

Universidad Ricardo Palma

Facultad de Ciencias Biológicas



**Eliminación de Salmonella
en Harina de Pescado por
Tecnología Pico - Onda**

Tesis presentada por

Jeny E. Pérez Huamanlazo

**para optar el Título Profesional de
LICENCIADA EN BIOLOGIA**

L I M A - P E R U

1 9 9 4

V. B.
Dr. Huamanlazo 5

V. B.
Lic. Johnny Vargas R.
Responsable de Irradiación de Alimentos
IPEN - PIMU

I N D I C E

- I. INTRODUCCION
- II. ANTECEDENTES
- III. GENERALIDADES
- IV. MATERIALES Y METODOS
- V. RESULTADOS
- VI. DISCUSION
- VII. CONCLUSIONES
- VIII. REVISION BIBLIOGRAFICA
- IX. ANEXOS

I INTRODUCCION

A medida que se perfeccionaron las técnicas de producción animal, el uso de la Harina de Pescado se incrementó y fue precisamente esa razón lo que permitió que se produjese el desarrollo de la Industria de este producto, ubicándose el Perú entre los mayores productores y exportadores de Harina de Pescado. Y todo ello debido a la riqueza del recurso ictiológico considerado como el de mayor volumen biológico en el litoral peruano, Engraulis rigens (anchoveta).

Actualmente se considera que la demanda de Harina de Pescado es grande y estable pero la política de los países exportadores de Harina de Pescado está orientada por razones obvias, no tanto a aumentar las cantidades sino a mejorar la calidad y obtener mejores precios por el producto. Por lo que están desarrollando importantes innovaciones tecnológicas que inciden principalmente en una mejor calidad del producto, al respecto la Industria de Harina de Pescado Nacional no puede quedarse al margen de dichos cambios técnicos que permitirán no sólo ganar esos mercados cada vez más exigentes, sino colocar Harinas de Pescado a mayores precios dado sus características sanitarias y físico-químicas que se acomodan mejor a los estándares que el mercado mundial exige.

Este objetivo se lograra principalmente, mejorando los métodos de descontaminación y embarque. Ya que los piensos destinados al consumo de animales son considerados vehículos comunes de diseminación de Salmonella a nivel mundial incluso, dentro de los cuales la Harina de Pescado es uno de

sus principales constituyentes, afectando de salmonelosis al hombre y a los animales causando cuantitativas bajas económicas a la industria avícola en especial.

Por otra parte, en la Industria de Harina de Pescado Nacional un problema que gradualmente ha venido incrementándose es la contaminación por Salmonella y que con lleva al rechazo de los embarques de exportación de Harina de Pescado por las autoridades encargadas del control sanitario, lo que hace necesaria su esterilización por métodos de descontaminación como el reprocesamiento que afecta las características biológicas de la Harina de Pescado u otros por agentes químicos que por sus componentes cancerígenos están siendo objetados. Esta operación, además de significar pérdidas económicas, afecta su aceptación en el mercado internacional.

Dada la implicancia de este problema, es importante emplear tecnologías que contribuyan a la eliminación de este microorganismo sin que afecten las características físico-químicas de la Harina de Pescado.

La tecnología Pico-Onda es un proceso físico que surge como una alternativa para la destrucción y/o control de la actividad microbiológica en la conservación de alimentos, usado ampliamente por los numerosas ventajas que ofrece por lo que el presente trabajo pretende demostrar que esta tecnología es un método eficaz para la eliminación de Salmonella en Harina de Pescado, determinando la dosis óptima de irradiación que logre la eliminación de Salmonella y no afecte los constituyentes químicos en la Harina de Pescado.

II ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

El problema de la contaminación por Salmonella de la Harina de Pescado se remonta a los inicios de la industria de este producto.

En 1955 se estableció que la Harina de Pescado preparada en países subdesarrollados, presentaban frecuentemente contaminación con Salmonella y otros microorganismos enteropatógenicos.(7)

En Gran Bretaña 1,955 la contaminación por Salmonella en Harina de Pescado varió desde 3 al 8%, se pensó que la mayoría de estos resultados fueron porque el producto se contaminó luego del proceso de fabricación.(25)

Desde 1957-1959, de 315 muestras de Harina de Pescado analizados 47 (14.9%) fueron encontradas positivas a Salmonella.(27)

Desde 1959-1961, 17 de 319 (3.9%) muestras fueron reportadas positivas y en 1961-1962, se encontró 4 de 70 (5.7%) muestras de Harina de Pescado contaminadas por Salmonella.(26)

Se reportó que entre los años 1960-1966 Gran Bretaña importó Harina de Pescado de América con niveles de contaminación por Salmonella hasta de 1×10^6 Salmonella/gramo.(63)

Estudios efectuados de piensos importados en Israel 1,977, se reportaron que de 149 muestras analizadas 62 mostraron evidencia de Salmonella.(40)

En 1,980, los veterinarios europeos en especial, las autoridades alemanas se mostraron preocupados por la

contaminación de la Harina de Pescado importada. Las infecciones causadas por Salmonella incrementaron en forma notable en esos últimos años en Alemania. La Harina de Pescado contaminada fue considerada como fuente de infección.

embarco en bolsas de papel y aproximadamente el 20% de los embarques a granel, fueron rechazados en esos años por autoridades de Hamburgo debido a razones sanitarias. Los veterinarios señalan que los resultados obtenidos fueron de ensayos efectuados al azar y que en realidad, el grado de contaminación era mayor.(69)

La aparición de una epidemia de salmonellosis en Inglaterra a través de los huevos de gallinas alimentadas con Harina de Pescado en el año 1,992 dio lugar a que este país presente una propuesta de enmienda a la comisión encargada de reglamentar la venta de productos de origen animal; en la que clasifica con respecto a la contaminación por Salmonella en Harina de Pescado, en niveles a los países exportadores de este producto en los cuales el Perú, junto con Chile, Nigeria, Marruecos y Pakistán se hallaban en el cuarto nivel por lo que señalaban que la Harina de Pescado proveniente de estos países sea detenida en el puerto de ingreso a Europa y se le sometiera a controles sanitarios estrictos, además proponían que si se detectaba Salmonella en estos controles se prohibiera el ingreso de la Harina de Pescado al territorio de la Comunidad económica Europea.(54)

En el Perú, al principio de la fabricación de la Harina de Pescado presentó considerables dificultades por el alto grado de contaminación bacteriana. Por lo que muchos han sido

los trabajos publicados sobre la bacteriología de este producto, aislandose frecuentemente de las harinas contaminadas las variedades de Salmonella typhimurium, S.cholerasuis, S.schottmuelleri en los años 1955-1956. (59)

Sin embargo de trabajos efectuados sobre las condiciones bacteriológicas de la Harina de Pescado del Perú, importada por Gran Bretaña durante el año 1957, se informo que el 90% de las muestras analizadas tenían bajos recuentos de 1×10^5 U.F.C./gr. de carga aerobia y raramente encontraron Salmonella, a diferencia de años anteriores estos recuentos no fueron de millones por gramo.(25)

De investigaciones sobre la incidencia de la carga bacteriana en la calidad de la Harina de Pescado durante el año 1972, utilizándose muestras de Harina de Pescado provenientes de los principales puertos del litoral peruano se determinó el porcentaje de contaminación por Salmonella desde los meses de Mayo a Diciembre, siendo el de ~~mayor~~ porcentaje de frecuencia de contaminación en los meses de :
Agosto que de 806 muestras analizadas el 85% fueron
positivas, Octubre de 472 el 40% fueron positivas y para el
mes de Noviembre de 92 el 50% de las muestras analizadas se
detecto Salmonella. (10)

Actualmente, según datos no publicados de 12 a 24% es la incidencia de Harina de Pescado exportada rechazada por contaminación con Salmonella. (55)

III GENERALIDADES

3.1. GENERO : Salmonella

Son bacilos, gram negativos, generalmente móviles por flagelos peritricos. No esporulados no capsulados. Anaerobios Facultativos. Comprende un grupo muy complejo de enterobacterias productoras de enfermedades en el hombre y animales. Actualmente se han descrito más de 2,200 serovars distintos.

Crecen bien en los medios ordinarios de cultivo sin requerir factores esenciales y pueden utilizar el citrato como fuente única de carbono. En los medios sólidos originan colonias de 2-4 m.m. de diámetro. Todos los serovars, excepto Salmonella typhi producen gases a partir de los azúcares. Reducen los nitratos a nitritos. En el medio de Kligler no fermentan la lactosa ni la sacarosa, fermentan la glucosa y producen gas sulfhídrico (excepto Salmonella paratyphi A) IMViC (-++). No forman desaminasas (fenilalanina y triptófano) ni ureasas. G + C : 50 - 53 moles %.

3.1.1 Clasificación :

Atendiendo a sus propiedades bioquímicas, existen varias clasificaciones del género Salmonella. Kauffmann los divide en cinco subgéneros (I-V) mientras que Edwards y Ewing los divide en tres especies (S.typhi, S.choleraesuis y S.enteritidis).

Según el manual de Bergey el serovar *typhimurium* pertenece a la siguiente clasificación:

Familia : *Enterobacteriaceae*.
Orden : *Eubacteriales*.
Género : *Salmonella*.
Especie : *Salmonella typhimurium*.

3.1.2 Poder Patógeno :

La gran mayoría de los serovars son huéspedes naturales de los animales y pueden infectar al hombre. En el hombre causan dos manifestaciones clínicas : fiebre tifoidea y gastroenteritis. La ~~gastroenteritis o enterocolitis,~~ tipo toxiiñfección alimentaria, puede estar producida por todos los serovars con la excepción del typhi y paratyphi-A.

En los animales, las salmonelas específicas para un huésped determinado por ej. *S. abortusovis* (ovino); *S. choleraesuis* (cerdo); *S. abortusequi* (equino) *S. dublin* (bovinos), *S. typhimurium* (muchas especies) ocasionan las llamadas salmonelosis primarias (fiebres tifoideas, diarreas, abortos) y las salmonelas no específicas causan infecciones gastroentéricas.

3.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA SALMONELOSIS EN RELACIÓN A SU TRASMICIÓN POR PIENSOS

La epidemiología de las infecciones por *Salmonella*

implican el estudio de las fuentes de infección y de las vías de transmisión.

Las infecciones por Salmonella fueron consideradas simplemente como zoonosis de animales que pueden transmitirse al hombre. Sin embargo, según Vander Schaff (1962) consideró a estos como enfermedades antropozoonosis, que son transmitidas directamente o indirectamente por hombres a animales; el rol del hombre no siempre es fácil de determinar.

Actualmente los animales ocupan el punto central de la moderna epidemiología de la salmonelosis y representan un reservorio difícilmente controlable de gran importancia sanitaria. El hombre contrae la infección al consumir alimentos contaminados de origen animal y la contaminación de aquellos se debe principalmente a piensos de origen animal portadores de Salmonella. (39)

Informes procedentes de varios países señalan que la fuente de contaminación más frecuente de Salmonella con respecto a poblaciones animales lo constituye los piensos. (57)

Algunos investigadores creen que quizás esta procedencia es la más importante en relación con el control total de la Salmonelosis.

Dentro de las fuentes de infección se considera como uno de los principales lo sgte. :

3.2.1 Animales :

De acuerdo a investigaciones epidemiológicas retrospectivas todos los autores concuerdan en

creer que las aves de corral son el mayor reservorio no humano de Salmonella. (4,8,9,12,66)

Granville (1961) reportó que los cerdos son usualmente portadores crónicos de Salmonella refugiándose esta bacteria en los ganglios linfáticos y eliminándose con las heces.

La determinación de los serotipos más comunes de Salmonella que infectan a los animales en los E.E.U.U., lo realizó Moran (1971), quien reportó la frecuencia y distribución de los serotipos entre los que destacó el predominio de S. typhimurium, agregando que es complicado determinar un hospedador primario para este microorganismo, por lo que se hallan ampliamente difundidos entre diversos hospedadores animales.

Sin embargo otros investigadores reportan que S. typhimurium afecta particularmente a roedores, por lo que estos constituyen un reservorio importante de este serotipo sus deyecciones contaminan el pienso que se convierte así en una fuente de infección para los animales domésticos. Las vías de transmisión son muy complejas en los animales, de las cuales se considera más importante lo siguiente:

3.2.2 Piensos :

Los animales toman la bacteria etiológica de su medio: Alimento, agua, roedores e insectos.

El ciclo principal comprende los piensos contaminados con Salmonella por harinas de

pescado, harinas de huesos, en parte importadas; los cuales son extensivamente usados para la producción animal en larga escala. (11,13,20,26,24, 45,48,51)

Los mecanismos de trasmisión de las salmonelosis en el hombre y los animales comprende el ciclo : Pienso-Animal-Alimento-Hombre (44).

3.3. HARINA DE PESCADO

La Harina de Pescado, es el producto industrial que se obtiene por reducción del contenido de humedad y grasa de pescado y/o parte del pescado, sin agregar sustancias extrañas, salvo aquellos que tienden a mantener la calidad original del producto (38). Según la FAO lo ha definido como concentrado proteico de pescado tipo C.(70).

Se emplea como suplemento proteínico en las raciones animales, principalmente de aves y cerdos. (18)

La importancia de este producto, en especial de la harina de anchoveta peruana radica en la secuencia estructural de los aminoácidos que conforman su proteína, en lo que juega un rol preponderante la proporción de lisina y metionina. (16)

3.3.1 Composición Química :

La composición química de la Harina de Pescado varía de acuerdo a una serie de factores, entre los principales : La especie, calidad de la materia prima, condiciones del proceso de transformación, etc. No obstante, al comercializar

la Harina de Pescado se exigen ciertos requisitos químicos que deben cumplirse por condiciones contractuales. Así por ejemplo, según la norma técnica nacional 204.037 (33) establece :

- . Proteínas : base 65% (penalizabile por debajo del 64%)
- . Grasas : Máx 12 %
- . Humedad : Máx 10 %
- . Sal y Arena : Máx 4 %
- . Arena : Máx 2 %
- . Cenizas totales : Máx 15 %
- . A/O rem : Mín 100 ppm al momento de embarque.

3.3.2 Producción y Exportación :

La producción de Harina de Pescado en 1989 fue de 6.7 millones de T.M. (equivalentes aproximadamente 30 millones de T.M. de pescado). En el lustro 86-90 la producción se mostró estable concentrándose el 70% de ésta en siete países. Chile y Perú son los mayores productores y exportadores; Japón tercer productor (descendiendo su volumen de producción en el lapso aludido), no tiene exportaciones significativas.(15)

La exportación de Harina de Pescado peruana en el año 1991 fue de 576'405,761.39 Kgs. con un impreso de \$ 193'299,866 siendo en ese año la República Popular China y Alemania Federal (Occidental) quienes importaron mayores volúmenes

de Harina de Pescado peruana (Ver Cuadro Nº I).

La producción de Harina de Pescado en el primer trimestre del año 1,992 fue de 485,614 T.M.H., de las cuales el 43% (206,414) fue producido por Pesca Perú y el 57% (279,200) por empresas privadas. Las principales empresas harineras según el orden de ingresos en el año 1,990 y con su respectivo número de plantas se observa en el Cuadro Nº II.(53)

3.3.3 Calidad en función de las Condiciones de fabricación y almacenamiento:

Las operaciones que abarcan cada paso del procesamiento de la Harina de Pescado ha sido detalladamente descritas por Rojas J. P. (1979); Al respecto sólo se hizo una breve descripción de las fases del proceso de producción de la Harina de Pescado.

El método comúnmente utilizado en la elaboración es el conocido como fusión húmeda. La materia prima capturada es recepcionada en la planta. El pescado completo o triturado se transporta a un cocinador de tratamiento continuo. El material tratado pasa a una prensa de tornillo que extrae aproximadamente el 50% de agua y casi todo el aceite; la porción sólida se lleva a un secador de aire caliente donde la temperatura de la masa se eleva ha 110°C, y la humedad se reduce a menor de 10%. En la fase siguiente se enfría la

CUADRO No 1

EXPORTACION PERUANA DE HARINA DE PESCADO

PRODUCTO\PAIS	EXPORTACION 91	
	VALOR FOB US\$	VOLUMEN KGS BRUTO
HARINA		
ALEMANIA FEDERAL (OCCIDENTAL)	33' 866, 147.00	88' 372, 565.37
AUSTRALIA	2' 001, 950.00	4' 990, 010.00
COLOMBIA	5' 817, 465.00	16' 058, 600.00
COREA DEL SUR	762, 500.00	2' 500, 000.00
CHINA OCCIDENTAL (REPUBLICA POPULAR DE CHINA)	92' 521, 476.00	312' 223, 900.0
CHINA - TAIWAN (CHINA NACIONALISTA)	13' 738, 130.00	34' 357, 262.00
ECUADOR	1' 910, 922.00	5' 148, 350.00
ESPAÑA (ISLAS CANARIAS - TENERIFE)	852, 000.00	2' 400, 000.00
ESTADOS UNIDOS	7' 481, 061.00	20' 067, 000.00
FILIPINAS	1' 521, 500.00	44' 000, 000.00
GUATEMALA	206, 500.00	540, 000.00
HONDURAS	208, 000.00	800, 000.00
HONG KONG	6' 042, 694.00	17' 243, 340.00
HUNGRIA	111, 620.00	354, 330.00
INDONESIA	325, 500.00	1' 050, 000.00
IRAN	4' 640, 930.00	12' 029, 294.00
ITALIA	5' 739, 500.00	14' 002, 000.00
JAPON	4' 250, 298.00	11' 511, 390.00
NUEVA ZELANDIA	404, 123.00	2' 783, 700.00
TURQUIA	754, 800.00	1' 500, 500.00
YUGOSLAVIA	7' 233, 650.00	17' 501, 600.00
GHANA	27, 000.00	90, 000.00
MALIA	598, 500.00	15' 000, 000.00
MEXICO	189, 600.00	481, 920.00
REINO UNIDO	1' 379, 000.00	3' 500, 000.00
REP. DOMINICANA	295, 000.00	1' 000, 000.00
TOTAL	193' 299, 866.0	576' 405, 761.3

FUENTE : ADEX

Partida Arancelaria 2301.01.01

Lima, 1994

CUADRO No I

**PRINCIPALES EMPRESAS HARINERAS 1990
SEGUN ORDEN DE INGRESOS (1)**

EMPRESAS	Ingresos Millones (\$) (2)	No Plantas	Capacidad TMP/Hora (3)
ESTATAL			
1 Pesca Peru	123124	19	2209
PRIVADA	231509	30	1557
2 Sindicato Pesquero del Peru	30624	4	368
3 Del Mar S.A.	22255	1	54
4 Cia. Pesquera Sarlmon	21370	1	82
5 Pez Conservas S.A.	14392	1	54
6 Product. Pesqueros S.A.	14311	1	54
7 Invers. Industr. Carolina S.A.	14200	2	92
8 Union Fishing S.A.	12196	1	66
9 Conservas Islay S.A.	10131	1	93
10 COPEL	9762	1	68
11 Alimentos Americanos S.A.	9580	1	29
12 Cia Conservera Colshco S.A.	9503	1	39
13 Conservera Garrido S.A.	6717	1	36
14 Procesad. de Prod. Marinos S.A.	6174	1	36
15 Inversiones Rigal S.A.	6019	1	43
16 Productos Marinos	5979	1	29
17 Industrial Pesquera Casma S.A.	5933	1	83
18 Envasadora Chimbote Export S.A.	5841	1	50
19 Estrella del Norte S.A.	5710	1	25
20 Envasadora Faldú S.A.	5541	1	31
21 Empresa Pesquera Don Garay S.A.	3642	1	28
22 Envasadora San Antonio S.A.	2172	1	25
23 Conserva Santa Adela S.A.	2149	1	26
24 Pesca y Conservas S.A. PECODESA	1945	1	56
25 Pesquera El Pilar S.A.	1869	1	19
26 Complejo Indust. Pesq. Mistano S.A.	1856	1	40
27 Conservera Chavin S.A.	1638	1	31
TOTALES	355'233	49	3,766

NOTAS :

(1) Deflacionado con T.C. Promedio Libre S/. 0.206

(2) En 1990 se exportó 1134099 T.M. de harina de Pescado, captando US \$ 355. millones de divisa. Pesca Perú exportó 378651 TM y Privados 755448 T.M.

(3) Capacidad de Procesamiento TM / Hora

FUENTE : The Peru Top 4000 (54)

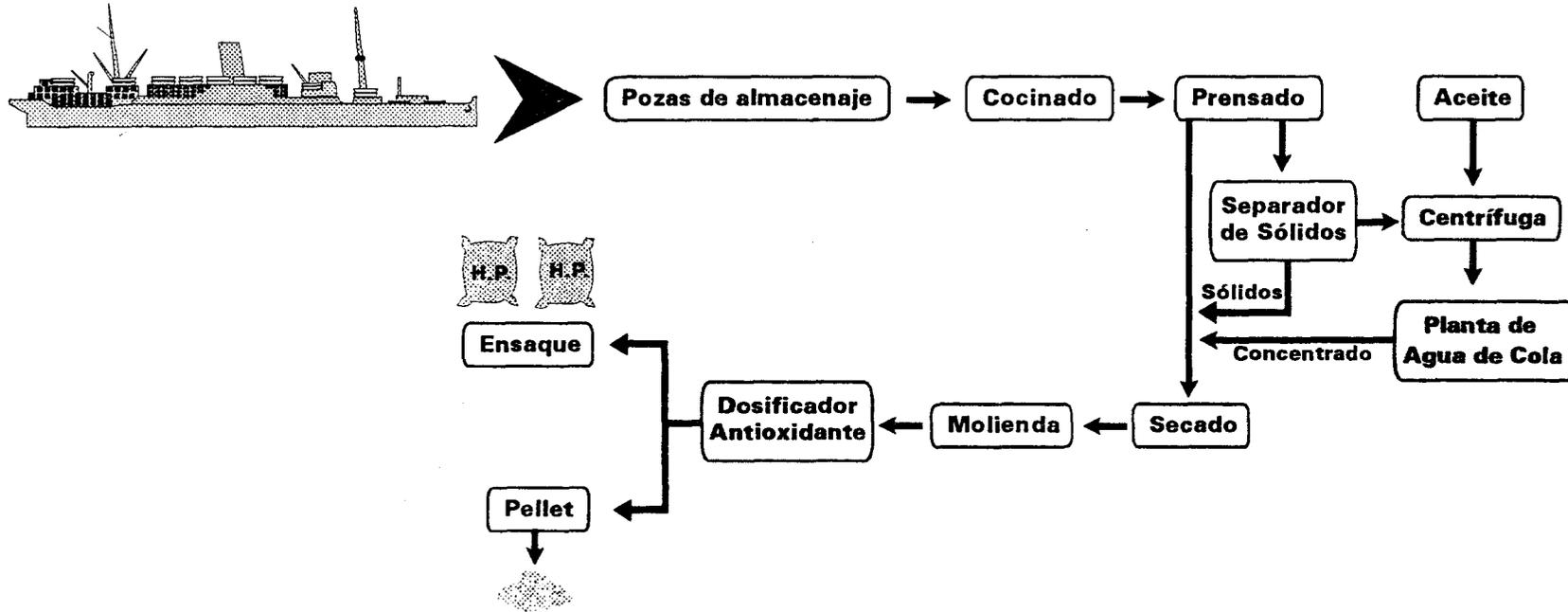
masa, en la mayoría de los casos se adiciona a la harina, a medida que deja el desecador, el antioxidante. La harina estabilizada pasa directamente del desecador a un molino de martillos que reduce su tamaño de partícula y a continuación se ensaca o se almacena a granel. (16) Esquema Nº 1.

Las operaciones del procesamiento con mayor incidencia sobre la calidad final de la Harina de Pescado son el cocinado y el secado. El secado es un punto crítico en la producción de la Harina de Pescado integral. En estos procesos térmicos se aplica un mejor control de la temperatura debido a que las proteínas y lípidos son muy sensibles al calor excesivo (17). Cabe resaltar que en la fase de cocción se reduce el número de microorganismos de la Harina de Pescado y en la fase de secado se destruye (dependiendo de la flora inicial y de la combinación tiempo-temperatura utilizada).

Las malas condiciones de almacenamiento y/o transporte puede producir alteración microbiana en la Harina de Pescado. La Harina de Pescado es un producto microbiológicamente estable debido a que su actividad de agua es menor que la que permite el desarrollo microbiano, sin embargo si el producto se humedece (durante el almacenamiento, o transporte) tendría lugar una rápida multiplicación microbiana y su deterioro. (32)

ESQUEMA No. 1

FLUJOGRAMA DE LA FABRICACION DE LA HARINA DE PESCADO



3.3.4 Contaminación por Salmonella

Desde los años 50, al descubrirse que varios serotipos, como Salmonella agona se habían introducido en varios países con la Harina de Pescado importada de Perú, se sabe que ese producto es una buena fuente de Salmonella para los piensos.

