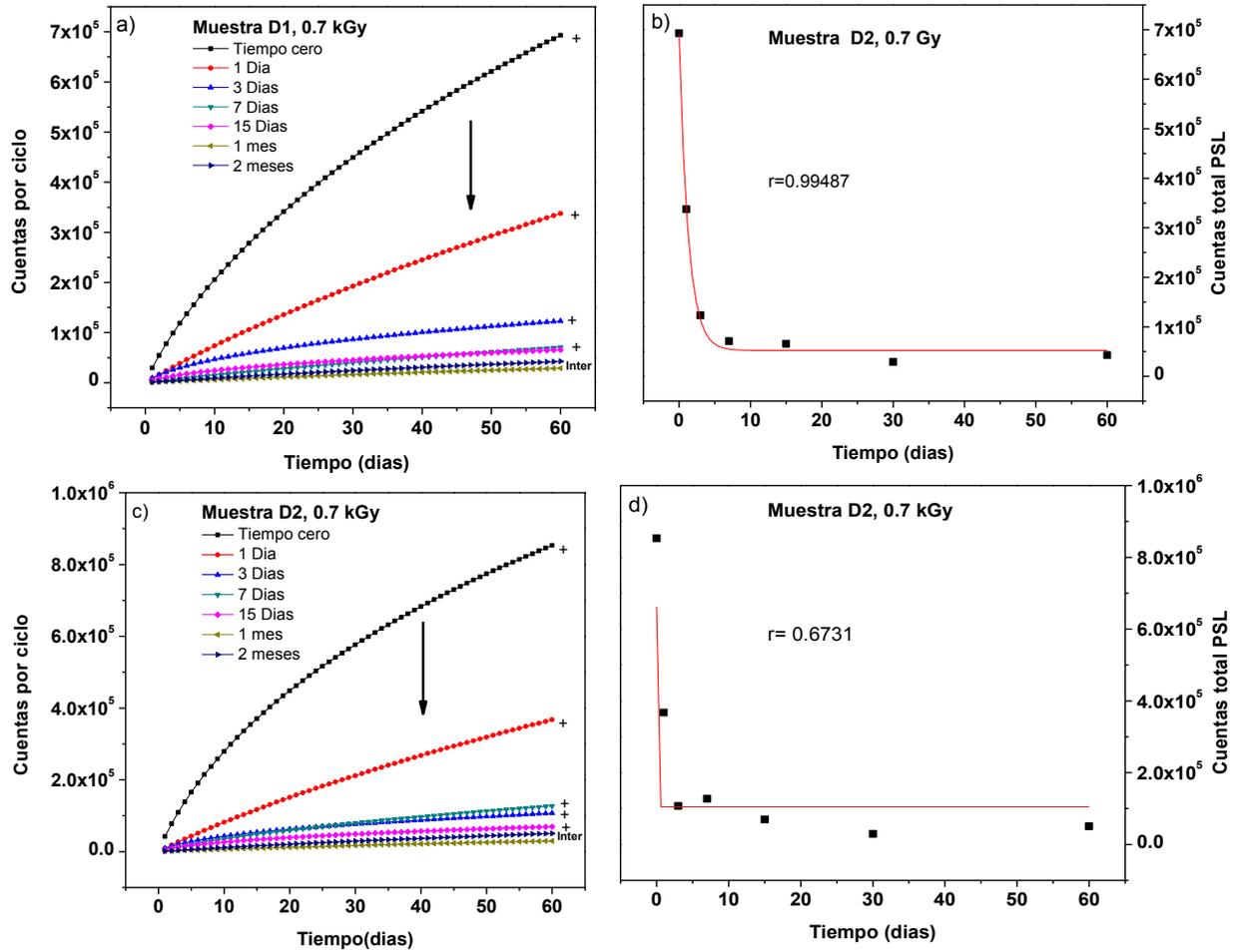


**Figura 4.21: Emisión PSL de ostra pulverizada expuesta a blanqueo con lámpara Solar: a) Muestra D1 y c) Muestra D2). Repuesta PSL en función del tiempo: b) Muestra D1 y d) Muestra D2.**

### 4.3.3. Fading PSL.

Para analizar el efecto del ambiente en la pérdida de la señal PSL, las muestras se almacenaron en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente. Se realizaron medidas PSL por duplicado en períodos entre cero hasta 60 días. En la figura 4.22a y 4.22b se observa que para la muestra D1 y D2 hay una notable pérdida de intensidad del día cero al día uno, con 51.30% y 56.92%, respectivamente. A partir de 15 días la intensidad PSL decae hasta 90% y transcurridos 60 días ya se tiene pérdida de 93.86% para la muestra D1, y 94.05% para la muestra D2.

