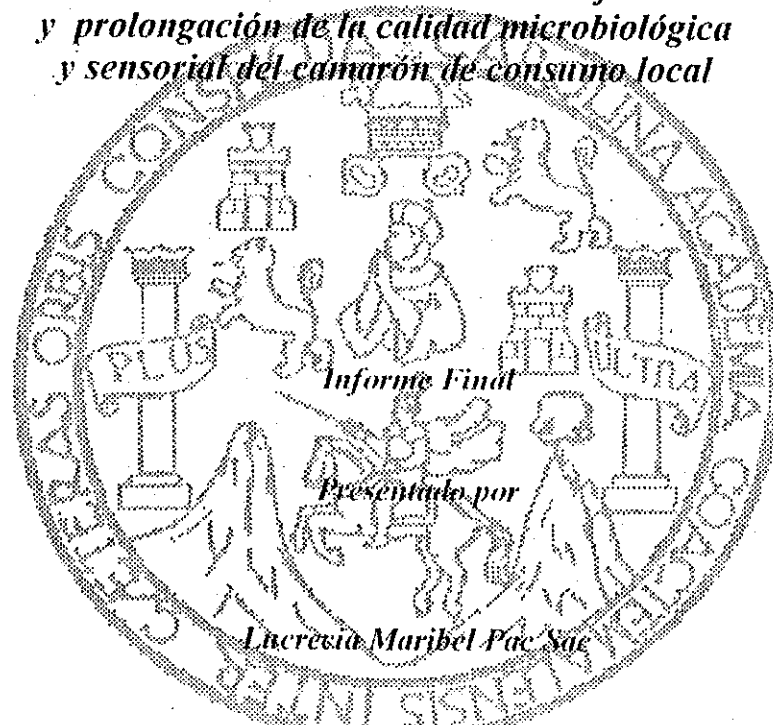


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

***Evaluación de la irradiación en el mejoramiento
y prolongación de la calidad microbiológica
y sensorial del camarón de consumo local***



Informe Final

Presentado por

Lucrecia Maribel Pac Saq

Para optar al título de

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, octubre de 1997

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

06
T(1812)
C.4

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO:
SECRETARIO:
VOCAL I:
VOCAL II:
VOCAL III:
VOCAL IV:
VOCAL V:

Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Lic. Oscar Federico Nave Herrera
Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Lic. Rodrigo Herrera San José
Br. Herbert Raúl Arévalo Alvarado
Br. Manola Anleu Fortuny

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Por ser luz en mi vida y por permitirme llegar a este triunfo.

A LA VIRGEN DEL ROSARIO

Por ser mi apoyo constante.

A MIS PADRES

Héctor Ariel Pac de León y
Albertina Sac de Pac, por ser mi ejemplo de honestidad, trabajo y entrega.

A MI ESPOSO

Renán Osberto Pozuelos Soberanis,
con todo mi amor.

A MIS HERMANOS

Byron Ariel, Erika Maricela y Melisa
Albertina, por compartir conmigo
todos los momentos y brindarme su
apoyo en mi desarrollo profesional.

A MIS ABUELITOS

Gerardo Pac †, Concepción de Pac †,
José Rodrigo Sac † y Juana de Sac,
Eterna Gratitud.

Y A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

Con cariño.

TESIS QUE DEDICO

A GUATEMALA

Con la esperanza de un mañana mejor.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

A quien debo mi formación profesional

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Floridalma Cano Granados, por su asesoría en este trabajo de tesis.

Al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá , INCAP

Al personal profesional y técnico del laboratorio de microbiología del INCAP, por la colaboración en el desarrollo del presente trabajo.

A la división de energía nuclear, departamento de agricultura del Ministerio de Energía y Minas.

Al Ing. Byron Ariel Pac Sac, por la ayuda brindada

Al Dr. Renán Osberto Pozuelos Soberanis, por su colaboración.

Y a todas las personas que de una u otra forma, colaboraron con la realización de este estudio.



CONTENIDO

I	RESUMEN.....	1
II	INTRODUCCIÓN	6
III	ANTECEDENTES	6
	A. <i>Reseña histórica y regulaciones alimenticias</i>	6
	B. <i>Fuentes de radiación</i>	7
	C. <i>Aplicaciones de la radiación</i>	9
	D. <i>Efectos de la irradiación en los alimentos</i>	12
	1. <i>Seguridad Sanitaria</i>	12
	2. <i>Cambios fisico-químicos en los alimentos</i>	14
	3. <i>Principios en los que se basa la destrucción de microorganismos</i>	15
	3.a <i>tipos de microorganismos</i>	15
	3.b <i>número de microorganismos</i>	15
	3.c <i>composición del medio (nutritivo)</i>	15
	3.d <i>presencia o ausencia de oxígeno</i>	16
	3.e <i>estado físico del alimento</i>	16
	3.f <i>edad del microorganismo</i>	17
	3.g <i>temperatura</i>	17
	E. <i>Usos actuales de la irradiación de alimentos</i>	17
	F. <i>Dosis de irradiación para la destrucción microbiana en alimentos marinos</i>	18
	G. <i>Bacterias patógenas y deteriorantes que pueden estar presentes en alimentos marinos</i>	20
	1. <i>Vibrio cholerae</i>	22
	2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	22
	3. <i>Salmonella spp</i>	23
	4. <i>Staphylococcus aureus</i>	24
	5. <i>Coliformes fecales y Escherichia coli</i>	25
IV	JUSTIFICACIÓN	26
V	OBJETIVOS	27
VI	HIPÓTESIS	28
VII	MATERIALES Y MÉTODOS	29
VIII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	44
IX	CONCLUSIONES.....	49
X	RECOMENDACIONES.....	51
XI	REFERENCIAS.....	52
XII	ANEXOS.....	60

I. RESUMEN

Guatemala, debido a su diversidad ecológica, ocupa el segundo lugar en producción de camarón a nivel centroamericano. Anualmente se exportan alrededor de 34 millones de dólares en camarón, pescado y langosta a España, Holanda, Francia y otros países. Esto demuestra el notable crecimiento de la industria alimentaria en la pesca, a tal punto que el camarón mantiene un repunte impresionante comparado con las mejores épocas del café y algodón.

El camarón de consumo local en su mayoría es capturado por pescadores artesanos en mares y esteros de las costas del pacífico; llevados a centros de acopio (lugares destinados para almacenamiento, venta y distribución del camarón donde son almacenados a una temperatura de 6 a 8 °C en hieleras). En estos centros de acopio los pequeños vendedores adquieren el camarón para su venta final en condiciones empíricas, en hieleras con bolsas de hielo, y en los casos más críticos a temperatura ambiente. El manejo higiénico desde que el camarón es capturado, almacenado y vendido incide en la calidad microbiológica del mismo, sobre todo si se guarda o mantiene sin refrigeración adecuada, lo que contribuye a aumentar la carga microbiológica inicial incluyendo bacterias patógenas que a temperatura ambiente están presentes aumentando el riesgo de contaminación de los consumidores.

Una de las tecnologías que está teniendo un impulso nuevamente es la irradiación. La irradiación disminuye la carga microbiológica, destruye organismos patógenos y aumenta la vida de almacenamiento de los alimentos. La irradiación es un medio físico de tratamiento comparable al tratamiento por calor o congelación. El proceso consiste en exponer a rayos gamma en este caso los alimentos, ya sea envasados o a granel, durante un tiempo predeterminado. Esta tecnología no altera las características sensoriales y mejora la calidad de almacenamiento, sin olvidar que no substituye las buenas prácticas de manufactura.

El presente estudio evaluó la aplicación de la irradiación a dosis de 1 kGy para el mejoramiento y conservación de la calidad microbiológica y sensorial del camarón de

consumo local almacenado bajo las condiciones de los centros de acopio. Para ello, se realizó un muestreo en 5 centros de acopio de camarón recién capturado ubicados, tres en el puerto de Champerico y dos en el Puerto de San José. Se obtuvieron 5 lotes de 7 libras cada uno, transportándose bajo condiciones de refrigeración (en hieleras) al laboratorio de microbiología del INCAP para su análisis. Cada lote se dividió en 16 bolsas de 190 gramos cada una, 8 bolsas fueron irradiadas con Cobalto 60 (Co^{60}) en el irradiador Dinarad 5L localizado en la división de Energía Nuclear del Ministerio de Energía y Minas a una dosis de 1 kGy en un tiempo aproximado de 2 horas y 2 minutos. Las restantes 8 muestras no irradiadas se constituyeron en controles.

Se realizaron análisis microbiológicos y sensoriales iniciales y durante el almacenamiento del camarón en hieleras a una temperatura de 6 a 8 °C. Los análisis microbiológicos consistieron en investigar la presencia de vibrios patogénicos (*Vibrio cholerae* O1 y *Vibrio parahaemolyticus*), conteo total de bacterias, coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*; los análisis se repetían cada tres días y se suspendían al presentar el camarón un olor desagradable.

El análisis sensorial se realizó utilizando a 8 panelistas entrenados para evaluar el color, olor y textura de camarones cocinados al vapor en baño de María a 60 °C, reportando los datos en encuestas específicamente diseñadas para el efecto.

Inicialmente, en ninguno de los lotes se aisló *Vibrio cholerae* O1, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*. *Vibrio parahaemolyticus* se aisló en uno de los lotes a una concentración de 23 número más probable por gramo (NMP/g). La carga bacteriana inicial en promedio de los 5 lotes fue de 10^7 UFC/g. Coliformes fecales y *Escherichia coli* estaban presentes en concentraciones hasta de 1,100 y 240 NMP/g respectivamente. En el análisis organoléptico inicial los camarones presentaban color característico de la especie, buen olor y de consistencia firme. Posterior a la irradiación a dosis de 1 kGy, se evidenció que *Vibrio parahaemolyticus* se eliminó de las muestras irradiadas, la carga bacteriana total disminuyó a 10^5 y 10^6 UFC/g, lo que representa del 80 a 90%. Los coliformes fecales y *E. coli* no se

detectaron en las muestras irradiadas ni durante los subsiguientes análisis, lo que significa que fueron eliminadas por las dosis de irradiación aplicada.

En los resultados del análisis sensorial por parte de los panelistas se demostró que posterior a la irradiación el camarón no mostró cambios de olor y textura; aspecto que se mantuvo durante dieciséis días, un número superior de días comparativamente a las muestras control que fue de sólo siete días. Sin embargo, el camarón que permaneció en la superficie del irradiador presentó unas pequeñas manchas negras que en algunos casos devaluaron su apreciación visual, no así su estado de olor y textura final.

Al analizar los datos anteriores se evidencia que la irradiación incrementa la vida media de almacenamiento de las muestras irradiadas en el doble del tiempo; sin embargo, la carga microbiana no disminuyó a concentraciones abajo de 10^5 por lo que es importante enfatizar, que al igual que cualquier otra tecnología de conservación, la irradiación no sustituye las buenas prácticas de manufactura.

Se recomienda como primera medida sanitaria, que los camarones sean manipulados en condiciones higiénicas y sean almacenados adecuadamente previo a la aplicación de técnicas que contribuyan al mejoramiento y conservación de su calidad sanitaria.

Es evidente que la irradiación amerita una infraestructura onerosa, pero una vez implementada y puestos en práctica los conocimientos, en forma rutinaria sus costos evidencian un mínimo incremento por material irradiado, con costos mínimos de mantenimiento. En el futuro, esta tecnología podría introducirse a nuestro país y tener una amplia aplicación en diferentes industrias de alimentos principalmente en productos de exportación y en productos farmacéuticos y progresivamente estaría al alcance de las pequeñas empresas.

II. INTRODUCCIÓN

Un objetivo primordial del ser humano ha sido el aprovisionamiento y conservación de los alimentos indispensables para su subsistencia. Esto ha llevado al desarrollo e implementación de diferentes tecnologías de conservación y aseguramiento de la calidad sanitaria de los alimentos en la prevención de enfermedades de transmisión alimenticia.

Dentro de estas tecnologías está el tratamiento de los alimentos con irradiaciones ionizantes, utilizando Cobalto 60 (Co^{60}) y Cesio 137 (Cs^{137}) por ser los que tienen un excelente poder de penetración. Este proceso aumenta la calidad de conservación de un alimento en el que mediante la irradiación se consigue una considerable reducción del número de microorganismos. La radiación se mide en unidades denominadas Grays o Kilograys (kGy) y se refiere al nivel de energía absorbida por un alimento de la radiación ionizante que pasa a través del mismo al ser procesado.

La Administración de drogas y alimentos (FDA) de Estados Unidos ha emitido regulaciones que permiten el uso de la radiación para suprimir insectos y microorganismos presentes en los alimentos, y lo define como un "aditivo seguro" que actúa únicamente contra las bacterias que están contaminando el alimento, dañando el material genético de las mismas. Es necesario aclarar que los alimentos irradiados no se convierten en alimentos radioactivos después de su tratamiento por lo que no representa ningún peligro al consumo humano.

En Guatemala, los crustáceos más consumidos son camarón, langosta, cangrejos y langostinos. La carga bacteriana de los crustáceos recién capturados es un reflejo de la microbiota de las aguas, de los manipuladores y del agua con que son lavados.

La descomposición del pescado y de los mariscos se presenta cuando la población bacteriana inicial es elevada y aumenta dentro de los pocos días después de su recolección, aún cuando el almacenamiento se da ligeramente arriba de 0°C .

La irradiación gama es un método efectivo para inactivar microorganismos en los mariscos, reduciendo la población de bacterias en los alimentos con una consiguiente

extensión de la vida de anaquel conservando sus propiedades fisico-químicas y organolépticas.

Esta investigación fue dirigida a evaluar la aplicación de la irradiación en el mejoramiento y conservación de los alimentos, específicamente del camarón, en las condiciones de almacenamiento y distribución para el consumo local. El camarón destinado al consumo local es capturado por pescadores y almacenado en centros de acopio; en estos centros es donde son adquiridos por los diferentes comerciantes y distribuidos para su venta al consumidor. Usualmente, las condiciones de almacenamiento transporte y distribución no son óptimas para su comercialización, por lo que esto puede aumentar la carga microbiana así como los patógenos presentes, representando un riesgo para el consumidor.

Para esta investigación se contó con el apoyo de la división de Energía Nuclear, Departamento de Agricultura del Ministerio de Energía y Minas para la aplicación de irradiación y del Laboratorio de Microbiología "Leonardo Mata", del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP).

Se llevaron a cabo exámenes microbiológicos comparando en camarones irradiados y no irradiados la presencia y cambios cuantitativos de la carga microbiana y algunos patógenos que pudieran estar presentes en el camarón: *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*. Al mismo tiempo, se realizó una evaluación sensorial sobre el aspecto, textura, color y olor del camarón irradiado versus el no irradiado o grupo control.

II. ANTECEDENTES

A. Reseña histórica sobre irradiación y regulaciones alimenticias

La irradiación de los alimentos para prevenir enfermedades causadas por microorganismos no es un concepto nuevo. En 1905 fue otorgada la patente inglesa No. 1609 a los señores J. Appleby y A. J. Banks sobre el uso de la irradiación en comestibles para conservar su calidad. El proceso patentado no pudo ser usado comercialmente porque el recurso de radiación no estaba disponible en suficiente cantidad (1).

En 1921 B. Schwartz del Departamento de Agricultura de la Industria Animal de los Estados Unidos sugirió el uso de rayos X para erradicar la triquinosis de la carne de cerdo. La aplicación de esta tecnología no fue posible pues los rayos X disponibles en aquel tiempo no eran suficiente para tratar en cantidades comerciales la carne de cerdo (1).

La investigación de la tecnología de irradiación sufrió un desarrollo notable poco después de la segunda Guerra Mundial, cuando el ejército de los Estados Unidos empezó una serie de experimentos irradiando alimentos frescos para sus tropas en el campo de batalla (1,2). Dos nuevos tipos de irradiación vinieron a ser recursos disponibles: máquinas productoras de electrones (aceleradores de electrones) e isótopos emitiendo radiación gamma, tal como Co^{60} y Cs^{137} (3).

Durante los primeros años de la década de 1950 los gobiernos de Estados Unidos, Reino Unido y otros países, apoyaron varios programas de investigación a gran escala sobre la irradiación de los alimentos (4). Desde 1963 la FDA ha emitido regulaciones que permiten el uso de la irradiación para suprimir insectos y microorganismos de especias, controlar la contaminación de carne de cerdo por parásitos, y retardar la descomposición de frutas y vegetales (1-4). La FDA ha considerado al proceso de irradiación como un "aditivo en alimentos". Las regulaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), lo definen simplemente como un proceso en el cual los alimentos son expuestos a niveles predeterminados de energía de radiación con cualquiera de las fuentes radioactivas ya sea Co^{60} (con vida media de 5.2 años) o Cs^{137} (con vida media de 30 años) (5); así también

con cargas de electrones o con rayos X generados en máquinas eléctricas, como los aceleradores (1).