Investigaciones microbiológicas llevadas a cabo demostraron que pueden aislarse diversas enterobacterias, incluida Salmonella a partir de la Harina de Pescado en todas las fases del procesado (58).

Las grandes deficiencias higiénicas de las fabricas de Harina de Pescado contribuyeron a difundir la contaminación. Los expertos citan dos causas del alto grado de contaminación:

- a) El calor insuficiente durante el procesamiento de la Harina de Pescado.
 - b) La denominada contaminación secundaria de la Harina de Pescado almacenada después de haber sido procesado.
- a) De acuerdo con las leyes sobre alimentos en Alemania, los importadores de Harina de Pescado de este país estipulan en sus contratos que la Harina de Pescado debe calentarse a 80°C durante 30 minutos; y exigen certificados que verifiquen que la Harina de Pescado embarcada ha recibido dicho

tratamiento. Sin embargo, los embarques con dicha certificación muestran también un alto grado de contaminación. Es muy probable que la Harina de Pescado no haya sido descontaminada en forma total y completa debido a que el calor no puede penetrar las gruesas capas de la Harina de Pescado en las fajas transportadoras (17)

b) La Harina de Pescado procesada es almacenada al aire libre después del proceso de calentamiento y se encuentra al alcance de gaviotas, otras aves y roedores e insectos que la contaminan. (69)

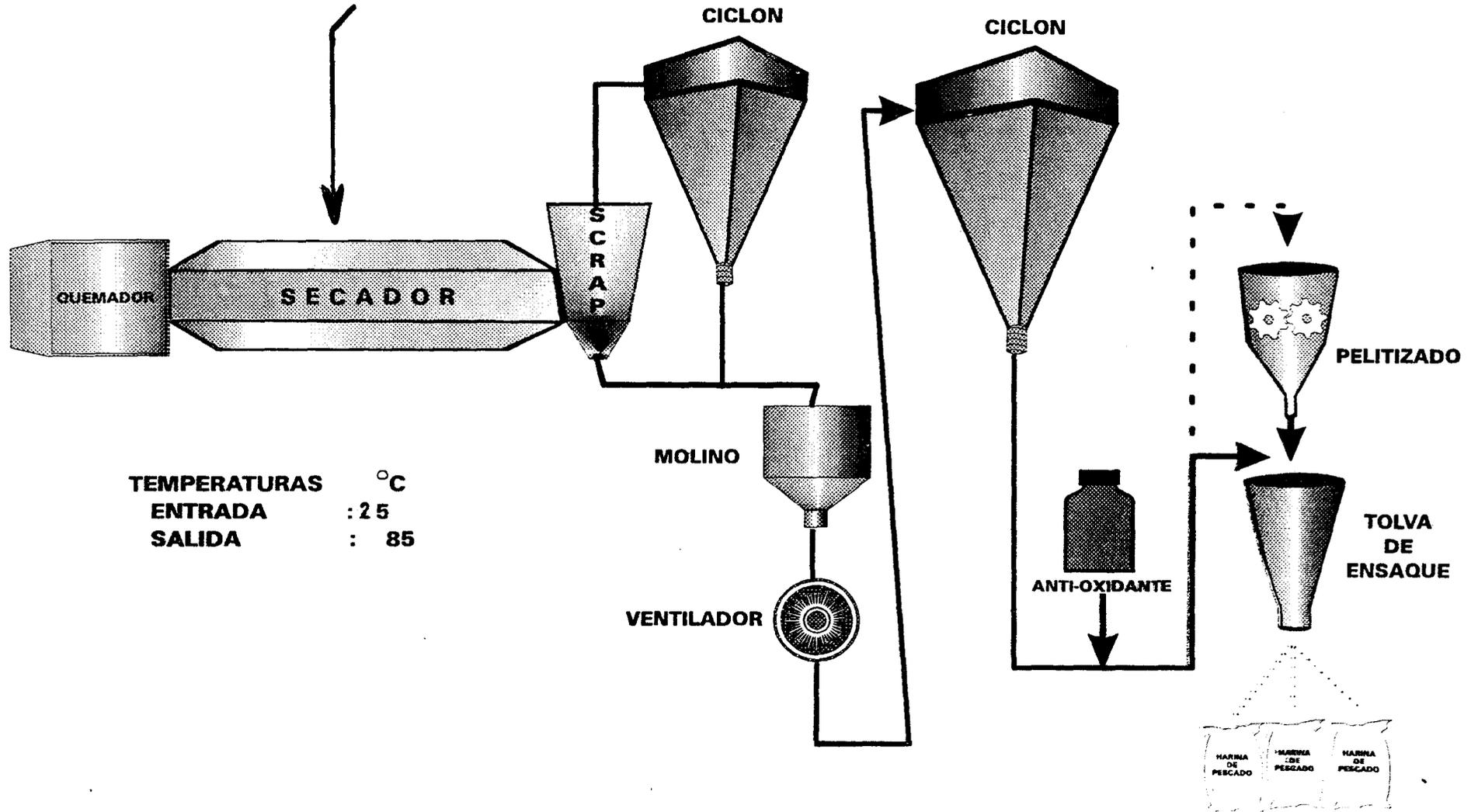
3.3.5 Procesos usados en la Descontaminación.

La Industria de Harina de Pescado actualmente reprocesa la harina contaminada con Salmonella en base a recalentamiento. Este método el reprocesamiento consiste en introducir la harina dentro de un secador cuya temperatura inicial es de 25°C, el aire caliente que ingresa a este es suministrado por un quemador. El secador es alimentado por un flujo de vapor de agua que evita que la harina pierda humedad y se pegue en las paredes del cilindro. (Esquema Nº 2).

La aplicación de este método lo hacen a un costo que puede variar entre \$ 30-40/Kg y simultáneamente la calidad de la harina se ve afectada en sus características biológicas,

FLUJOGRAMA DEL REPROCESAMIENTO DE LA HARINA DE PESCADO CONTAMINADA CON SALMONELLA

ENTRADA DE HARINA DE PESCADO



principalmente afectando la biodisponibilidad de aminoácidos e incrementando la formación de mollerósina (causante de vomito negro en aves). Mientras que otras industrias utilizan microbicidas químicos comestibles (Salmonix, Salmex, etc.), que por sus compuestos cancerígenos están siendo objetados su uso. Otro modo de eliminar la Salmonella de una Harina de Pescado infectada consiste en almacenar ésta durante largos períodos de tiempo, ya que la Salmonella morirá gradualmente en la Harina de Pescado almacenada. El tiempo necesario dependerá de la temperatura de almacenamiento pero, con unas condiciones atmosféricas normales, pueden precisarse unos meses y semejante almacenamiento resulta también oneroso.

3.4 TECNOLOGIA PICO - ONDA

La tecnología Pico-Onda denominada también IRRADIACION IONIZANTE O TRATAMIENTO PICO-ONDA, es un proceso físico que consiste en exponer un objetivo (como por ejemplo un producto alimenticio) ya sea envasado o no, a los rayos gamma en un recinto especial, por un tiempo determinado hasta lograr el efecto deseado. La fuente de rayos gamma que se utiliza comercialmente para el tratamiento de alimentos y los procesos industriales son los radioisotopos Co-60 y el Cesio - 137. Los rayos gamma

son radiaciones electromagnéticas de longitudes de onda muy cortas de la misma naturaleza que la luz visible, ultravioleta; dichas longitudes de onda están en el orden de 10^{-12} metros cuyo prefijo se denomina "Pico" por lo que esta Tecnología se le denomina "Pico-Onda".(31)

La Tecnología Pico-Onda se considera un proceso "frío" porque produce un pequeño incremento de temperatura en el producto durante el proceso, se puede aplicar a través de cualquier tipo de material de envase, incluso aquellos que no resisten el calor. Ello significa que se puede aplicar este proceso después del envasado del producto con lo cual se evita la recontaminación o la reinfestación para los alimentos procesados.(36)

3.5. PROCESO DE IRRADIACIÓN EN LA INACTIVACIÓN MICROBIANA-SALMONELLA

Antes de considerar la aplicación específica de la radiación para la eliminación de Salmonella, es importante señalar como se relaciona el proceso de irradiación de alimentos con otros que implican inactivaciones microbiales.

3.5.1 Esterilización

Esterilización por radiación es entendida como un tratamiento de los alimentos con una dosis de radiaciones ionizantes suficiente para reducir el número y/o actividad de los microorganismos viables, hasta tal punto que

muy pocos o ninguno de ellos pueden detectarse por cualquier método admitido de ensayo bacteriológico o micológico aplicado al alimento tratado. El tratamiento ha de ser tal que resulte imposible detectar descomposición o toxicidad alguna de origen microbiano sean cuales fueren la duración o las condiciones de almacenamiento del alimento después del tratamiento, siempre que no haya recontaminación

3.5.2 Pasteurización

Este término es usado cuando en el proceso se emplea bajas dosis de radiación con el objeto de prolongar la vida de almacenamiento. Este uso es más general, especialmente en la literatura americana, pero el término a veces a sido aplicado para la muerte de bacterias patógenas. La baja dosis de radiación empleada no esteriliza el producto pero reduce el número de microorganismos capaces de multiplicarse y de este modo retarda el deterioro. En general este incremento en la vida de almacenamiento es suficientemente larga para ser utilizado cuando el producto es almacenado sobre refrigeración.

3.5.3 La Eliminación de Salmonella u otros patógenos

La eliminación de Salmonella es un proceso similar a la pasteurización desde que las dosis usadas se hallan en el mismo rango, pero el

objetivo es diferente. Es simple eliminación de un grupo de microorganismos que son particularmente no deseados en el producto. Es la aplicación de dosis de radiaciones ionizantes suficientes para eliminar el número de bacterias patógenas específicas viables que no formen esporas, hasta tal punto que ninguna de ellas se detectable en el alimento tratado cuando éste se examine por cualquier método admitido de ensayo bacteriológico.

Resultados de Investigaciones realizados sugieren la aplicación del proceso para la eliminación de Salmonella principalmente a productos no perecibles, como huevos secos, congelados, piensos, etc. En estos productos no hay normalmente oportunidad para la multiplicación de microorganismos sobrevivientes. Actualmente los términos esterilización, pasteurización, eliminación de patógenos se usan con las denominaciones: Radappertización, Radurización y Radicidación respectivamente. (36)

3.6. TECNOLOGÍA PICO - ONDA EN HARINA DE PESCADO Y PIENSOS

El potencial de la Tecnología Pico-Onda en controlar la contaminación de la Salmonella en piensos ha sido indicado en diversos paneles organizados por la Agencia Internacional de Energía

Atómica (IAEA) Y FAO desde 1,962 [25]; 1,966 [28]; 1,967 [29] y en el primer Symposium de Alimentos Irradiados 1,966 [30]. Particularmente valioso fueron los estudios mejorados en los Países Bajos [74] y Reino Unido [41] y en Hungría 1980 e Israel 1,977 [52,40].

Vander Schaaf y Mossel (1967) efectuaron experimentos sobre la descontaminación de Harina de Pescado y harina de sangre por Tecnología Pico-Onda, reportaron que una dosis de 7 KGy reducía la contaminación inicial de Salmonella en estos productos en un factor de 10^7 /gr. De investigaciones posteriores sobre piensos de origen animal revelaron que no se produce pérdidas de lisina disponible en cualquiera de las proteínas de piensos irradiados a un nivel de 10.KGy.

Ito, H. (1977) reveló que la eliminación de Salmonella y otros Enterobacterias en piensos se logro por irradiación con dosis de 5 a 6KGy, especificando que la dosis de inactivación de *S. typhimurium* en condiciones secas en piensos de origen animal fue de 6KGy considerando que la resistencia a la radiación de este serotipo en estos piensos es más alta en el estado seco que en el congelado. De los estudios que efectuó sobre la aplicación de la Tecnología Pico-Onda en piensos de origen vegetal determinó que el crecimiento de hongos en estos piensos no ocurrió en el nivel de dosis de 5 a 6KGy.

Nádudvari, I. (1,980) de sus experiencias ganadas en diez años de investigación en Hungría sobre el uso de la tecnología Pico-Onda en piensos para animales de laboratorio y granja informo que la irradiación entre niveles de 15-25KGy es excelente para esterilizar mezclas de piensos destinados ha animales de laboratorio y granja. La calidad nutricional de estos no se deteriora y permanece insignificante, sólo hay una ligera alteración de la vitamina A y E mientras que entre los aminoácidos esenciales la lisina fue observada.

La dosis necesaria para la inactivación de Salmonella en alimentos ha sido calculada por varios autores y esta resumida en la tabla Nº 1, en ella se observa que uno de los productos más estudiados fue el huevo, y la cepa S. typhimurium ha sido considerada como la más resistente a la radiación por lo cual se empleo en los experimentos. La dosis de inactivación de S. typhimurium por un factor de 10^7 en la mayoría de productos varió de 3 a 8 KGy. (68)

Baeza y Rubio (1,980) realizaron investigaciones sobre la aplicación de la Tecnología Pico-Onda en la descontaminación de Harina de Pescado chilena, señalaron que este producto a pesar de que su elaboración involucra altas temperaturas, éste puede sufrir contaminación durante el almacenaje, indicando que dosis de 5KGy aseguran reducir la carga microbiana a niveles aceptables desde el punto de

TABLA N° 1
 DOSIS DE IRRADIACION SUGERIDAS PARA LA
 INACTIVACION DE SALMONELLA EN VARIOS PRODUCTOS

PRODUCTO	AUTOR	EXPERIMENTOS CON CEPAS MAS RESISTENTES	FACTOR DE INACTIVACION	DOSIS (Kgy)
Huevo entero (liquido)	PROCTOR et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁷	2.8
Huevo entero (liquido)	MOSSEL	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁶	2
Huevo entero (liquido)	LEY et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁷	4.4
Huevo entero (congelado)	BROOKS et al.	Natural contaminación	10 ⁸	3-5
Huevo entero (congelado)	LEY et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁷	4.76
Huevo entero (congelado)	COMER	S. <u>gave</u>	10 ⁷	5.40
Huevo entero (seco)	BROGLE et al.	S. <u>typhimurium</u> & <u>senftenberg</u>	10 ⁷	3.70
Yema de huevo (congelada)	BROGLE et al.	S. <u>typhimurium</u> & <u>senftenberg</u>	10 ⁷	3.20
Yema de huevo (seco)	BROGLE et al.	S. <u>typhimurium</u> & <u>senftenberg</u>	10 ⁷	5.70
Clara de Huevo (liquido)	NICKERSON et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁷	2.6
Clara de Huevo (congelada)	NICKERSON et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁷	2.12
Clara de Huevo (seco)	NICKERSON et al.	S. <u>typhimurium</u> & <u>senftenberg</u>	10 ⁷	5.85
Clara de Huevo azucarada (seco)	NICKERSON et al.	S. <u>typhimurium</u> & <u>senftenberg</u>	10 ⁷	8.40
Carne de Caballo (congelada)	LEY et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁵	6.4
Harina de huesos	LEY et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁷	6.4
Coco deshidratado	LEY et al.	S. <u>typhimurium</u>	10 ⁷	11

vista comercial, sin afectar al producto como fuente de proteínas.

En Israel 1,987 se autorizó el uso de la Tecnología Pico-Onda en la descontaminación de piensos, mezclas de piensos, ingredientes piensos (harina de huesos, Harina de Pescado, harina de soya, etc) utilizados en la alimentación de animales de granja principalmente aves. El costo por tonelada procesada a 7.5 Kbyes de \$ 13 a 15.5 dependiendo del tiempo y del origen del equipo de radiación.

Harsojo, Andini y Suwirma (1989) realizaron trabajos sobre el uso del proceso Pico-Onda en la descontaminación de piensos, revelando que la dosis de 4 fue suficiente para la inactivación de Salmonella/gramo y con un porcentaje de humedad de 13.44%, consideraron aceptable esta dosis porque además no afectó el contenido nutritivo del producto.

En estudios comparativos sobre los efectos de tres tratamientos (autoclavado, fumigación con óxido de etileno, irradiación gamma) para la inactivación de diferentes microorganismos en piensos mezclados destinados a animales de laboratorio y granja, se determinó que de los tres tratamientos aplicados el pienso fue dañado mayormente por el autoclavado (121°C x 25') y en menor grado por la irradiación gamma (15'). El autoclavado afectó a la digestibilidad de proteínas decreciendo estas en un 12% y los aminoácidos como la lisina y la arginina fueron

destruidos en un 18% y 8% respectivamente.(6,50).

Investigaciones químicas en Harina de Pescado de varios países que fueron irradiadas con dosis de 50K Gy, no mostraron evidencia de que la radiación inducía cambios en el contenido de la proteína cruda, así como la digestibilidad de la proteína.(22)

IV MATERIAL Y METODOS

El desarrollo experimental de este trabajo se efectuó en los laboratorios de la División de Investigación y Proyectos del IPEN. Para lo cual se diseñó el flujograma de trabajo representado en el esquema Nº 3.

4.1. Muestra biológica

Se emplearon 4 lotes de Harina de Pescado con un total de 25 Kilos, proveniente de la Compañía Pesquera Estrella del Perú S.A.

Cada lote de 6.15 Kilos de Harina de Pescado se repartió en 12 bolsas de polietileno. Distribuyéndose 7 muestras para análisis microbiológicos, 4 para análisis físico-químicos y 1 muestra para dosimetría.

(Esquema Nº 4)

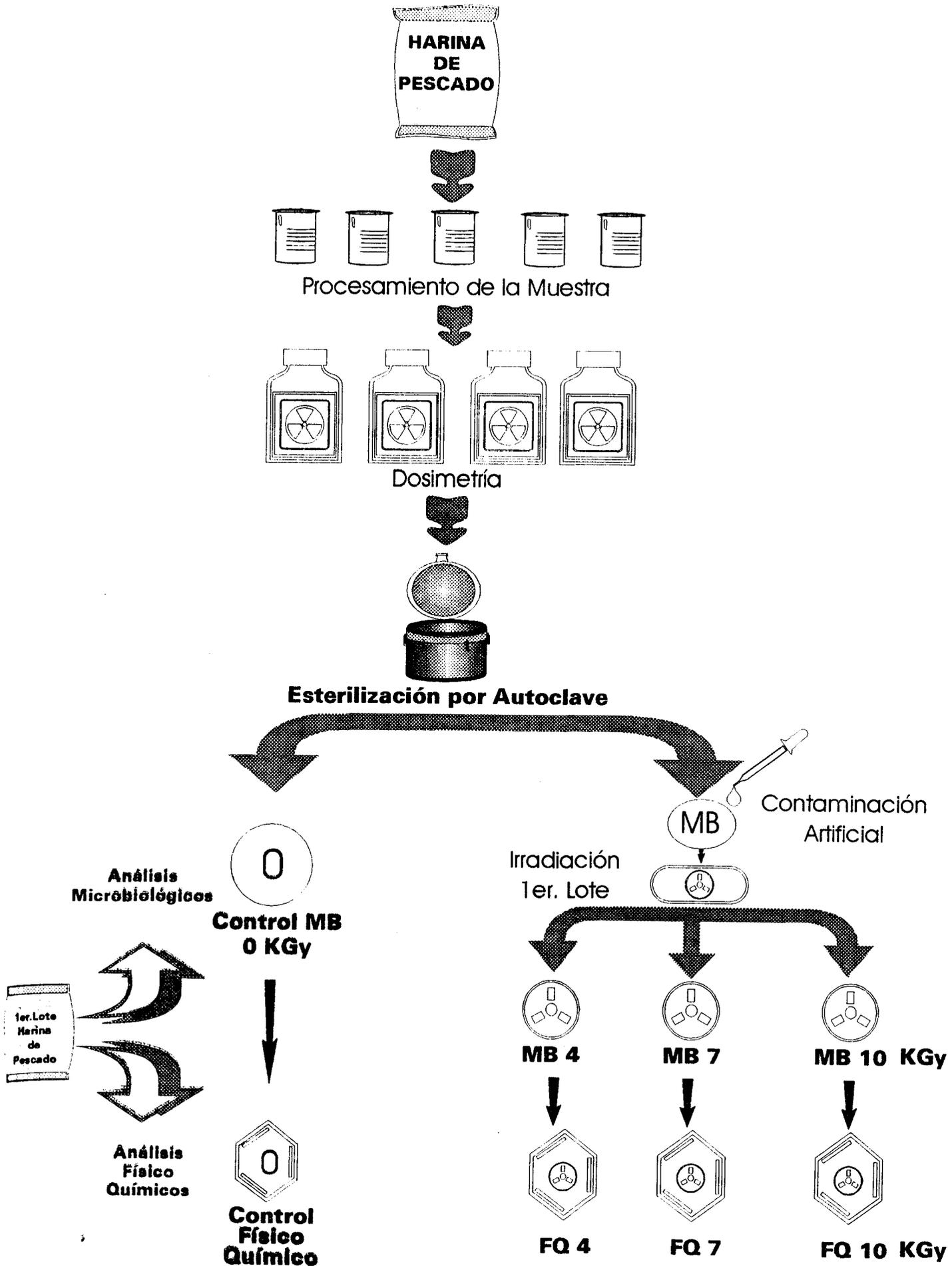
4.2. Determinación de la Tasa de Dosis por Dosimetría Fricke

La tasa de Dosis es la cantidad de energía que interacciona con la muestra en una unidad de tiempo y se calcula para fijar el tiempo de exposición de la muestra a la fuente de irradiación de modo que ésta reciba una dosis precisa y específica.