En la figura 4.22b y 4.22d se observa que las muestras D1 y D2 respectivamente presentan un decaimiento hasta 7 días de almacenamiento, después de este tiempo ya no se aprecia una pérdida considerable de la señal PSL y se observa una tendencia lineal de la disminución.



**Figura 4.22: Emisión de la señal PSL por fading: a) muestra D1 y c) muestra D2. Decaimiento de la respuesta PSL en función del tiempo: b) muestra D1 y d) muestra D2.**

## CONCLUSIONES.

La irradiación de alimentos es un proceso que cada vez cobra mayor importancia, debido a su relevancia para la conservación de los alimentos o productos pesqueros como el caso de las ostras. La finalidad principal de la irradiación es reducir microorganismos patógenos pues pueden causar problemas de salud pública, desde una intoxicación leve hasta la muerte del consumidor. Además, con este proceso es posible alargar la vida de anaquel del producto. Debido a que cada vez se irradian más alimentos es importante contar con métodos de detección fiables, situación que no está resuelta en las normas oficiales en México.

En este trabajo de tesis se realizó un estudio de luminiscencia (TL y PSL) de la fracción inorgánica presente en conchas de ostra de la especie *Crassostrea virginica* previamente irradiadas con gammas de  $^{137}\text{Cs}$  en el Irradiador Gammacell-3000. Los poliminerales al exponerse a la radiación gamma sufren ionización generándose pares electrónicos y debido a sus recombinaciones generan fotones luminosos, con lo cual es posible detectar las señales luminiscentes a la ostra irradiada.

En el análisis por el fenómeno de termoluminiscencia (TL) fue necesaria la extracción de la fracción inorgánica por lo que se propuso una metodología con la que se tiene un rendimiento de 2.24% de las conchas de ostras. Aunque aparentemente es bajo, no lo es tanto si comparamos la fracción orgánica con la inorgánica presente en un alimento, que generalmente es del orden de miligramos. Para el análisis los poliminerales fueron separados por tamaños: A( $\leq 74 \mu\text{m}$ ), B( $\leq 149 \mu\text{m}$ ) y C( $\leq 250 \mu\text{m}$ ).

Las medidas TL se realizaron en el intervalo de 4 Gy a 5000 Gy. Se determinó el límite mínimo de detección, para la muestra A fue en 60 Gy, mientras que para las muestras B y C fue en 40 Gy. Conociendo las dosis en las que se determinó el límite de detección, se puede tener un control de calidad y evitar

posibles procesos de re-irradiación que pudieran dañar las propiedades organolépticas de la ostra.

Las curvas de brillo generadas en los tres tamaños de partícula mostraron al menos cuatro picos de termoluminiscencia en las siguientes temperaturas: el primero entre 108 y 120°C, el segundo de 163 a 170°C, el tercero entre 270 y 279°C y el último de 382 a 388°C, estos picos de TL son más estables a dosis altas, debido a la distribución de trampas profundas cuyas energías de activación son relativamente altas.

Se obtuvo la respuesta TL lineal en función de la dosis en el intervalo de 4-2000 para la muestra A, de 4-2000 Gy para la muestra B, y de 4-1500 Gy para la muestra C. Debido a esto, se decidió utilizar la muestra B debido a que la estructura de las curvas es más estable y el intervalo lineal es mayor. Con la muestra B se realizó el blanqueo térmico, blanqueo solar, reproducibilidad y decaimiento de la señal por almacenamiento.

Al realizar el experimento de blanqueo térmico de las señales TL se observó una inestabilidad en la intensidad para las dos muestras en calentamientos de 75-200°C, esto pudiera estar asociado a que el material se sensibiliza, logrando una estabilidad térmica a temperaturas mayores a 200°C. Se observó un comportamiento de decaimiento exponencial después de esa temperatura de blanqueo. Asimismo, utilizando la temperatura de 250°C es posible eliminar el primer pico TL. El segundo pico se borra a 350°C, mientras que el tercer pico desaparece entre 400 y 450°C. Se muestra que el pico más estable es el de alta temperatura, mientras que los picos de menor temperatura son más inestables debido a que se borraron conforme se aumentó la temperatura. Se observó con el blanqueo óptico, usando una lámpara Solar, un ligero desvanecimiento en comparación con el blanqueo térmico ya que ningún pico se eliminó, solo disminuyeron en intensidad. Es decir, la excitación de los electrones y su liberación ocurren con mayor probabilidad por estar en trampas menos profundas pero solo disminuyen la intensidad de las curvas de brillo.