Desde 1965 varios usos y aplicaciones de la irradiación han sido permitidas por la FDA bajo la guía general de prácticas manufactureras alimenticias. En 1966 se celebró en Karlsruhe, Alemania el Primer Simposium Internacional Sobre Irradiación de Alimentos, contando con la representación de 28 países, observándose el progreso obtenido y las aplicaciones posibles. A pesar de su nivel de aprobación, varias barreras evitan que la irradiación alimenticia pueda alcanzar una total comercialización en los países como el nuestro. Las barreras no son de naturaleza científica o técnica, sino son temas todavía sin resolver acerca de la elección de tecnología, costos y aceptación de consumo (1).

Desde 1976, la OMS confirmó que la radiación bajo condiciones específicas y restricciones especiales, es un proceso adecuado para producir alimentos seguros (6,7).

El 2 de mayo de 1990 la FDA emitió una regulación definiendo el uso de la irradiación como un medio seguro y efectivo para controlar una de las principales fuentes de enfermedades transmitidas por los alimentos como salmonela y otras bacterias transmitidas por los alimentos en carnes crudas como el pollo, pavo y alimentos marinos (2). Hoy en día es considerado como un método seguro y confiable para la preservación de diversos alimentos, existiendo al momento bases de aceptación legal a nivel mundial (3)

B. Fuentes de radiación

En la actualidad para la conservación de alimentos por irradiación se utiliza energía electromagnética en sus diferentes espectros. La energía ionizante (rayos beta, rayos gamma y rayos X), es la más importante definida como aquella radiación que tiene una longitud de onda menor a 2,000 Amtrongs (A), sus cuantos contienen la suficiente energía para ionizar moléculas en su trayectoria, que destruyen a los microorganismos sin elevar de forma apreciable la temperatura, a este tratamiento se le denomina "esterilización fría". En otro ramo energético encontramos los componentes de alta longitud de onda

específicamente la energía desarrollada por microondas que ocasiona una elevación de la temperatura a diferencia de la anterior (5).

1- Luz ultravioleta (luz uv).

Tiene acción bactericida, siendo su longitud más eficaz la de aproximadamente 2,600A. La UV es una radiación no ionizante absorbida por las proteínas y los ácidos nucleicos, en los que se producen cambios fitoquímicos que pueden ocasionar la muerte de las células.

El mecanismo de la muerte de la célula bacteriana es debido a la producción de mutaciones letales como consecuencia de su acción sobre los ácidos nucleicos. La escasa penetración de la luz UV limita su uso en los alimentos, su esterilización es incompleta y posiblemente desarrolle reacciones de oxidación en la superficie de alimentos que conduzcan a la rancidez, modificaciones del color y a otras reacciones indeseables (5).

2- Rayos beta.

Pueden definirse como un flujo de electrones emitidos por sustancias radioactivas. Los rayos beta son emitidos por el cátodo de un tubo de vacío. Entre los rayos catódicos están los generadores de Van de Graaf y los aceleradores lineales, estos últimos se adaptan mejor para ser utilizados en la conservación de alimentos. Existe cierta preocupación sobre el límite superior de la cantidad de energía de los rayos catódicos que puede ser empleada sin inducir radioactividad en determinados constituyentes de los alimentos, por lo cual su uso al momento está restringido (5).

3- Rayos gamma.

Son radiaciones electromagnéticas de tipo radioactivo emitidas por el núcleo excitado de elementos tales como el Co^{60} y el Cs^{137} que son importantes en la conservación de alimentos. Esta es la forma de radiación más barata y más utilizada para conservar alimentos: los elementos que la producen son subproductos de la fisión atómica o de desperdicios atómicos. Al contrario de los rayos beta, los rayos gamma tienen un excelente poder de penetración (5).

4- Rayos x.

Se producen mediante el bombardeo a blancos específicos de metales pesados con electrones de alta velocidad (rayos catódicos) en el interior de un tubo de vacío; tanto en energía como longitud de onda son iguales a los rayos gamma, con la diferencia de que estos provienen de una fuente de energía artificial producida por el hombre.

5- Microondas.

Cuando se colocan en un campo electromagnético alimentos eléctricamente neutros, las moléculas cargadas asimétricamente son impulsadas primero en una dirección y después en otra. Conforme las moléculas oscilan en torno a sus ejes mientras intentan ir a los apropiados polos positivo y negativo, se crea una fricción intermolecular que se manifiesta en forma de efecto calorífico. La mayoría de las investigaciones realizadas en alimentos se han llevado a cabo a dos frecuencias a 915 y 2,450 megaciclos (Mhz) (4).

C. Aplicaciones de la radiación.

Las técnicas de irradiación de alimentos universalmente utilizadas son los haces de electrones y la radiación gamma procedente del Co^{60} y Cs^{137} .

1- Haces de electrones.

El uso de aceleradores de electrones ofrece ciertas ventajas con respecto a los elementos radioactivos de modo que hacen a esta forma de radiación algo más atractiva a los posibles usuarios comerciales. Koch y Eisenhower han señalado las siguientes (8):

a- La conversión de energía de electrones en energía de rayos X da la posibilidad de manipular alimentos de elevado grosor que no pueden ser tratados ni mediante haces de electrones, ni mediante rayos gamma.

b- La fácil variabilidad en la elección de los tratamientos superficiales y profundos para diversos alimentos, de los medios y de las épocas del año (8).

2- Radiación gamma.

Para este tipo de proceso se utiliza una cámara experimental de radiación (gamma-cámara) protegida en paredes de plomo y hormigón, donde el material radioactivo se coloca encima de un ascensor, de modo que puede ser desplazado hacia arriba cuando se usa y hacia abajo para sumergirlo en agua cuando no se usa. A una distancia apropiada los materiales a tratar se colocan alrededor de la fuente de material radioactivo para conseguir la dosis de irradiación adecuada, para lo cual se colocan en recipientes de temperatura controlada (regularmente a temperatura ambiente) o se adecúa la temperatura de la gamma-cámara. (Ver en anexo No. 1 a y b: diagrama del Irradiador Dinarad 5L).

En el pasado el término "rad" era comúnmente usado como medida de "dosis de radiación absorbida"; actualmente "Gray" es el término aceptado internacionalmente y se refiere al nivel de energía absorbido por un alimento de la radiación ionizante que pasa a través del mismo al ser procesado.

$$1 \text{ Gray} = 100 \text{ rad. } 1,000 \text{ Grays} = 1 \text{ kiloGray (1 kGy) (2).}$$

3- Radapertización, radicación y radurización de alimentos.

En 1964, una agrupación internacional de microbiólogos propuso la siguiente terminología para el tratamiento por radiación de los alimentos (9,10).

a- **Radapertización:** Este término es aplicado en la industria de conservas enlatadas. Equivalente a esterilización por radiación o a "esterilidad comercial". En este proceso las dosis típicas de irradiación son de 30 a 40 kGy. Las dosis mínimas de radiación expresadas en kGy para la radapertización de algunos productos derivados de la carne y del pescado es de 47 para la carne de vaca, 45 para pollo, 51 para cerdo y 37 para camarón. Los principales inconvenientes de la radapertización son las modificaciones de color y/o la producción de olores extraños que suceden en algunos alimentos (9,10).

b- **Radicación:** Equivalente a la pasteurización de la leche. Concretamente se refiere a la reducción del número de microorganismos patógenos viables específicos, exceptuando los

virus. Las dosis de irradiación típicas para conseguir este tratamiento son de 2.5 a 10 kGy. Algunos autores han demostrado que la irradiación a dosis de 2 a 5 kGy es eficaz para destruir microorganismos patógenos esporógenos y de naturaleza no vírica y que no tiene riesgo alguno para la salud. (Ver en Anexo No.2 donde se pueden observar los valores de dosis de irradiación señalados por diversos autores y en el anexo No. 3 el tipo de alimentos y productos alimenticios cuya irradiación está permitida por varios países y por la OMS) (9,10).

c- Radurización: Se puede considerar equivalente a pasteurización de alimentos diferentes a la leche. Se refiere al aumento de la calidad de conservación de un alimento en el que, mediante la radiación, se consigue una considerable reducción del número de microorganismos patógenos viables específicos. Las dosis habituales para carnes frescas, aves de corral, alimentos marinos, frutas, hortalizas y granos de cereales son de 0.75 a 2.5 kGy (5,9,10).

En algunos estudios se han verificado tratamientos de irradiación con el fin de prolongar la vida útil de los alimentos marinos, de las hortalizas y de las frutas. Mediante radurización con dosis de 1 a 4 kGy se puede prolongar del doble al séxtuplo la duración de la vida útil de los camarones, de los cangrejos, de las veneras y de las almejas. En un estudio, veneras conservadas a 0°C tuvieron una vida útil de 13 días, pero después de su irradiación con dosis de 0.5, 1.5 y 3 kGy, su vida útil fue de 18, 23 y 42 días, respectivamente. Entre todas las bacterias los bacilos esporógenos Gram negativo son los más sensibles a la radiación siendo los principales microorganismos que alteran estos alimentos, por lo que la radurización prolonga la vida útil de la carne y alimentos marinos (11).

D. Efectos de la irradiación en los alimentos.

1- Seguridad sanitaria.

La incidencia de las enfermedades por alimentos, tales como salmonelosis, aumenta en todos los países donde las estadísticas están disponibles. Una variedad de factores parecen contribuir para al incremento de esta tendencia: el comercio internacional de comestibles, turismo mundial, la crianza de ganado vacuno, porcino, aviar y productos marinos, así también, poco tiempo de cocción, bajo uso de preservantes y otras posibilidades. En todos los países las autoridades de salud pública han hecho grandes esfuerzos para mejorar la situación, sin ningún éxito (12).

Afortunadamente, las bacterias patógenas más comunes y problemáticas como salmonela son muy sensibles a la radiación y pueden ser eliminadas con dosis de 10 kGy. Numerosas propuestas han sido hechas por los expertos en salud pública para usar la radiación y de esta forma descontaminar los alimentos con el fin de reducir la incidencia de este tipo de enfermedades. En una publicación de marzo de 1987, la Organización Mundial de la Salud ve la irradiación de alimentos como un proceso en el cual se incrementa la potencia de los alimentos y así contribuye con los principales cuidados que requiere la salud. Además la OMS está tratando de reducir el rechazo por este proceso, esencialmente basado en influencias emocionales o ideológicas y que sea aceptado en aquellos países que se beneficiarían grandemente (13).

La radiación no tiene mayor efecto adverso sobre el alimento, únicamente daña el material genético de las bacterias que contaminan los alimentos y en consecuencia ya no pueden sobrevivir ni multiplicarse (2).

Los alimentos irradiados no se convierten en alimentos radioactivos, por lo que el consumidor no se expone a mayor peligro de radiación.

Los tiempos de exposición y los niveles de energía de las fuentes de radiación establecidos para el proceso de irradiación de alimentos no inducen o producen radioactividad en estos. Los alimentos son expuestos a una fuente de radiación, como

rayos gamma de cobalto radioactivo, nunca se añade material radioactivo al producto. Los fabricantes usan la misma técnica para esterilizar equipo médico desechable (2,6).

La seguridad de los alimentos irradiados ha sido constatada en su composición química y en las propiedades de los microorganismos que sobreviven a la irradiación. Durante un periodo de 30 años investigaciones diseñadas para establecer la seguridad del consumo de alimentos irradiados no han encontrado ningún efecto tóxico o causante de cáncer en experimentos hechos en animales. Con base en estas investigaciones el comité adjunto experto en irradiación (JECFI por sus siglas en inglés) concluyó que: "la irradiación de cualquier alimento en promedio de dosis completa de 10 kGy no representa ningún peligro toxicológico. Además dicho tratamiento no causa problemas nutricionales o microbiológicos en alimentos tratados" (3).

El riesgo de la sobreirradiación, implicando una dosis más alta de la permitida es mínima; puesto que estudios realizados han mostrado que la dosis límite de 10 kGy produce un margen de gran seguridad. La aplicación de dosis más alta puede producir cambios en el olor, sabor y la consistencia del alimento, lo que no es deseable para el consumidor. Además, el costo de la irradiación aumenta cuando la dosis aumenta.

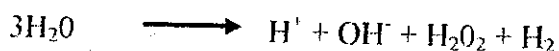
Actualmente es mucho más probable que se inspeccione la baja irradiación porque algunas manufactureras irresponsables pueden tratar de aplicar una dosis más baja que la requerida para obtener el efecto deseado. Si el propósito de la irradiación es la inactivación de microorganismos, algunos podrían sobrevivir y constituir un peligro para el consumidor.

Existen temores sobre la sobrevivencia de los microorganismos a los tratamientos de irradiación y que estos muestren un aumento en la patogenicidad o en la resistencia a la radiación. A petición de la FAO y la OMS, la Junta del Comité de la Unión Internacional de Sociedades Microbiológicas (IUMS por sus siglas en inglés) se reunió en Copenhague en Diciembre de 1982 para reconsiderar la evidencia acerca del proceso de la seguridad microbiológica de los alimentos irradiados. La junta concluyó que "no existe ninguna evidencia de que los alimentos irradiados son un obstáculo en el control de enfermedades transmitidas por alimentos y no presentan ningún riesgo para la salud".

Algunos opositores de la irradiación de alimentos se basan en que las vitaminas y otros nutrientes son destruidos por la irradiación; sin embargo, la experiencia en países en donde se ha comercializado alimentos irradiados por 10 a 20 años, han desvirtuado estos temores (3).

2- Cambios fisicoquímicos en los alimentos.

Los cambios indeseables que aparecen en algunos alimentos pueden ser causados directamente por la irradiación o indirectamente como una consecuencia de alteraciones fisicoquímicas; por ejemplo, cuando el agua es irradiada se lleva a cabo una reacción conocida como radiólisis, de la siguiente manera:



Se forman radicales libres y conforme difunden reaccionan entre sí (14). Algunos de los productos formados se desprenden y son capaces de reaccionar con moléculas de solutos. Se ha observado que irradiando en anaerobiosis, los sabores y olores anormales se aminoran debido a la falta de oxígeno para formar peróxidos. Para reducir al mínimo los sabores anormales de los alimentos se irradian a temperaturas inferiores a las de congelación ya que esto reduce o detiene la radiólisis y sus reacciones consiguientes (5).

Las proteínas y otros compuestos nitrogenados son las sustancias más sensibles a los efectos de la irradiación en los alimentos; los productos resultantes de irradiación de los aminoácidos, de los péptidos y de las proteínas está en dependencia de la dosis de radiación, de la temperatura, de la cantidad de oxígeno, de la cantidad de humedad presente y de otros factores. Se indica que los aminoácidos son más estables frente a la irradiación con rayos gamma que frente a la irradiación con haces de electrones (5).

Algunos investigadores han indicado que la irradiación de los lípidos y de las grasas da como resultado la producción de carbonilos y otros productos de oxidación, tales como peróxidos; el efecto organoléptico más notable de la irradiación de lípidos en presencia de aire, es la aparición de rancidez.

Con respecto a las vitaminas del grupo B, Liuzzo, et. al. comprobaron que en las ostras, las dosis de irradiación de Co^{60} comprendidas entre 2 y 6 kGy destruían

d- **Presencia o ausencia de oxígeno:** la resistencia de los microorganismos a la radiación es mayor en ausencia de oxígeno (5,17). La radiación en presencia de oxígeno puede producir una baja de olores y de sabores debido a la oxidación lipídica. Se ha señalado que la total eliminación del oxígeno de una suspensión de células de *E. coli* aumenta su resistencia a la radiación incluso tres veces (18).

Los tratamientos de irradiación están diseñados para reducir o eliminar microorganismos viables que pueden estar presentes en los alimentos; sin embargo, si algunas células sobreviven, ellas podrían necesitar condiciones óptimas ambientales para ser capaces de reparar daños letales, como lo hacen las células dañadas por calor. Por esta razón, los efectos combinados de tratamiento de irradiación con otros modos de preservación pueden ser usados para lograr poblaciones más bajas de células viables y controladas durante el almacenamiento.

Estudios informan que el procedimiento de empaquetamiento con atmósfera modificada (MAP por sus siglas en inglés) trabaja bien en conjunto con la irradiación para extender la vida de: anaquel de carne fresca de vaca y de cerdo. El uso de empaquetado al vacío e irradiación de carne fresca a 1.5 y 2.5 kGy extiende la vida en más de 15 a 21 días respectivamente. A diferencia del tiempo de vida de solamente 4 días de carne fresca empaquetada al vacío no irradiada (5,19).