La medición de la dosis absorbida se realizó por dosimetría Fricke que es un método químico, estandarizado, y comprendió las siguientes secuencias :

(Esquema Nº 5)

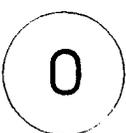
Flujograma de Trabajo



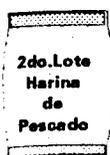


Esterilización por Autoclave

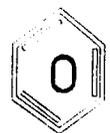
Análisis Microbiológicos



Control MB 0 KGy



Análisis Físico Químicos

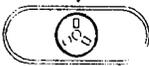


Control Físico Químico

Contaminación Artificial



Irradiación 2do. Lote



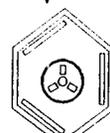
MB 3



MB 5



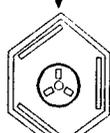
MB 6 KGy



FQ 3



FQ 5

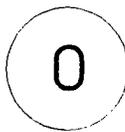


FQ 6 KGy



Esterilización por Autoclave

Análisis Microbiológicos



Control MB 0 KGy



Análisis Físico Químicos

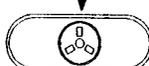


Control Físico Químico

Contaminación Artificial



Irradiación 3er. Lote



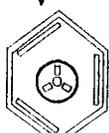
MB 4.5



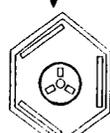
MB 5



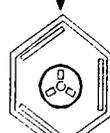
MB 5.5 KGy



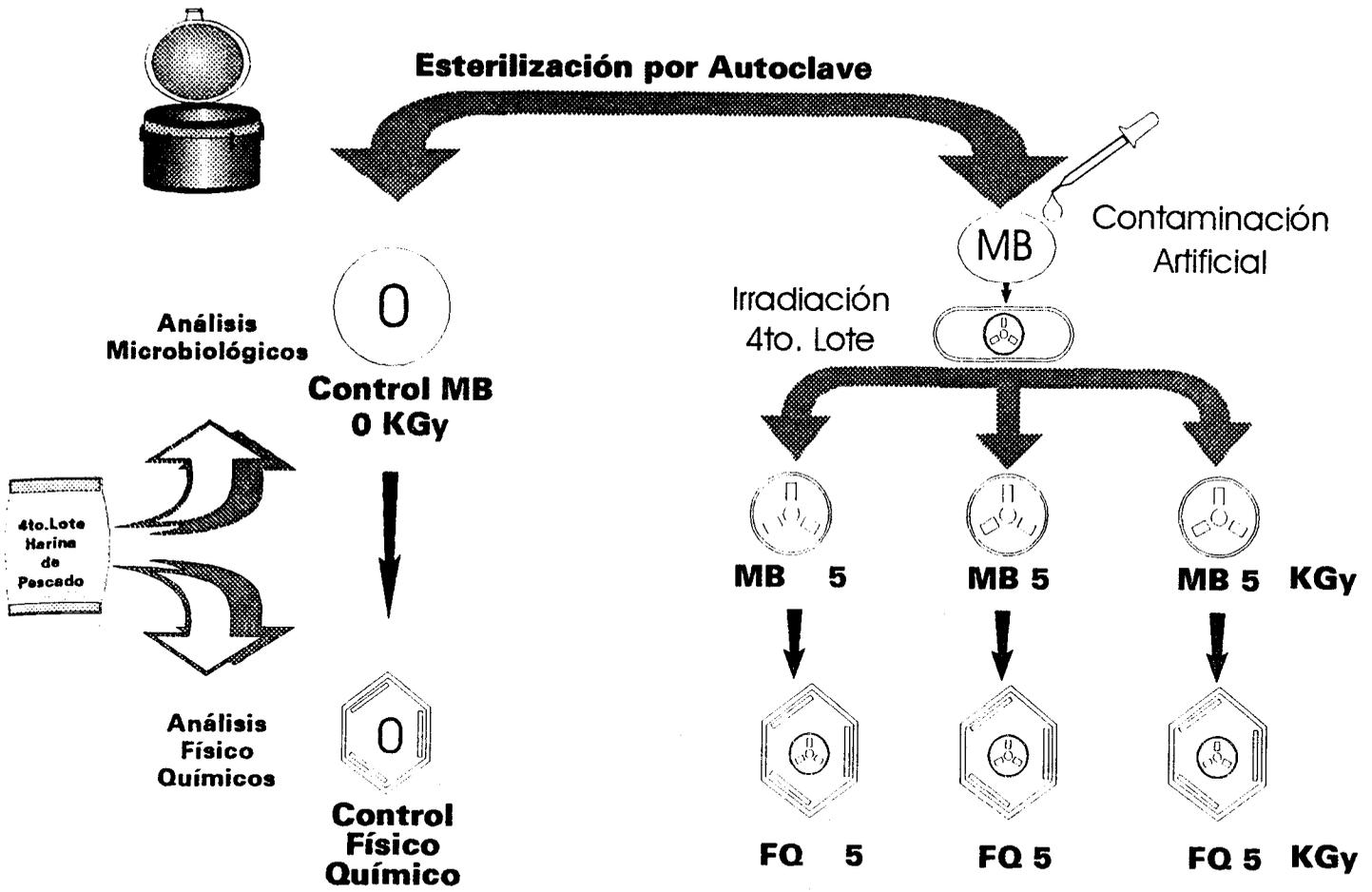
FQ 4.5



FQ 5

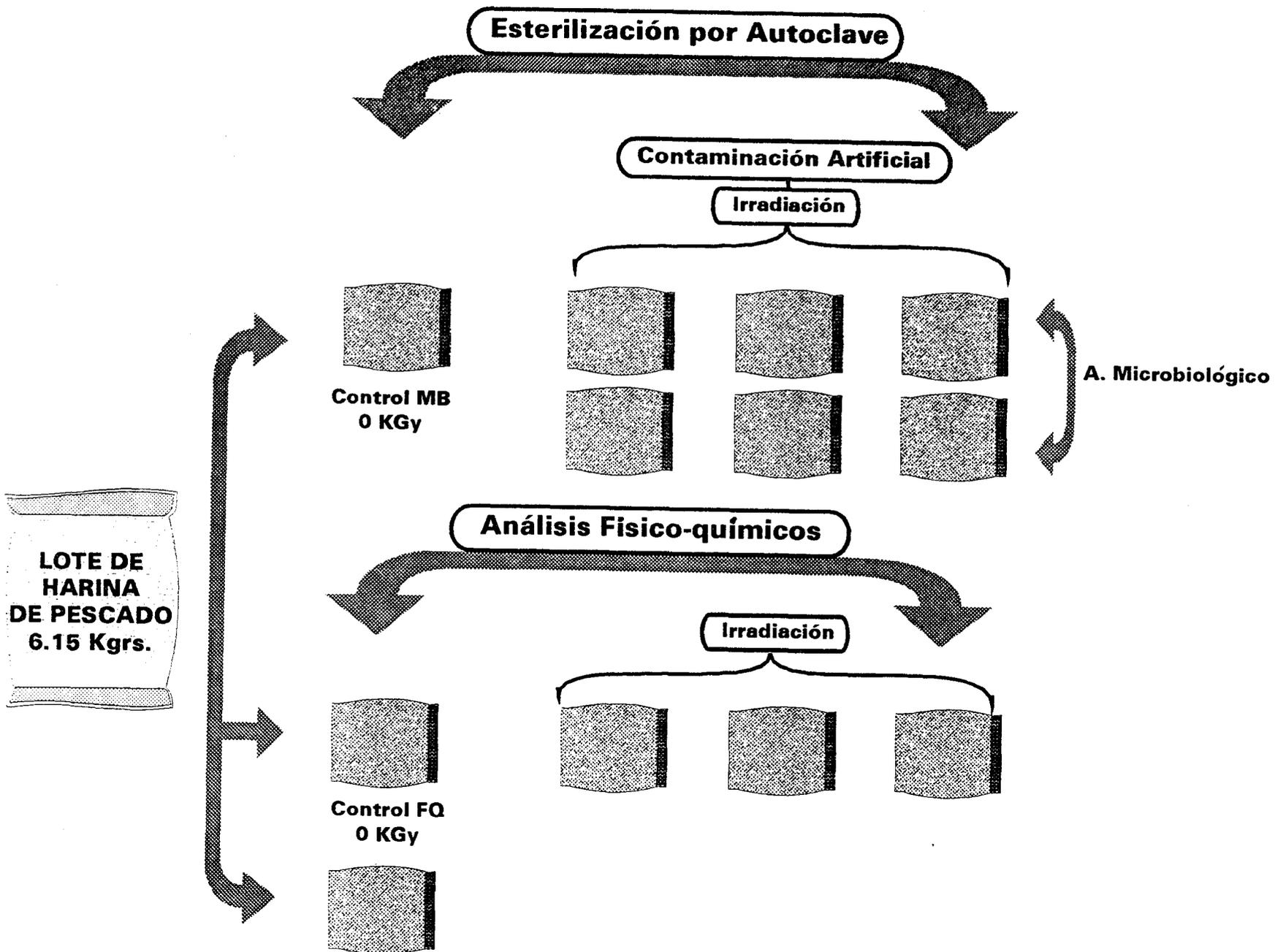


FQ 5.5 KGy



ESQUEMA No. 4

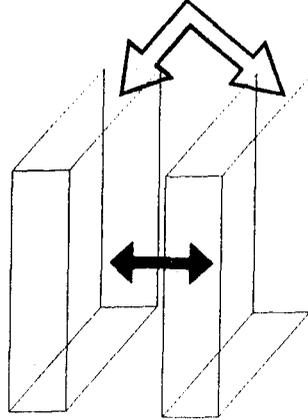
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



Dosimetría Fricke

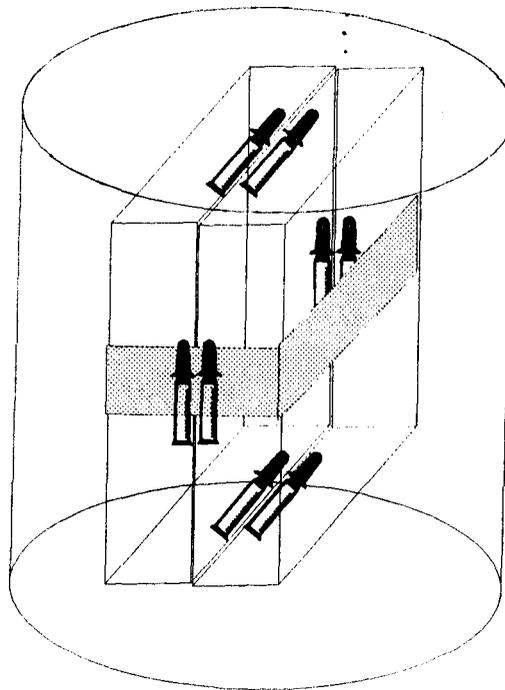
Preparación de la muestra

Bolsas de harina de pescado de 500grs. c/u.

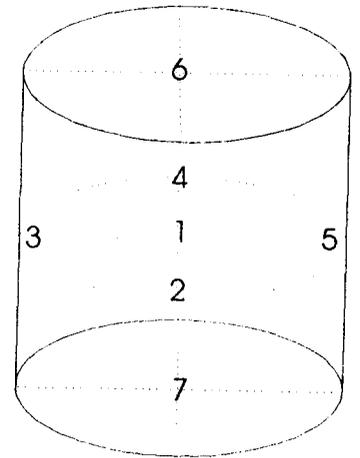


Distribución e irradiación de los Dosímetros

► Contenedor del Irradiador

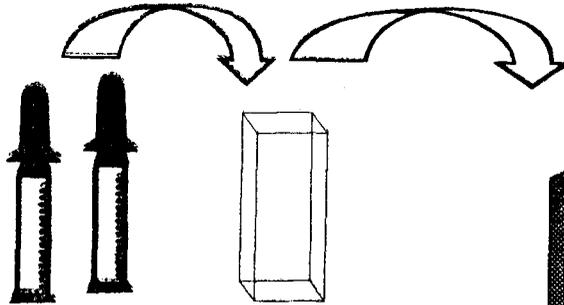


Dosímetros



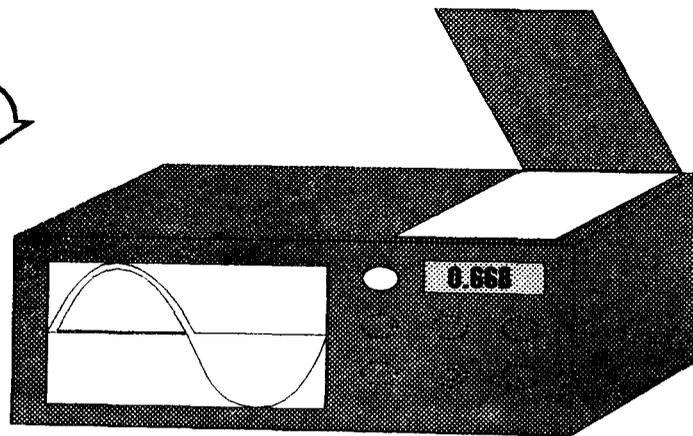
Posiciones de zona de mayor y menor dosis de radiación recibida

Medición de dosis absorbida



Dosímetros

Celda de vidrio



Espectrofotómetro

$\lambda = 305 \text{ n.m.}$

4.2.1 Distribución e Irradiación de los Dosímetros

Fricke

Se adherieron dosímetros Fricke en 4 puntos diferentes sobre la superficie de dos bolsas de Harina de Pescado unidas en posición vertical con 500 grs. cada una.

Luego se ingresaron las muestras con los dosímetros en la Cámara de Irradiación en forma vertical irradiándose a 5 tiempos diferentes (30", 70", 110", 150", 190" seg.), en cada tiempo y en las mismas posiciones se utilizó un juego distinto de dosímetros.

La distribución de los dosímetros Fricke en la muestra se realiza con el objeto de obtener las dosis máxima y mínima con las cuales se calculará la tasa de dosis. Los dosímetros Fricke son ampollas de vidrio que contienen cinco mililitros de solución sulfato ferroso en medio ácido, que al ser sometido a un campo de irradiación detectan la energía que recibe la muestra.

4.2.2 Medición de Dosis absorbida :

Se realizó mediante la lectura de los dosímetros. El cambio en la absorvancia de cada una de las soluciones irradiadas de los dosímetros se produce debido a la oxidación de los iones ferrosos a iones férricos por acción indirecta de la radiación y es medido en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 305 n.m. La dosis

absorbida en la solución es directamente proporcional al cambio en la absorbancia por un factor de conversión. (Cuadro N.III)

4.2.3 Cálculo de la Tasa de Dosis :

La tasa de dosis se determinó mediante regresión lineal considerando sólo las dosis máximas y mínimas.

Las siguientes secuencias se realizan del mismo modo en c/u de las 4 etapas que comprende el trabajo experimental, utilizandose en cada etapa un lote de Harina de Pescado.
(Cuadro Nº IV)

4.3. Contaminación Artificial de las muestras con S. typhimurium

Luego de determinar la tasa de dosis se contamina artificialmente las muestras de Harina de Pescado, para lo cual, fueron previamente esterilizadas en el autoclave a 121°C por 30 minutos. Por cada lote, se empleó en la esterilización por autoclave, siete muestras de las cuales fueron contaminadas 6 muestras y una sirvió de control a la que se designo control MB.
(Esquema Nº 6)

4.3.1 Preparación del Inóculo de S. typhimurium

La cepa de S. typhimurium fue proporcionada por el laboratorio de microbiología de S.G.S.

A partir de un cultivo puro de S. typhimurium de 24 horas cultivada en Agar Nutritivo, se preparo una suspensión en solución salina

EN EL CUADRO N° III

- LA COLUMNA 1:** Es la posición del dosímetro dentro del irradiador
- LA COLUMNA 2:** Indica el tiempo que ha sido irradiado el dosímetro con la muestra
- LA COLUMNA 3:** Es la absorvancia leída por el espectrofotómetro
- LA COLUMNA 4:** Es la temperatura en el instante de la lectura anterior
- LA COLUMNA 5:** Es la dosis corregida a la temperatura con el uso de la ecuación :

$$D_c = (F)(\text{Absorvancia}) / \{1 + 0.007(T-25)\}$$

donde F es un factor propio del dosímetro en uso el Fricke, $F=0.2744$.

- LA COLUMNA 6:** Es el promedio de los que corresponden a las posiciones.

CUADRO Nº III
DOSIMETRIA EN HARINA DE PESCADO

DOSIMETRO:FRICKE

FECHA: 26/1/93

DECAIMIENTO DE ACTIVIDAD: 5.573 KGy/hr

1	2	3	4	5	6
POSICION DEL DOSIMETRO	TIEMPO (seg)	ABSORVANCIA $\lambda=305\text{nm}$	TEMPERATURA (C)	DOSIS CORREGIDA (KGy)	DOSIS CORREGIDA PROMEDIADO (KGy)
3A	30"	0.213	27.6	0.058	0.059
5A	30"	0.215	27.6	0.059	0.059
6A	30"	0.137	27.6	0.037	0.039
7A	30"	0.156	27.6	0.042	0.039
3B	70"	0.442	27.6	0.120	0.124
5B	70"	0.466	27.6	0.127	0.124
6B	70"	0.301	27.6	0.082	0.086
7B	70"	0.325	27.6	0.089	0.086
3C	110"	0.704	27.6	0.192	0.193
5C	110"	0.708	27.6	0.193	0.193
6C	110"	0.464	27.6	0.121	0.124
7C	110"	0.466	27.6	0.127	0.124
3D	150"	0.921	27.6	0.251	0.255
5D	150"	0.923	27.6	0.259	0.255
6D	150"	0.632	27.6	0.172	0.171
7D	150"	0.624	27.6	0.170	0.171
3E	190"	1.140	27.6	0.311	0.317
5E	190"	1.185	27.6	0.323	0.317
6E	190"	0.771	27.6	0.210	0.214
7E	190"	0.801	27.6	0.218	0.214

*FUENTE : INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR
LABORATORIO DE DOSIMETRIA
LIMA, 1993

CUADRO Nº IV

CALCULO DE LA TASA DE DOSIS

Del análisis regresional de los datos del cuadro II

X=tiempo (seg)

Y=dosis corregida promedio (KGy)

Se tendrá una aproximación a una recta :

$$D = A + BX$$

$$D = A + Bt \dots\dots(1)$$

Donde:

D : dosis recibida por el producto

A : constante

B : coeficiente de regresión (tasa de dosis)

t : tiempo(seg)

LA TASA DE DOSIS :

Se determina por regresión lineal para lo cual se considera sólo dosis máximas o dosis mínimas

Del cuadro II :

La dosis calculadas en posiciones 6 y 7 indican ser dosis mínimas y las dosis calculadas en posiciones 3 y 5 indican ser las dosis máximas. Estas son :

tiempo(seg) (X)	dosis mínima(KGy) (Y1)	dosis máxima(KGy) (Y2)
30"	0.059	0.039
70"	0.124	0.086
110"	0.193	0.124
150"	0.255	0.171
190"	0.317	0.214

Para dosis máxima y dosis mínima :

Segun ecuación (1):

$$D_{\max} = A + BX \dots\dots(2)$$

$$D_{\min} = A + BX \dots\dots(3)$$

La regresión lineal de tiempo y dosis promedio de la dosis mínima da como resultado los siguientes valores :

$$A \cong 0.007175$$

*siendo la tasa de dosis mínima :

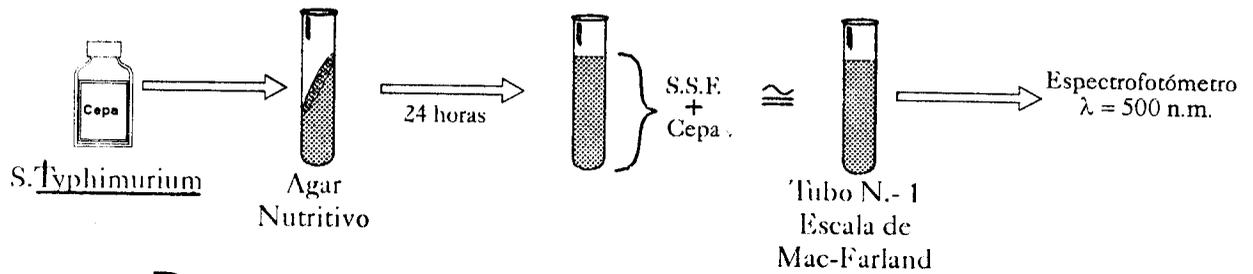
$$r \cong 0.999$$

r=coeficiente de correlación.

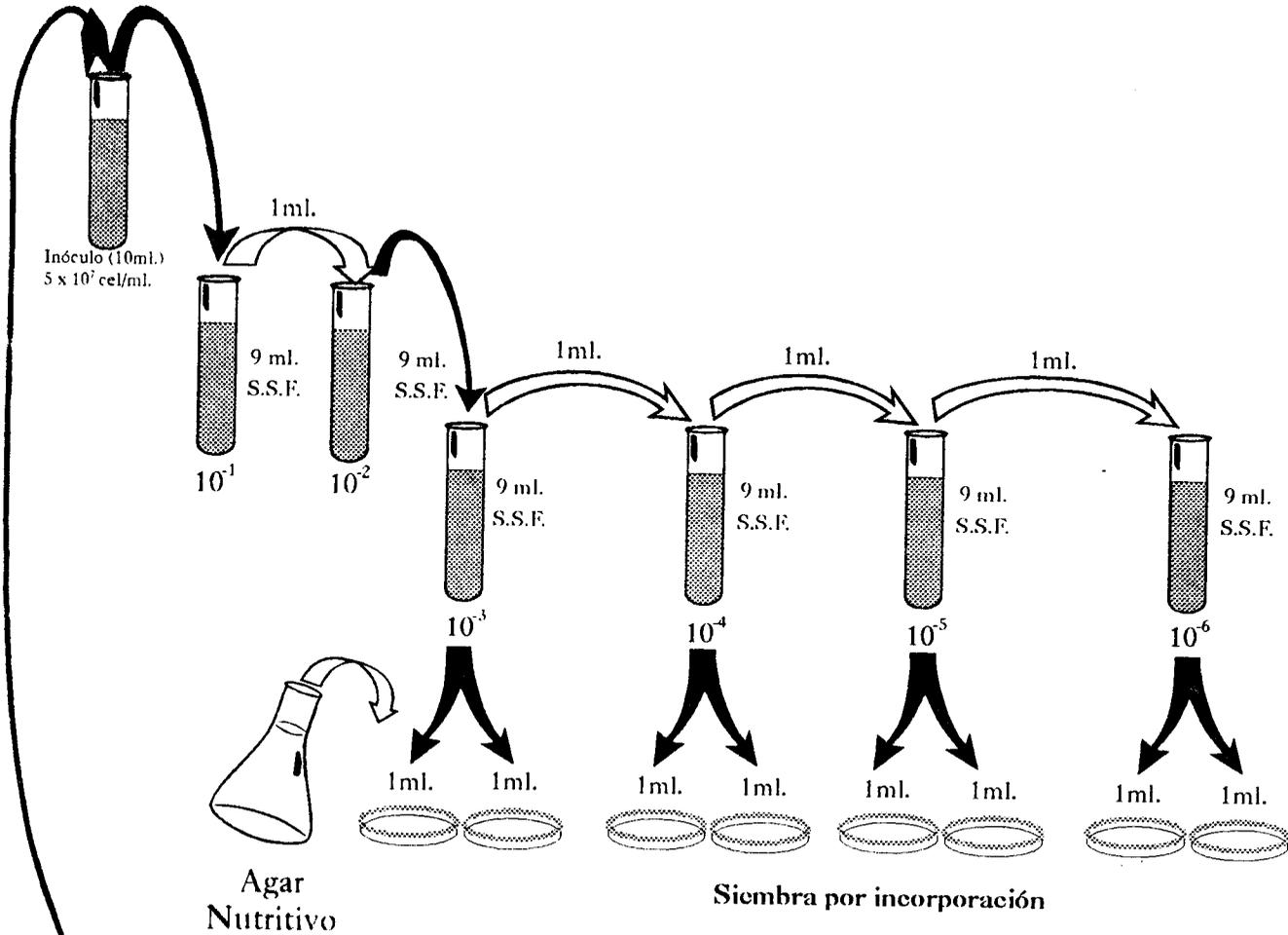
$B = (1.0875E-3 \text{ KGy/seg})(3600\text{se})$ $B = 3.92 \text{ KGy/hr}$

Contaminación Artificial de la Harina de Pescado con *S. Typhimurium*

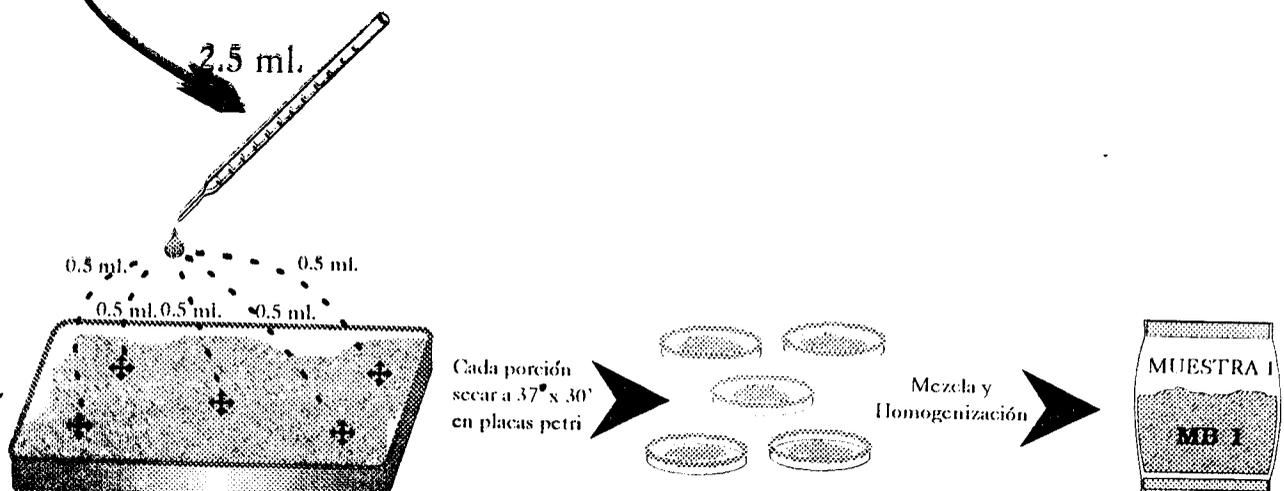
Preparación del inóculo de *S. Typhimurium*



Recuento en placa del inóculo preparado



Contaminación artificial de las muestras



fisiológica 0.1%, la cual se lleva a la escala de Mac-Farland-Tubo Nº 1 que tiene una concentración equivalente a 3×10^8 cél/ml; Esta suspensión se diluyo hasta obtener una concentración equivalente a 5×10^5 cél/ml. Las concentraciones se determinaron midiendo la absorvancia de las soluciones en el espectrofotómetro a una $\lambda = 500 \text{ n.m.}$

4.3.2 Inoculación de las muestras :

El siguiente procedimiento fue utilizado para cada una de las 6 muestras designadas para la contaminación con Salmonella typhimurium.

Cada muestra de Harina de Pescado esterilizada de 525 gramos de peso fue colocada en una bandeja metálica (28 x 28 x 2cm) procediéndose a extenderla uniformemente en toda la superficie de la bandeja.

Mediante una pipeta se tomó 2.5 ml de la suspensión de salmonella (5×10^6 cél/ml), luego se colocó en la superficie de la harina cuidando que la distancia entre la superficie y la punta de la pipeta sea no más de 3 cm. aproximadamente a fin de evitar demasiada extensión del inóculo.

Se contaminó las muestras colocando el inóculo en cinco puntos, uno en cada extremo y otro al centro. Luego con sumo cuidado y mediante una espátula se cogió cada una de las muestras que entró en contacto con la gota del inóculo (porción

pequeña de 1 gramo de peso aproximadamente), para depositarlo en una placa petri, la cual fue dejada en la incubadora a 40°C por dos horas aproximadamente con el objeto de secarla.

Transcurrido el período de tiempo, cada porción de muestra seca fue reintegrada y colocada nuevamente en el lugar de donde se extrajo. Posteriormente se homogenizo y colocó las muestras contaminadas en bolsas de polietileno y se sellaron.

