



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

“Radiosensibilidad de *Listeria innocua* como
marcador de *Listeria monocytogenes* en chorizo
español y el efecto de la irradiación en sus propiedades
sensoriales”

José Romero Reyes

Patrocinante

Químico (UCH)

Depto. Ciencia de los
Alimentos y Tecnología
Química

Luis López Valladares

Director

Químico Farmacéutico
(UCH)

Depto. Ciencia de los
Alimentos y Tecnología
Química

Juan Espinoza B.

Director

Químico

Comisión Chilena de
Energía Nuclear CChEN

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

Francisco Esteban Agurto Jara

Santiago, Chile

2017

DEDICATORIA

Quiero dedicarle esta memoria primero que todo a mis padres, María Luisa y Óscar, ya que, sin su educación integral, apoyo, esfuerzo, dedicación, sacrificio y por sobre todo amor, no podría haber llegado al punto en el cual me encuentro. También quiero agradecer a mi hermana Maite, por su apoyo, consejos y todo el cariño que me ha brindado.

A Constanza, aunque llegó al final de mi carrera, me ha dado la energía necesaria para poder terminar de la mejor manera este camino. Gracias por creer en mí siempre, apoyarme y estar cuando más lo necesito.

A mis amigas y amigos que conocí en la Facultad, Camila, Claudia, Flaca, Ceja, Jen, Bea, Matus, por su amistad y por todo lo que pasamos en este largo camino.

A mis amigos del colegio, alias los chaqueteros, Sebastián, Eliazar, Raúl, Nicolás (peluche), Vilches, Camilo y Nico López, por estar siempre para los momentos de distensión, los cuales son realmente necesarios. A cada uno de ustedes les digo: ¡ésta es para vos!

Y a todas las personas que pasaron por mi vida, que dejaron alguna enseñanza o algo significativo. Siempre es posible lograr un aprendizaje, independiente de cual sea la situación.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi director de tesis, Dr. Luis López, por toda la ayuda otorgada a lo largo de mi carrera, por darme la confianza para ser su ayudante y por la excelente voluntad que tuvo para guiarme en esta tesis.

A los profesores de la comisión evaluadora Alicia Rodríguez, Andrea Bunger y José Romero, por su apoyo y buena disposición en todo lo que significó este proceso.

A don Óscar Vega, técnico del laboratorio de microbiología aplicada, por su constante apoyo, buena voluntad y por toda la buena onda que siempre tuvo conmigo. Gracias también por todas las conversaciones de la vida que son siempre necesarias.

A don Juan Espinoza, jefe del departamento servicios de caracterización e irradiaciones de la CChEN, por su buena disposición a lo largo del estudio, simpatía y preocupación por que el trabajo fuera exitoso.

A Samy Silva, de la sección de salud y alimentos de la CChEN, por su excelente disposición para enseñarme y ayudar en todo lo que implicó el estudio dosimétrico.

Y a todos quienes colaboraron de una u otra forma en la realización de este estudio.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	4
ÍNDICE DE ANEXOS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT.....	10
I. INTRODUCCION.....	12
1.1. ANTECEDENTES GENERALES.....	12
1.1.1. Chorizo español.....	12
1.1.2. Peligros microbiológicos y patogenia	13
1.1.3. Situación en Chile.....	15
1.1.4. Problemas a nivel de industria de alimentos	16
1.1.5. Irradiación de alimentos	17
1.1.6. Reglamentación vigente	21
1.2. OBJETIVOS.....	23
1.2.1. Objetivo general.....	23
1.2.2. Objetivos específicos	23
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
2.1. LUGAR DE TRABAJO.....	24
2.2. MATERIAS PRIMAS	24
2.2.1. Insumos	24
2.2.2. Equipos.....	24
2.3. MÉTODOS.....	25
2.3.1. Características fisicoquímicas y microbiológicas en chorizo español ...	25
2.3.2. Sobrevida <i>L. innocua</i> en chorizo inoculado	25

2.3.2.	Evaluación dosimétrica	25
2.3.2.1.	Unidad de irradiación.....	25
2.3.2.2.	Dosimetría	26
2.3.2.3.	Preparación de la solución dosimétrica	26
2.3.2.4.	Estudio dosimétrico	27
2.3.2.5.	Medición de la dosis absorbida	27
2.3.2.6.	Determinación de la curva ajustada a la calibración	27
2.3.3.	Determinación del valor D ₁₀	28
2.3.3.1.	Contaminación de las muestras	28
2.3.3.2.	Irradiación de las muestras contaminadas con <i>Listeria innocua</i>	28
2.3.3.3.	Determinación del efecto de la irradiación	28
2.3.3.4.	Determinación del valor D ₁₀	29
2.3.4.	Evaluación sensorial	29
2.3.4.1.	Materiales para la evaluación sensorial	30
2.3.4.2.	Panel de evaluadores.....	30
2.3.4.3.	Irradiación de las muestras de chorizo español	30
2.3.4.4.	Almacenamiento de los productos.....	31
2.3.4.5.	Análisis estadístico de las evaluaciones sensoriales de los productos	31
III.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1.	Determinación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del producto.....	32
3.2.	Sobrevida de <i>L. innocua</i> en chorizo inoculado	32
3.3.	Dosimetría.....	34
3.3.1.	Caracterización Dosimétrica	34
3.3.2.	Calibración Dosimétrica	35

3.3.3. Curva de Calibración	37
3.4. Determinación del valor D_{10}	37
3.5. Evaluación sensorial	39
IV. CONCLUSIONES.....	43
V. REFERENCIAS	44
VI. ANEXOS	47
Anexo 1	47
Anexo 2	48
Anexo 3	48
Anexo 4	50
Anexo 5	51

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1

Hoja de respuesta entregada a los panelistas para el test triangular.