Los efectos de la dosis de irradiación (0, 0.5 y 1.0 kGy) asociado a un empaque con atmósfera de (0, 10, y 20% de O₂, balance N₂) y temperaturas de almacenamiento (de 5, 15, y 25°C) sobre la supervivencia y crecimiento de microorganismos en carne fresca de cerdo a una dosis de 1.0 kGy redujo la población de bacterias psicotróficas y mesófilas en cien veces e inactivó a la mayoría de enterobacterias; el número de microorganismos fue altamente inaceptable después de 2 días de almacenamiento de muestras no irradiadas a 25°C y después de 10 días por muestras irradiadas a 1 kGy, sin importar la atmósfera de empaque (20).

e- **Estado físico del alimento:** la resistencia a la radiación de las células desecadas es considerablemente mayor que la de las células que contienen humedad.

f- **Edad de los microorganismos:** las bacterias suelen ser más resistentes a la radiación durante la fase lag. Inmediatamente antes de la división celular activa, las células bacterianas se vuelven más sensibles a la radiación conforme entran en la fase logarítmica y según transcurre ésta van alcanzando su resistencia mínima al final de la misma (5).

g- **Temperatura:** los microorganismos son considerablemente más resistentes a la irradiación a temperatura arriba de congelación que a temperatura ambiente. La exposición de alimentos a altas o bajas temperaturas antes, durante o después de una baja dosis de irradiación ha sido reportado como un procedimiento en el que hay una extensión en la vida de anaquel. Tratamiento de calor antes de la irradiación no solamente inactiva las enzimas sino que también reduce la población inicial de bacterias, lo que baja la dosis necesaria para una extensión de la vida de anaquel. Sin embargo, hay que tener en cuenta que una temperatura alta puede tener un efecto adverso sobre la calidad sensorial del alimento. El éxito de un tratamiento de baja dosis de radiación depende del almacenamiento subsecuente; temperaturas de refrigeración retrasan o evitan el crecimiento de microorganismos sobrevivientes (17,21).

E. **Usos actuales de la irradiación de los alimentos:**

Según la información proveída por la Agencia Internacional de Energía Atómica en Viena, 24 países están usando los alimentos irradiados comercialmente. En Holanda unas 20,000 toneladas de alimentos son irradiadas anualmente y cerca de 10,000 toneladas tanto en Bélgica como en Francia. Los productos irradiados en estos países son especias, vegetales deshidratados, productos de almidón, goma de mascar arábica, polvo de huevo, así como productos secos en menor cuantía. En otros casos el propósito de la irradiación es la descontaminación microbiana. Los mariscos refrigerados y la carne de aves refrigerada son tratadas para el mismo propósito, todas éstas aplicaciones sirven como protección al consumidor contra las infecciones e intoxicaciones por alimentos. En muchos países como Estados Unidos, Noruega, Brasil y Sur Africa, las especias se irradian por contener

regularmente un alto grado de microorganismos. La mayoría de la pimienta negra que se vende en el mercado contiene millones de microorganismos por gramo, si se utilizara en la fabricación de productos perecederos la contaminación se produciría rápidamente y pondría en peligro la salud de los consumidores. Se informa sobre brotes causados en pimienta blanca o negra por la contaminación con salmonela. Actualmente la pimienta que se utiliza en la industria se fumiga con óxido etílico a fin de protegerla de los microorganismos, pero este método está siendo discontinuado, por lo que se hace necesario otros métodos. La irradiación logra este propósito efectivamente sin perder la calidad de los alimentos (3).

En el Japón, 15,000 toneladas de papa son irradiadas anualmente desde 1973. En Rusia, desde el año 1983 se irradian anualmente cientos de toneladas de trigo. Comparando con el mercado total de alimentos, la colocación de comida irradiada es extremadamente pequeña aún en los países en donde la irradiación de alimentos está presentando un auge importante (3).

F. Dosis de irradiación para la destrucción microbiana en alimentos marinos.

El uso de la irradiación según un sin número de investigaciones reduce las poblaciones viales de microorganismos en los alimentos con una consiguiente extensión del tiempo antes de que ocurra la descomposición incipiente.

La irradiación gamma es un método efectivo para inactivar microorganismos en los mariscos. La sensibilidad radioactiva de microorganismos aeróbicos, así como de patógenos en los camarones informada por Hau, et. al. los valores de dosis de irradiación (D10) para *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* fue de 0.11, 0.29, 0.39 y 0.48 KGy, respectivamente cuando el camarón fue tratado a $-10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (22)

Filetes de pescado cuando son irradiados a 1.0 kGy y almacenados a temperatura de refrigerador mantienen una buena calidad sensorial con una extensión de vida en los anaqueles de 15 días más de los filetes no irradiados (10,23). Novak, et. al. reportó que

ostras tratadas con 2.0 kGy tienen una vida de refrigeración en exhibición de 23 días; ostras que no fueron irradiadas empezaron a descomponerse después de 7 días (24).

Thayer y Boyd estudiaron la resistencia a la irradiación de *S. typhimurium* en el deshuesado mecánico de carne de pollo, observando que el número de células viables por gramo de carne era reducido a 2.8 y 5.1 \log_{10} UFC (Unidades formadoras de colonia) g-1 a 0°C cuando las dosis de 1.5 a 3.0 kGy eran aplicadas. Thayer, et. al. reportaron que las alas de pollo inoculadas con 10^3 ó 10^4 UFC/g de *S. typhimurium* y luego irradiadas con dosis de 2.7 kGy no contenían células viables detectables; a una dosis de 1.8 kGy había un estimado de supervivencia del 19%. También fue observado que *S. typhimurium* no se recuperaba de los daños de irradiación en 3 días de almacenamiento refrigerado (25). Clavero, et. al. investigó los efectos del contenido de grasa y la temperatura sobre los valores de D10 de *Salmonella spp.* en carne de vaca. En los valores que se encontraban comprendidos entre los rangos de 0.621 a 0.800 kGy las células eran más resistentes a la inactivación de carnes de baja grasa (12.5%) tratadas a $-16 \pm 1^\circ\text{C}$ comparado a un tratamiento a $4 \pm 1^\circ\text{C}$, pero no en carne de alto contenido de grasa (27.5%) (26).

Narvaiz, et. al. estudiaron los efectos de la irradiación gamma a una temperatura de 20°C sobre la inactivación de la microbiota de huevos en polvo, una dosis de 2.0 kGy inactiva a salmonela (positivo en 25 g de polvo no irradiado) (27).

La irradiación es una técnica efectiva para eliminar células de *S. aureus* de productos que contienen carne. Thayer y Boyd reportaron que dosis de 3.0 kGy y 1.5 kGy podrían matar 6.3 y 3.2 \log_{10} UFC/g, respectivamente (28).

La resistencia a la irradiación de la enterotoxina A de *S. aureus* está grandemente influenciada por el medio en el cual es tratada; en buffer de gelatina fosfato (pH 6.5) la enterotoxina fue completamente inactivada a 8.0 kGy (29). Sin embargo, en un 15% de carne roja en suspensión 27 a 37% de la enterotoxina A se mantenía activa después del mismo tratamiento, incluso a una dosis de 23.7 KGy se detectan residuos de la enterotoxina estafilocócica. Esta enterotoxina estafilocócica al parecer es más resistente a la irradiación que la toxina botulínica (30). Read y Bradshaw reportaron que 200 kGy son

necesarios para inactivar 98% de enterotoxina tipo B de *S. aureus* activado en la leche (31).

La irradiación ha sido reportada como un método efectivo para el control de *E. coli* O157:H7. La eliminación del 90% de las células viables de *E. coli* O157:H7 en la carne de pollo deshuesada mecánicamente fue logrado usando 0.27 kGy a temperatura de 5°C, una dosis de 0.42 kGy fue requerida para el mismo efecto a -5°C (32). Clavero, et. al. reportaron valores de D10 de 0.241 a 0.308 KGy para *E. coli* O157:H7 en carne roja. El patógeno tiene un valor D10 significativamente alto cuando es irradiado a $-16 \pm 1^\circ\text{C}$ que cuando es irradiado a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ (33).

G. Bacterias patógenas y deteriorantes que pueden estar presentes en alimentos marinos.

De los crustáceos, los más consumidos son camarón, langosta, cangrejos y langostinos; se sabe que la alteración de cada uno es esencialmente la misma. Las principales diferencias de la alteración de estos alimentos son generalmente atribuibles a la manera con que son manipulados y a su composición química. Se ha señalado que el camarón tiene un contenido de aminoácidos más elevado que el pescado conteniendo enzimas parecidos a la catepsina que destruyen rápidamente las proteínas. La carga bacteriana de los crustáceos recién capturados es un reflejo de la microbiota de las aguas en las cuales son capturados, de la microbiota contaminante de la cubierta, de la microbiota de los manipuladores, y de la microbiota del agua con que son lavados (5,17).

Silverman, et. al. estudiaron 91 muestras de camarones de diversos tipos y comprobaron que todas las muestras precocidas excepto una, el logaritmo de las cifras de los recuentos era $<4/\text{g}$ (gramo). De las muestras crudas, el 59% demostró cifras de recuento cuyo logaritmo era inferior a 5.88/g; mientras que en el 31% de las mismas este valor era inferior a 5.69/g (34). En un estudio realizado en 208 muestras de camarones congelados, cocidos y pelados, el 52% demostró recuento cuyo logaritmo era $<4.70/\text{g}$,

mientras que el 71% reportaron 5.30/g o menos (35). (En el anexo 4 se observan datos sobre la calidad microbiológica de alimentos diversos) (5,36).

En un estudio sobre la microbiota de camarones crudos provenientes del Pacífico, especies de *Moraxella* constituyeron del 30 al 60% de los alimentos, seguidas de *Pseudomonas* de los tipos I y II (8 a 22%), de *Acinetobacter* (4 a 24%), *Flavobacterium cytophaga* (7 a 16%), y de los tipos III y IV de *Pseudomonas* (8 a 22%); pero, después del blanqueado y pelado a máquina, las especies de *Acinetobacter* representaron un 16 a 35%, los tipos III y IV de *Pseudomonas* un 2 a 76% y *Flavobacterium cytophaga* un 3 a 37% (5).

En general, los alimentos marinos congelados presentan recuentos más bajos que los alimentos frescos. En un estudio de 597 alimentos marinos frescos y congelados procedentes de establecimientos de venta al por menor, en 240 el logaritmo de la media geométrica del conteo en placa (PCA) varió entre 3.57 y 4.97/g, mientras que en 357 alimentos frescos este valor estuvo comprendido entre 4.89 y 8.43/g (36).

En cuanto a los coliformes las cifras del Número más probable (NMP) de la media geométrica estuvieron comprendidas entre 1 y 7.7 células/g. en los alimentos congelados y entre 7.8 y 4.800 células/g en los frescos. Mediante el método del NMP, solo el 4.7% de los 597 alimentos resultó positivo a *E. coli*; el 7.9% resultó positivo a *S. aureus*, y todos dieron resultados negativos a *Salmonella* y a *Vibrio parahaemolyticus* (5).

La descomposición bacteriana de pescado y otros mariscos se presenta rápidamente dentro de los pocos días después de su recolección, incluso cuando el almacenamiento se da ligeramente arriba de 0°C. La contaminación de mariscos con patógenos tales como las especies de *Salmonella* y *Vibrio* son de gran preocupación por el riesgo que representan para la salud (36).

Entre los patógenos que están relacionados con frecuencia documentados en la contaminación del camarón están:

1- *Vibrio cholerae*.

El cólera es causado por el *Vibrio cholerae* serogrupo O1 toxigénico. De 130 serogrupos O de esta especie se han identificado el serogrupo O1 y recientemente el O139.

El factor determinante principal de la virulencia de estos serogrupos es la capacidad de producir toxina colérica, los demás serogrupos denominados no O1 o no O139 no producen esta toxina aunque pueden causar enfermedades gastrointestinales esporádicas. Los aislamientos de *Vibrio cholerae* O1 pueden dividirse con base bioquímica en dos biotipos: El Tor y Clásico, y en tres serotipos antigénicos Inaba, Ogawa e Hykojima (37).

V. cholerae no O1 se encuentra frecuentemente en aguas de esteros y en mariscos mas que el serotipo O1. *V. cholerae* es una de las pocas especies del género *Vibrio* que puede crecer en medio carente de cloruro de sodio, no es considerado como un vibrio halofílico. El método de la determinación de *V. cholerae* de alimentos es cualitativo; sin embargo, puede realizarse una cuantificación mediante la técnica de NMP. La determinación de la producción de la toxina colérica en las cepas de *V. cholerae* O1 es recomendada. Los vibrios se encuentran en la superficie de las aguas saladas durante los meses calurosos del año (5). Se cree que el cólera se originó en el delta del río Ganges, en la India. En el siglo XIX, verdaderas oleadas pandémicas se propagaron desde el sur de Asia a muchas partes del mundo. En 1961, una pandemia de enormes proporciones tuvo como punto de partida el sureste asiático y fue el principio de la séptima pandemia, causada por el biotipo El Tor de *V. cholerae* O1 toxigénico. Varios brotes epidémicos de cólera han resurgido como consecuencia de la contaminación de moluscos y crustáceos marinos comestibles o por el uso de agua sin tratar (37).

2- *Vibrio parahaemolyticus*.

V. parahaemolyticus es descrito como la causa más frecuente de gastroenteritis en Japón (34), y fue primeramente aislado en las aguas de esteros de Puget Sound en los Estados Unidos por Barose y Liston. Su distribución es mundial y ha sido aislado en ambientes de costas y esteros y de muchas especies de pescado, conchas y crustáceos. *V. parahaemolyticus* ha estado implicado en numerosos casos de gastroenteritis causada por

alimentos marinos en los Estados Unidos. Entre 1971 y 1978 especies de cangrejo, ostras, camarón y langosta estuvieron implicados en 14 casos, lo cual pudo haber resultado del consumo de mariscos crudos o no suficientemente cocinados. Cuando en este síndrome están implicados otros alimentos, esto significa contaminación cruzada a partir de alimentos marinos (35).

V. parahaemolyticus es una bacteria halofílica, sacarosa negativa, movilidad positiva. La mayoría de cepas de *V. parahaemolyticus* son arginina dihidrolasa negativa, lisina descarboxilasa y ornitina descarboxilasa positivas. Algunos *V. parahaemolyticus* son ornitina descarboxilasa negativo, Voges-Proskauer negativo (39,40). La temperatura mínima de crecimiento que ha sido señalada para *V. parahaemolyticus* es de 5°C y la máxima es de 44°C (5,37,39).

V. parahaemolyticus crece en presencia de concentraciones de NaCl comprendidas entre 1 y el 8%; pero las concentraciones óptimas para su crecimiento son de 2 y 4%(37). El pH de crecimiento es entre 7.2 y 7.3. Se ha comprobado que crece a temperatura de 9.5 a 10°C en productos alimenticios. Su temperatura óptima de crecimiento es de 30 a 35°C (38).

3- *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* pertenece a las enterobacterias, son bacilos gram negativo. Las especies de este género se encuentran muy difundidas en la naturaleza, siendo las personas y los animales sus principales reservorios. La infección comúnmente llamada intoxicación alimenticia por *Salmonella* es consecuencia de la ingestión de alimentos que contienen un elevado número de microorganismos pertenecientes a especies de este género. La temperatura mínima de crecimiento que ha sido señalada para *Salmonella* spp. es de 7.0°C (39). Para que se produzca salmonelosis generalmente se necesita un número de células del orden de 10^7 a 10^9 /g. Sin embargo, se ha reportado que se pueden presentar brotes en los que se encuentran números de células relativamente bajos. A diferencia de los estafilococos, las salmonelas son incapaces de tolerar elevadas concentraciones de sal, concentración de sal superior al 9% en la salmuera es bactericida. El pH óptimo de

crecimiento se encuentra cercano a la neutralidad (entre 6.6 y 8.2) siendo dañinos los valores por encima de 9.0 y por debajo de 4.0 (5).

Distintas especies de *Salmonella* siempre están incriminadas con los productos de la pesca toda vez que estos toman contacto con el hombre, por lo cual la relación mariscos-tierra debería obligar a los encargados de salud a extremar las medidas higiénico sanitarias para evitar contaminación (41).

De un total de 60 muestras de almejas procedentes de la costa de Florida en el 43% encontraron salmonela; microorganismos que también se encontraron en ostras en número de 2.2/100 g (36). Se ha comprobado que las almejas de concha dura retienen células de *S. typhimurium* de modo más eficaz que *E. coli* (42).

A nivel de los manipuladores de alimentos, los portadores de *Salmonella* desempeñan un papel en la transmisión de la salmonelosis. La preparación y manipulación inadecuadas de los alimentos en los hogares y en los establecimientos del servicio de alimentación siguen siendo las principales causas de los brotes (5).

De los patógenos Gram negativo, las especies de salmonelas son las más resistentes, así que cualquier proceso irradiativo diseñado para eliminar este agente también podría eliminar otras bacterias patógenas gram negativo.

4- *Staphylococcus aureus*

S. aureus son cocos Gram positivo en racimos, halofílicos; dependiendo de su identificación inmunológica con anticuerpos se documentan 5 tipos de enterotoxinas A, B, C, D y E las cuales al ser ingeridas desarrollan intoxicación alimenticia, de allí el peligro potencial para la salud del consumidor (13). Las razones para examinar las comidas incriminadas con *S. aureus* enterotoxigénico son confirmar si este microorganismo es el causante de infección intestinal, determinar si los ingredientes de las comidas son un peligro potencial de contaminarse con este agente y demostrar que el desarrollo de la contaminación usualmente es debido al contacto humano con las comidas procesadas, a una inadecuada limpieza o a una contaminación post-proceso. Esta contaminación puede ser introducida en el alimento por medio de lesiones en manos o brazos de los

manipuladores causadas por *S. aureus*. Los alimentos involucrados son las carne de res, pollo y cerdo, alimentos marinos, productos de repostería, rellenos de crema, productos lácteos; ensaladas de papas, pollo o carne; así como productos cárnicos como jamones, salami, salchichas, etc. La temperatura mínima de crecimiento de *S. aureus* es de 6.7°C (28-31).