Se obtuvo una buena reproducibilidad TL (CV de 7.69%) aún con curvas inestables, por lo que se realizó un proceso de estabilización con calentamiento

térmico a 250°C de las muestras con lo que observó evidencia de mejoras en la estabilidad y reproducibilidad de la señal TL con CV de 5.91%. En general, los valores aceptados para dosimetría son menores al 7%.

En el desvanecimiento de la señal TL por almacenamiento se observó una disminución de la intensidad hasta 202 días. En este período se tuvo aproximadamente 66% de la pérdida de la señal inicial, por lo que todavía es posible detectar la señal del decaimiento. Así también es posible notar que las curvas de brillo se modifican conforme aumentan los días de almacenamiento, observándose un solo pico TL. Probablemente a temperatura ambiente los electrones se liberan paulatinamente de manera que los subniveles cercanos se van ocupando hasta llegar a niveles más profundos, generando al final picos TL más estables y de mayor temperatura pero detectables aún en períodos de tiempo largo.

En la detección mediante la luminiscencia fotoestimulada (PSL), se utilizaron las conchas pulverizadas sin lavado con ácido clorhídrico. Este método permite identificar un alimento completo, sin la necesidad de realizar la separación de la fracción inorgánica. Las medidas PSL se realizaron de 10 a 3000 Gy. Se obtuvo el límite de detección a partir de 550 Gy donde las cuentas totales de PSL fueron positivas. Al realizar las medidas del fading, es decir, de las muestras almacenadas, se observó que del día cero al día uno, la pérdida de la señal entre 51 y 56%, y después de 7 días de almacenamiento la disminución de la señal es mayor a 85%.

Es importante mencionar que las señales TL para la muestra B se detectó como irradiada a partir de 40 Gy. Para la muestra D, utilizando PSL, se detectó a partir de 550 Gy, por lo que el método de PSL permite solamente detectar alimentos irradiados a dosis altas. Pero si las ostras se irradiaran a dosis mayores a 550 Gy para fines de conservación y esterilización, el método PSL puede ser un método adecuado, pero a dosis menores no lo sería debido a la baja sensibilidad a la radiación gamma del polimineral carbonato cálcico presente en la ostra Mexicana de Veracruz. El método TL sigue siendo un método sensible para detectar alimentos como la ostra Mexicana que puede irradiarse aún a dosis

relativamente bajas de 40 Gy. Es de señalarse, que la termoluminiscencia es un método rigurosamente probado mediante experimentos de muestras ciegas entre varios laboratorios del Mundo, mientras que la PSL puede considerarse un método de detección rápida pero depende en gran parte de la concentración y eficiencia del polimineral en el alimento, y por ende las muestras deben analizarse de nuevo con un método confiable como lo es la TL.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta tesis, las conchas de ostras de la especie *Crassostrea virginica* de origen Mexicano tienen propiedades termoluminiscentes y de PSL que son útiles para la identificación de este tipo de alimentos después de haber sido sometidos a irradiación, además de que este tratamiento es adecuado para la sanitización de alimentos de origen marino.

## ANEXO.

El análisis de los promedios y desviación estándar (también llamado coeficiente de variación) puede ayudar en la identificación de las diferentes fuentes de variación de la reproducibilidad de un sistema dosimétrico. Estas fuentes pueden estar asociadas con el equipo TL, con los elementos TL, o con alguna otra fuente en el procedimiento de dosimetría (Pagonis, *et al.*, 2006)

El coeficiente de variación es una medida de dispersión que describe la cantidad de variabilidad en relación con la media. Se expresa como el coeficiente de la desviación estándar y la media, expresado en por ciento:

$$CV = \left( \frac{S}{\bar{X}} * 100 \right) \%$$

Donde:

$s$  corresponde a la desviación estándar

$\bar{X}$  corresponde al promedio.

Puesto que el coeficiente de variación no se basa en unidades, se puede utilizar en lugar de la desviación estándar para comparar la dispersión de los conjuntos de datos que tienen diferentes unidades o diferentes medias y compararse la variabilidad de nos muestras provenientes de poblaciones diferentes (Quiroga, 1997).