4.4. Análisis Microbiológicos

Los métodos utilizados para los siguientes análisis se basan en los procedimientos descritos por la Food and Drug Administration y American Public Health. (2,19)

4.4.1 De la muestra control (Control MB)

A fin de comprobar la esterilidad de las muestras de Harina de Pescado autoclavadas, previa a la contaminación artificial, se realizaron los siguientes análisis microbiológicos a su respectiva muestra control MB :

A) Numeración de Mesófilos Aerobios :

A.1 Por el método de Recuento en Placa :

El método se basa en el hecho, de que cada célula bacteriana puede crecer en un medio de cultivo sólido formando colonias, dicho medio esta exento de sustancias inhibidoras e indicatoras especialmente

para la determinación del número total de gérmenes.

a) Se preparó diluciones 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} a partir de una primera de 10^{-1} preparada a su vez, suspendiendo 25 gr de muestra en un matraz Erlenmeyer con 225 ml. de agua peptonada 0.1%. Transfiriendo por duplicado a placas petri estériles alicuotas de 1 ml a partir de cada dilución.

b) Incorporándose rápidamente en las placas el Agar Plate Count licuado, con un lento movimiento rotativo.

c) Luego se incubaron las placas cultivadas a 31°C por 48 horas + ó - 3h.

d) Posteriormente se realizaron las lecturas en placas, en las que desarrollaron entre 30 a 300 colonias. Reportando los resultados, multiplicando el promedio de los dos recuentos por el factor de dilución.

A.II Por el método del Número más Probable

Se basa este método en la presunción de que las bacterias se hayan normalmente distribuidas en un medio líquido, esto es, que las muestras repetidas del mismo tamaño de un mismo producto, debe esperarse contengan el mismo número de gérmenes como

promedio, naturalmente algunas de las muestras pueden contener algunos gérmenes más o menos. La cifra media es el número más probable.

a) La muestra de Harina de Pescado se homogenizó mediante movimientos de vaivén en la bolsa que la contiene y luego se preparó una dilución de 10^{-1} suspendiendo 25 grs. de la harina en un matraz Erlenmeyer con 225 ml de caldo trypticase soya. Se pipeteó 10 ml de esta dilución a cada tubo con caldo Trypticase soya doble concentración, 1 ml y 0.1 ml a los siguientes tubos con caldo Trypticase soya simple concentración, llevando a incubar a 35-37°C por 48 horas.

b) Anotando a las 48 horas los tubos que presentan enturbiamiento. De cada uno de estos tubos se sembro sobre placas Agar Nutritivo llevando a incubar a 35-37°C por 24 a 48 horas.

c) Se examinaron las placas y observaron la presencia de colonias.

B) Detección de Salmonella

Este método de aislamiento e identificación de Salmonella se divide en varias fases :

- Cultivo en medios de enriquecimiento no

selectivo o revivificación.

- Cultivo en medios de enriquecimiento selectivo.

- Utilización de medios a base de agar selectivo.

- Pruebas bioquímicas

- Identificación serológica con el empleo de antisueros.

La primera fase de este método se basa en permitir el restablecimiento de las salmonellas y otras bacterias que se encuentran en un estado injuriado. La segunda fase tiene como fin estimular la multiplicación de las salmonellas y reducir o inhibir el crecimiento de organismos competidores, en estos análisis no se sigue esta segunda fase por ausencia de flora competitiva en las muestras.

a) Se peso 25 grs. de muestra de Harina de Pescado en un matraz tarado con 225 ml. de caldo trypticase soya. Incubando a 37°C por 24 hrs.

b) A partir del cultivo incubado se realizó siembras estrias sobre agar S.S. y agar Hecktoen y Agar XLD. Incubando a 35-37°C por 24 horas.

c) Se examinaron las placas: las colonias sospechosas de Salmonella, en agar SS se presentan incoloras transparentes y con

centro negro.

- d) Se reportaron los resultados de presencia o ausencia en 25 grs.

4.4.2 Del Inóculo Preparado

Se realizó un recuento en placa del inóculo preparado a fin de determinar el valor real de Salmonella presente por mililitro en el inóculo, con el cual posteriormente se contaminó la Harina de Pescado.

A) Numeración de Salmonella

A.I) Por el método de Recuento en Placa

El procedimiento seguido es el mismo que se describe en la sección 4.4.1 A.I.

4.4.3 De las muestras contaminadas con S. typhimurium

(Muestras MB)

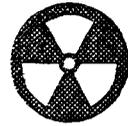
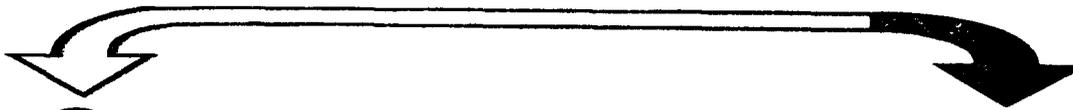
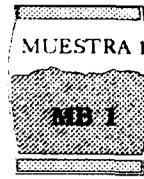
Con el objeto de determinar la cantidad real de Salmonella typhimurium en las muestras que Harina de Pescado contaminadas artificialmente, a las que se denominó muestras MB, se realizó la siguiente determinación microbiológica, (Esquema NQ7)

A) Numeración de Salmonella

A.I) Por el método de Recuento en Placa

El procedimiento seguido es el que se describe en 4.4.2 A.I.

ANALISIS MICROBIOLÓGICO PARA LA MUESTRA MB1

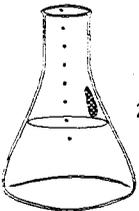


Irradiación

Detección de Salmonella

Harina de Pescado

25 grs.



225 ml. C.T.S.

10^{-1}

9 ml. C. Selenito

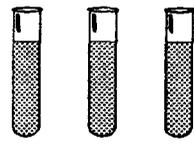
9 ml. C. Tetracionato.



N.M.P.

10 ml.

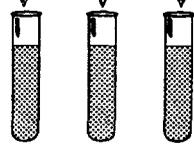
(2X)



9 ml. C.L.

1 ml.

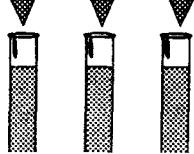
(X)



9 ml. C.L.

0.1 ml.

(X)

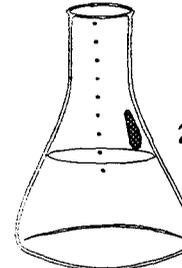


9 ml. C.L.

Recuento de Salmonella en la muestra.

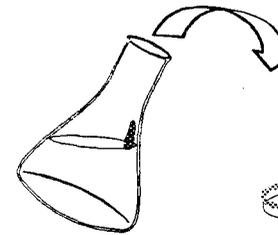
Harina de Pescado

25 grs.



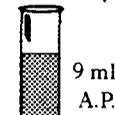
225 ml. A.P.

10^{-1}



Agar Nutritivo

1 ml.



9 ml. A.P.

10^{-2}

1 ml. 1 ml.



1 ml.



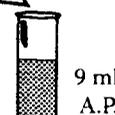
9 ml. A.P.

10^{-3}

1 ml. 1 ml.



1 ml.



9 ml. A.P.

10^{-4}

1 ml. 1 ml.



Recuento en placa en Agar Nutritivo

4.5 Irradiación de las Muestras Contaminadas Artificialmente

Luego de detemrnar la carga de Salmonella presentes por gramo en las muestras contaminadas, se irradiaron aplicándose diferentes dosis de irradiación en cada una de las cuatro etapas, a fin de determinar la dosis de irradiación que permita eliminar la carga bacteriana inoculada.

En la primera etapa fueron irradiadas seis muestras MB del primer lote con dosis de 4, 7 y 10 GKy utilizándose un amplio espectro de dosis con el objeto de ubicar con mayor facilidad el rango de dosis que permita obtener resultados más eficaces.

Según los resultados obtenidos en la primera etapa se aplicó a la segunda etapa dosis de 3, 5 y 6 Kgy. En la tercera etapa, teniendo en cuenta los resultados en función a las dosis aplicadas en las etapas anteriores, se aplicaron dosis de 4.5, 5 y 5.5 Kgy utilizándose muestras del tercer lote. Obteniéndose, la dosis de irradiación óptima, en la cuarta etapa se realizó la confirmación con las muestras del cuarto lote.

4.6 Análisis Microbiológico de las Muestras irradiadas

Irradiando las muestras contaminadas, luego de cada etapa, se realizó los respectivos análisis microbiológicos a fin de determinar el efecto de las dosis aplicadas sobre la carga de Salmonella

inoculada.

Los siguientes análisis se basan en los métodos de análisis microbiológicos recomendados para Alimentos Irradiados por la International Association of Microbiological y aceptado por el panel de expertos FAO/IAEA. (31) (Esquema Nº 8).

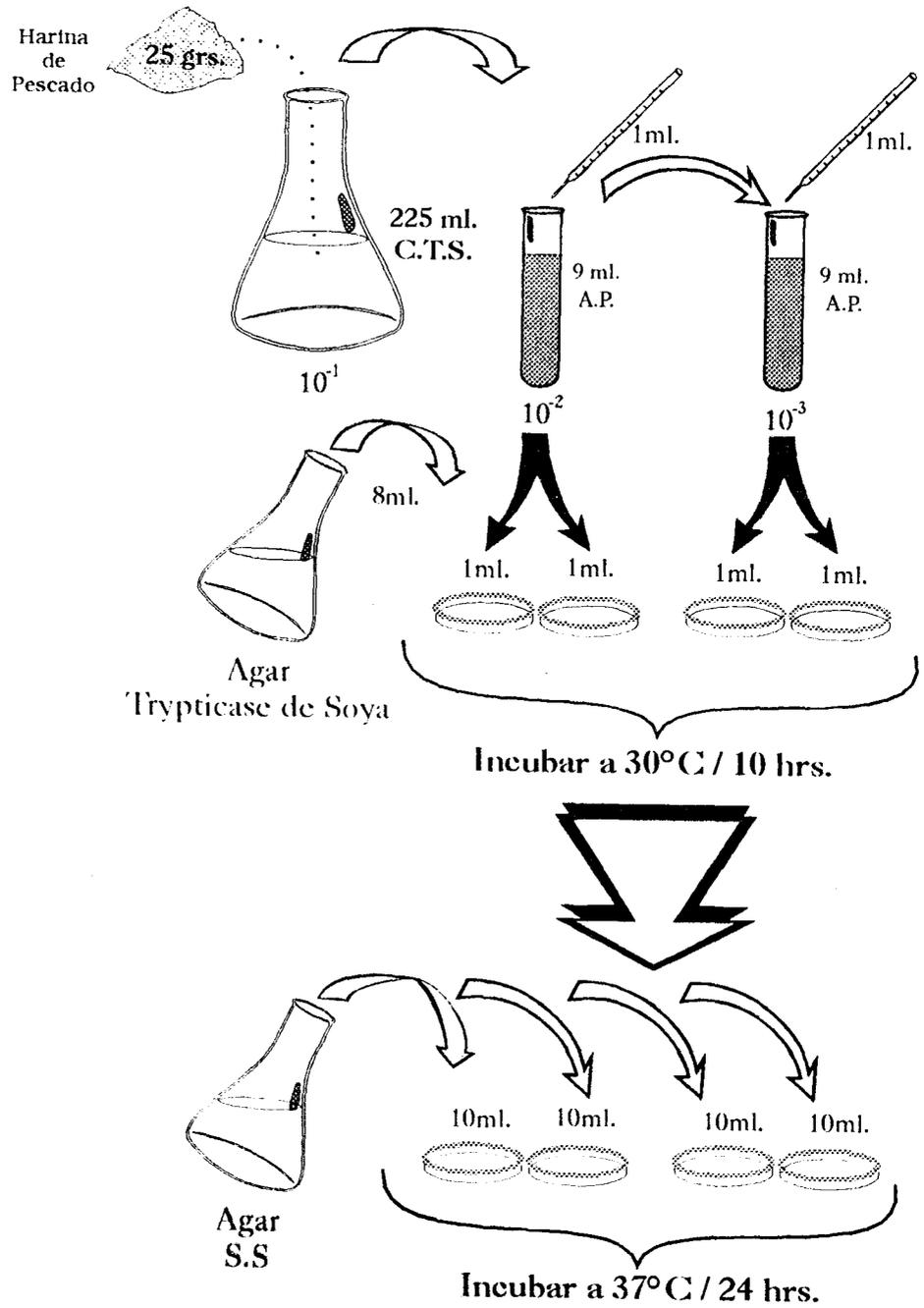
4.6.1 Numeración de Salmonella

A) Por el Método del Número más Probable

El fundamento de este método es el escrito en 4.4.1 A.II.

- a) La muestra de Harina de Pescado se homogenizó mediante movimientos de vaivén en la bolsa que la contiene y luego se prepara una dilución de 10^1 suspendiendo 25 grs. de la harina en un matraz Erlenmeyer con 225 ml de caldo trypticase soya. Se pipeteó 10 ml. de esta dilución a cada tubo con caldo trypticase soya doble concentración, 1 ml. y 0.1 ml. a los siguientes tubos con caldo trypticase soya simple concentración, llevando a incubar a 35-37°C por 48 horas.
- b) Anotando a las 48 horas los tubos que presentan enturbiamiento. De cada uno de estos tubos se sembró sobre placas XLD, SS, Hecktoen llevando a incubar a 35-37°C por 24 a 48 horas.

Numeración de Salmonella en las muestras irradiadas (Por el método de reparación sólida)



c) Luego se examinaron las placas y observaron la presencia de colonias de Salmonella y se seleccionaron para su identificación serológica.

B) Por el Método de Reparación Sólida

Este método de recuento directo en placa se basa en lograr la reparación de los microorganismos injuriados mediante de enriquecimiento sólido y una vez facilitada la revivificación se utiliza un medio de cultivo selectivo cuyos componentes favorecen el aislamiento y numeración.

a) La muestra fue mezclada u homogenizada en diluciones adecuadas y sembrada en profundidad con 8 ml. de Agar Trypticase Soya.

b) Las placas fueron entonces incubadas para facilitar la reparación por 10 horas a 31°C.

c) Luego las placas son cubiertas por 10 ml. de agar selectivo (Agar Salmonella-Shigella. Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato) y después de alrededor 10' a 15' fueron incubados por 24 horas a 35-37°C.

d) Luego del período de incubación se realizó el recuento de las colonias, seleccionando a los que presentan un

número comprendido de 30-300 colonias, realizando el cálculo tomando la media aritmética de los recuentos y multiplicando por el factor de dilución.

4.6.2 Detección de Salmonella

El procedimiento seguido es el descrito en 4.4.1 B.

4.7 Análisis Físico-Químicos

Como anteriormente se indicó, en cada una de las etapas se expusieron a diferentes dosis de irradiación las muestras de Harina de Pescado contaminadas de cada lote.

Conjuntamente, de las 4 muestras designadas para análisis Físico-Químicos por cada lote, se irradiaron 3 muestras las cuales recibieron iguales dosis de irradiación que las muestras contaminadas y la muestra no irradiada se designó como control FQ. A fin de demostrar que la Harina de Pescado no presenta variaciones en su composición química, teniendo como referencia los parámetros considerados por la Norma Técnica Nacional se realizaron los siguientes análisis:

porcentaje de Proteínas, porcentaje de cenizas, porcentaje de humedad, porcentaje de cenizas insolubles en HCL, porcentaje de grasas. Los cuales se basan en los procedimientos descritos por la Association of Oficial Analytical Chemists.(3)

4.7.1 Determinación de Proteínas

A) *Por el Método KJELDAHL*

Este método se basa en la conversión del Nitrógeno orgánico en Nitrógeno inorgánico (digestión). El sulfato de amonio formado se diluye y se alcaliniza en hidróxido de sodio, el amonio liberado es destilado recibiendo en un volumen conocido de una solución valorada de ácido sulfúrico y determinándose la cantidad de amonio titulando el ácido remanente con una solución básica valorada.

4.7.2 Determinación de Grasas

A) *Por el Método de SOXHLET*

La grasa integrante de la muestra de Harina de Pescado se extrae con un solvente como el eter etílico y el extracto obtenido, se pesa después de haberse evaporado el solvente.

4.7.3 Determinación de Cenizas totales (Sales Minerales)

Se fundamenta en el peso del residuo obtenido de una muestra sometida a una temperatura de calcinación.

4.7.4 Determinación de Arena (Cenizas insolubles en HCL)

Se basa en determinar la porción de sales minerales que es insoluble en ácido clorhídrico caliente.

4.7.5 Determinación de Humedad

Se fundamenta en la pérdida de peso que experimenta una muestra al ser sometida a una temperatura de secado.

V RESULTADOS

5.1. ANALISIS MICROBIOLÓGICOS

Muestra "Control MB" :

En la Tabla Nº 2, se aprecian los resultados de los controles MB de las muestras de harina de pescado esterilizadas por cada lote, en ella se observa que no se detecto la presencia de microorganismos sobrevivientes a la esterilización.

Inóculo de Salmonella typhimurium :

Los resultados de los recuentos de Salmonella typhimurium presentes/ml en los inóculos preparados para contaminar las muestras esterilizadas de harina de pescado se presentan en la Tabla Nº 3, observandose que el recuento obtenido en placa de los inóculos preparados para :

- El 1er Lote fue de 4.8×10^5 S. typhimurium/ml de inóculo.
- El 2do Lote fue de 4.8×10^5 S. typhimurium/ml de inóculo.
- El 3er Lote fue de 4.8×10^5 S. typhimurium/ml de inóculo.
- El 4to Lote fue de 4.9×10^5 S. typhimurium/ml de inóculo.

Siendo el valor calculado por el método de MacFarland en los inóculos preparados para cada lote de 5×10^5 cél/ml.

Muestras Contaminadas :

El Número de *S. typhimurium* agregados a las muestras de Harina de Pescado en 2.5 ml de Inóculo por cada lote y el número calculado de *S. typhimurium*/gr de muestra se presenta en la Tabla Nº 4 .

Los recuentos de *Salmonella* en las muestras contaminadas se presentan en la Tabla Nº 5, en ella se aprecia que los mayores y menores recuentos obtenidos de *Salmonella*/gr en estas muestras son :

- En el 1er Lote de 22×10^3 y 19.9×10^3 respectivamente.

- En el 2do Lote de 21×10^3 y 19.3×10^3 respectivamente.

- En el 3er Lote de 22.3×10^3 y 19.6×10^3 respectivamente.

- En el 4to Lote de 22.7×10^3 y 20.7×10^3 respectivamente.

En la tabla Nº 5 y el gráfico Nº 1 se observa que el promedio de *Salmonella*/gr en las 6 muestras contaminadas por cada lote fueron :

De 2.11×10^4 *Salmonella*/gr en el 1er lote, 2.01×10^4 *Salmonella*/gr para el 2do lote, 2.13×10^4 en el 3er lote y 2.16×10^4 *Salmonella*/gr para el 4to lote.

Muestras Irradiadas

Primera Etapa :

Los resultados de los análisis microbiológicos de las muestras tratadas con diferentes dosis de irradiación se presenta en la Tabla Nº 6 en ella se puede apreciar que a dosis de 4KGy aún se recupera

Salmonellas mediante el método del Número Más Probable en tanto que por la técnica del recuento en placa no hubo crecimiento de unidades formadoras de colonias.

Con dosis de 7 y 10 KGy se observo una inactivación notoria de Salmonella pues no fue recuperada por ninguno de los 3 métodos ensayados.

Segunda Etapa :

En la Tabla Nº 7 se resume los resultados de análisis microbiológicos de las muestras contaminadas del segundo lote que recibieron dosis de 3, 5 y 6 KGy.

Observandose que el efecto letal es menos pronunciado a 3 KGy, recuperandose así mediante la técnica del Número Más Probable un mayor número de Salmonella, mientras que aplicando el método de recuento en placa para la de Salmonella se obtuvo 2.5×10 U.F.C./gr y 2×10 U.F.C./gr. A dosis de 5 y 6 KGy se obtuvo la eliminación de Salmonella de tal modo que no se detectó la bacteria por ninguno de los métodos utilizados. En el gráfico Nº 8 se muestran las dosis no efectivas para inactivación de Salmonella por lotes.

Tercera Etapa :

La elección de la dosis necesaria para conseguir una eliminación satisfactoria de Salmonella en el producto se realizo en esta etapa. En la selección de dosis ha aplicarse a las muestras del tercer lote no se consideró las dosis aplicadas anteriormente de 3 y 4 KGy por no ser suficientes para la inactivación, en tanto que la dosis de 7 y 10 KGy se consideraron altas por lo que se les aplico dosis de 4.5, 5 y 5.5 KGy.

Examinando la tabla N^o 8 en cuanto al efecto letal de las dosis de irradiación sobre las Salmonella, se puede afirmar que las dosis aplicadas son efectivas para la inactivación de la Salmonella en un factor de 10⁴ cél/gr, teniendo en cuenta que la dosis de 4.5 KGy esta muy próxima a la dosis de 4KGy y se consideró la dosis siguiente 5 KGy como dosis óptima.

Cuarta Etapa :

La confirmación de la dosis óptima obtenida se lleva a cabo en esta etapa por lo que las muestras del cuarto lote fueron tratados con dosis de 5 KGy. Los resultados microbiológicos mostrados en la tabla N^o 9 confirmaron los resultados obtenidos en la etapa anterior, de manera que la dosis de 5KGy es óptima para la inactivación de la Salmonella typhimurium en harina de pescado.

En los Gráficos N^o 2, 8, 15 y 18 se observo que ha medida que aumento la dosis de irradiación el efecto letal en las Salmonella es mayor.

5.2. ANALISIS FISICO - QUIMICOS

Los resultados obtenidos en los análisis físico-químicos de la harina de pescado irradiada y su respectivo control sin irradiar, correspondientes a cada una de las cuatro etapas se dan en las tablas N^o 10, 11, 12 y 13, observandose que en el intervalo de dosis comprendido entre 3 y 10 KGy no se producen alteraciones apreciables del contenido total de Humedad, cenizas, cenizas Insolubles, grasas, proteínas, inclusive el

contenido de la variación del % de Proteínas totales en la harina de pescado a diferentes dosis de radiación se señalan en los gráficos Nº 3, 19, 13 y 15; De igual modo los gráficos Nº 5 y 11 presentan el efecto de las dosis sobre el % de grasas, observandose que no hay ningún cambios significativos dentro del intervalo de dosis aplicado.

Asi mismo se puede indicar sobre los efectos de las dosis aplicadas en el % de humedad (Gráfico Nº 4 y 10); en el % de Cenizas (Gráficos Nº 6 y 12).

En todos los graficos se observa que el efecto de las dosis de radiación sobre los valores de los parametros químicos analizados no producen cambios aparentes.