5- Coliformes fecales y *Escherichia coli*.

El grupo coliforme está formado por bacilos gram negativo, aeróbicos y anaeróbicos facultativos, no esporoformadores, que fermentan la lactosa con producción de gas en un período de 48 horas a 35°C.

El grupo coliforme total se subdivide en coliformes fecales, el término "coliformes fecales" se refiere a *E. coli* y a variantes relacionadas que fermentan la lactosa a 44.5 - 45.5°C en 24 a 48 horas (26,32,39).

Escherichia coli ha ganado amplia aceptación como el mejor indicador de contaminación fecal porque su único hábitat es el intestino de humanos y animales de sangre caliente (43).

Existen cepas de *E. coli* patógenas, una de las importantes en carnes y mariscos es *E. coli* enterohemorrágica serogrupo O157:H7 a la que se le está dando una gran atención de las agencias e instituciones de salud pública, ya que es capaz de producir colitis hemorrágica, síndrome hemolítico urémico y púrpura trombocitopénica (44). La infección ha sido ligada principalmente al consumo de carne sin cocinarse o insuficientemente cocinada (45).

IV. JUSTIFICACIÓN

El manejo sanitario del camarón para exportación es mucho más cuidadoso que aquel que es para el consumo local. El camarón de consumo local en su mayoría es capturado en las costas del Pacífico por embarcaciones artesanales donde su manejo es inadecuado y donde las condiciones de transporte y almacenaje en frío no son óptimas, siendo llevados posteriormente a centros de acopio, para ser vendidos a pequeños distribuidores, y luego en reventa a los consumidores en los mercados comunales.

En los mercados es común ver las ventas de camarón en cestos a temperatura ambiente o enfriados inadecuadamente con hielo de dudosa calidad.

El manejo inadecuado del camarón influye en la calidad sanitaria porque facilita el aumento de la carga bacteriana poniendo en riesgo la salud del consumidor sobre todo cuando este se come crudo en forma de "ceviche" en locales formales y en ventas callejeras, especialmente en la ciudad y en las zonas urbanas.

La irradiación es una de las tecnologías que elimina patógenos y disminuye la carga bacteriana con el objeto de mejorar la calidad microbiológica y prolongación de la vida de almacenamiento de los alimentos, sin ningún riesgo para la salud del consumidor.

El presente trabajo evalúa la aplicación de la irradiación como proceso que destruye patógenos y disminuye la carga bacteriana en el camarón de consumo local. Aunque esta tecnología es incipiente en nuestro país, es necesario realizar estudios al respecto para visualizar su aplicación en el futuro como alternativa para mejorar la calidad de los alimentos.

V. OBJETIVOS

A. General

1. Evaluar la aplicación de la irradiación en el mejoramiento y conservación de la calidad microbiológica y sensorial (aspecto, textura, color y olor) del camarón de consumo local.

B. Específicos

1. Comparar los cambios en la carga microbiana y su calidad sensorial en relación al tiempo de conservación, en muestras de camarón de consumo local irradiado y no irradiado, almacenado a la temperatura promedio usual de los centros de acopio de las costas del Pacífico.

2. Determinar la presencia y cambios cuantitativos de coliformes fecales, *Escherichia coli* y patógenos como: *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* en las muestras de camarones irradiados y no irradiados, almacenados bajo las condiciones establecidas.

VI. HIPÓTESIS

Existe diferencia entre el tiempo de conservación y la calidad microbiológica y sensorial entre el camarón de consumo local irradiado y el camarón no irradiado, bajo las condiciones de almacenamiento de los centros de acopio de las costas del Pacífico.

La irradiación disminuye la carga bacteriana y elimina o reduce patógenos que pudieran estar presentes, tales como: *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*, en el camarón.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

1- Población muestral:

Camarones enteros y recién capturados en los centros de acopio de las costas del Pacífico (Puerto de Champerico y Puerto de San José).

2- Muestras:

Se tomaron 5 grupos de camarones enteros, cada grupo se tomó de un centro de acopio diferente, tres del Puerto de Champerico y dos del Puerto de San José, cada grupo estuvo constituido de 7 libras de camarón.

B. Recursos

1- Humanos:

- a. Autor: Br. Lucrecia Maribel Pac Sac
- b. Asesor: Licda. Floridalma Cano
- c. Colaboradores: Personal técnico del Laboratorio Microbiológico "Leonardo Mata"

2- Institucionales:

- a. Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá
INCAP, División de Nutrición e Infección,
- b. Laboratorio Microbiológico "Leonardo Mata", del INCAP
- c. Laboratorio de Análisis Sensorial del INCAP
- d. Biblioteca de la misma institución.

- e. División de Energía Nuclear, Departamento de Agricultura del Ministerio de Energía y Minas.

3- Físicos:

a. **Materiales de Laboratorio**

Aplicadores de madera
Bolsas plásticas especiales para digestor
Masking tape
Papel parafinado
Papel de aluminio
Papel kraft
Servilletas de papel

b. **Equipo de Laboratorio**

Agitador con regulador de temperatura Fisher
Agitador simple Precisión Scientific, co. 65904
Aparato de Filtración Scientific 210T
Asas bacteriológicas
Autoclave Castle Sybron
Balanza electrónica A & D, co. Lt. 5308287
Balanza electrónica Detecto
Baño de María Precision Scientific, co. 66634
Baño de María Precision Scientific, co. DES. 117720
Campana bacteriológica Labconco.
Computadora
Contador de colonias Quebec de campo oscuro American Optical Co.
cat.no.3330
Digestor 400/Laboratory Blender-Tekmar/Seward
Hieleras

Horno Will, co

Incubadora Thelco 32M Precision Scientific, co.

Mecheros Bunsen o Fisher

Pipetor automático Pipet-aid # 26828

Potenciómetro Beckman Zeromatic SS-3

Radiador Dinarad con fuente de Cobalto 60

Refrigeradora- Westinghouse Frost free-16

Termómetro

Tijeras

Vortex Cyclo-Mixer (ADAMS) Single UNIT cat No. A-400

c. **Cristalería**

Beakers de 50, 100 y 2000 ml

Cajas de petri de 100 x 15 mm descartables

Campanas de Durham de 6 x 50 mm

Canastas de metal

Erlenmeyers de 500 y 1000 ml

Frascos de vidrio de 250 y 500 ml

Gradillas

Láminas portaobjetos

Pipetas estériles de 1 ml con graduación de 0.1 ml

Pipetas de 10 ml estériles

Probeta de 250 y 500 ml

Tubos de 16 x 125 con tapón de rosca

Tubos de 13 x 100 con tapón de rosca

d. **Medios de Cultivo**

Agar base Baird-Parker BBL

Agar BS (bismuto sulfito) BBL

Agar Citrato de Simmons DIFCO

Agar DIFCO
Agar Gelatina BBL
Agar LIA (Lisina y hierro)DIFCO
Agar MH (Müller-Hinton) BBL
Agar MIU (Movilidad, Indol y Urea)
Agar MK (McConkey)BBL
Agar PCA (Conteo en placa) DIFCO
Agar Peptona
Agar TCBS (tiosulfato, citrato, sales biliares y sucrosa) BBL
Agar TSI (Triple azúcar y hierro)BBL
Base descarboxilasa Möeller DIFCO
Caldo E.C. (E. coli)
Caldo infusión cerebro y corazón (BHI)
Caldo lactosado BBL
Caldo Lauryl-triptosa Sulfato OXOID
Caldo MR-VP (Rojo de Metilo y Voges-Proskawer) BBL
Caldo Selenito-Cistina BBL
Caldo tetratiano base
Extracto de levadura DIFCO
Huevos frescos
L-Arginina DIFCO
L-Lisina DIFCO
L-Ornitina DIFCO
Plasma de conejo
Sacarosa OXOID
Tryptona OXOID

e. **Reactivos**

Acetona

Antisuero Inaba INCAP

Antisuero Ogawa INCAP

Antisuero polivalente de *V. cholerae* O1 INCAP

Acido Clorhídrico concentrado

Alfa-Naftol MERCK

Alcohol Isoamílico MERCK

Cloruro de sodio MERCK

Cristal Violeta 90% MERCK

Cristales de Yodo MERCK

Desoxicolato de sodio al 0.5%

Etanol al 70% MERCK

Etanol al 95% MERCK

Fosfato monobásico de potasio MERCK

Hidróxido de Potasio 40% MERCK

Hidróxido de Sodio 1N MERCK

Reactivo de Kovacs (P-dimetilaminobenzaldehido)

Reactivo de Oxidasa (Dihidrocloruro de tetrametil
parafenilendiamina) MERCK

Rojo de fenol MERCK

Rojo de Metilo MERCK

Solución Salina estéril al 0.85%

Telurito de potasio MERCK

Verde Brillante OXOID

Yodo MERCK

Yoduro de Potasio MERCK

semidesintegración del Co^{60} ; entendiéndose por periodo de semidesintegración al periodo en el cual la velocidad de desintegración se redujo a la mitad de su valor inicial (19,48,49).

Se aplicaron 5 irradiaciones. En la cámara para irradiación se colocó un lote de camarón consistiendo en 8 bolsas de 190 gramos cada una. Se accionó la puerta de seguridad haciendo descender la muestra a la fuente radioactiva la cual está protegida con un blindaje de plomo y recibiendo la dosis de 1 kGy, con tiempo controlado, según la actividad del irradiador en el momento de efectuar el procedimiento. El promedio de irradiación fue de 2 horas con dos minutos. Concluido el proceso, se extrajeron los camarones y las muestras se almacenaron, siendo conducidas al laboratorio para la realización de sus respectivos análisis (4,5).

3- Análisis microbiológico:

Se realizó un análisis microbiológico inicial y posteriormente cada tres días se obtuvo una muestra de cada lote para realizar conteo aeróbico total, análisis de coliformes fecales, *E. coli* y detectar la presencia de patógenos: *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*; tanto en los camarones irradiados como en los no irradiados siguiendo para ello las siguientes metodologías:

a. *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*(12,37-39,50-54); (Anexo No. 5):

- i. Se pesaron 25 gramos de camarón entero sumergiéndolos en 225 ml de agua peptonada alcalina (APA) en una bolsa especial para digestor donde se agitó por dos minutos.
- ii. Al agregar el APA se obtuvo una dilución de 1:10. Se prepararon diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} .
- iii. Se inocularon tubos de número más probable de cada dilución conteniendo APA.
- iv. Se incubaron a $36-37^{\circ}C$ por 16 a 18 horas. La dilución que presentó turbidez se sembró en el agar selectivo Tiosulfato-citrato-bilis-sal-sucrosa (TCBS).

- v. Las placas de TCBS fueron incubadas por 18 a 24 horas a 35-37°C. En el agar TCBS las colonias de *V. cholerae* (El Tor y Clásico) se observaron grandes, lisas y amarillas (sucrosa positivo), en hileras con centros opacos y periferias transparentes; *V. parahaemolyticus* presentó colonias verdes (sucrosa negativo).
- vi. Luego de examinar las colonias descritas se tomaron las sospechosas de cada placa y se aislaron sobre un medio no selectivo ya que es necesario asegurar la pureza de la colonia antes de las pruebas bioquímicas: Agar Gelatina (GA) y Agar gelatina con sal (GS).
- vii. Se dividieron las placas de GA y GS en 8 sectores, inoculando una línea recta en el centro de un sector de ambas placas con cada aislamiento. Se incubaron por 18 a 24 h a 35-37°C. *V. cholerae* crece en ambos medios, mientras que *V. parahaemolyticus* unicamente en GS.
- viii. Se realizó la prueba de oxidasa utilizando para ello un cultivo de GS cuyo crecimiento tuviera de 18-24 h. Los organismos oxidasa positivos volvieron el papel filtro de color morado oscuro o azul en pocos segundos al reaccionar con el reactivo (n,n,n,n,-tetrametil-p-p-fenilendiamina): *Vibrio spp.* son oxidasa positivo excepto *V. metschnikovii*.
- ix. A la misma colonia aislada se le realizó la prueba del cordón con desoxicolato de sodio, un cordón mucoide indicó que la prueba es positiva; algunas especies de *Vibrio* la dan positiva.
- x. A partir de cultivos de 16-24 horas de GS se realizó la prueba de aglutinación serológica utilizando para ello antisueros diagnósticos del grupo O1 y serotipo Inaba y Ogawa, utilizando controles positivos, negativos y salinos para cada antisuero usado. Las colonias que aglutinan en el antisuero O1 y no en solución salina fisiológica

son *V. cholerae* O1, si las reacciones bioquímicas confirman el aislamiento como *V. cholerae*, cultivos que se aglutinan en este grupo específico de antisueños pueden ser del serotipo de los anticuerpos Inaba y Ogawa conteniendo los tres factores A, B y C, y son serotipos Hikojima.

Cultivos que se confirman bioquímicamente como *V. cholerae* que no aglutinan con antisuero del grupo O1 son *V. cholerae* no O1.

A los cultivos que aglutinaron con antisuero O1 y en solución salina fue necesario hacerles varios pasajes a cada colonia en el medio GA; si al cabo de varios pasajes se observó la misma aglutinación entonces no pueden ser estereotipados.

- xi. Se realizaron las pruebas bioquímicas siguientes:
Salinidad: utilizando cultivos de la cepa a investigar a partir de medios conteniendo 2% de NaCl inoculándose colonias individuales en caldos al 6% triptona (TIN6) y al 8% (TIN8) se incubaron por 18-24 h a 35-37°C. Si no hubo crecimiento se procedió a reincubar los tubos por 18-24 h adicionales.
- xii. La prueba de descarboxilación Ornitina, Lisina y Arginina (OLA) se desarrolló inoculando en un tubo cada uno de los 3 medios conteniendo el aminoácido a partir de un cultivo de GS incubado por 4 días a 35-37°C; la prueba positiva es un medio de color morado y en la negativa el color resultante es amarillo. *Vibrio parahaemolyticus* es ornitina positivo, lisina positivo y arginina negativo.
- xiv. La prueba de Voges-Proskauer (VP), consistió en inocular el caldo MR-VP con crecimiento de Gs e incubarlo por dos días a 35-37°C y luego ejecutar prueba de VP y MR. *V. parahaemolyticus* es VP negativo y MR negativo. *V. cholerae* es VP positivo y MR negativo.

b. *Salmonella* spp. (5,25,27,39); (Anexo No. 6):

- i. Preenriquecimiento: se pesaron en forma aséptica 25 gramos de camarón en una bolsa especial, se añadieron 225 ml de caldo lactosado, se homogenizó por dos minutos en el digestor y luego se incubó a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 16-24 horas.
- ii. Enriquecimiento: se agitó bien el cultivo obtenido en el medio líquido de preenriquecimiento y se sembró en los caldos selectivos. A 10 ml de caldo selenito y caldo tetrionato con verde brillante, se adicionó 1 ml del cultivo pre-enriquecido y se incubó a 35°C por 24h.
- iii. Aislamiento: partiendo de cada uno de los medios de enriquecimiento se sembró sobre agar XLD y SS. Se incubaron las placas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24-48 horas. Las colonias de *Salmonella* se observan en agar XLD, como colonias rosadas con o sin centro negro y en agar SS de color durazno con punto negro.
- iv. Confirmación bioquímica básica: se seleccionaron 1 ó 2 colonias sugestivas de *Salmonella*. Las colonias seleccionadas se inocularon en los medios de TSI-LIA.
Si después de la incubación de los medios anteriores, se observó reacciones compatibles con *Salmonella* se deberían sembrar a partir del TSI las pruebas de movilidad, indol y urea (MIU), citrato y serología.
- v. Interpretación de resultados: si en el medio de aislamiento no aparecen colonias sospechosas de *salmonella* o si las colonias picadas no tienen reacciones típicas en TSI y LIA, la muestra es negativa para *salmonella*.

c. *Staphylococcus aureus* (28-31,39); (Anexo No. 7):

Método de recuento en placa:

- i. Se pesaron asepticamente 25 gramos de camarón en una bolsa especial, agregándosele 225 ml de agua peptonada al 0.1%, se homogeneizó por dos minutos en digestor obteniendo como resultado una dilución de 1:10.
- ii. A partir del homogenizado se realizaron las diluciones adecuadas (1:100 y 1:1000).
- iii. De cada dilución se transfirió asepticamente 1 ml distribuido en 3 placas (0.4, 0.3, 0.3). Se esparció homogéneamente la alicuota sembrada en la superficie del medio. Se invirtieron las cajas de petri e incubaron a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas.
- iv. Para el recuento se seleccionaron las cajas que contenían de 20-200 colonias negras con halo opaco alrededor típicas de *S. aureus*.
- v. Se sembraron de 2 a 3 colonias típicas en 2 ml de caldo infusión cerebro-corazón nutritivo e incubaron a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Si el caldo BHI presentaba turbidez se adicionaron 0.1 ml del caldo a 0.3 ml de plasma de conejo. Se incubaron durante 6 a 24 horas a 35°C . la formación de coágulo fue una prueba positiva.

d. **Coliformes fecales** (26,32,39,43-45); (Anexo No. 8):

Prueba presuntiva para coliformes totales (grupo coliforme):

- i. Se pesaron 25 gramos de camarón asepticamente en una bolsa especial para digestor, se adicionaron 225 ml de agua peptonada al 0.1% estéril y se homegenizó por 2 minutos, obteniéndose una

dilución de 1:10, se prepararon y sembraron diluciones consecutivas ($10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$).