## BIBLIOGRAFÍA.

Aldana, D., Baqueiro, E., 1995. Mecanismos de formación de conchas de moluscos. *Avances y perspectiva*, 14, 231-236.

Alberti A., Eugenio Chiaravalle, Piergiorgio Fuochi , Dante Macciantelli , Michele Mangiacotti , Giuliana Marchesani , ElenaPlescia, Irradiated bivalve mollusks: Use of EPR spectroscopy for identification and dosimetry, *Radiation Physics and Chemistry* 80 (2011) 1363–1370.

Anderle H., Steffan I., Wild E., Hille P., Radiolyo-chemiluminescence of bones and seafood shells – a new, promising method for the detection of food irradiation?, *Fresenius Journal Chem* 354 (1996) 925-928.

Beneitez, P., Correcher, V., Millán, A., Calderón, T., 1994. Thermoluminescence analysis for testing the irradiation of spices. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 185 (2), 401–410.

Brands, D.A., Inman, A.E., Gerba, C.P., Mar e, C.J., Billington, S.J., Saif, L.A., Levine, J.F., Joens, L.A., 2005. Prevalence of Salmonella spp. in oysters in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (2), 893–897.

Bortolin, E., Bustos Griffin, E., Cruz-Zaragoza, E., De Coste, V., Onori, S., 2006. Electron paramagnetic resonance detection of Mexican irradiated spices. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(4), 375–382.

Brown, F. 1970. *Física de los Sólidos*. Madrid: Reverté.

Calderón, T. 2000. *La irradiación de Alimentos*. Madrid: Mc Graw-Hill.

Callister. W. 1996. *Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los materiales*. Barcelona: Reverté.

Carmichael, L. A., Sanderson, D. C. W., Ni Riain, S., 1994. Thermoluminescence measurement of Calcite Shells. *Radiation Measurements*, 23, 455–463

Carmichael, L.A., Sanderson, D.C.W., 2000. The use of acid hydrolysis for extracting minerals from shellfish for thermoluminescence detection of irradiation. *Food Chem.* 68, 233–238.

Chen, R. McKeever, S. 1997. *Theory of Thermoluminescence and Related Phenomena*. World Scientific.

CDC, Center for Disease Control and Prevention, 1993. Vibrio vulnificus infections, associated with raw oyster consumption—Florida, 1981–1992. *Morbidity and Mortality Weekly Reports* 42 (21), 405–407.

CODEX STAN 106-1983. *General Standard for Irradiated Foods*.

Cruz-Zaragoza, E. 2004. *La irradiación de Alimentos en otros países y en México*. En M. de la P. Ramos Lara (Ed.), *Experiencia Mexicana en Aceleradores de Partículas* (primera edición). Ciudad de México. Siglo XXI Editores.

Cruz-Zaragoza, E., Marcazzó J., Della Monaca. S., Boniglia, C., Gargiulo, R., Bortolin, E. 2012a. Thermoluminescence analysis of irradiated oyster shells. *Applied radiation and Isotopes*, 71, 18-22.

Cruz-Zaragoza, E., Marcazzó, J., Chernov, V. (2012b). Photo- and thermally stimulated luminescence of polyminerals extracted from herbs and spices. *Radiation Physics and Chemistry*, 81(8), 1227–1231.

Correcher V., Gómez-Ros J. M., Garcia-Guinea J., Delgado A., *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A* 528 (2004) 717-720.

EN 1788, 2001. Thermoluminescence detection of irradiated food from which silicate minerals can be isolated. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium.

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

Engin B., Güven O., The effect of heat treatment on the thermoluminescence of naturally-occurring calcites and their use as a gamma-ray dosimeter., *Radiation Measurements* 32 (2000) 253-272.

European Food Information Council. La irradiación de alimentos. [En línea] (Actualizado en Octubre del 2016) Disponible en: <http://www.eufic.org/article/es/artid/irradiacion-alimentos/>

FAO, 2008. *Estado mundial de la pesca*.

FDA, 2006. *Vibrio vulnificus in Raw Oysters within the Hispanic Community*.

FDA. La irradiación de alimentos: lo que usted debe saber. [En línea] (Actualizado en Junio del 2016) Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm261938.htm>

Furetta, C. 2003. *Handbook of Thermoluminescence*. Singapore: World Scientific.

Gardner, E.A., Watts, B.M., 1957. Effect of ionizing radiation on southern oysters. *Food Technol.* 11, 329–331.