TABLA Nro 2

**ANALISIS MICROBIOLÓGICOS EN "MUESTRAS CONTROL" DE HARINA
DE PESCADO ESTERILIZADA POR CADA LOTE**

DETERMINACIONES	Controles MB x Lotes			
	1er Lote	2do Lote	3er Lote	4to Lote
RECuento TOTAL DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS (U.F.C/gr)	<10	<10	<10	<10
RECuento TOTAL DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS (N.M.P/gr.)	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
DETECCION DE <u>SALMONELLA</u> (en 25 gr)	-	-	-	-

Ausente : -

TABLA N° 3

Análisis Microbiológico del Inóculo de *S. typhimurium* para cada lote

DETERMINACION	INOCULO PREPARADO (cél/ml) PARA:			
	1er LOTE	2do LOTE	3er LOTE	4to LOTE
Numeración de <i>Salmonella</i> (U.F.C/gr)	4.8×10^5	4.8×10^5	4.8×10^5	4.9×10^5
Valor Calculado del Inóculo - Método Mac Farland (cel/ml)	5×10^5	5×10^5	5×10^5	5×10^5

TABLA N° 4
 Número de Salmonelas Inóculadas en Harina de Pescado por Lote
 (Contaminación Artificial)

Lotes	Inóculo Utilizado (Cel/ml)	Cantidad de Salmonelas inóculadas con 2.5 ml.	Valor Teórico Calculado de Salmonelas/gr en la muestra
1er Lote	4.8×10^5	1.2×10^6	2.28×10^4
2do Lote	4.8×10^5	1.2×10^6	2.28×10^4
3er Lote	4.8×10^5	1.2×10^6	2.28×10^4
4to Lote	4.9×10^5	1.22×10^6	2.33×10^4

TABLA N° 5

Análisis Microbiológico en Harina de Pescado
Contaminada Artificialmente
(Muestras MB)

Determinación Muestras MB	Recuento de <u>Salmonella</u> (U.F.C/gr)			
	1er LOTE	2do LOTE	3er LOTE	4to LOTE
MB ₁	21.0 x 10 ³	20.6 x 10 ³	21.3 x 10 ³	21.8 x 10 ³
MB ₂	22.0 x 10 ³	20.2 x 10 ³	22.3 x 10 ³	22.7 x 10 ³
MB ₃	21.3 x 10 ³	19.7 x 10 ³	21.9 x 10 ³	21.4 x 10 ³
MB ₄	21.8 x 10 ³	20.0 x 10 ³	22.0 x 10 ³	22.2 x 10 ³
MB ₅	20.8 x 10 ³	21.0 x 10 ³	19.6 x 10 ³	20.7 x 10 ³
MB ₆	19.9 x 10 ³	19.3 x 10 ³	20.8 x 10 ³	21.0 x 10 ³
Promedio de <u>Salmonella</u> /gr	2.11 x 10 ⁴	2.01 x 10 ⁴	2.13 x 10 ⁴	2.18 x 10 ⁴

TABLA Nro 6

ANALISIS MICROBIOLÓGICO EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
(1ra ETAPA)

DETERMINACIONES	1er LOTE					
	4KGy		6KGy		10KGy	
	MB1	MB2	MB3	MB4	MB5	MB6
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (N.M.P./gr)	1.5	1.5	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (U.F.C/gr)	<10	<10	<10	<10	<10	<10
DETECCION DE <u>SALMONELLA</u> (en 25 gr)	-	-	-	-	-	-

Ausente : -

TABLA Nro 7

ANALISIS MICROBIOLÓGICOS EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
(2da ETAPA)

DETERMINACIONES	2do LOTE					
	3KGy		5KGy		6KGy	
	MB1	MB2	MB3	MB4	MB5	MB6
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (N.M.P./gr)	110	110	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (U.F.C/gr)	2.5 x 10	2.0 x 10	210	<10	<10	<10
DETECCION DE <u>SALMONELLA</u> (en 25 gr)	+	+	-	-	-	-

Ausente : -

Presente : +

TABLA Nro 8

**ANALISIS MICROBIOLÓGICOS EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
(3ra ETAPA)**

DETERMINACIONES	3er LOTE					
	4.5KGy		5KGy		5.5KGy	
	MB1	MB2	MB3	MB4	MB5	MB6
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (N.M.P./gr)	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (U.F.C/gr)	<10	<10	<10	<10	<10	<10
DETECCION DE <u>SALMONELLA</u> (en 25 gr)	-	-	-	-	-	-

Ausente : -

TABLA Nro 9

ANALISIS MICROBIOLÓGICO EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
(4ta ETAPA - CONFIRMATIVA)

DETERMINACIONES	4to LOTE					
	5KGy		5KGy		5KGy	
	MB1	MB2	MB3	MB4	MB5	MB6
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (N.M.P./gr)	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
NUMERACION DE <u>SALMONELLA</u> (U.F.C./gr)	<10	<10	<10	<10	<10	<10
DETECCION DE <u>SALMONELLA</u> (en 25 gr)	-	-	-	-	-	-

Ausente : -

TABLA Nro 10

**ANALISIS FISICO - QUIMICO EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
1era ETAPA**

DETERMINACIONES	1er LOTE - DOSIS				Norma Técnica Nacional 204.036
	Control FQ 0 (KGy)	4 KGy	7KGy	10KGy	
EDAD	8.67	8.70	8.59	8.60	Max 10%
A	8.69	8.63	8.76	8.87	Max 12%
EINA (N x 6.25)	65.90	65.92	65.80	64.78	Max 64%
ZAS TOTALES (m/m) b.s	13.97	14.21	13.84	14.00	Max 15%
ZAS INSOLUBLES EN HCL (10%)	1.86	1.85	1.88	1.86	Max 2%

TABLA Nro 11

ANALISIS FISICO - QUIMICO EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
2da ETAPA

DETERMINACIONES	2do LOTE - DOSIS				Norma Técnica Nacional 204.036
	Control FQ 0 (KGy)	3 KGy	5KGy	6KGy	
6 HUMEDAD	8.81	8.79	8.83	8.85	Max 10%
6 GRASA	8.72	8.71	8.76	8.80	Max 12%
6 PROTEINA (N x 6.25)	65.72	65.75	65.73	65.77	Max 64%
6 CENIZAS TOTALES (m/m) b.s	14.00	13.97	13.95	13.99	Max 15%
6 CENIZAS INSOLUBLES EN HCL (10%)	1.80	1.79	1.80	1.77	Max 2%

TABLA Nro 12

ANALISIS FISICO - QUIMICO EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
3era ETAPA

DETERMINACIONES	3er LOTE - DOSIS				Norma Técnica Nacional 204.036
	Control FQ 0 (KGy)	4.5 KGy	5KGy	5.5KGy	
% HUMEDAD	8.94	8.96	8.92	8.90	Max 10%
% GRASA	8.07	8.09	8.11	8.13	Max 12%
% PROTEINA (N x 6.25)	65.80	65.86	65.88	65.91	Max 64%
% CENIZAS TOTALES (m/m) b.s	13.14	13.19	13.17	13.12	Max 15%
% CENIZAS INSOLUBLES EN HCL (10%)	1.76	1.79	1.77	1.75	Max 2%

TABLA Nro 13

**ANALISIS FISICO - QUIMICO EN HARINA DE PESCADO IRRADIADA
4ta ETAPA**

DETERMINACIONES	4ta LOTE - DOSIS				Norma Técnica
	Control FQ 0 (KGy)	5 KGy	5KGy	5KGy	Nacional 204.036
% HUMEDAD	8.86	8.84	8.88	8.85	Max 10%
% GRASA	8.95	8.99	8.93	8.97	Max 12%
% PROTEINA (N x 6.25)	65.93	65.91	65.90	65.94	Max 64%
% CENIZAS TOTALES (m/m) b.s	13.30	13.27	13.32	13.29	Max 15%
% CENIZAS INSOLUBLES EN HCL (10%)	1.77	1.73	1.75	1.74	Max 2%

GRAFICO Nº 1

NUMERO PROMEDIO DE SALMONELLA/gr. EN
HARINA DE PESCADO POR LOTE

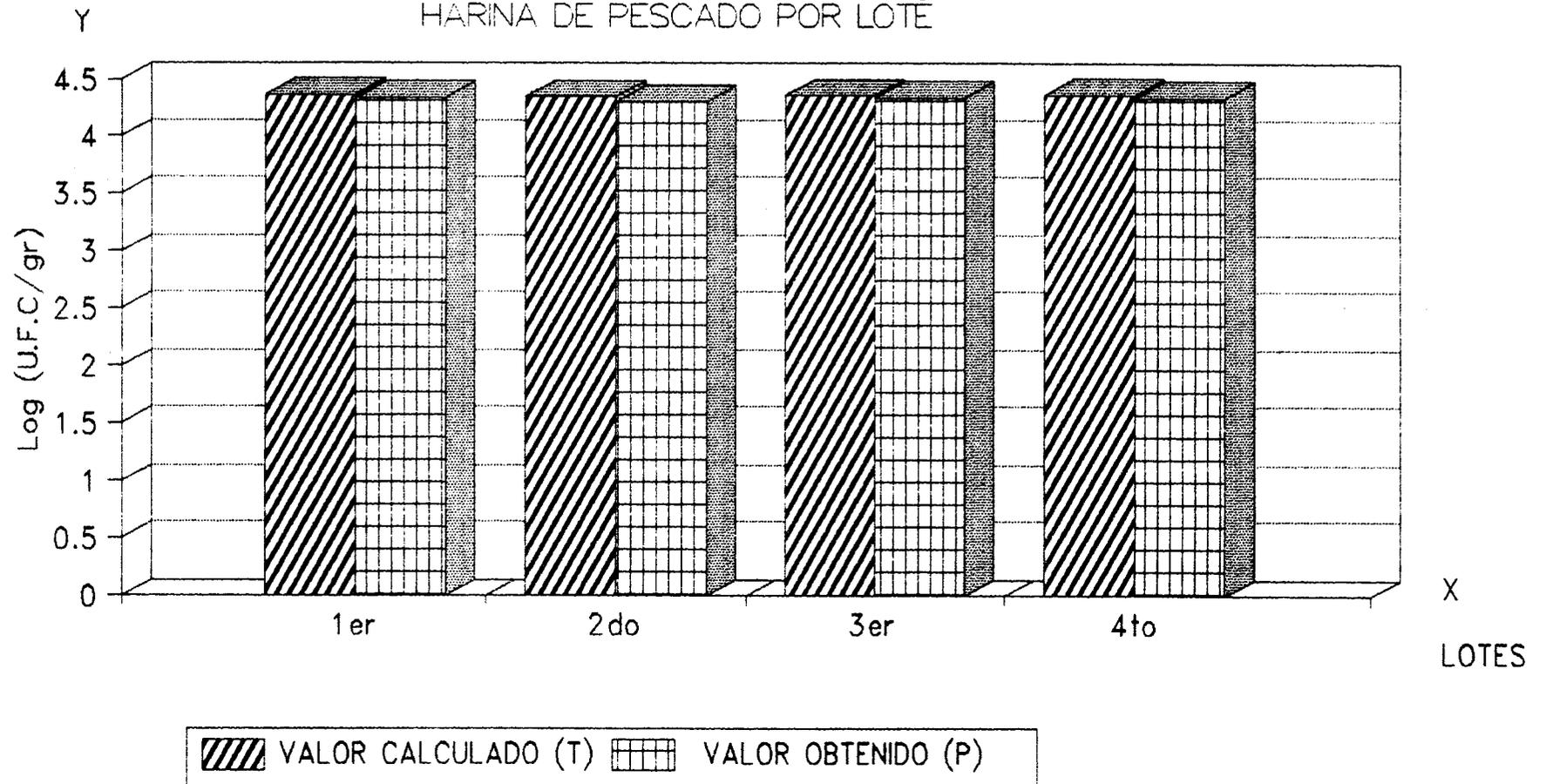


GRAFICO Nº 2
NUMERO DE SALMONELLA TYPHIMURIUM DETECTADA EN MUESTRAS
DE HARINA DE PESCADO Vs DOSIS (1er LOTE)

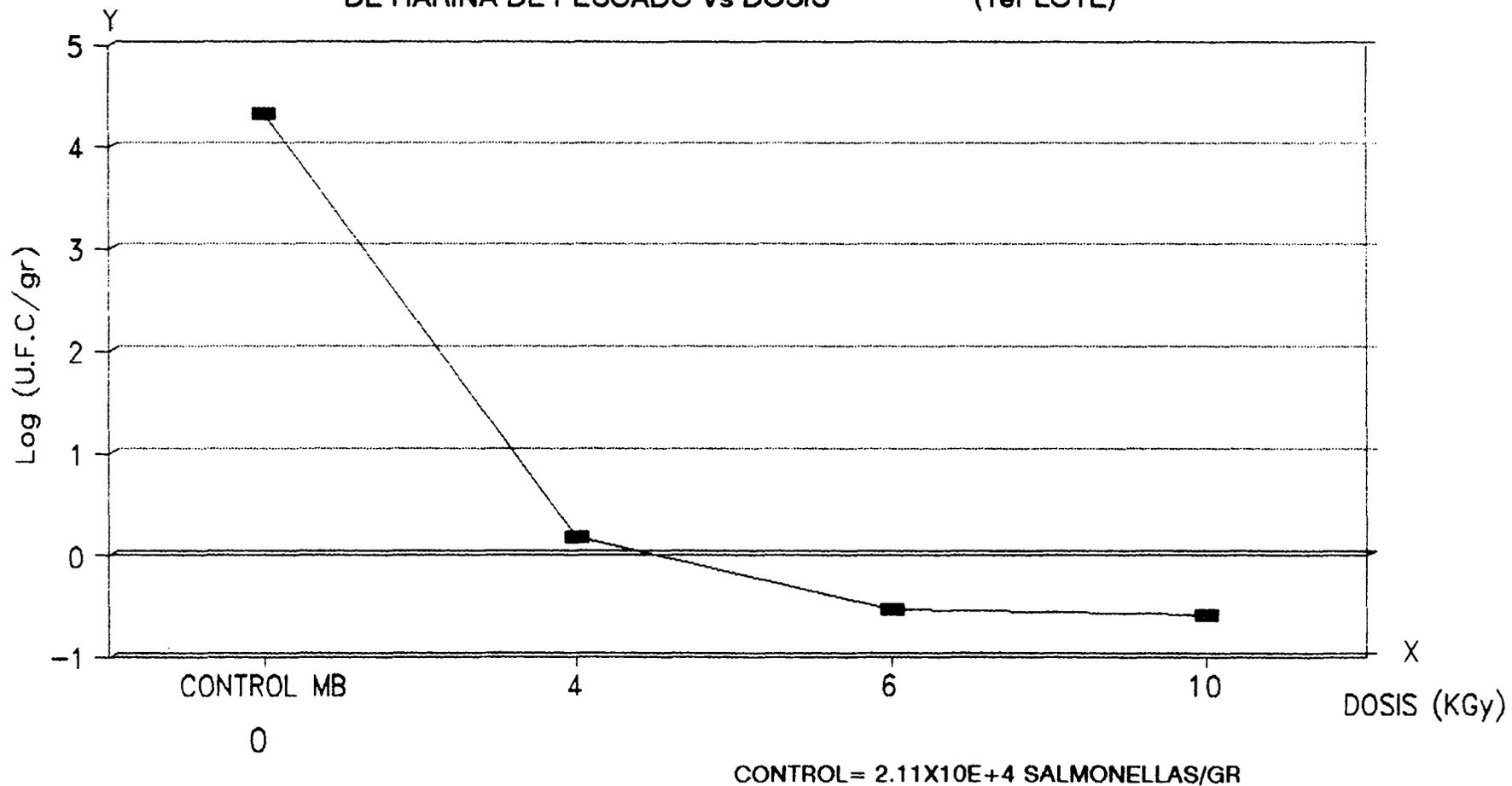


GRAFICO Nº 3
% PROTEINAS Vs DOSIS
(1er LOTE)

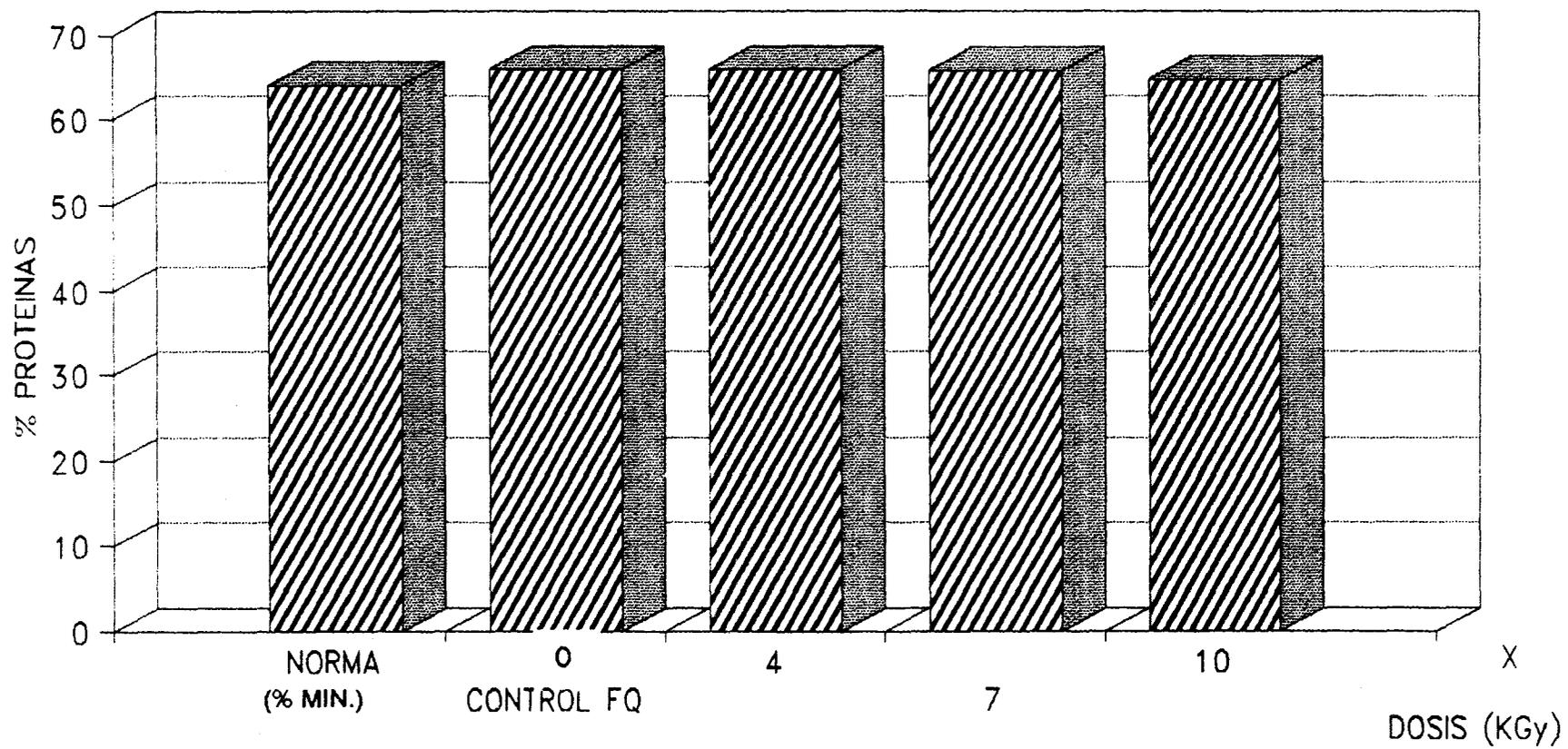


GRAFICO Nº 4
% HUMEDAD Vs DOSIS
(1er LOTE)

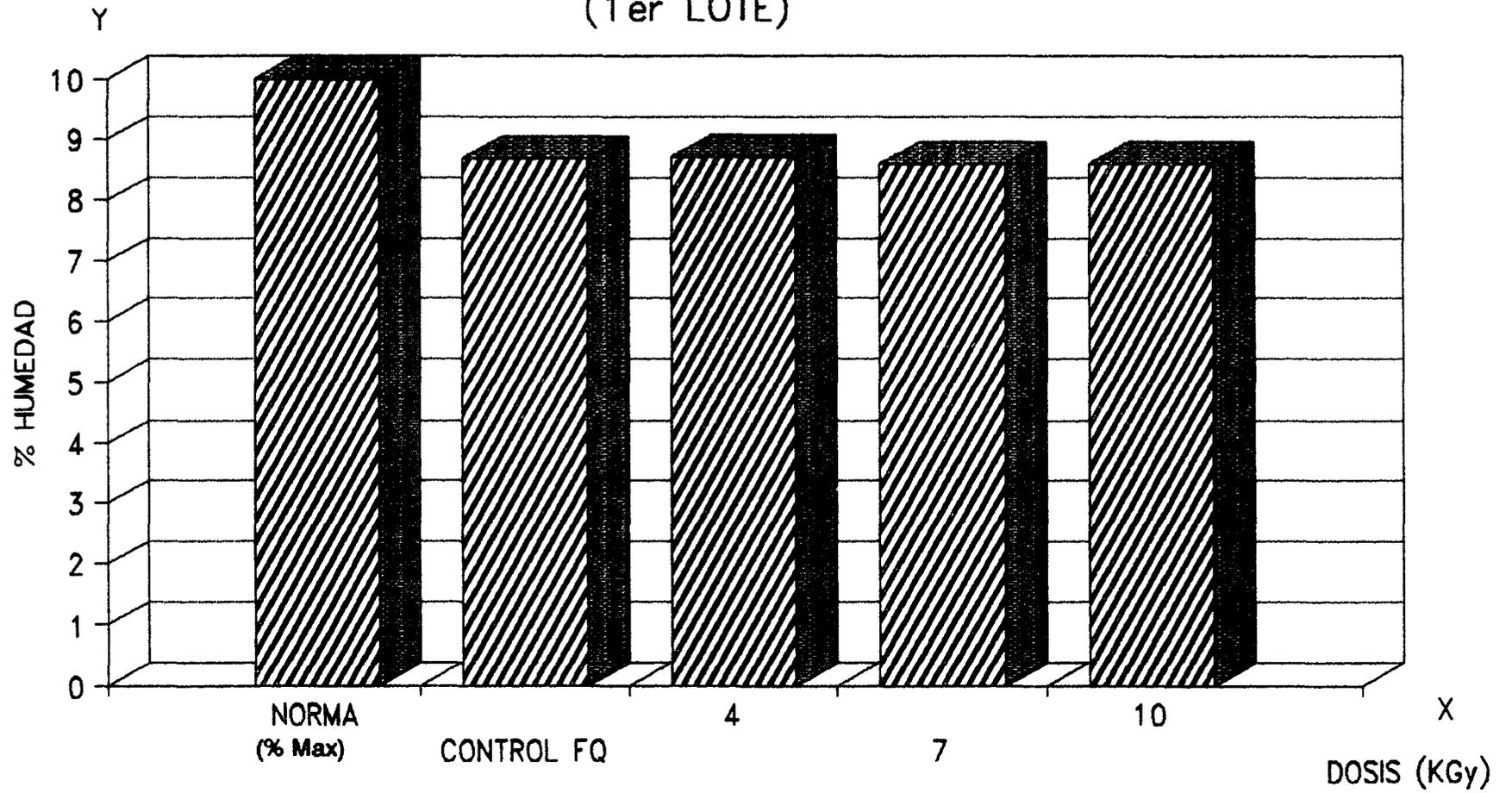


GRAFICO Nº 5
% GRASA Vs DOSIS
(1er LOTE)

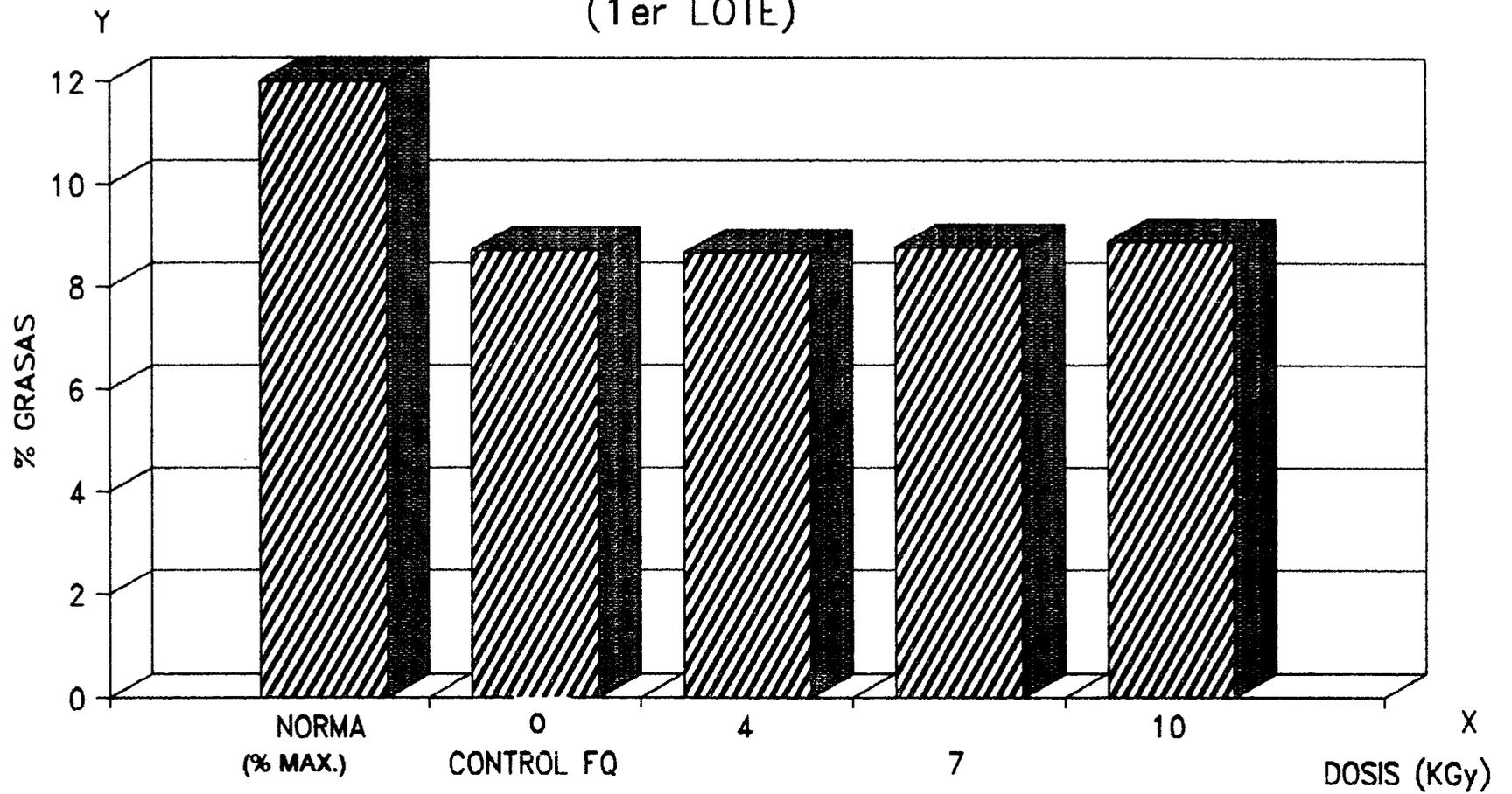


GRAFICO Nº 6
% CENIZA TOTAL Vs DOSIS
(1er LOTE)