- ii. Se inocularon 3 tubos de caldo lauril triptosa sulfato (LTS) por cada dilución, agregando a cada tubo 1 ml. utilizando una pipeta estéril para la siembra de cada dilución.
- iii. Se incubaron los tubos de 24-48 horas a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- iv. Para la lectura de los tubos se anotaron el número de tubos positivos a gas por cada dilución sembrada. En los tubos positivos se observó el desplazamiento del líquido en la campana Durham y/o formación de burbujas en el medio.
- v. Prueba confirmativa: para coliformes fecales (grupo coliforme fecal) a partir de los tubos de caldo de (LTS) que dieron reacción positiva en el ensayo presuntivo para coliformes generales, se sembró una asada de cada tubo positivo a un tubo de caldo *E. coli* (EC).
- vi. Se incubaron los tubos sembrados a $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$. en baño de María por 24-48 hrs.
- vii. Se anotaron los tubos donde se formó gas. La densidad bacteriana se calculó basándose en las tablas del número más probable (NMP).
- viii. Prueba para confirmar *Escherichia coli*: de cada tubo de caldo EC positivo a gas, se tomó una asada y se sembró en estrias a agar McConkey e incubó durante 24 hrs. a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Se examinaron las placas, buscando colonias características de *E. coli* (rosado intenso). Se picaron a tubos de agar PCA o agar nutritivo para realizar pruebas bioquímicas. Se realizó coloración de Gram a las colonias sospechosas, si se observan bacilos o cocobacilos gram negativo se prosiguió con las pruebas bioquímicas.
- ix. Pruebas bioquímicas: IMVIC. Para la prueba de indol se sembró un tubo conteniendo MIU y se incubó a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$. Se adicionó reactivo

de Kovacs. La aparición de un color rojo en la capa superior fue una reacción positiva.

- x. Rojo de metilo y Voges-Proskauer: Se sembró un tubo con 2 ml de caldo MR-VP e incubó a 35°C por 48h. Luego se transfirió 1 ml del cultivo a un tubo limpio y se adicionaron unas gotas del indicador rojo de metilo. El aparecimiento de un color rojo da positivo. Para la prueba de VP, se adicionó al tubo con 1 ml del cultivo, 0.6 ml de la solución alfa naftol y 0.2 ml de KOH al 40%, agitándose vigorosamente y dejándose abierto. Prueba positiva es el desarrollo de un color rosado a rojo en un tiempo máximo de 15 minutos.
- xi. Para la prueba de citrato se sembró con bastante inóculo agar citrato de Simons incubándolo a 35°C/24 h. Una prueba positiva es un cambio de verde a azul.

e. Recuento de bacterias aerobias mesófilas (39); (Anexo No. 5):

- i. Se pesaron 25 gramos de camarón asepticamente en una bolsa especial para digester y se agregaron 225 ml de agua peptonada al 0.1% estéril, se homogenizó por 2 minutos a partir de esta dilución se prepararon otras diluciones decimales en base al conocimiento sobre la concentración de bacterias que tiene el camarón.
- ii. Vertido en Placa: Con pipetas estériles de 1 ml, se colocó 1 ml de cada una de las diluciones elaboradas del alimento a analizar en placas de petri, en duplicado y debidamente rotuladas.
- iii. A cada placa se agregó 15 ml de PCA licuado y mantenido a 45°C; mezclándose uniformemente con la porción de la dilución sembrada y se dejó solidificar.
- iv. Las placas ya solidificadas, se incubaron invertidas (tapaderas hacia abajo) durante 48 horas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$.
- v. El cómputo final se realizó en base a cifras de 3 dígitos.

4- Análisis organoléptico:

a. **Preparación de la muestra (33,38):** Con los camarones crudos enfriados y congelados previamente a la prueba sensorial se cocinaron al vapor de la forma indicada a continuación: se colocó la muestra en un recipiente cerrado de 18 cm. de diámetro; posteriormente sobre agua hirviendo durante 10 minutos si la muestra correspondía a camarones enfriados, o durante 15 a 20 minutos si se trataba de camarones congelados. Durante la evaluación sensorial el recipiente con la muestra permaneció tapado y colocado en un baño de agua a 60°C para ser evaluado por cada panelista.

b. **Características sensoriales:**

- Color: los camarones deben poseer el color característico de la especie y de la zona de donde proceden y estar exentos de deshidratación, manchas negras, ennegrecimiento u otra alteración anormal del color.

- Olor: los camarones preparados como se indicó anteriormente deben tener buen olor y sabor característico y estar exentos de olores o sabores desagradables o extraños al producto. Un olor o sabor natural que recuerde al yodoformo no se considera como defecto, a menos que sea excesivo.

- Textura: los camarones preparados según se indica anteriormente deben tener una consistencia relativamente firme y no ser pulposos.

c. **Entrenamiento de los panelistas:** La evaluación sensorial correspondiente fue realizada por personas calificadas; para tal efecto se requirió de la colaboración de 7 panelistas a los cuales se les entrenó debidamente, presentándoles una muestra óptima y una muestra en mal estado, haciéndoles notar todas las características indeseables del camarón cada vez que se realizaba el análisis sensorial, utilizando para ello encuestas (Anexo No.10) que llenaron donde se tomó en cuenta lo siguiente:

-Unidad deshidratada: significa que el caparazón o la carne de la unidad presentaba zonas blanquecinas, lo que afecta gravemente su aspecto, textura o buen sabor.

-Unidad con alteración del color: significa que la unidad presentaba un aspecto amarillo claramente perceptible que afecta gravemente a su aspecto, textura o buen sabor.

-Unidad ennegrecida: significa que la unidad presentaba un aspecto claramente negro, afectando gravemente su aspecto, textura o buen sabor.

-Unidad con manchas negras: significa que el caparazón o la carne de la unidad presentaba zonas obscurecidas, lo que afecta gravemente su aspecto.

El análisis sensorial se realizó cada tres días a cada lote, tanto a las muestras irradiadas como a las no irradiadas, para poder encontrar diferencias.

D. Diseño estadístico

1- Número de réplicas:

Tomando en cuenta que las variables de interés son binomiales. El límite de error (le) se estimará igual a dos veces la desviación estándar ($le = 2\sigma$). Como se tiene un grupo "control" se espera una diferencia, por lo que no se tomará en cuenta el nivel Beta (β) para calcular el nivel de confianza:

$$NC = \frac{Z\alpha}{\alpha} = 1.96$$

$$(\alpha = 0.05)$$

$$nj = 2NC^2$$

$$NC = 1.96 + 1.03 = 2.99$$

$$\alpha = 0.05$$

$$\beta = 0.15$$

$$nj = \frac{(2.99)^2}{2} = 4.47 \cong 5 \text{ replicas}$$

5 réplicas por grupo, es decir 5 réplicas control y 5 réplicas tratamiento. De donde bloques es igual a réplicas las cuales estarán contituidas de 5 pooles diferentes de camarón (55).

2- Diseño de bloques

El muestreo fue no probabilístico.

3- Análisis

El análisis de los resultados obtenidos fue efectuado mediante estadística descripta utilizando porcentajes y tablas.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

De cada uno de los 5 lotes a estudio microbiológico y sensorial se obtuvieron 16 muestras conteniendo 190 gramos cada una. Ocho muestras se irradiaron con Co^{60} en un promedio de tiempo de 2 horas con 2 minutos, con el fin de proporcionar la cantidad de irradiación de 1 kGy establecido, y las ocho restantes fueron usadas como controles, únicamente almacenadas en refrigeración de 6-8 °C. Por lo tanto, se obtuvo un total de 80 muestras analizadas. Cada muestra fue evaluada para documentar sus características sensoriales y patógenos: *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*; e indicadores sanitarios: coliformes fecales, *Escherichia coli* y recuento bacteriano total.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:

En las muestras iniciales de camarón no se encontró *Vibrio cholerae* O1, *Salmonella spp* y *S. aureus* en ninguno de los cinco lotes analizados posiblemente por la época del año o por lo pequeño de la muestra; de estos microorganismos patógenos, *Vibrio cholerae* O1 ha sido aislado frecuentemente en aguas de esteros y en mariscos, al igual que varios brotes epidémicos de cólera han sido achacados a la contaminación de crustáceos y moluscos comestibles (5,27). Un estudio reciente de Alvarado M. (59) informa que en 50 muestras de camarón encontró un 4 % para *Vibrio cholerae*.

Salmonella es uno de los patógenos presentes en los alimentos marinos (17,36) y los manipuladores de alimentos portadores de este organismo son los que desempeñan un papel muy importante en la transmisión de la salmonelosis, a través de la preparación y manipulación inadecuadas de los alimentos en los hogares y en los servicios de alimentación (5). *S. aureus* se ha visto incriminado en el desarrollo de intoxicación alimenticia por mariscos donde la contaminación usualmente es debido al contacto

humano con las comidas procesadas, a una inadecuada limpieza o a una contaminación post-proceso(28,29).

En las muestras de uno de los lotes previamente a la irradiación se estableció la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en baja concentración: 23 NMP/g, el cual fue eliminado totalmente de las muestras irradiadas, hecho demostrado debido a que no se recuperó después de la irradiación aún a los 16 días de su almacenamiento. Por el contrario, en los controles no irradiados *Vibrio parahaemolyticus* se mantuvo en la concentración inicial (23 NMP/g) en los días consecutivos debido posiblemente a que no se recupera a temperaturas de refrigeración.

La presencia de *Vibrio parahaemolyticus* ha estado implicado en numerosos casos de gastroenteritis secundaria a la ingesta de alimentos marinos (34,35) y recientemente se ha documentado como contaminante importante en el camarón crudo en Guatemala, aislándose en un 44% de muestras de camarón crudo de 50 muestras analizadas (59). Rashid, *et al* informa que este organismo es destruido con bajas dosis de irradiación (0.44 kGy a -20°C en vacío) (60).

En nuestro estudio, coliformes fecales y *E. coli* estaban presentes inicialmente en todas las muestras controles de los 5 lotes analizados. El rango de coliformes fecales fue de 4 a 1100 NMP/g y *Escherichia coli* de 4 a 240 NMP/g, valores muy por encima de los permitidos para consumo humano. Según especificaciones de la norma Coguanor NGO35014 (33) reglamenta que los valores de aceptación de coliformes fecales y *E. coli* en camarones crudos enfriados son de 4 NMP/g y el valor máximo permitido es de 10^2 NMP/g. Posterior a la irradiación los coliformes fecales y *E. coli* presentan valores menores de 3 NMP/g lo que significa ausencia de crecimiento. En las tablas 1 y 2 pueden ser observados los cambios de las muestras no irradiadas e irradiadas conforme los días de la evaluación del estudio, donde se hace evidente que en los camarones no irradiados los coliformes y *E. coli* se incrementaron conforme al tiempo de almacenamiento, a diferencia de las muestras irradiadas donde no se recuperaron los coliformes inicialmente aún a los 16 días de control.

El grupo coliforme y *E. coli* son los mejores indicadores de contaminación fecal de mayor aceptación, principalmente *E. coli*, porque su único hábitat es el intestino de humanos y animales de sangre caliente (43). *E. coli* enteropatógena, *E. coli* hemorrágica y otras, son causantes de diarrea. Hau et al (22) ha estudiado la sensibilidad a la irradiación de los microorganismos aeróbicos presentes en el camarón: los valores de irradiación para *E. coli* fueron de 0.39 kGy cuando estaban entre -10 a 2 °C, por lo que es un organismo que es eliminado fácilmente con la aplicación de bajas dosis de irradiación.

La tabla 3 muestra los datos de Conteo Aeróbico Total (PCA) que en promedio fue de 10^7 UFC/g en los cinco lotes analizados previo a la irradiación. Según la norma Coguanor NGO35014 especifica que la carga mínima de PCA en camarones crudos enfriados es preferiblemente por debajo de 10^5 UFC/g y el recuento máximo permitido es de 10^6 UFC/g. Lo cual hace ver que los camarones en estudio, inicialmente presentaban una carga bacteriana superior a los límites permitidos para consumo humano. Después de la aplicación de 1 kGy a las muestras de camarón la población microbiológica decrece en los 5 lotes. En los lotes 1,3,4 y 5 del 80 a 90 %. El lote 1 de 2×10^7 UFC/g disminuyó a 4×10^6 (80%), el lote 3 y 4 de 2×10^7 UFC/g a 2×10^6 (90%) y el lote 5 de 3×10^6 a 2×10^5 UFC/g (85%). En el lote 2 el crecimiento microbiológico disminuye solo el 67%. La diferencia de los porcentajes disminuidos puede deberse a que la dosis de irradiación no son homogéneas dentro del irradiador; poco después estas se incrementan en los días de almacenamiento, tanto en las muestras control como en las irradiadas. A pesar de que la carga microbiana total disminuyó con la irradiación no se logra que bajen a límites menores de 10^5 como se especifica en la norma COGUANOR 35014 (33). Esto evidencia que ninguna tecnología puede suplir el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura por lo que la calidad microbiológica del camarón se mejora si asociada a la irradiación se instituyeran previamente buenas prácticas de manufactura. Es de hacer notar que en PCA el tamaño de las colonias de los camarones irradiados son más pequeñas que las colonias de los camarones no irradiados y el

crecimiento se documentó mucho más lento. La literatura reporta que la radiación ionizante daña el DNA a nivel celular, esto debilita los procesos bioquímicos normales y la resistencia está siendo atribuida a una habilidad inusual de éstas bacterias a reparar un número grande de roturas causadas en su DNA por la irradiación (2,7).

ANALISIS SENSORIAL

En las tablas 4, 5 y 6 se muestran los resultados de las encuestas proporcionadas a los 6 panelistas en las muestras no irradiadas e irradiadas con respecto a textura, olor y color de los camarones. El aspecto de textura inicial se presentó firme en todos los lotes analizados por los panelistas, sin embargo en el transcurso de la evaluación progresivamente fueron desmejorándola hasta llegar a una textura poco firme y a los 10 días de almacenamiento se presentó pulposa. Con respecto a olor al inicio presentaban un olor característico a camarón aspecto que al transcurrir los días de evaluación, empezó a adquirir un olor amoniacal hasta que al 10o. día se concretó en un olor fétido, al parecer producto de la contaminación bacteriana que se había hecho evidente en los cultivos respectivos, siendo imposible seguir la evaluación de estas muestras por lo que se descartaron. Al inicio, los camarones en los 5 lotes presentaron un color característico de la especie exentos de deshidratación, manchas negras, ennegrecimiento u otra alteración, al transcurrir los días empezaron a aparecer pocas manchas negras en la cabeza, luego muchas hasta que al 10o. día, las manchas estaban esparcidas por todo el cuerpo de los crustáceos, todos resultados son aceptables según la norma Coguanor NGO 35014 especificaciones para camarones crudos y enfriados. Después de la irradiación el camarón no mostró cambios de olor y textura, pero el camarón que permaneció en la superficie del irradiador presentó unas pequeñas manchas negras; esto puede deberse a que el irradiador es antiguo, no cuenta con mantenimiento.

El tiempo de almacenaje en que el camarón es mantenido en buenas condiciones de olor, color y textura fue de 7 días para los no irradiados y de 16 días para los irradiados, esto quiere decir que la aplicación de la irradiación duplica su tiempo en

hieleras mantenidos a una temperatura de 6-8°C Tal como lo demostró Poole et al (11) donde una dosis de 1 a 4 kGy prolongaba del doble al séxtuple la vida útil de la carne y alimentos marinos. Pero si tomamos en cuenta la calidad microbiológica de camarones irradiados y no irradiados independientemente del análisis sensorial, esta empieza a aumentar a los pocos días en las muestras no irradiadas y en mínima cantidad en las muestras irradiadas. Comparando los cambios en la carga microbiana y su calidad sensorial al inicio del análisis los camarones presentan una textura, olor y color característicos. Aspectos que posterior a la irradiación permanecieron sin cambios según los panelistas y el recuento aeróbico total disminuyó en las muestras irradiadas como lo demuestra la tabla No 3, a diferencia de las muestras control donde se ve un aumento. Al pasar los días de almacenamiento se puede observar un aumento progresivo del recuento total hecho más evidente en las muestras no irradiadas, por lo que a criterio de los panelistas fue necesario descartarlas en promedio al 7o. día por que más del 50% de ellos determinó, olor desagradable, manchas negras y pulposidad en los camarones; en comparación a las muestras irradiadas donde éstos inconvenientes se presentaron hasta el 16o. día.