Gómez-Ros, J.M., Furetta, C., Cruz-Zaragoza, E., Lis, M., Torres, A., Monsivais, G., 2006. Dose dependence and thermal stability of the thermoluminescence emission in inorganic dust from mint and camomile. *Nucl. Instrum. Methods. Phys. Res. A* 566, 727–732.

Grzegorz, P. y Waclaw, S. PPSL-The newly installed analytical system for the detection of irradiated food. *Radiation Chemistry and Physics, Radiation Technologies*.

Guerrero, I.2009. *Tecnología de productos de origen acuático*. Distrito Federal: Limusa.

Guzmán, S., Gurrola, B.R., Cruz-Zaragoza, E., Tufiño, A., Furetta, C., Favalli, A., Brown, F., 2011. Study of the glow curve structure of the minerals separated from black pepper (*Piper nigrum* L.). *Radiat. Eff. Defects Solids* 166 (4), 288–296.

Hurbolt, Jr. C y Klein, C. 1996. *Manual de Mineralogía*. Barcelona: Reverté.

IAEA, 1991. Regulation in Food Irradiation, TECDOC-585. Vienna, Austria.

IAEA, 2000a. Irradiation of Fish, Shellfish and Frog-legs—a compilation of technical data for its authorization and control. IAEA- TECDOC-1158. Vienna.

IAEA, 2000b. Radiation processing for safe, shelf-stable and ready to eat food. IAEA TECDOC-1337. Canada.

Investigaciones UAM-Iztapalapa. Laguna de la Mandinga [En línea] Disponible en: [investigacion.izt.uam.mx/ocl/VERACRUZ/Lmandinga.doc](http://investigacion.izt.uam.mx/ocl/VERACRUZ/Lmandinga.doc)

J. Zimmerman, J. The radiation-induced increase of 100°C thermoluminescence sensitive of fired quartz. *Phys. C* 4 (1971) 3265.

Jakabi, M., Gelli, D.S., Torre, J.C.M.D., Rodas, M.A.B., Franco, B.D.G.M., Destro, M.T., *et al.* (2002). Inactivation by ionizing radiation of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella infantis* and *Vibrio parahaemolyticus* in oysters (*Crassostrea brasiliana*). *Journal of Food Protection*, 66, 1025-1029.

Kane, J.W., Sternheim, M.M. 1989. *Física*. Barcelona: Reverté.

Kligen, M.B., Hemard, M.T., Luke, D., Rabalais, S., y Duet, D. (1999), Evaluation of commercial irradiation and other processing methods for *Vibrio vulnificus* control in Louisiana oysters, in Final Report, *Coordinate Research Programme on Irradiation as a Public Health intervention Measure to Control Foodborne Disease (Cysticercosis/Taeniasis and Vibrio Infections) in Latin America and the Caribbean*, Food Environmental Protection Section, Joint FAO/IAEA Division, International Atomic Energy Agency, Vienna.

Kligen, M.B., Hemard, M.T., Luke, D., Rabalais, S., y Duet, D. (1995), *Evaluation of Ionizing Irradiation Processing for Vibrio vulnificus Control in Commercially Packaged Louisiana Shellstock Oysters*, Abstract Q36 to the annual Meeting of the American Society for Microbiology, Washington, DC.

MAFF, Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods, 1993. MAFF validated methods for the analysis of foodstuffs, V27, Detection of irradiated herbs and spices: Scottish Universities Research and Reactor Centre Procedure for thermoluminescence detection of irradiated herbs and spices using renormalized separated minerals. *J. Assoc. Publ. Analysts*. 29, 187–200.

Marchesani, G., Mangiacotti, M., Chiaravalle, A. (2012). Identifying irradiated oysters by luminescence techniques (TL&PSL). *Food Chemistry*, 135, 319-324.

Martinez-Urtaza, J., Bowers, J.C., Trinanes, J., DePaola, A., 2010. Climate anomalies and the increasing risk of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* illnesses. *Food Res. Int.* 43 (7), 1780–1790.

Molins, R. 2004. *Irradiación de Alimentos. Principios y aplicaciones*. Zaragoza: Editorial Acriba.

Morton, S. Marquina, P. 1997. *La irradiación de los alimentos*. Zaragoza: Acriba editorial.

Navarrete. M., Cabrera. L. 1993. *Introducción al estudio de los Radioisótopos*. Distrito Federal: Universidad Nacional Autónoma de México.

Nilson, H. W y E.J. Coulson. 1939. The mineral content of the edible portions of some American fishery products. United States Bureau of Fisheries, Investigative Report 41, Washington, D.C.