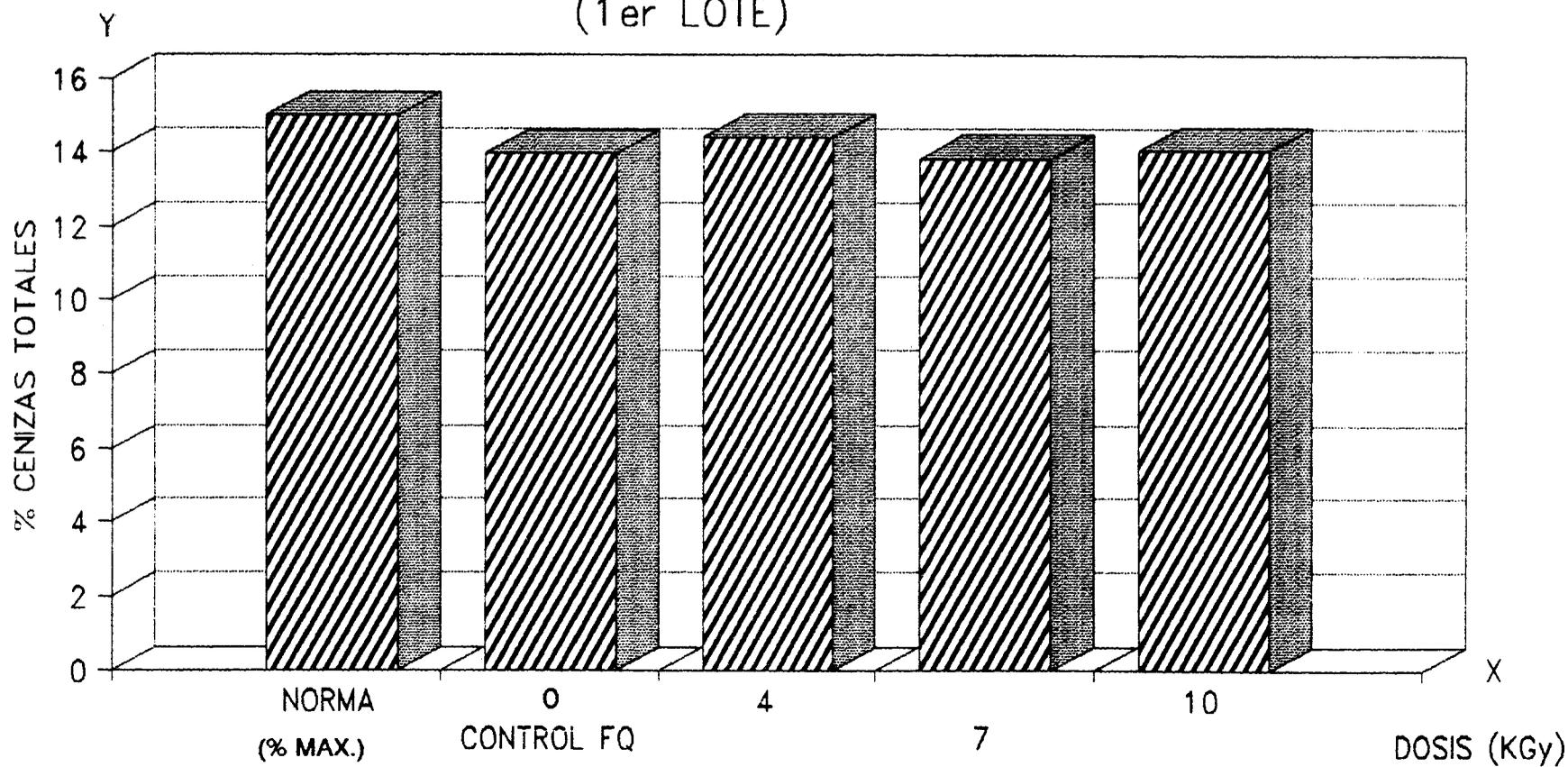


GRAFICO Nº 7

NUMERO DE SALMONELLA TYPHIMURIUM DETECTADA EN MUESTRAS DE
HARINA DE PESCADO Vs DOSIS (2do LOTE)

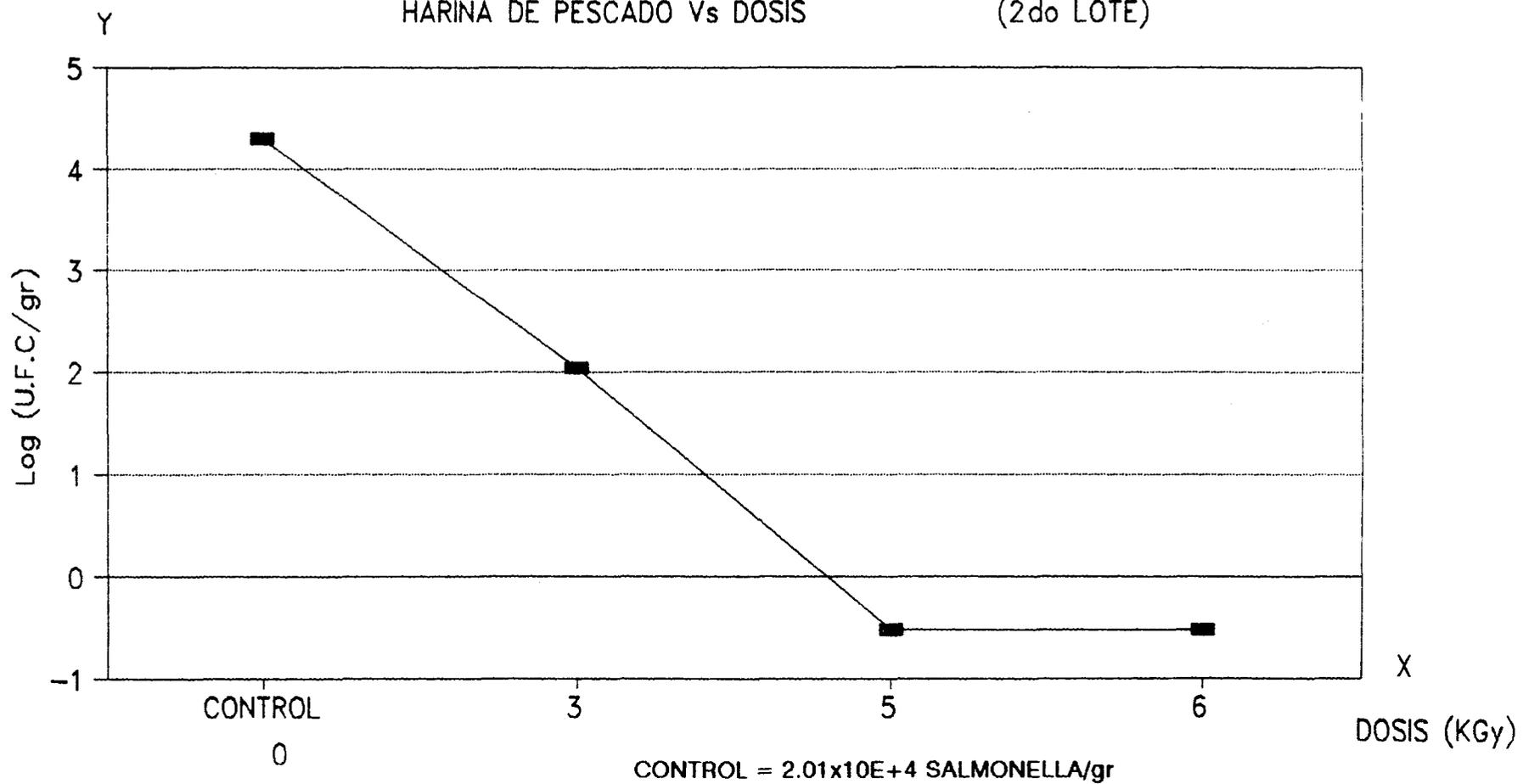


GRAFICO Nº 8

DOSIS NO EFECTIVAS EN LA INACTIVACION
DE SALMONELA POR LOTES

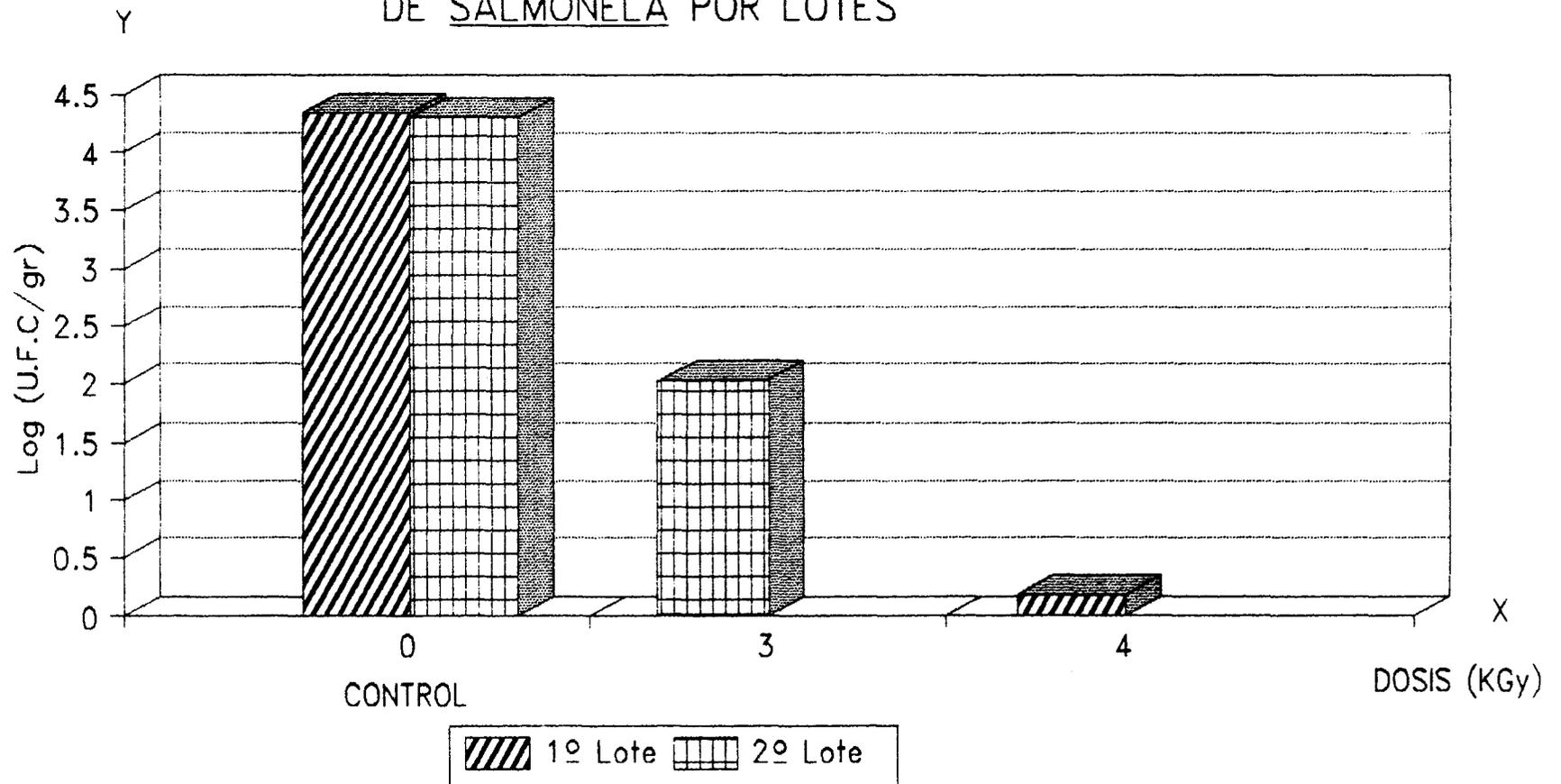


GRAFICO Nº 9
% PROTEINAS Vs DOSIS
(2 do LOTE)

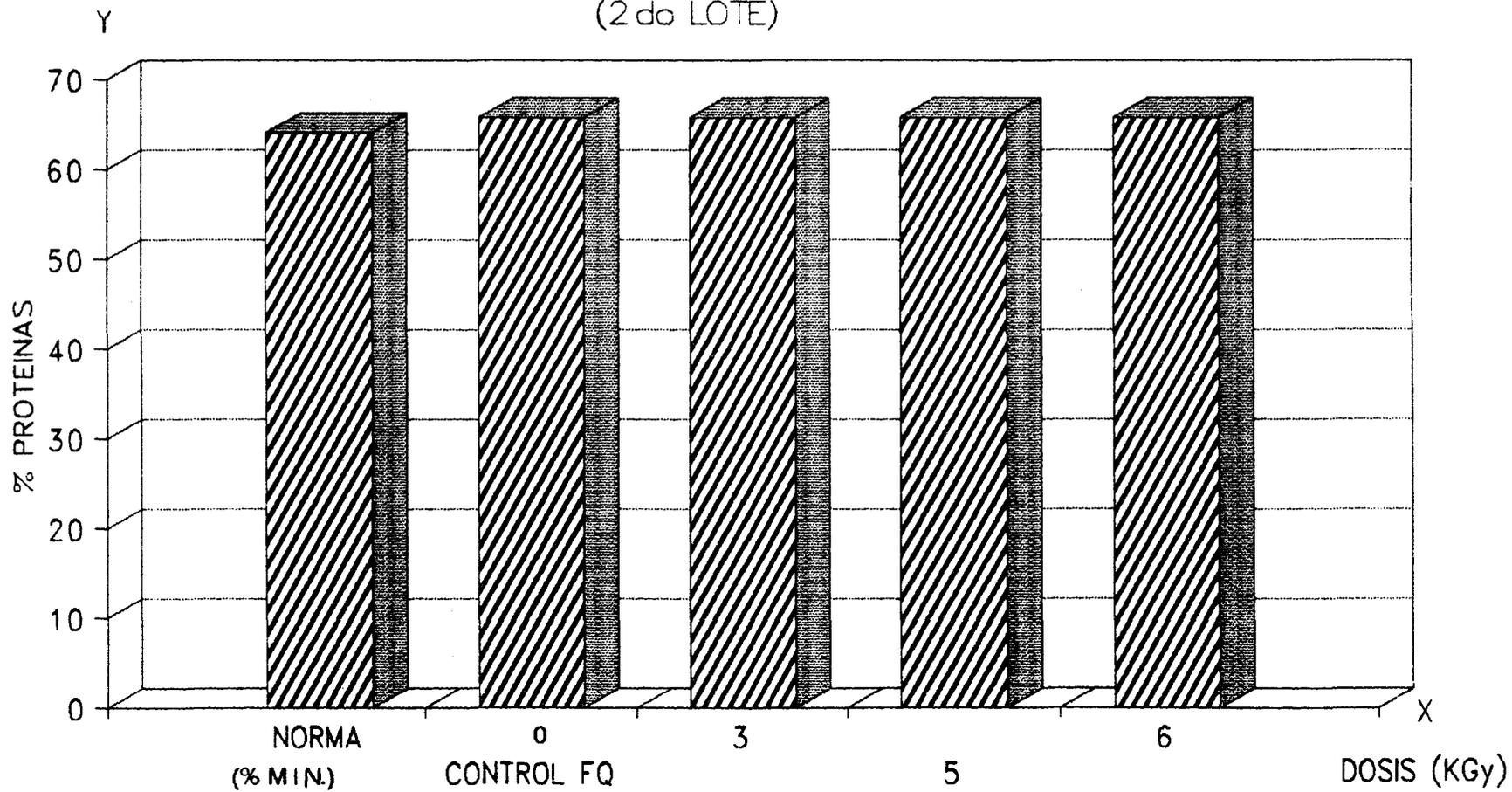


GRAFICO Nº 10
% HUMEDAD Vs DOSIS
(2 do LOTE)

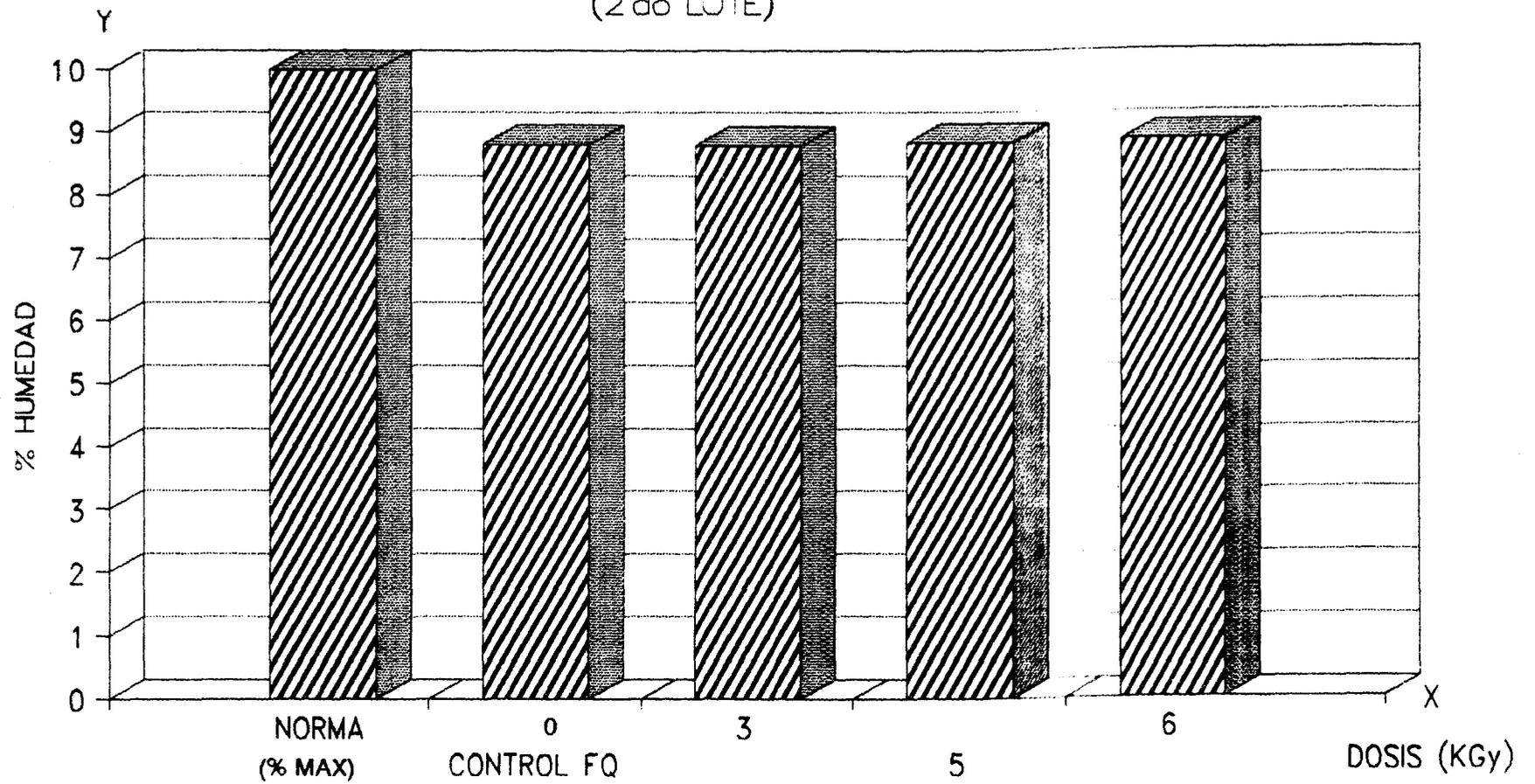


GRAFICO Nº 11

% GRASA Vs DOSIS
(2 do LOTE)

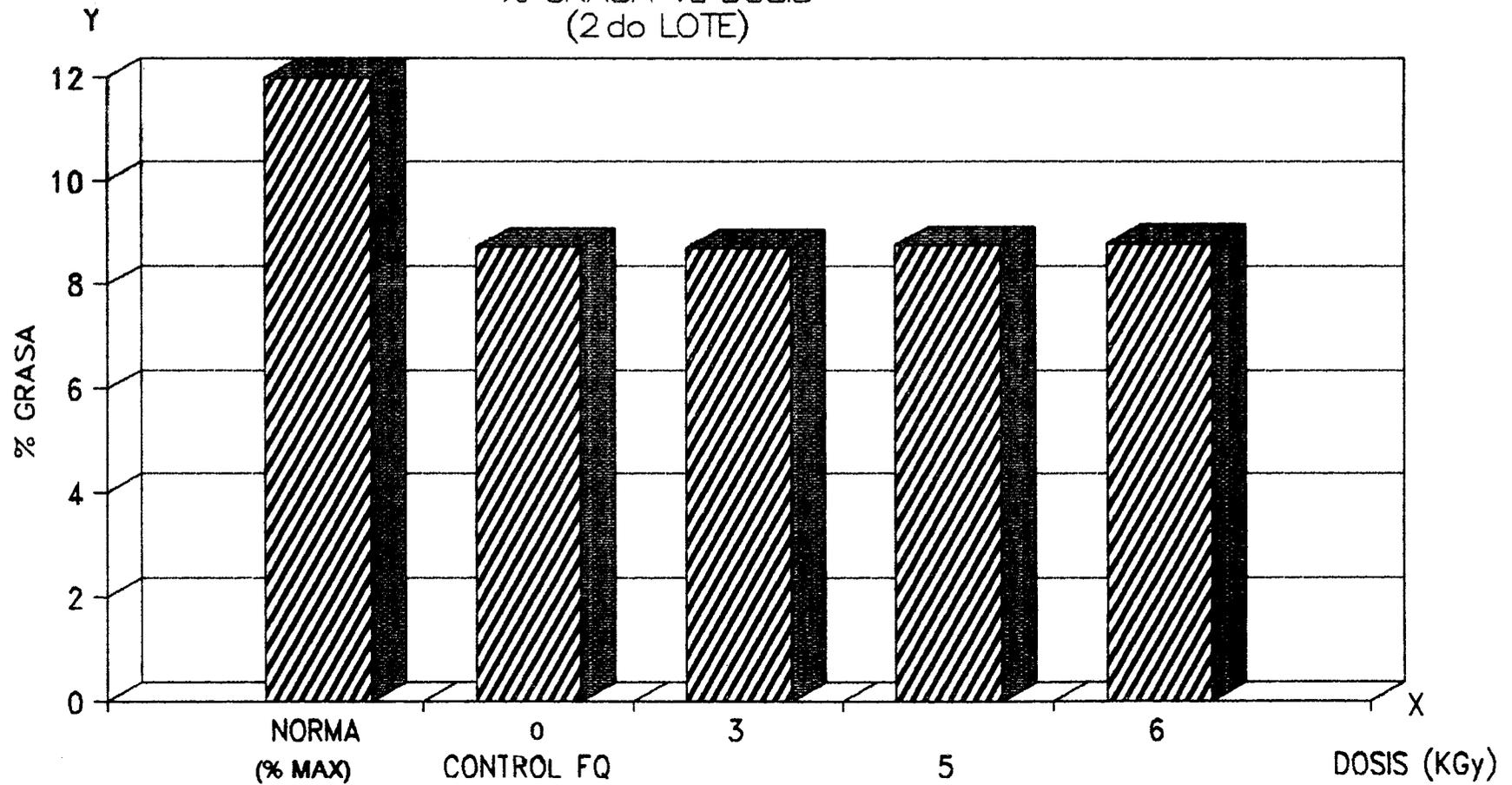


GRAFICO Nº 12

% CENIZAS TOTALES Vs DOSIS
(2 do LOTE)