Los resultados microbiológicos en las muestras analizadas de camarón crudo en general no cumplen con las especificaciones de la norma COGUANOR 35014, por lo que son un riesgo para la salud y se recomienda su cocción previa a su consumo.

IX. CONCLUSIONES

- 1- Los análisis iniciales de los 5 lotes de camarón provenientes de las costas del pacífico no cumplen con las especificaciones de la norma Coguanor NGO 35014 del límite de contaminación de coliformes fecales, *E. coli* y recuento total.
- 2- La aplicación de irradiación de una dosis de 1 kGy a los camarones de consumo local, mantenidos en condición de refrigeración de 6 a 8 °C duplicó la vida media de almacenamiento, ya que los camarones irradiados presentaron un tiempo de preservación en buenas condiciones de 16 días, comparativamente a los no irradiados que solo fue de 7 días aproximadamente.
- 3- En relación a la carga microbiana se puede concluir que de los cinco lotes de camarón recolectados no se demostró la presencia de *Vibrio cholerae*, *Salmonella spp* y de *Staphylococcus aureus* posiblemente por el número reducido de la muestra o por la época de muestreo. Lo cual no permitió evaluar la efectividad de la irradiación sobre estos microorganismos.
- 4- De los vibrios patógenos investigados se encontró que *Vibrio parahaemolyticus* en una concentración de 23 NMP/g, que fueron eliminadas en las muestras irradiadas, lo cual confirma la alta sensibilidad del *Vibrio parahaemolyticus* a pequeñas dosis de irradiación.
- 5- Coliformes fecales y *E. coli* estuvieron presentes previo a la irradiación en concentraciones hasta de 1100 y 240 NMP/g respectivamente; sin embargo, después de la aplicación de dosis de 1 kGy desaparecieron.
- 6- Los datos de PCA después de la aplicación de la dosis de 1 kGy a las muestras de camarón disminuye en cuatro lotes (1,3,4 y 5) del 80 al 90 %, lote 1 (80%), lote 3 y 4 (80%) y el lote 5 (85%). El lote 2 solo disminuyó el 67 % . La diferencia de los porcentajes disminuidos pueden ser debidos a que la dosis de irradiación no son uniformes dentro del irradiador.

- 7- En el PCA el tamaño de las colonias de los camarones irradiados son más pequeñas que las colonias no irradiadas y su desarrollo se evidencia mucho más lento por lo que se ve afectado su crecimiento.
- 8- En los camarones no irradiados los coliformes fecales y *E. coli* fueron incrementando su población durante el tiempo de almacenamiento aún a temperatura de refrigeración, lo cual representa un riesgo potencial para la salud del consumidor, tomando en cuenta los inadecuados medios de manipulación hoy por hoy existentes, *Vibrio parahaemolyticus* se mantuvo en la concentración indicada en los días consecutivos debido posiblemente a que no se recupera a temperatura de refrigeración.
- 9- El color posterior a la irradiación mostró variantes importantes que pueden ocasionar un efecto adverso en la apreciación sensorial del camarón, a nivel visual; posiblemente por el modelo del irradiador utilizado. No así los componentes de textura y olor que se presentaron mucho mejor que los no irradiados por mucho más tiempo.
- 10- El empleo de la irradiación como método de mejoramiento en la conservación de alimentos no ha de ser un sustituto sino más bien un complemento de las buenas prácticas de manufactura.

X. *RECOMENDACIONES*

1- Es necesario que se cumplan buenas prácticas de manufactura, en la producción del camarón tanto para consumo local como el de exportación con el fin de minimizar los riesgos infecciosos que pongan en peligro la salud del consumidor.

2- Antes de poner en práctica cualquier tecnología empleada para disminuir la carga microbiana, es necesaria la aplicación de buenas prácticas de manufactura.

3- Es importante que las empresas que actualmente se encargan de la exportación del camarón nacional a países extranjeros, evalúen los beneficios de la irradiación como método de aplicación en la conservación de los mismos, para lograr competir en los mismos medios que actualmente hacen los países industrializados.

4- Promover a nivel de las entidades de investigación estudios similares para comprobar el efecto de la irradiación en otro tipo de alimentos utilizando en lo posible diferentes dosis de irradiación con el fin de ampliar los conocimientos a nivel nacional sobre los beneficios de la irradiación, como una tecnología posible de aplicar en el mejoramiento de la calidad sanitaria del camarón.

5- Para aplicación y efectividad de costo de la irradiación como método de control en la contaminación de alimentos se recomienda evaluar la actitud del consumidor, acciones reguladoras, la economía de la región e infraestructura.

XI. REFERENCIAS

1. Lagunas M. Radiation processing of foods; An overview of scientific principles and current status. *J. Food Protect* 1995;58:186-198.
2. Blumental D. Food irradiation toxic to bacteria, safe for humans. *FDA consumer* 1990;45:11-15.
3. Friedrich J. Will irradiation enhance or reduce food safety? *Food Policy* 1993;43:143-151.
4. López JJ. Estudio de la eficacia de conteo a través de la calibración del equipo de espectrometría de centelleo líquido y análisis de muestras vegetales marcadas con el isótopo radioactivo ³²P. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ingeniería) 1993. 58p.
5. Jay JM. *Microbiología Moderna de los Alimentos*. 3a ed. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A. 1992. XII+804p. (p345-363, 685-689).
6. Brahn CM. Strategies for communicating the facts on food irradiation to consumers. *J. Food Protect* 1995;58:213-222.
7. Farkas J. Microbiological safety of irradiated foods. *Int. J Food Microbiol* 1989;9:1-15.

8. Koch HW. and Eisenhower EH. Electrons accelerators for food processing. p149-180. (In National Research Council. Radiation Preservation of Foods. Washigton, D.C: National Academy of Sciencie, Pub. No 1273, 1965. 325p).
9. Goresline HE., et al. Tentative Clasification of food irradiation processes with microbiological objetives. Nature 1964;204:237-238.
10. Nickerson JTR., Licciardello JJ. and Ronsivalli LJ. Radurization and radicitation: fish and shellfish. p13-82. (In ES. Josephson and MS. Peterson. Preservation of food by ionizing radiation. Boca Ratón, Florida: CRC Press 1983. Vol 3, 1211p).
11. Poole SE., et al. Storage life of chilled scallops treated with low dose irradiation. J. Food Protect 1990;53:763-766.
12. Sakazaki R. Vibrio infections; (In food-borne infections and intoxications. New York: Academic Press, 1979. 450p (p.173-209).
13. Pauli GH. and Tarantino LM. FDA regulatory aspects of food irradiation. J. Food Protect 1995;58:209-212.
14. Thayer DW. Extending shelf life of poultry and red meat by irradiation processing. J. Food Protect 1993;56:831-833.
15. Anellis AD., et al. Radiation sterilization of prototype military foods; low-temperature irradiation of codfish cake, corned beef, and pork sausage. Appl. Microbiol. 1972;24:453-462.

16. Loaharana P., Murrell D. A Role for irradiation in the control of foodborne parasites. *Trends in food Science & Technology* 1994;5:190-195.
17. Monk JD, Beuchat LR. and Doyle MP. Irradiation inactivation of food-Microorganisms. *J Food Protect* 1995;58:197-205.
18. Niven CF. Microbiological aspects of radiation preservation of food. *Ann. Rev. Microbiol* 1958;12:507-524.
19. Patterson M. Sensitivity of bacteria to irradiation on poultry meat under various atmospheres. *Lett. Appl. Microbiol* 1988;7:55-58.
20. Lambert AD., et al. Microbiological changes and shelf life of MAP, irradiated fresh pork. *Food microbiol* 1992;9:231-244.
21. Kumta US., et al. Radiation pasteurization of fresh and blanched tropical shrimp. *J. Food Sci* 1970;35:360.
22. Hau LB., et al. Preservation of grass prawns by ionizing radiation. *J. food prot* 1992;55:198-202.
23. Przybylski L., Finerty M and Grodner R. Extension of shelflife of fresh channel catfish filets using modified atmosphere packaging and low dose irradiation. *J. Food Sci* 1989;54:269-273.
24. Novak AF., et al. Radiation pasteurization of Gulf coast oysters. *Food Technol* 1966;20:201-202.

25. Thayer DW., et al. Destruction of *Salmonella typhimurium* on chicken wings by gamma radiation. J. Food Sci 1992;57:586-589.
26. Clavero MRS., et al. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae* and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. Appl. Environ. Microbiol 1994;60:2069-2075.
27. Narvaiz P., Lescano G. and Kairiyama E. Physicochemical and sensory analyses of egg powder irradiated to inactivate *Salmonella* and reduce microbial load. J. Food Safety 1992;12:263-282.
28. Thayer DW. and Boyd G. Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. J. Food Sci 1992;57:848-851.
29. Modi NK., Rose SA and Tranter HS. The effects of irradiation and temperature on the immunological activity of staphylococcal enterotoxin A. Int. J. Food Microbiol 1990;11:85-92.
30. Rose SA., et al. Studies on the irradiation of toxins of *Clostridium botulinum* and *Staphylococcus aureus*. J. Appl. Bacteriol. 1988;65:223-229.
31. Read RB. and Bradshaw JG. Gamma irradiation of staphylococcal enterotoxin B. Appl. Microbiol 1967;15:603-605.
32. Thayer DW. and Boyd G. Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meats by gamma irradiation. Appl. Environ. Microbiol 1993;59:1030-1034.

33. Coguanor. Pescado y productos pesqueros; camarones crudos cocidos, enfriados y congelados Especificaciones. NGO 35 014 11p.

34. Silverman GT. et al Microbial analysis of frozen raw and cooked shrimp. Food technol 1961;15:455-458.

35. Leininger HV, Shelton LR and lewis KH. Microbiology of frozen cream-type pies, frozen cooked-peeled shrimp, and dry food grade gelatin. Food Technol 1971;25:224-229.

36. Foster JF, Fowler JL y Dacey J. A microbial survey of various fresh and frozen seafood products. J. Food Protect 1977;40:300-303

37. CDC/NCID/OPS. Métodos de laboratorio para el diagnóstico de *Vibrio cholerae*. Atlanta, Georgia. 1994. 148p. (p 1-9).

38. Coguanor. Pescado y productos pesqueros; detección y recuento de *Vibrio parahaemolyticus* NGO 35 015 h6 . 15p

39. Food and Drug Administration. Bacteriological Analitical Manual. 7th edition. Arlington, Texas: AOAC International. 1992. V+529p. (p27-50, 51-70, 161-166, 439-452).

40. Hegen CJ. et al. Enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various seafoods with tho enrichment broths. J. Food Protect 1994;57:403-409.

41. Bertullo VH. Tecnología de los Productos y Subproductos de Pescados, Moluscos y Crustáceos. Buenos Aires, Argentina: Editorial Hemisferio Sur. 1975. XV+788p. (p 256-259, 478-479, 482-483).
42. Fraiser MB and Koburger JA. Incidence of Salmonella in clams, oysters, crabs and mullet. J. Food Protect 1984;47:343-345.
43. Timoney JF and Abston A. Accumulation and elimination of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* by hard clams in an in vitro system. Appl. Environ. Microbiol 1984;47:986-988.
44. Doyle MP. Escherichia coli O157:H7 and its significance in foods. Int. J. Food Microbiol 1991;12:289-302.
45. Doyle MP. and Schoeni JL. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl. Environ. Microbiol 1987;53:2394-2396.
46. Geran JS, Bandler R, Staruszkiewicz WF. Fresh and frozen shrimp; A profile of fith, microbiological contamination and decomposition. J. Food Protect 1994;57:154-163.
47. Berry TM, Park DL, Lightner DV. Comparison of the microbial quality of raw shrimp from China, Ecuador or México at both wholesale and retail levels. J. Food Protect 1994;57:150-153.
48. Wich EE., et al. Irradiation flavor en the volatiles components of beef. p12-25. (In Advances in Chemistry series. Radiation Preservation of Foods. Washigton, D.C.: American Chemical Society, 1976. 893p).

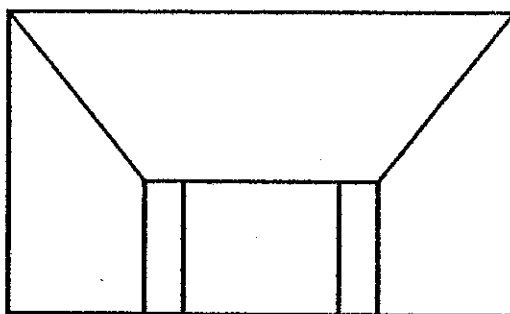
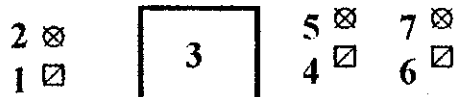
49. Manual of Irradiador Dinarad 5L. Biorad. Doc Tec. 8p.
50. Yamamoto KY. et al Evidence that a non-O1 *Vibrio cholerae* produces enterotoxin that is similar but not identical to cholera esterotoxin. Infect. Immun 1983;41:896-901.
51. Elliot EL., Kaysner CA. and Tamplin M. *V. Cholerae, V. parahaemolyticus, V. vulnificus* and other *Vibrio spp.* p111-140. (In Food and Drug Administration. Bacteriological Analitical Manual. 7th edition. Arlington, Texas: AOAC International. 1992. V+529p).
52. Kaneko T. and Colwell RR. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. J. Bacteriol 1973;113:24-32.
53. Sakazaki R. *Vibrio Parahaemolyticus* as a food-spoilage organism. p225-241 (In food Microbiology. New York: Academic Press, 1983. p350.
54. Baross J. and Liston J. Isolation of *Vibrio paraemolyticus* from the Northwest pacific Nature 1968;271:1263-1264
55. Dawson-Saunders B. Bioestadística Médica. México, D.F: Editorial Manual Moderno. 1990. X+236p. (p 87-111).
56. Moseley BEB. Radiation damageand its repair in nonsporulating bacteria. p147-174. (In Andrew MHE and AD Russel [eds]. The revival of injured microbes. Academic Press, London: 1984. 738p).

57. Bonde GJ. Phenete affiliation of psychrotrophic bacillus; (In Psychrotrophic Microorganisms in sporlage and pathogenicity. New York: Academic Press, 1981. 350p (p.39-54).
58. Bonde GJ. Phenete affiliation of psychrotrophic bacillus; (In Psychrotrophic Microorganisms in sporlage and pathogenicity. New York: Academic Press, 1981. 350p (p.39-54)).
59. Alvarado M., Comunicación personal, tesis no publicada.
60. Rashid, HO, H Ito and I Ishigaki. 1992. Distribución of pathogenic vibrios and other bacteria in imported frozen shrimps and their descontamination by gamma-irradiation. World J. Microbiol. Biotechnol. 8:494-499.

ANEXOS

Anexo No. 1 A
Irradiador Dinarad 51

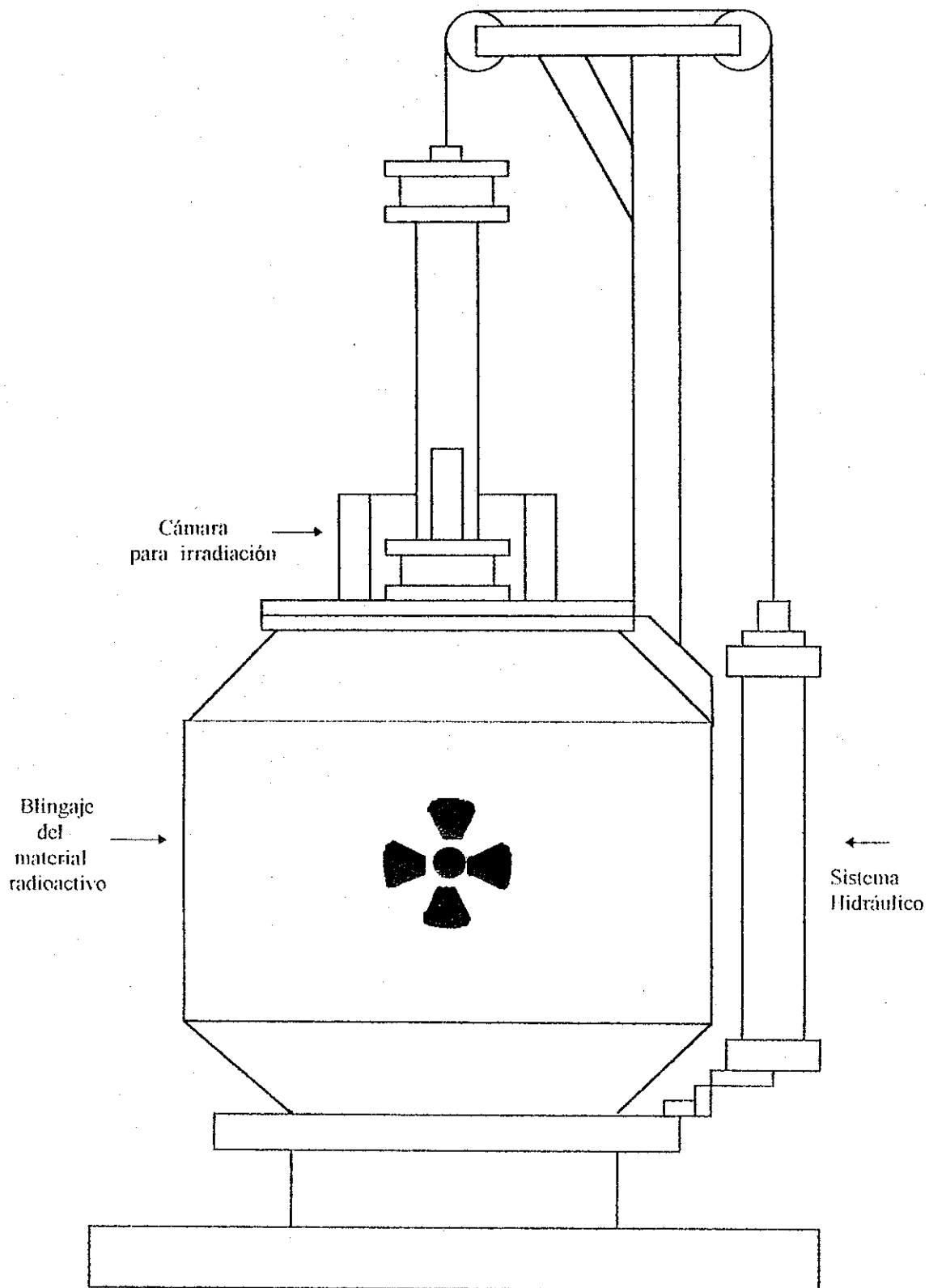
RADIATION DYNAMICS



DYNARAD 5L.