Norma Oficial Mexicana nom-033-ssa1-1993, *Bienes y Servicios. Irradiación de alimentos. Dosis permitidas en alimentos, materias primas y aditivos alimentarios*. (Cancelada en 2005).

OMS. *La irradiación de los alimentos. Técnicas para conservar y preservar la inocuidad de los alimentos*. 1989.

Ortega, X., Jorba, J. 1994. *Radiaciones Ionizantes: utilización y riesgos*. Barcelona: Ediciones UPC.

Pagonis, V., Kitis, G., Furetta, C. 2006. *Numerical and Practical Exercise in Thermoluminescence*. Washington, D.C: Springer.

Parker, R. y Maurer, M. 1994. Effect of frozen storage and vacuum-packaging on survival of *Vibrio vulnificus* in gulf coast oysters (*Crassostrea virginica*). *Journal of Food Protection*, 57, 604-606.

Plaza, I.I.B., Gabriel, A.A., 2008. *Thermal death time of Salmonella typhimurium in oyster meat: establishment and application in a heat-treated ceviche recipe*. *J. Foodservice* 19, 277–285.

Pérez Cruz, L., 2016. *Síntesis, caracterización y propiedades de dosimetría termoluminiscente de NaMgF<sub>3</sub> y KMgF<sub>3</sub> impurificados con iones de tulio Tm<sup>3+</sup>*. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Química UNAM.

Ponnusamy V., Ramasamy V., M.T. Jose , Anandalakshmi K., Effect of annealing on natural calcitic crystals—A thermostimulated luminescence (TSL) study. *Journal of Luminescence*. 132 (2012) 1063-1075.

Quiroga, V. 1997. *Manual de Estadística Descriptiva*. San José, Costa Rica: PIADIC

Rose, R., Shepard, L., Wulff, J. 1968. *Propiedades electrónicas*. Distrito federal: Editorial Limusa-Wiley.

SAGARPA .2013. *Anuario estadístico de acuacultura y pesca*.

Sanderson, D.C.W., Slater, C., Cairns, K.J., 1989. Detection of irradiated food. *Nature* 340, 23–24.

Sanderson, D.C.W., Carmichael, L.A., Fisk, S., 2003. Thermoluminescence detection of irradiated fruits and vegetables: international interlaboratory trial. *JAOAC Int.*, 86(5), 971-975.

Secretaría de Salud. AVISO de cancelación de la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SSA1-1993, Bienes y servicios. Irradiación de alimentos. Dosis permitidas en alimentos, materias primas y aditivos alimentarios, publicada el 3 de julio de 1995. [En línea] Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/avican033ssa1.html>

Sevilla, M. 1993. *Las Ostras en Mexico, Aspectos básicos para su cultivo*. Distrito Federal: Limusa

Skoog, D.A., West, D.M. y Holler, F.J. 2001. *Principios de análisis instrumental*. Madrid:Mc Graw Hill.

Stenzel, H.B., 1971. Oyster. En: Moore, R.C y Teichert, C. *Treatise on Invertebrate Palaeontology*, N(3) 953-1224. University of Kansas Press and Geological Society of America. Kansas.

Sukdeb, P., Byeong K., Wong. Y., Min, J., Hyeon A., Woo, S., In Ho Kang., Joon Myong Song. 2010. Pulsed photostimulated an thermoluminescence investigations of  $\gamma$  ray-irradiated herbs. *Food Chemistry*. 122. 1290-1297.

Teuffer Zúñiga C. A. “*Dependencia termoluminiscente con el tamaño de partícula en alimentos ionizados por radiación*”. Asesor: E. Cruz Zaragoza. (Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 2005).

Thupila, N., Ratana-Arporn, P., Wilaipun, P., 2011. Radiation resistances and decontamination of common pathogenic bacteria contaminated in white scar oyster (*Crassostrea belcheri*) in Thailand. *Radiat. Phys. Chem.* 80, 828–832.

Toktamiş, H., Toktamiş, D., Yazici, N.A. 2014. Thermoluminescence studies of calcite extracted from natural sand used in making roasted chickpea. *Journal of Luminiscence*, 153, 375-381.

Yasin, A., Abdel-Razek., 2015. Thermoluminescence dosimetry using natural calcite. *Journal of Taibah Univeristy for Science*, 10, 286-295.

Wright, A.C., Danyluk, M.D., Otwell, W.S., 2009. Pathogens in raw foods: what the salad bar can learn from the raw bar. *Curr. Opinion Biotechnol.* 20, 172–177.