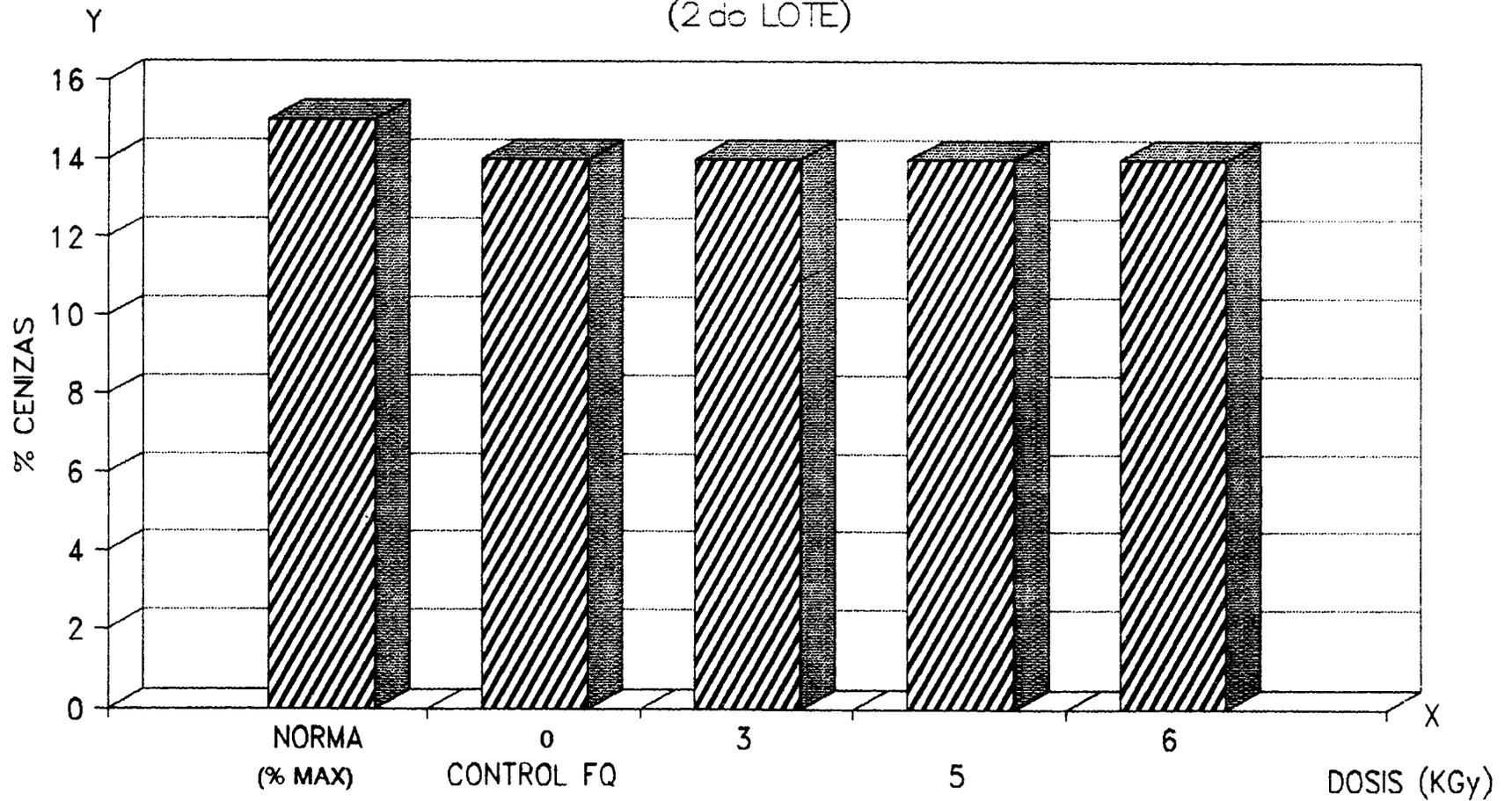


GRAFICO Nº 13

% PROTEINAS Vs DOSIS
(3er LOTE)

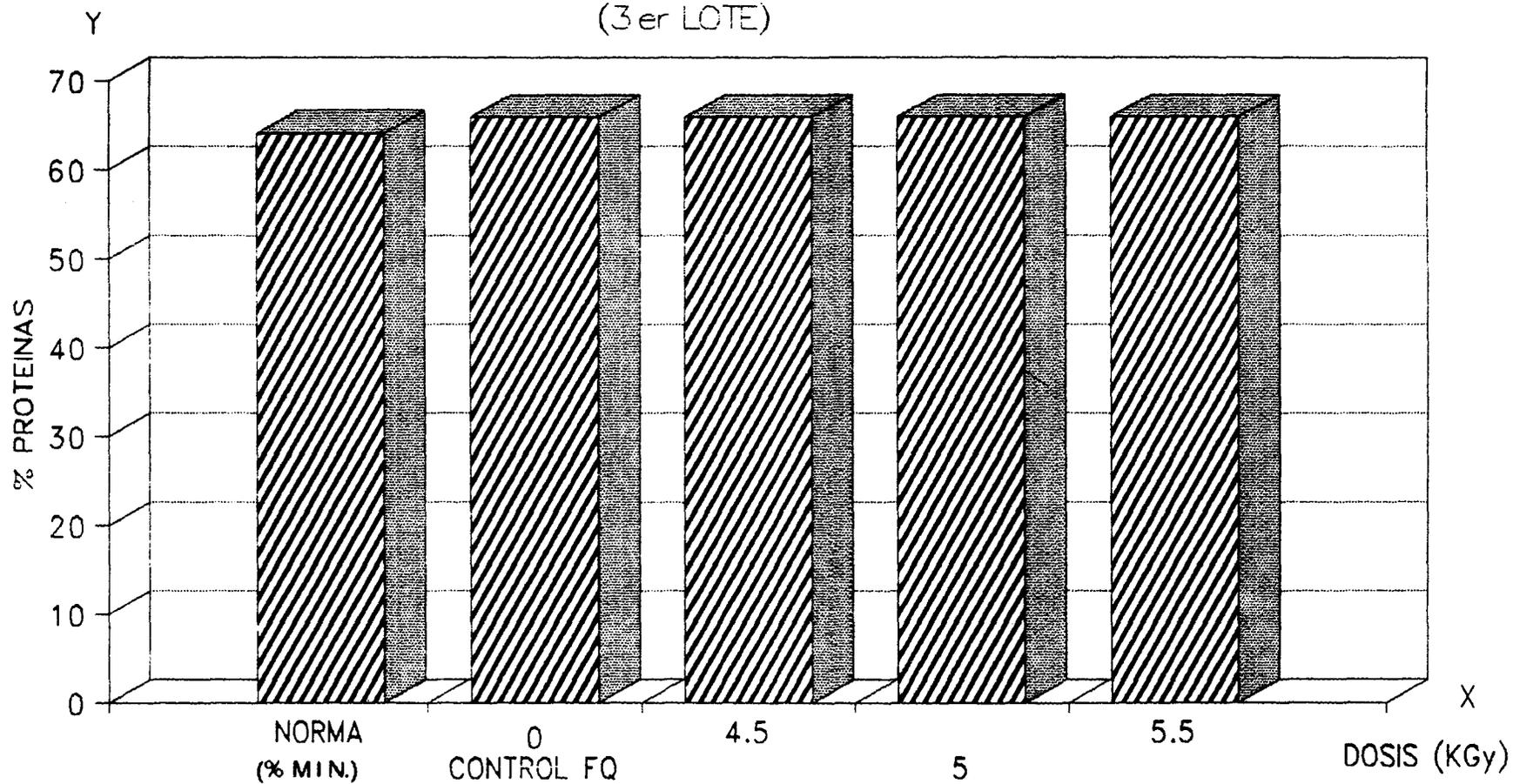


GRAFICO Nº 14
NUMERO DE SALMONELLA TYPHIMURIUM DETECTADA EN MUESTRAS DE
HARINA DE PESCADO Vs DOSIS (4to LOTE)

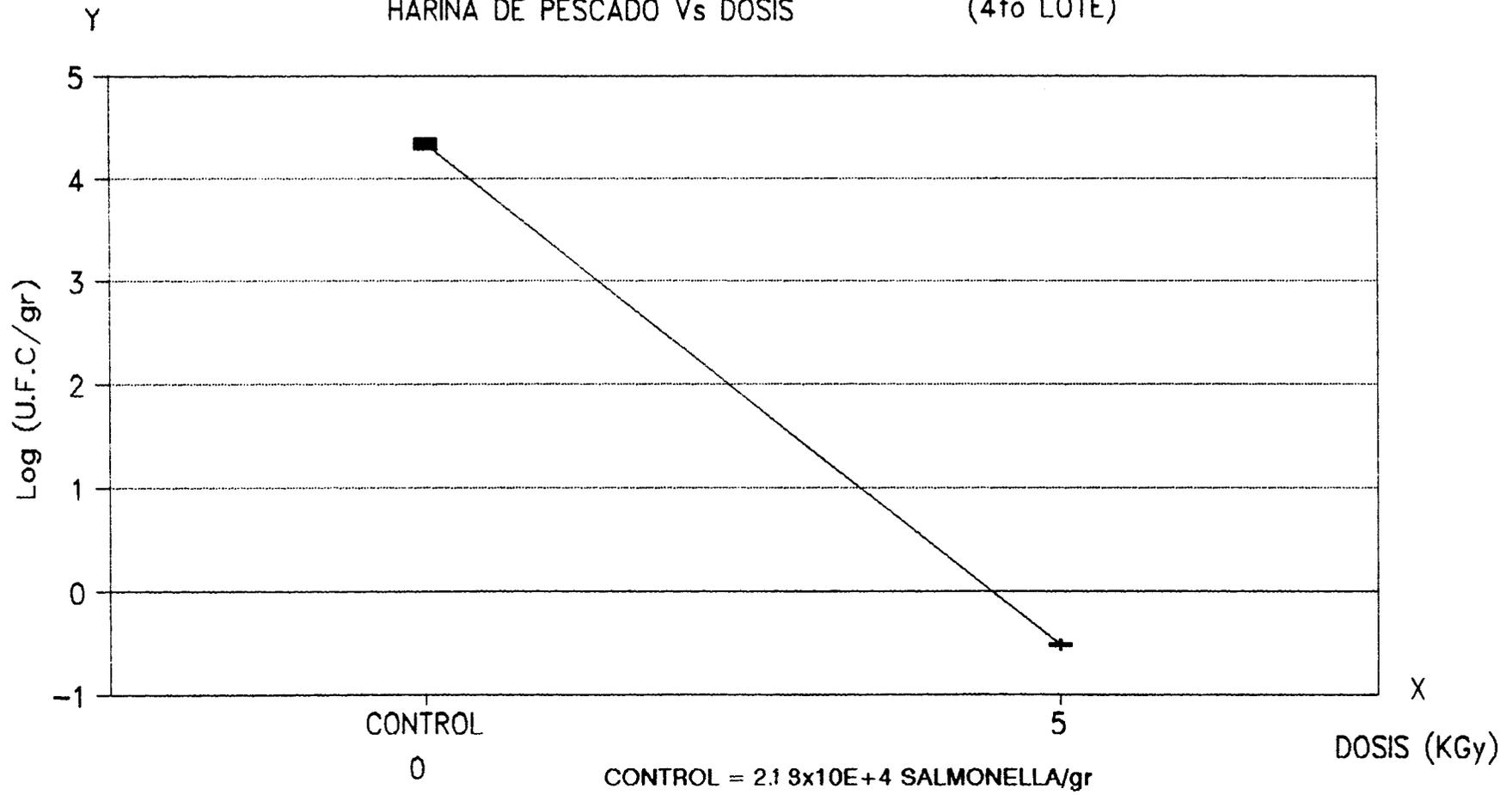
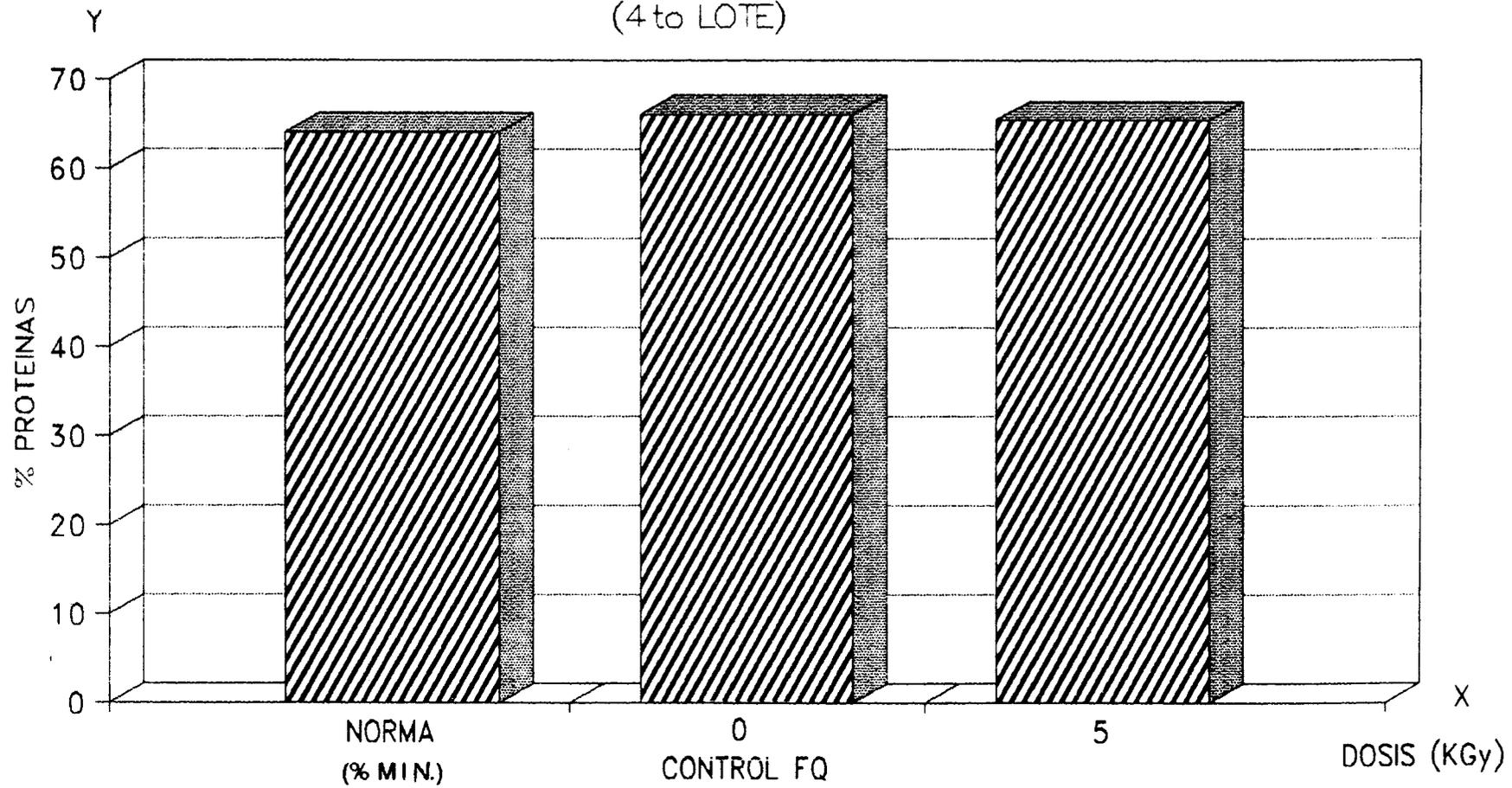


GRAFICO Nº 15
% PROTEINAS Vs DOSIS
(4 to LOTE)



VI DISCUSION

ANALISIS MICROBIOLÓGICOS

En la estimación de la dosis necesaria para la inactivación de Salmonella, se utilizaron muestras contaminadas artificialmente, esto a veces podría dañar la exactitud del experimento, porque no se obtiene una distribución suficientemente homogénea de la bacteria en la harina de pescado.

Sin embargo en estudios microbiológicos realizados sobre muestras contaminadas por Thornley (1964); Mossel (1980); Ito (1977), Lapidot (1977), comprobaron que la dosis de irradiación calculados en material inoculado artificialmente tiene el efecto esperado sobre la Salmonella en el producto.

En la Tabla Nº 3 los resultados de los recuentos de Salmonella/ml presentes en los inóculos preparados, para contaminar cada lote ni presento diferencias significativas con respecto al valor calculado en estos. Del mismo modo en la tabla Nº 4 y 5 la diferencia entre la cantidad de Salmonella calculada/gr y el obtenido en el recuento no es significativa. De lo cual se podría inferir que en los ensayos experimentales siempre hay un margen de error.

Según la Tabla Nº 5, Grafico Nº 1 se utiliza muestras contaminadas artificialmente con 104 Salmonella/gramo.

La dosis requerida para la eliminación de Salmonella puede ser obtenida por la irradiación de la harina de pescado contaminada naturalmente, pero el número de salmonellas presentes es usualmente bajo en el orden de 102/gr (46), otros reportes recientes indican que los niveles más altos

encontrados en la harina de pescado peruana es de 103/gr.(54)
Por lo que se trabajó con muestras contaminadas cuyo recuento
presento un ciclo logarítmico más que el frecuentemente
reportado.

Examinando las Tablas Nº 6 y 7 se aprecia que la
eliminación de Salmonella en las muestras tratadas con dosis
de 5, 6 y 10 KGy fue eficaz, mientras que la dosis 3 y 4 KGy
no fueron suficientes.

Esto era de esperarse por cuanto es ampliamente conocido
que a dosis mayores de irradiación se elimina o inactiva
mayor número de bacterias.

Prnst y Riemmann (1967) revelaron que las Salmonelas son
muy sensibles a las radiaciones ionizantes, siendo
suficientes dosis de 5 a 7 KGy para eliminar estos
microorganismos de la mayor parte de los alimentos y piensos.
Sin embargo según Barwart, G. (1982), las salmonelas son
moderadamente resistentes al tratamiento por radiación. La
dosis de radiación varía con el tipo de producto, las
condiciones de radiación y el nivel de contaminación.

Thornley, M. (1964) indico que la Salmonella, como otras
bacterias muestran un valor de muerte exponencial cuando se
irradian, esto es una dosis dada de radiación inactivaría una
proporción constante de estas células viables previamente
presentes.

Mossel, D. (1970) señaló que una dosis de radiación dada
destruye una proporción determinada de la población
microbiana expuesta a ella, con independencia del número de
bacterias presentes.

Mossel, D. (1980) reportó de sus investigaciones que la dosis efectiva mas probable para reducir hasta en 5 ciclos logarítmicos las enterobacterias presentes en piensos mezclados no excedían a los 7.5 KGy.

De los resultados mencionados anteriormente se deduce que la dosis óptima se ubica entre las dosis mayores que 4 KGy menores que 10 KGy. La Tabla Nº 8 indica que las dosis de 4.5, 5 y 5.5 KGy fueron suficientes para la eliminación de Salmonella.

Ito y Hzuka (1,982) efectuaron investigaciones en el Japón sobre la sensibilidad a la radiación de algunos patógenos en alimentos. Determinaron la dosis letal de E.coli K-12 y de S. typhimurium en suero de bovino en polvo seco las cuales fueron de 4 y 6 KGy respectivamente. En el caso de patatas gratinadas congeladas contaminadas con S. typhimurium y coliformes lograron su esterilización con dosis de 5 KGy, manifestando que otras especies de enterobacterias tales como Proteus y Arizona fueron también esterilizadas en el mismo producto por iguales dosis de radiación.

Considerando que la dosis óptima ha elegirse debe representar el equilibrio entre la cantidad necesaria para producir el resultado deseado (eliminación de Salmonella) y la que el producto (harina de pescado) pueda tolerar sin sufrir alteraciones indeseables. Además de esos requisitos se debe considerar que la aplicación dosis elevadas involucran mayor tiempo de exposición en el equipo de irradiación y esto hace que el costo del servicio por irradiación sea mayor. Por lo que al elegir la dosis óptima se tomo en cuenta estos requisitos. Finalmente la dosis que represento mejor la dosis

óptima es la de 5 KGy.

Underbal y Rossebo (1972) reportaron la descontaminación por Salmonella en harina de pescado a base de arenque a un nivel de dosis de 8 a 13KGy.

Sechter, I. (1977) señala que la dosis letal de la Salmonella en piensos de origen animal en un factor de 103 es de 4.5 KGy.

De igual modo **Ito, H (1977)** revelo que la dosis de inactivación de S. typhimurium en condiciones secas en piensos de origen animal fue de 6 KGy.

Asi mismo **Rubio, T (1981)** indico que un nivel de dosis de 4 a 6 KGy es suficiente para eliminar Salmonella en harina de pescado.

Norberg, A.N. (1,988) estudio la resistencia de S. typhimurium en muestras de leche a la radiación gamma de Co60, en el experimento utilizo 190 muestras de leche conteniendo aproximadamente 15×10^4 bacterias/ml las cuales fueron irradiadas con dosis de 1 a 11 concluyendo que la dosis letal minima a esta bacteria fue de 1.2 KGy.

Thayer, D. W. (1,991) efectuó investigaciones sobre el efecto de la dosis de radiación ionizante, temperatura y atmósfera en la sobrevivencia de S. typhimurium en carne de pollo esterilizada, para lo cual irradio con dosis de 0 a 3.6 KGy y las muestras carne de pollo con S. typhimurium a T° de -20°C y a +20°C y empaquetada al vacío o en presencia de aire, determinando que la irradiación gamma fue significativamente más letal para S. typhimurium en presencia de aire y a altas temperaturas. La carga sobreviviente de S. typhimurium en carne de pollo irradiada a dosis de 3KGy a -

20°C en presencia de aire fue de Log 4.78 = (0.67) mientras que para otra muestra con igual carga inicial irradiada a 3KGy + 20 °C fue de Log 4.29 = (0.63).

Lapidot, M. (1977) informó que el serotipo más predominantemente encontrado en mezclas de piensos fue S. typhimurium. De estudios microbiológicos utilizando piensos infectados artificialmente, demostró que esta bacteria es una de las más resistentes a la radiación gamma cuando la comparó con E. coli, Enterobacter, Staphylococcus, Shigella, Proteus. La concentración inicial de 10⁶ S. typhimurium/gr. fue inactivado con dosis de 10 mientras que 7.5KGy fue suficiente para inactivar 10³ Staphylococcus y Shigella/gr. y un 1 destruye Proteus Pseudomonas ó 10⁶ E. coli y Klebsiella/gr.

ANALISIS FISICO-QUIMICOS

Las dosis de radiación aplicadas en las diferentes etapas no presentan efectos detectables sobre el porcentaje total de proteínas presente en la harina de pescado sólo se aprecia un ligero incremento en algunas muestras irradiadas con respecto al control. Dicho incremento según Sreenivasan, A. (1974) es debido a la fragmentación de algunas proteínas a peptidos más pequeños, los cuales son más susceptibles a las enzimas proteolíticas, producidas por las dosis de irradiación suministradas.

Harmuth-Hoene y Partmann (1986) concluyeron de sus investigaciones químicos en harina de pescado procedentes de varios países, e irradiados con dosis de 50 KGy, que no hay evidencia de que la irradiación induce cambios en el

contenido de la proteína cruda, así como la digestibilidad de la proteína. La esterilización de la harina de pescado por irradiación no disminuyó el valor nutricional de la proteína de pescado y se da preferencia sobre la esterilización por el tratamiento térmico.

En lo referente al porcentaje de grasas no se observa cambios apreciables. El efecto de la radiación sobre las grasas ha sido largamente estudiado, los investigadores afirman que dosis menores de 10 KGy no se produce la formación de hidroperóxidos y otros productos de descomposición de las grasas. Mientras que el porcentaje de humedad obtenido en las muestras irradiadas no se ve afectado por la irradiación ya que este tratamiento es un proceso frío porque produce sólo un pequeño incremento de temperatura en el producto irradiado.

Finalmente en lo concerniente al porcentaje de cenizas totales y el porcentaje de cenizas Insolubles obtenidos en las muestras irradiadas se mostraron mayormente invariables respecto a los controles. Debido a que las cenizas están compuestas por sales minerales cuya estructura química no se ve afectada aún cuando son tratadas a elevadas dosis.

El-Hakeim y Hilali, E. (1991) realizaron investigaciones sobre la evaluación nutricional de la proteína animal irradiada por productos, e irradiaron harina de pescado, harina de hueso, harina de sangre en niveles de dosis de 0, 5, 10, 50KGy, y demostraron que la radiación induce un efecto insignificante en la composición química de las harinas, lo cual es confirmado con los resultados obtenidos de las muestras tratadas hasta con dosis de 10 KGy.

VII CONCLUSIONES

1. Las dosis de irradiación de 3 y 4 KGy no fueron suficientes para la eliminación de Salmonella.
2. La dosis optima de irradiación seleccionada fue de 5 KGy, que constituye una dosis de inactivación de la Salmonella en un factor de 10⁴/gr. en la harina de pescado.
3. Según los parametros químicos analizados , la radiación gamma no modifico las características físicas y químicas.
4. Se demostró que la Tecnología "Pico-Onda" es un tratamiento alternativo para eliminar la Salmonella en harina de pescado.