- 1- Botón apagado-encendido
- 2- Luz encendido
- 3- Mecanismo de reloj
- 4- Detener irradiación
- 5- Luz abrir compuerta
- 6- Botón bajar cámara.
- 7- Luz material irradiando

Anexo No. 1 B



ANEXO NO. 2

VALORES DE RADIACIÓN SEÑALADOS POR DIVERSOS AUTORES

MICROORGANISMO/ALIMENTO	D (kGy)
BACTERIAS	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.26
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0.14
Esporas de <i>C. botulinum</i> , tipo E	1.1-1.7
Toxina de <i>C. botulinum</i> A en carne	36.08
<i>Enterobacter cloacae</i>	0.18
<i>Escherichia coli</i>	0.20
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.42-0.55
<i>Pseudomonas putida</i>	0.08
<i>P. aeruginosa</i>	0.13
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.50
<i>Salmonella</i> sp.	0.13
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.16
Enterotoxina A de <i>S. aureus</i> en pasta de carne	61.18-208.49
<i>Yersinia enterocolitica</i> , carne de vaca, 23°C	0.195
<i>Y. enterocolitica</i> , carne de vaca picada a 30°C	0.388
HONGOS	
Esporas de <i>A. flavus</i>	0.66
<i>A. niger</i>	0.042
<i>Penicillium</i> sp.	0.42
VIRUS	
<i>Adenovirus</i>	4.1-4.9
<i>Coxsackievirus</i>	4.1-5.0
<i>Echovirus</i>	4.4-5.1
<i>Herpes simplex</i>	4.3
<i>Poliovirus</i>	4.1-5.4

D=Dosis de irradiación

Fuente: Pauli GH. And Tarantino LM. FDA regulatory aspects of food irradiation. J. Food Protect 1995;58:209-212.

ANEXO NO. 3
ALIMENTOS Y PRODUCTOS ALIMENTICIOS CUYA IRRADIACIÓN ESTA PERMITIDA POR VARIOS PAISES Y POR LA OMS

<i>PRODUCTOS</i>	<i>OBJETIVO/MÉTODO</i>	<i>ESCALA DE DOSIS (kGy)</i>	<i>NUMERO DE PAISES</i>
<i>Patatas</i>	<i>Inhibición de grillones</i>	<i>0.1-0.15</i>	<i>17</i>
<i>Cebollas</i>	<i>Inhibición de grillones</i>	<i>0.1-0.15</i>	<i>10</i>
<i>Ajos</i>	<i>Inhibición de grillones</i>	<i>0.1-0.15</i>	<i>2</i>
<i>Champiñones</i>	<i>Inhibición de crecimiento</i>	<i>2.5 max</i>	<i>1</i>
<i>Trigo, harina de trigo</i>	<i>Desinfestación de insectos</i>	<i>0.2-0.17</i>	<i>4</i>
<i>Frutas desecadas</i>	<i>Desinfestación de insectos</i>	<i>1.0</i>	<i>2</i>
<i>Semillas de cacao</i>	<i>Desinfestación de insectos</i>	<i>0.7</i>	<i>1</i>
<i>Concentrados de alimentos secos</i>	<i>Desinfestación de insectos</i>	<i>0.7-1.0</i>	<i>1</i>
<i>Carne de aves fresca</i>	<i>Radurización</i>	<i>7.0 max</i>	<i>2</i>
<i>Bacalao y pescado rojo</i>	<i>Radurización</i>	<i>2.0-2.2</i>	<i>1</i>
<i>Espicias/condi- mentos</i>	<i>Radurización</i>	<i>8.0-10.0</i>	<i>1</i>
<i>Carnes semiconservadas</i>	<i>Radurización</i>	<i>6.0-8.0</i>	<i>1</i>
<i>Frutas frescas</i>	<i>Radurización</i>	<i>2.5</i>	<i>6</i>
<i>Espárragos</i>	<i>Radurización</i>	<i>2.0</i>	<i>1</i>
<i>Carnes crudas</i>	<i>Radurización</i>	<i>6.0-8.0</i>	<i>1</i>
<i>Filete de Bacalao y de eglefino</i>	<i>Radurización</i>	<i>1.5 max</i>	<i>1</i>
<i>Canales de aves (avisceradas)</i>	<i>Radurización</i>	<i>3.0-6.0</i>	<i>2</i>
<i>Camarones</i>	<i>Radurización</i>	<i>0.5-1.0</i>	<i>1</i>
<i>Productos cárnicos de preparación</i>	<i>Radurización</i>	<i>8.0</i>	<i>1</i>
<i>Comidas sometidas a congelación</i>	<i>Radapertización</i>	<i>25.0</i>	<i>2</i>
<i>Alimentos enlatados/liqui- dos, frescos</i>	<i>Radapertización</i>	<i>25.0 max</i>	<i>1</i>

Fuente: Pauli GH. and Tarantino LM. FDA regulatory aspects of food irradiation. J.Food Protect 1995;58:209-212.

ANEXO NO. 4

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS MARINOS DIVERSOS

PRODUCTO	NÚMERO DE MUESTRAS	GRUPO MICROBIANO OBJETIVO
<i>Filetes de siluro congelados</i>	41	APC a 32°C: 10 ⁵ /g o menos NMP coliformes: <3/g NMP <i>S. aureus</i> : <3/g
<i>Almejas frescas</i>	53	APC a 32°C: 10 ⁵ /g o menos NMP coliformes: <3/g NMP <i>S. aureus</i> : <3/g
<i>Ostras frescas</i>	59	APC a 32°C: 10 ⁵ /g o menos NMP coliformes: 1,100 o menos/g NMP <i>S. aureus</i> : <3/g
<i>Almejas de valva dura</i>	1,124 161	APC a 30°C: 10 ⁵ /g o menos NMP coliformes: 460/g o menos NMP coliformes fecales: <3/g
<i>Camarones pelados (crudos)</i>	1,468	APC a 30°C: 10 ⁵ /g o menos NMP coliformes: 64/g o menos NMP <i>E. coli</i> : <3/g NMP <i>S. aureus</i> : 64/g o menos
<i>Camarones pelados (cocidos)</i>	1,464	APC a 30°C: 10 ⁵ /g o menos NMP coliformes: <3/g NMP <i>E. coli</i> : <3/g NMP <i>S. aureus</i> : <3/g
<i>Camarones crudos, empanados, congelados.</i>	27	APC: 6.00 o menos/g Coliformes: 3 o menos/g Presencia de <i>E. coli</i> Presencia de <i>S. aureus</i>
<i>Camarones pelados, cocidos, congelados</i>	204	APC: <4.70/g APC: 5.30 o menos/g Coliformes: ninguno o <0.3/g Coliformes: <3/g

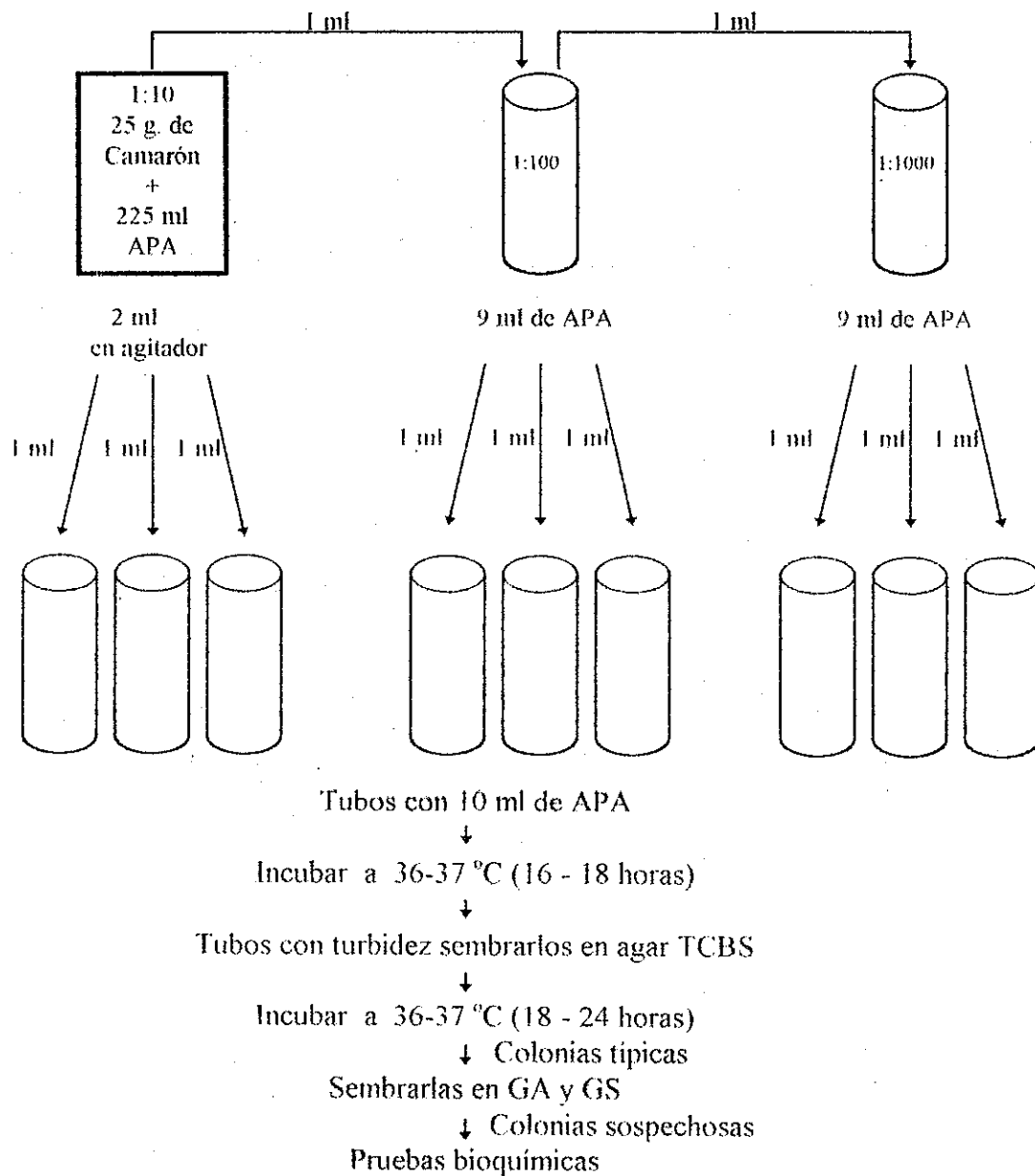
APC= conteo en placa

NMP= número más probable

Fuente: Bonde GJ. Phenetic affiliation of psychotropic bacillus; (In Psychrotrophic Microorganisms in spoilage and pathogenicity. New York: Academic Press, 1981.350p(p.39-54).

Anexo No. 5

Análisis microbiológico para determinación de *V. Cholerae 01* y *V. parahaemolyticus*



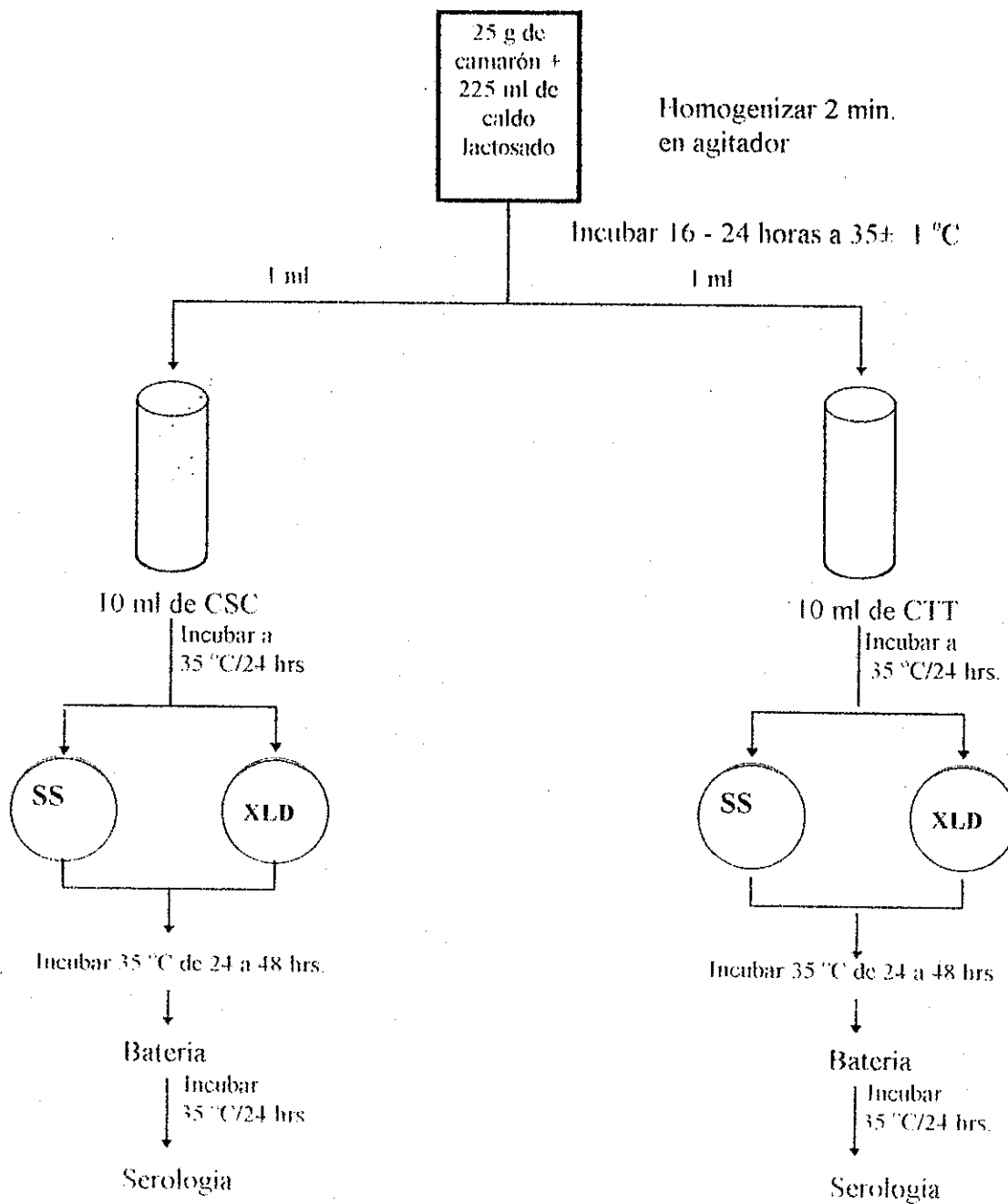
APA = Agua peptonada alcalina

GA = Agar gelatina

GS = Gelatina con sal

Anexo No. 6

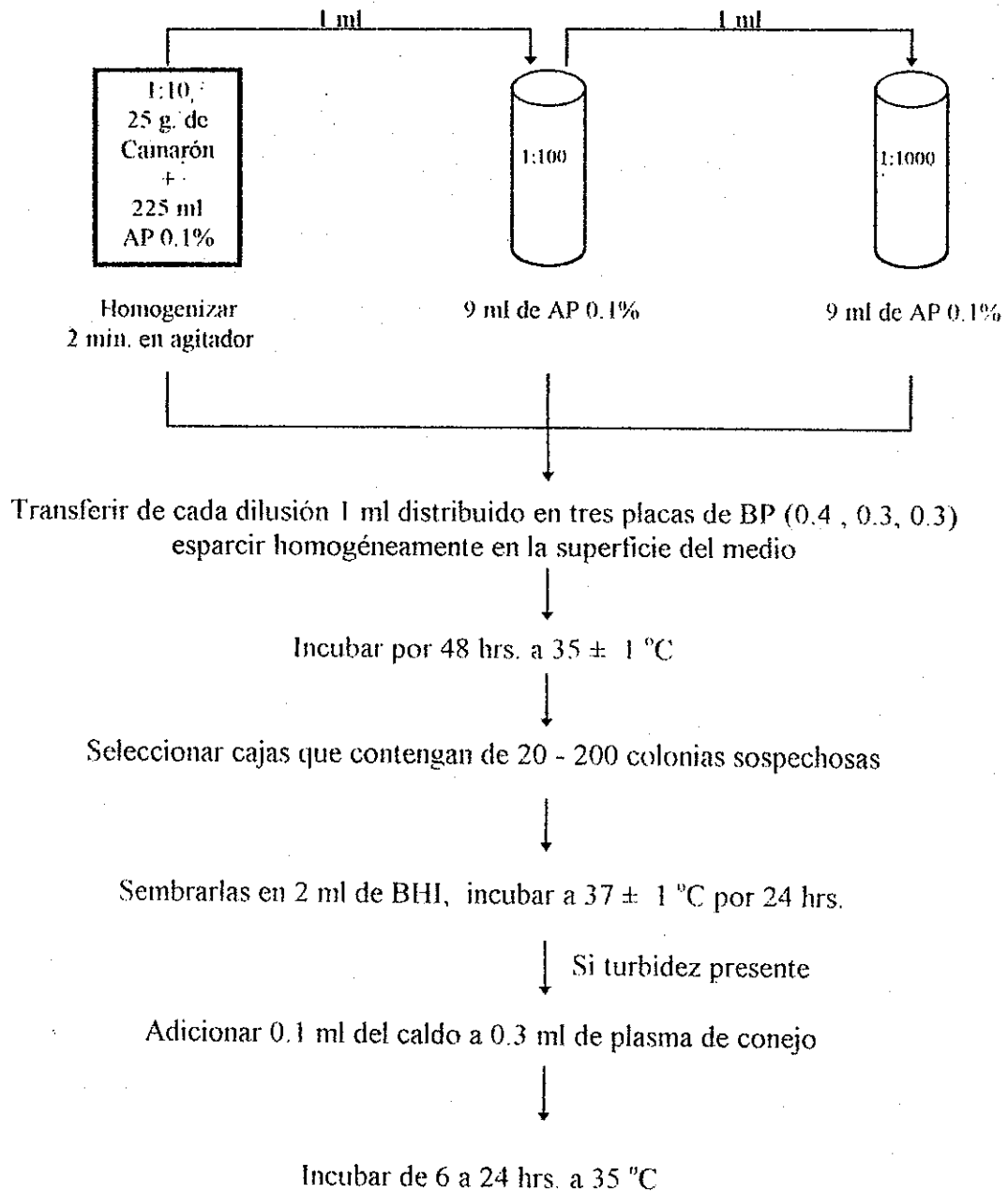
Análisis microbiológico para determinación de *Salmonella* spp



CTT = Caldo Tetrionato
 CSC = Caldo Selenito Cistina

Anexo No. 7

Análisis microbiológico para determinación de *Staphylococcus aureus*

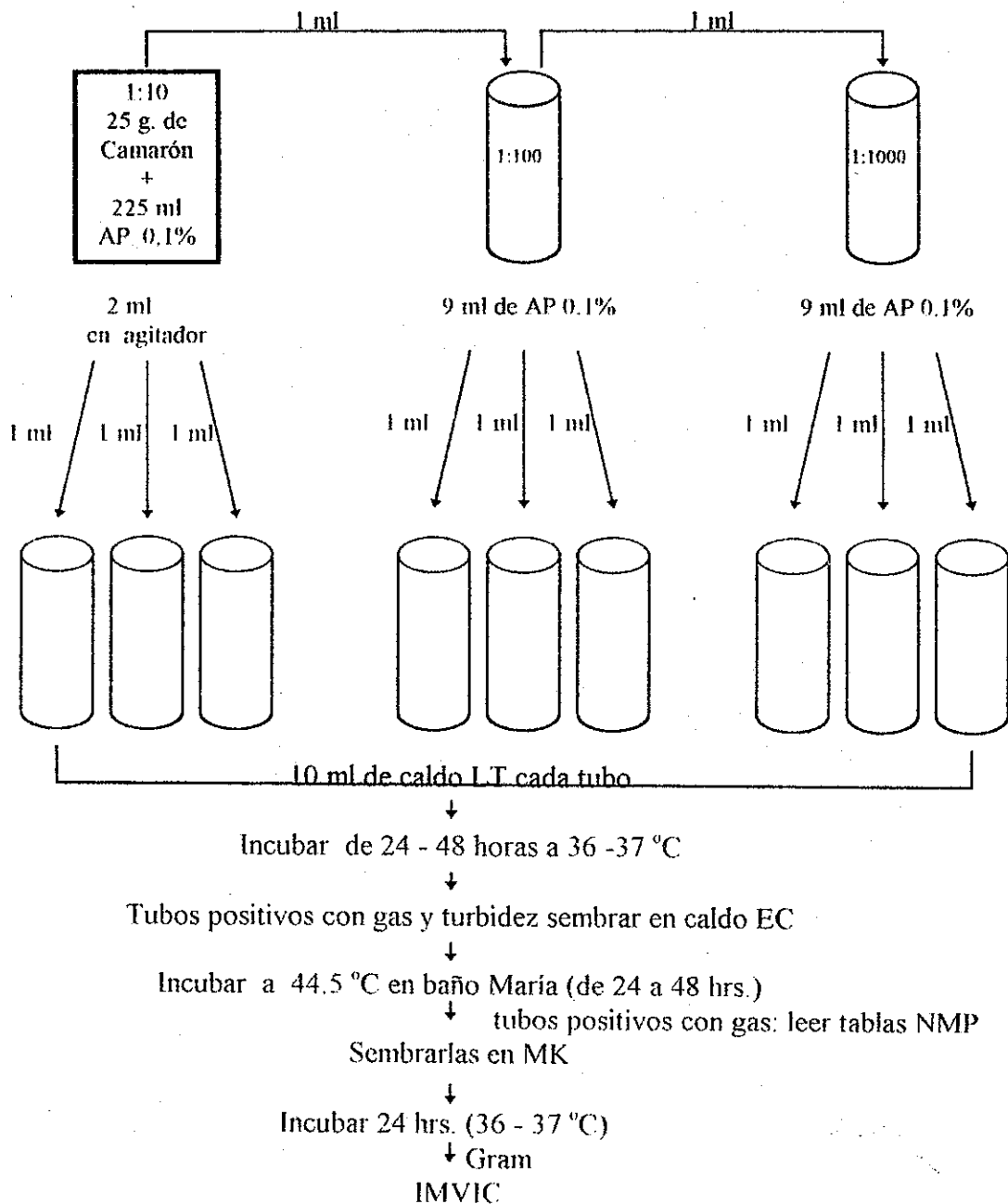


BP = Bair - Parker

BHI= Caldo infusión cerebro-corazón

Anexo No. 8

Análisis microbiológico para determinación de Coliformes fecales y *Escherichia coli*



LT = Lauril triptosa

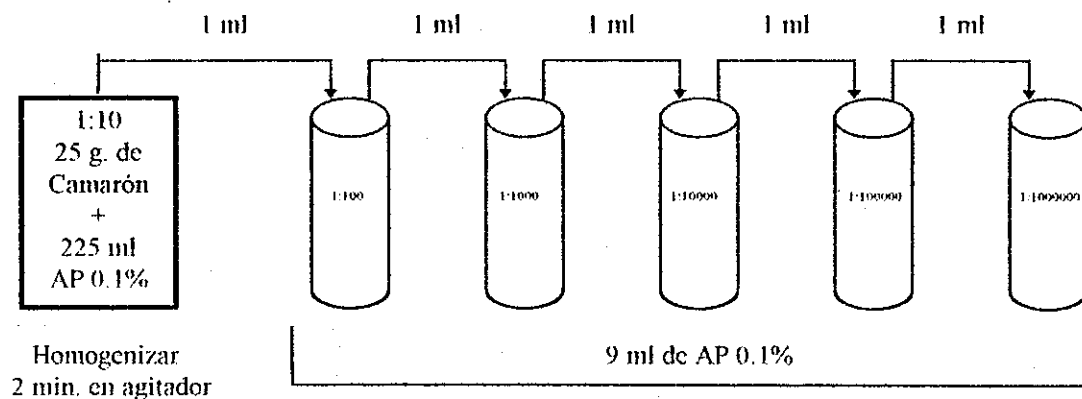
EC = E. coli

NMP = Número más probable

MK = MacConkey

Anexo No. 9

Análisis microbiológico para determinación del recuento de bacterias mesófilas



colocar 1 ml de cada dilución en cajas de petri en duplicado

a cada caja agregar 15 ml de PCA licuado, mezclar uniformemente y solidificar

Incubar por 48 hrs. a $35 \pm 1^\circ\text{C}$

hacer recuento

PCA = Conteo en placa

Anexo No. 10-A**Encuestas de Análisis Sensorial**

Nombre : _____

Fecha _____

Aquí se le presentan 6 muestras de camarón.
Por favor evalúe la siguiente característica en la muestra.

OLOR	910	550	101	345	567	768
Característico a camarón	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Amoniaca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fétido	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Comentarios : _____

Anexo No. 10-B**Encuestas de Análisis Sensorial**

Nombre : _____

Fecha _____

Aquí se le presentan 6 muestras de camarón.
Por favor evalúe la siguiente característica en la muestra.

COLOR	910	550	101	345	567	768
Anaranjado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anaranjado con pocas manchas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anaranjado con regular cantidad de manchas negras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anaranjado con muchas manchas negras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Grisáceo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Negro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Comentarios : _____



Anexo No. 10-C**Encuestas de Análisis Sensorial**

Nombre : _____

Fecha _____

Aquí se le presentan 6 muestras de camarón.
Por favor evalúe la siguiente característica en la muestra.

TEXTURA 910 550 101 345 567 768

Firme Poco Firme Pulposo

Comentarios : _____

Tabla No. 1

**DETERMINACION DE COLIFORMES FECALES EN CAMARONES NO
IRRADIADOS E IRRADIADOS**

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DIAS)	LOTES									
	I NMP/g		II NMP/g		III NMP/g		IV NMP/g		V NMP/g	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
0	4	43	460	<3	240	<3	460	<3	1100	<3
4	7	<3	240	<3	460	<3	460	<3	1100	<3
7	7	<3	43	<3	>1100	<3	43	<3	>1100	<3
10	23	<3	1100	<3	>1100	<3	15	<3	>1100	<3
13	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3
16	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3

NMP/g = Número más probable por gramo

I = Irradiados

NI = No irradiados

<3 = Ausencia

Tabla No. 2

DETERMINACION DE *Escherichia Coli* EN CAMARONES NO IRRADIADOS E IRRADIADOS

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DIAS)	LOTES									
	I NMP/g		II NMP/g		III NMP/g		IV NMP/g		V NMP/g	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
0	4	<3	240	<3	240	<3	4	<3	4	<3
4	4	<3	93	<3	460	<3	4	<3	4	<3
7	4	<3	43	<3	>1100	<3	23	<3	23	<3
10	23	<3	460	<3	>1100	<3	23	<3	23	<3
13	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3
16	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3	-	<3

NMP/g = Número más probable por gramo

I = Irradiados

NI = No irradiados

<3 = Ausencia

Tabla No.3

**DETERMINACION DE CONTEO AERÓBICO TOTAL DE BACTERIAS EN
CAMARONES NO IRRADIADOS E IRRADIADOS**

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DIAS)	LOTES									
	I UFC/g		II UFC/g		III UFC/g		IV UFC/g		V UFC/g	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
0	2x10 ⁷	4x10 ⁶	6x10 ⁵	2x10 ⁵	2x10 ⁷	2x10 ⁵	2x10 ⁷	2x10 ⁵	3x10 ⁵	2x10 ⁵
4	7x10 ⁷	7x10 ⁵	5x10 ⁵	3x10 ⁵	8x10 ⁷	2x10 ⁵	3x10 ⁷	8x10 ⁵	4x10 ⁵	1x10 ⁵
7	7x10 ⁷	4x10 ⁷	3x10 ⁷	1x10 ⁷	1x10 ³	1x10 ⁷	8x10 ⁷	2x10 ⁷	1x10 ³	2x10 ⁷
10	6x10 ³	2x10 ⁸	2x10 ⁹	1x10 ⁸	1x10 ⁹	2x10 ⁸	2x10 ⁸	1x10 ⁸	1x10 ⁹	3x10 ⁸
13	-	2x10 ⁸	-	2x10 ⁸	-	3x10 ⁸	-	2x10 ⁸	-	4x10 ⁸
16	-	3x10 ⁸	-	2x10 ⁸	-	3x10 ⁸	-	2x10 ⁸	-	5x10 ⁸

UFC/g = Unidades formadoras de colonia por gramo

I = Irradiados

NI = No irradiados

Tabla No. 4

DETERMINACION COMPARATIVA DEL ANALISIS SENSORIAL DE LA TEXTURA DE CAMARONES NO IRRADIADOS E IRRADIADOS

Características de Textura	I		II		III		IV		V	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
Firme	62.50	41.65	37.49	22.26	16.70	13.89	38.82	19.43	66.68	30.53
Poco firme	33.33	49.98	41.67	58.28	70.80	52.76	33.40	47.24	33.32	58.28
Pulposo	4.17	8.37	20.84	19.46	12.50	33.35	27.78	33.33	0.00	11.19
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

I = Irradiados

NI = No irradiados

Tabla No. 5

DETERMINACION COMPARATIVA DEL ANALISIS SENSORIAL DEL OLOR DE CAMARONES NO IRRADIADOS E IRRADIADOS

Características de Olor	I		II		III		IV		V	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
Característico	37.27	38.89	45.80	52.75	29.12	36.10	29.16	22.20	29.15	22.29
Amoniacaí	33.70	38.89	29.23	36.15	54.25	36.15	29.16	58.30	37.45	47.17
fetido	29.03	22.22	24.97	11.10	16.63	27.75	41.68	19.50	33.40	30.54
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

I = Irradiados

NI = No irradiados

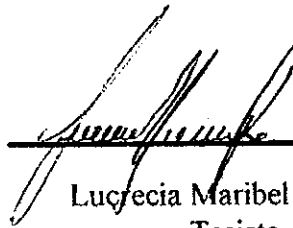
Tabla No.6

DETERMINACION COMPARATIVA DEL ANALISIS SENSORIAL DEL COLOR DE CAMARONES NO IRRADIADOS E IRRADIADOS

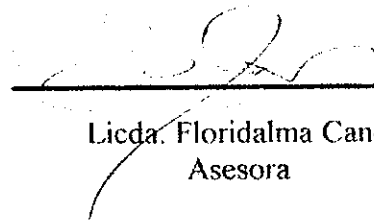
Características de Color	I		II		III		IV		V	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
Anaranjado	8.34	24.95	19.44	33.35	2.76	12.50	24.99	33.40	30.61	44.46
Anaranjado, pocas manchas negras	22.24	62.50	33.41	25.05	27.82	41.70	27.79	27.90	24.97	27.77
Anaranjado, regular cantidad manchas negras	41.67	8.40	36.07	16.65	38.96	33.30	19.45	16.70	16.67	27.77
Anaranjado, muchas manchas negras	2.74	0.00	11.08	4.15	19.39	8.40	8.35	11.00	22.20	0.00
Grisáceo	22.27	4.15	0.00	20.80	0.00	0.00	13.85	11.00	2.78	0.00
Negro	2.74	0.00	0.00	0.00	11.07	4.10	5.57	0.00	2.77	0.00
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

I = Irradiados

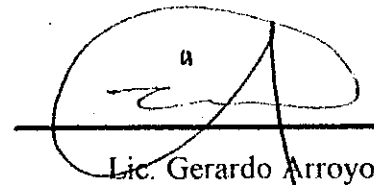
NI = No irradiados



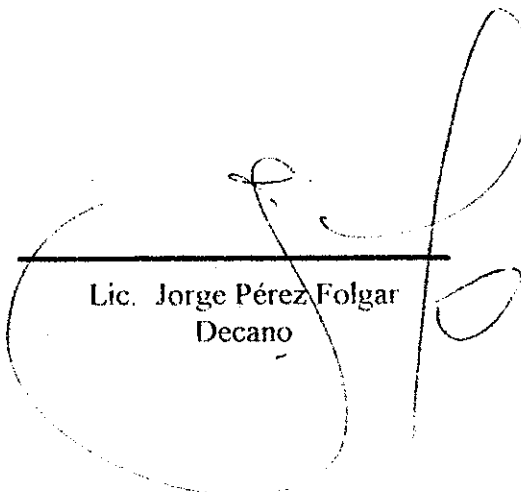
Lucrecia Maribel Pac Sac
Tesisista



Licda. Floridalma Cano
Asesora



Lic. Gerardo Arroyo
Director



Lic. Jorge Pérez Folgar
Decano