VIII REVISION BIBLIOGRAFICA

1. AGURTO, S. T. 1,989 Manual de Técnicas Microbiológicas 1ra. Ed. Lima, Perú.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION 1,984 Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods, 2nd Ed., Mervin L. Speck Editor-APHA USA.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) 1984 Official methods of analysis, 6th Ed. USA.
4. BAEZA, J. y RUBIO, M. 1,980 Estudio de la Factibilidad Técnica y Económica de la irradiación de harina de pescado a nivel semi-industrial en OIEA - TECDOC/313.
5. BARWART, G. 1,982 "Basic Food Microbiology". AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
6. BARDOS, J. 1977 "Food Sci 42 (1977) 1056.
7. BISCHOFF, H. 1,955 Ein Beitrag zur Klärung der Frage nach der Herkunft seltener Salmonella-Typen, Berlin. Wschr.68 (1955) 306-307.
8. BLAXLAND, J. 1,968 Epidemiology of Salmonellosis. Ann. Medical Veterinary.70 (1968) 374.
9. BRYANS, J. 1,971 Epidemiology of Salmonellosis. Ann. Medical Veterinary.51 (1971) 467.
10. CERPER, 1,973 "Investigación sobre la influencia de la flora micológica y Bacteriana en la calidad de la harina de pescado". Dir. General de Investigaciones Tecnológicas. Proyecto N° 30.
11. CLARK, G. 1973 "Rationale for the use of ionizing radiation in the elimination of enteropathogenic bacteria from feeds".in"Lancet 2(1973) 490.
12. COSGROVE, A. y LINDENMAIER, P. 1971 Epidemiology of Salmonellosis. Avian Diseases 5 (1971) 144.
13. EDEL, W. 1977 Radiation Ionizing in the elimination of enteropathogenic bacteria from feeds. J. Veterinary Science 102 (1977) 365.
14. EL-HAKEIM, N. y HILALI, E. 1991 "Nutritional Evaluation of irradiated animal protein by - products". Isotopenpraxis V. 27(3) p. 104-108.
15. EXPO-PESCA 1,992 " Mercado Mundial de la Harina de

- Pescado". Lima-Perú. Año 1 #2 May-Jun.
16. FAO 1975 "La Producción de Harina y de Aceite de Pescado". en Fisch, tech. Pap. (Es), 142: 54 págs.
 17. FAO/ONU 1981 " Congreso Internacional sobre la Producción de Harina de Pescado ". Santiago-Chile.223 págs.
 18. FAO/ONU 1982 Producción Animal y Piensos. Serie de Colecciones FAO Nº 74. Roma-Italia.
 19. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) 1984 Bacteriological Analytical Manual, Chapter 7, 6ta Ed. Published by AOAC USA.
 20. GOSH, A. 1972 Effect of decontamination of feed mixtures by gamma radiation. J. Hyg. 70 (1972) 151.
 21. GRANVILLE, A. 1971 Epidemiology of Salmonellosis. Ann. Med. Vet. 105 (1971) 82.
 22. HARMUTH - HOENE y PARTMANN 1986 Der Proteinnährwert von strahlensterili-siertem fishmehl, 2. Tierphysiol. Futtermittelkd. 36 (1986) 293.
 23. HARSOJO J. ; ANDINI, C. y SUWIRMA, I. 1989 Radiation disinfection of manure for animal feed supplement. Atom-Indonesia (Julio)_ V.15 (2) p. 13-25.
 24. HARVEY R. 1977 Effect of decontamination of feed by Radiation Ionizing. J. Hyg. 78 (1977) 439.
 25. HOBBS, B. C. 1963 Salmonella in foods and Animal feeding stuffs.-in: Radiation Control of Salmonella en food and feed Products IAEA, Viena, 35.
 26. HOBBS, B. C. 1969 Elimination of enterobacteriaceae by gamma radiation. J. Hyg. 67 (1969) 81.
 27. IAEA, 1963 "Radiation Control of Salmonella in food and feed products" (Proc. Panel Vienna) Tech. Report Nº 22.
 28. IAEA, 1966 "Microbiological Problems in food. Preservation by Irradiation (Proc. Panel Viennaq).
 29. IAEA, 1967 Elimination of Harmful Organisms from food and feed by Irradiation (Proc. Panel Zeist).
 30. IAEA, 1967 Food Irradiation (Proc. Symp. Karlsruhe, 1966), IAEA, Vienna (1966).
 31. IAEA, 1985 La irradiacion de alimentos en Latinoamerica Viena. TECDOC/331.

32. ICMSF, 1983 Ecología microbiana, Vol. 1, 2da Ed. Edit. Acribia, España.
33. INDECOPI 1973 Harina de Pescado : Determinaciones físico-químicos, Norma Técnica Nacional # 204.0367.
34. INDECOPI 1973 Harina de Pescado : Detección de Salmonella, Norma Técnica Nacional # 204.037.
35. INDECOPI 1985 Harina de Pescado : Clasificación y Requisitos. Norma Técnica Nacional # 204.035.
36. INGRAM, M. 1975 Microbiology of foods pasteurised by ionizing radiation in : Proyecto Internacional en Irradiación de Alimentos-Technical Report series IFIP-R33.
37. ITO, H. y HZUKA, H. 1982 Present status of Radation tratment of Animal feeds in Japan.
38. ITO, H. 1977 The development of increased radio resistance of Salmonella Typhimurium by repeated expasure of radiation. Shokuhin-Shosha. V. 24(1-2) p. 12-15.
39. JACQUEST, N. 1986 Enterobacteriaceae. Bacteriología Veterinaria. Ed. Acribia-España.
40. LAPIDOT, M. 1977 Radiation and Radappertization of animal feeds in Israel. in: Decontamination of animal feeds by irradiation. Joint FAO/IAEA, Bulgaria, 43.
41. LEE, J. 1972 Gamma radiation sanitation of animal feeds. Journal Hygiene 70 (1972) 141.
42. LINSERT, H. 1969. Epidemiology of Salmonellosis. J. Science food Agricult 11 (1969) 690.
43. MACKEY, B. M. 1982 The effect of sublethal injuryu by heating, freezing, drying and gamma radiation on the duration of the phase of Salmonella Typhimurium Journal of Applied Bacteriology UK Octubre - V 53(2) p. 243-251.
44. MERCHANT, J. A. 1975 Bacteriología y Virología Veterinaria. Zaragoza-España, Ed. Acribia, 3ra ed., 768 págs.
45. MORAN, C. 1971 Epidemiology of Salmonellosis. Food Res. 3, 149-154.
46. MOSSEL D. A. 1980 Decontamination of animal feeds by

radiation treatment of animal feeds organized by the Joint FAO/IAEA. Vienna, 3.

47. **MOSSEL, D. A.** 1982 "Whiter Protection of the consumer against Enteropathogenic bacteria on fresh meats and poultry by processing for safety", in Food Irradiation now, Martinus Nijhoffand Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
48. **MULLER, J.** 1972 Ionizing Radiation in decontamination of feeds mixtures. Journal food Irradiation 4(1972) 290.
49. **NADUDVARI, I.** 1980 Radiation treatment in Hungary. Food Irradiat. Inf. 5(1977) 19.
50. **NADUDVARI, I.** 1979 "Observación on autoclaved, etilene-oxide treated and irradiated diet for animal".
51. **NEWELL, K.** 1971 Gamma radiation in the eliminatium of enterobacteriaceae. J. Am. Vet. Med. Assoc. 158 (1971)89.
52. **NORBERG, A.** 1988 Resistencia de Salmonella Typhimurium a la Radiación Gamma. Revista Brasileira Patología Clínica (Jan-Mar 1988) V. 24(1) p. 14-22.
53. **PERU-PESQUERO 1,992** "Mercado mundial de harina de pescado". Lima-Perú, Julio N° 10, 1992.
54. **PESCA PERU, 1993** "Informe Técnico sobre contaminación por Salmonella en Harina de Pescado Peruano y su Comercialización en Europa" Lima-Perú.
55. **PESCA PERU, 1993** "Producción y Exportación de Harina de Pescado" Lima - Perú.
56. **PICCIONI, M.** 1985 Diccionario de Alimentación Animal. Zaragoza-España Ed. Acribia, 3ra. ed. 876 págs.
57. **PROST J. y REIMANN 1967** Food-barne salmonellosis. Ann.Rev. Microbiology 21:495-528.
58. **QUEVEDO, A.** 1965 Salmonellae organisms in animal products used in poultry feeds. Avian Dis. 3(1965)290.
59. **RAMIREZ M. A 1963** Bacteriological study of fish meal in Perú IAEA, Technical Reports series N° 22.
60. **ROJAS, J.** 1979 Harina de Pescado. Boletín Informativo UNA N° 33. Lima-Perú 48 págs.

61. RUBIO, T. 1981 Combined effects of water activity, radiation, and storage on the survival and regrowth of Enterobacteriaceae in Chilean fish meal. Netherlands IFFIT. Repert Nº 17-XII.
62. SECHTER, I. 1977 "Salmonellosis in Israel-New facts during the las years", WPSA Israel, Doc-Tec. 57.
63. SHEWAN, J. 1966 "Present status and future prospects of irradiation preservation of fish meal" in: Food Irradiation. OIEA, Vienna, 107.
64. SREENIVASAN, A. 1974 Radiation Chemistry of basic food components. Chemists, 53:726.
65. STEELE, J. y GALTON, M. 1965. Epidemiology of food borne Salmonellosis. Lab. Sá. 4:207-212.
66. THAL, E. y KARLSON, K. 1971. Epidemiology of Salmonellosis. Proc. Symp. Ass. Veterinary food Hygienists, 1 (1971) 250.
67. THAYER, D. W. 1991 Effects of ionizing dose, temperature, and atmosphere on the survival of Salmonella Typhimurium in sterile, mechanically deboned chicken meat. Poultry-Science. Feb (1991) V. 70(2) p. 381-388.
68. THORNLEY M. J. 1964 Radiation for Salmonellae Elimination TEC-DOC # 31 p. 81-105.
69. TECNOPAN, 1980 "Exportación de Alimentos Procesados Latinoamericanos en Europa Occidental FOPEX Documento tecnico Nº 20.
70. UNA 1983 Concentrados Proteicos. Documento Técnico Fac de Industrias Alimentarias.
71. UNC-POLITECNICA DE VALENCIA 1990 " Microbiologia de Alimentos " Manual de Curso de Postgrado U.N.Callao - PERU.
72. UNDERBAL, J. y ROSSEBO 1972 The effects of ionizing radiation on feed mixed. Lebensm Wis. Technol 6 (1973)90.
73. VANDER SCHAAP, A. 1962 Gamma radiation sanitation of fish and blood meal. Central Inst. Nutrition and food Res. The Netherlands.

74. VANDER SCHAAF, A. y MOOSEL 1967 Comparative study on descontamination of mixed feeds by radation and by pelletization, J, Sci. Food Agric. 18 (1967) 362.
75. WIESNER, L. 1985 "Repair capacity for DNA defects and Inactivation of microoorganisms during treatment with radiation" in : Combination Processes in food Irradiation. IAEA, Vienna, 21.

IX ANEXOS

ANEXO NO 1

PRINCIPIOS RELACIONADOS CON LA IRRADIACION DE ALIMENTOS

RADIACION GAMMA

La radiación gamma son radiaciones electromagnéticas que transportan energía y son emitidos por núcleos inestables determinados llamados radioisótopos. Los radioisótopos se desintegran de manera espontánea y de una manera muy definida.

El número de núcleos que se desintegran por unidad de tiempo es independiente de la presión, temperatura y enlace químico.

Lo que se mide para una sustancia radiactiva es el número de núcleos radiactivos que se desintegran por unidad de tiempo es decir, su actividad. La unidad de la actividad es el curio (abreviado Ci). Un curio de cualquier sustancia radiactiva es la cantidad que sufre $3,7 \times 10^{10}$ desintegraciones por segundo.

Los radioisótopos se desintegran de acuerdo a la siguiente relación :

$$A_r = A_1 \cdot e^{-\frac{\ln 2}{T} \cdot t} \quad (1)$$

A_1 = Actividad inicial. Unidad: Curie

A_r = Actividad final, luego de transcurrido el tiempo t

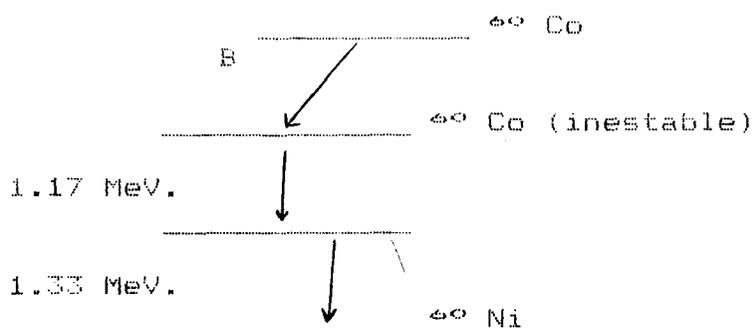
T = Período de semidesintegración constante propia de cada radioisótopo. Para el Co-60, $T = 5.272$ años, tiempo en el cual la actividad se reduce a la mitad de su valor inicial.

Se puede determinar fácilmente que cada año se desintegra el 12.5% de la actividad total. Por esta razón, para mantener la actividad constante en una planta de irradiación será necesario que anualmente se reponga aproximadamente esta cantidad. La radiación gamma se emite en forma de fotones.

LOS NUCLEOS DE LOS RAYOS GAMMA

Más característicos son el Cobalto-60 y Cesio-137. El más utilizado como fuente de irradiación es el cobalto-60; su pro-

caso de desintegración es el siguiente :



INTERACCION DE LAS RADIACIONES GAMMA CON LA MATERIA

Cuando las radiaciones gamma atraviesan cualquier material ceden energía a está, mediante los siguientes mecanismos :

a) Efecto Fotoeléctrico. - Se produce cuando la energía de los fotones se encuentran por debajo de 0.5 MeV. La energía del fotón es cedida totalmente a un electrón y este es eyectado de su órbita electrónica excitando o ionizando el átomo. Este electrón a quien el fotón ha cedido toda su energía, puede a su vez producir ionizantes y excitaciones en los átomos adyacentes.

b) Efecto Compton. - Este efecto se produce cuando el fotón incidente posee una energía que se encuentre dentro del rango de 0.5 a 5 MeV. El fotón impacta con un electrón y sólo cede parte de su energía. Como consecuencia del impacto, el electrón es eyectado de su órbita excitando o ionizando el átomo y el fotón se desvía de su trayectoria original (posee una energía menor a la inicial por cuanto parte de él se gastó para eyectar el electrón).

c) Formación de pares. - Este se produce con fotones que poseen energía superiores a 1.02 MeV. Este efecto se produce cuando el fotón se aproxima al núcleo del átomo y como consecuencia de la interacción con las fuerzas nucleares, se convierte en 1 electrón y 1 positrón (transformación de energía en masa). El positrón se autoaniquila con el 1er. electrón que encuentra en su trayectoria, originándose dos fotones de 0.51 MeV (transformación de masa en energía, que se produce de acuerdo a la ecuación $E=mc^2$).

MEDICION DE LA RADIACION

DOSIS DE RADIACION

Se denomina dosis absorbida o simplemente dosis, D , de cualquier radiación a la energía absorbida en la materia por unidad de masa de la misma en el punto de interés. La Comisión Internacional de Unidades y Medidas de radiación define a la dosis como, la energía promedio, de, impartida por la radiación ionizante a un elemento volumétrico de materia, dividida por la masa de la materia, dm , en ese elemento de volumen.

$$D = \frac{de}{dm}$$

La unidad del SI es el gray (Gy), un múltiplo es el Kilo-Gray (K Gy) que equivale 1000 Gray.

Se denomina tasa de dosis absorbida, D , a la energía absorbida por la unidad de masa en la unidad de tiempo.

$$D = \frac{dD}{dt}$$

LA DOSIMETRIA

Es rama de la ciencia esencialmente físico experimental, cuya finalidad es la medición cuantitativa de la energía absorbida por irradiación con una radiación ionizante cualesquiera de un sistema cualquiera.

El principio actual de dosimetría radiactiva consiste en el axioma de que iguales cantidades de energía de radiaciones similares conducidas en las mismas condiciones a sistemas similares, causan iguales efectos cualitativos y cuantitativos.

DOSIMETRO DE FRICKE

El dosímetro de Fricke es un sistema químico acuoso de uso relativamente simple. Constituye un sistema estándar PRIMARIO para dosimetría, es muy reproducible y ha sido calibrado con alta precisión teniendo como referencia, dosímetros calorimétricos.

Se le emplea con mas frecuencia para la determinación de la tasa de dosis en una cierta geometría dentro de un campo de radiación, para tiempos de irradiación relativamente cortos.

IRRADIACION DE ALIMENTOS PARA LA CONSERVACION

Se logra con el uso de un radioisótopo Co-60 ó Cs-137, los cuales emiten rayos gamma u ondas electromagnéticas de mayor penetrabilidad que los rayos solares. Los alimentos se exponen a determinadas dosis (Gray o rad) que estan directamente relacionados con el tiempo de exposición del producto en la fuente radiactiva.

La aplicación se basa principalmente por que inhiben muy eficazmente la síntesis del ADN, reduciéndose la división celular: aplicadas en dosis correctas esta reducción se obtiene sin efectos importantes en los constituyentes de los alimentos. Por consiguiente se puede impedir la reproducción de los microorganismos, gametos de insectos y meristemos de la planta, lograndose con ello la estabilidad en la conservación del producto tratado.

CARACTERISTICAS DEL PROCESO

- 1.- El proceso de irradiación de los alimentos es fundamentalmente físico y como tal, es comparable al calentamiento o congelación con fines de conservación.
- 2.- Es un tratamiento "frio" es decir no altera o incrementa significativamente la temperatura del producto.
- 3.- El producto puede estar empacado, contenido en cajas de embalajes, listo para la comercialización; sin embargo se le puede dar el tratamiento.
- 4.- No deja ningún tipo de residuo radiactivo en el producto, debido a que los rayos gamma no poseen masa tampoco carga, es energía pura.
- 5.- El proceso es totalmente inocuo, es decir los productos tratados presentan óptimas condiciones organolépticas, nutricionales y microbiológicas, etc.
- 6.- La calidad de los alimentos tratados esta en función de la calidad del artículo original.
- 7.- Es un proceso altamente competitivo económicamente con respecto a otros procesos convencionales en la preservación de los alimentos.

APLICACIONES MAYORMENTE EMPLADAS EN ALIMENTOS

- 1.- Inhibición de brotes en tubérculos y bulbos, como la papa, cebolla, olluco lograndose preservar al medio ambiente por

8 a 12 meses.

- 2.- Retardamiento de la maduración de frutas, como la manzana, plátano, mango, mandarina, naranja y otros, prolongándose entre el 30 - 50% su período de maduración de lo normal.
- 3.- Inactivación de los micro-organismos contaminantes de los productos pecuarios, hortalizas legumbres, causantes de la descomposición y patogenicidad, preservándose de esta manera por mayor tiempo ya sea al ambiente o refrigeración.
- 4.- Desinfestación, mediante la inactivación de cualquier estadio del insecto en granos, cereales, harinas, frutas frescas y secas, especialmente harina de pescado.
- 5.- Radapertización o esterilización de una amplia gamma de alimentos especialmente productos cárnicos, a los que se le prolongan indefinidamente la vida útil de consumo.

Seguridad del Tratamiento de Alimentos por Tecnología Pico-Onda

A fines de la década del 40 se iniciaron en Estados Unidos numerosos estudios encaminados a probar la comestibilidad de los alimentos tratados por Tecnología Pico-Onda, desde el punto de vista tecnológico. En la década del 70 se unieron inicialmente en un Proyecto Internacional para la Irradiación de alimentos (FILA) con sede en Karlsruhe (República Federal de Alemania) finalmente participaron 25 países y funcionó con éxito bajo los auspicios de la FAO y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) hasta 1,981.

Es interesante observar que tras varias décadas de estudio en los que se utilizaron los métodos de Toxicología más modernos, no ha sido posible encontrar prueba alguna de que los alimentos tratados con radiación gamma tiene efectos nocivos sobre el consumidor.

En 1,976, el Comité Mixto de Expertos FAO, OIEA, OMS sobre la comestibilidad de los alimentos irradiados (CMEAI) evaluaron miles de investigaciones y en 1,980 el Comité Mixto llegó a la conclusión de que los alimentos irradiados con una dosis de hasta 10 Kgy no causan ningún riesgo toxicológico y recomendó que fueran aprobados sin necesidad de realizar nuevas pruebas. Ello constituyó una primera etapa importante, ya que la dosis necesaria para prolongar el período de conservación de muchos

alimentos se encuentran (por muy debajo de este límite.

En Julio de 1,983 la Comisión del Codex Alimentario aprobó las recomendaciones del CMEAI y las incorporó a la Norma General Internacional para alimentos irradiados, cuyos productos incluidos se describirán.

La Seguridad de ningún otro método de tratamiento de alimentos se ha estudiado tan minuciosamente.

Perspectivas del Tratamiento Pico-Onda en Alimentos, el desarrollo de esta Tecnología para la conservación podría orientarse con dos finalidades :

- 1.- Para consumo interno : Por ejemplo : Papas, ajo, granos en general, arroz, frejol, cebada, trigo, derivados : carnes de pollo, porcino, pescado.
- 2.- Para Exportación : Mangos, mandarina, especias y condimentos , Productos liofilizados, carmin, harina de pescado, etc.

El Instituto Peruano de Energía Nuclear del Perú (IPEN), esta construyendo una Planta Industrial de Tratamiento Pico-Onda en el terreno adyacente al Mercado Mayorista de Santa Anita - Lima, además contará con 2 centros de acondicionamiento, una de frutas, otra de bulbos y tuberculos.

Actualmente se cuenta con una instalación de irradiación a escala Laboratorio que permite realizar los trabajos de verificación o demostración de las aplicaciones de la Tecnología en diferentes productos.

APLICACIONES EN LA MEDICINA

TERAPIA MEDICA

El empleo de radioisótopo de yodo en el tratamiento de ciertos tipos de cancer de tiroides que no pueden extirparse quirúrgicamente de forma radical o que prolifera.

La terapia radioyódica no es penosa el paciente se limita a beber agua que contiene la dosis terapéutica.

Otros cánceres se tratan con rayos gamma de Co-60, por sus mejores características de radiación que los rayos X.

Las fuentes de radiación selladas, tales como Ra-226, Ir-192, Cs-137 y Co-60 se usan en braquiterapia.

ESTERILIZACION DE ARTICULOS MEDICOS

Los artículos médicos tales como vendajes quirúrgicos, suturas, catéteres y jeringas, son esterilizados generalmente por el fabricante, y muchos de estos productos, en los que entran materiales sensibles al calor, tales como bases plásticas, no pueden esterilizarse mediante el vapor o el calor seco; y la esterilización mediante el óxido de etileno u otro producto químico pueden introducir residuos indeseados y peligrosos para la salud. Para dichos productos ha resultado muy eficaz y de bajo costo la esterilización con rayos gamma procedentes del Co-60.

Los artículos a esterilizar pueden empaquetarse en envases herméticos, impenetrables a los microorganismos. La radiación gamma penetra a través del envase y alcanza a todos los componentes del objeto, por consiguiente pueden mantenerse almacenados en estado de esterilidad por un tiempo prácticamente indefinido con tal que el envase no se rompa.

Dada la dosis de esterilización usualmente aplicada, la radiación no provoca ningún aumento significativo de la temperatura por ser proceso frío, es apreciable esterilizar materiales termosensibles, por ejemplo los plásticos. Es desde luego el mejor - y, aménudo el único método para esterilizar preparados de origen biológico tales como injertos de tejidos (hueso, nervio, piel, etc.) para su uso seguro en cirugía constructiva y en operaciones de rehabilitación para tratamiento de incapacidades curables.

La radioesterilización se presenta en un proceso continuo y totalmente automatizado con un solo parámetro a controlar: el tiempo de exposición. La radioesterilización es competitiva se compara su costo con el de la esterilización con vapor a alta temperatura.

ANEXO Nº 2

TERMINOS UTILIZADOS EN LA ALIMENTACION ANIMAL

cienso : Porción de Alimento que se da a los animales á horas acostumbradas, osea la ración que corresponde a cada uno según sus aptitudes de que se regula por las condiciones fisiológicas del animal, circunstancias de clima, trabajo que efectúa, por el valor nutritivo de las materias alimenticias que entran en la composición del alimento y por otras especiales tales como carestía. Se clasifican como : Fienso de origen animal y Fienso de origen vegetal. (forrajes).

Alimentos Balanceados : Terminio que se aplica a una dieta o ración o alimento que contenga todos los nutrientes necesarios conocidos, en cantidad y proporción adecuados para satisfacer una serie de necesidades fisiológicas de un animal de acuerdo a las recomendaciones de autoridades competentes en el campo de la nutrición animal, la especie para la cual se destina y su función tal como mantenimiento y producción (crecimiento desarrollo fetal, enorde, leche, huevos, lana, plumas o trabajo debe especificarse).

Suplemento Proteico : Un alimento usado en combinación con otro para mejorar el balance nutritivo y efecto del producto resultante se destina para los siguientes usos :

- 1) Suministrarlo sin diluir como un complemento de otros alimentos.
- 2) Ofrecido a voluntad, conjuntamente con otras partes de la ración pero por separado.
- 3) Mezclado o diluido con otros materiales para producir un alimento completo.

Concentrado Proteico : Se denomina al producto que ha sido obtenido mediante un proceso u operación unitaria, cuya concentración final de proteína es mayor en relación al material original.