ANEXO 2

Recuento en muestras de chorizo a través del tiempo.

ANEXO 3

Dosis máximas y mínimas de la calibración dosimétrica para chorizo español.

ANEXO 4

- a. Hoja maestra día 0
- b. Hoja maestra día 7

ANEXO 5

- a. Día 0 (3,43 kGy)
- b. Día 0 (2,54 kGy)
- c. Día 7 (3,43 kGy)
- d. Día 7 (2,54 kGy)

RESUMEN

El chorizo español es un producto cárnico listo para el consumo, altamente apetecido por los consumidores de embutidos y carnes. Su intenso sabor y sus distintas formas de consumirlo lo sitúan en una posición privilegiada, sin embargo, es importante tener en cuenta los riesgos potenciales que podría tener el producto por una mala elaboración o por contaminación durante o posterior al proceso de fabricación, especialmente de tipo microbiológica, donde uno de los microorganismos más importantes tanto por su resistencia como por su nocividad es *Listeria monocytogenes*. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la radiación sobre *L. innocua* como marcador de *L. monocytogenes* y como afecta las propiedades sensoriales en el producto.

Fueron determinadas las características fisicoquímicas y microbiológicas del producto, midiendo pH, actividad de agua y recuento de contaminación natural del chorizo español con *L. monocytogenes*. Se determinó la sobrevida de *L. innocua* como marcador de *L. monocytogenes* en el producto inoculado durante un periodo de 11 d, almacenado en condiciones de refrigeración ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$). Se realizó la dosimetría específica para el producto a través de ensayos realizados en el Irradiador experimental de ^{60}Co , obteniendo los tiempos utilizados para cada dosis, las cuales fueron de 0,5; 1,0; 2,0 y 3,0 kGy. Se determinó el valor D_{10} y posteriormente se efectuó la irradiación del producto con dosis de $4D_{10}$ y $5D_{10}$ en el producto inoculado con *L. innocua* para ver el efecto sobre las características organolépticas del producto irradiado. El efecto en las propiedades sensoriales con las dosis utilizadas fue evaluado por un panel de 15 jueces entrenados, a través de un test triangular a los 0 y 7 d.

Los valores obtenidos para pH y a_w fueron 4,5 y 0,8432 respectivamente. En cuanto a la contaminación inicial de *L. monocytogenes* en el producto, el recuento arrojó un resultado de <10 ufc/g en todos los ensayos realizados.

Para el estudio de la sobrevivencia de *L. innocua* en el producto inoculado, se obtuvo como carga inicial en el día 0 una concentración de $1,5 \times 10^2$ ufc/g, y para el día 11 una concentración de 5×10^1 ufc/g.

A partir del estudio dosimétrico se obtuvieron las posiciones de máxima y mínima radiación, siendo las posiciones 2 y 5 respectivamente. También se establecieron los tiempos de irradiación para las distintas dosis utilizadas en este estudio, los cuales oscilaron entre 40 a 242 minutos aproximadamente.

El valor D_{10} calculado fue de 0,65 kGy para el producto inoculado con *L. innocua* como marcador de *L. monocytogenes*.

Los resultados del test triangular arrojaron diferencias significativas al día 0 para la muestra con mayor dosis de irradiación con respecto a la muestra no irradiada, mientras que la con menor dosis no mostró diferencias significativas. Los resultados del día 7 fueron iguales para las 2 muestras analizadas, los cuales no mostraron diferencias significativas entre las muestras, independiente de la dosis de irradiación.

De acuerdo a los resultados del estudio, la radiación ionizante es un buen tratamiento para productos con alta composición grasa, pero manteniendo una dosis de irradiación menor a 5 kGy, con la cual es posible obtener una reducción de microorganismos contaminantes sin afectar la calidad sensorial.

ABSTRACT

Spanish sausage is a ready-to-eat meat product highly desired by consumers of sausages and meats. Its intense flavor and its different ways of consuming it place it in a privileged position, however, it is important to take into account the potentials risks that could have the product due to poor processing or contamination during and after the manufacturing process, especially microbiological, where one of the most important microorganisms due to its resistance and harmfulness is *Listeria monocytogenes*. The objective of this study was to determine the effect of radiation on *L. innocua* as a surrogate of *L. monocytogenes* and how it affects the sensory properties in the product.

The physicochemical and microbiological characteristics of the product were determined by measuring pH, water activity and natural contamination of the Spanish chorizo with *L. monocytogenes*. The survival of *L. innocua* as a surrogate of *L. monocytogenes* in the inoculated product was determined for a period of 11 days, stored under refrigeration conditions ($4 \pm 1^\circ \text{C}$). The specific dosimetry for the product was carried out through tests performed in a ^{60}Co experimental irradiator, obtaining the required times for each dose, which were 0,5; 1,0; 2,0 and 3,0 kGy. The D_{10} value was determined and the irradiation of the product, inoculated with *L. innocua*, with doses of $4D_{10}$ and $5D_{10}$ was carried out in order to evaluate the effect on the organoleptic characteristics of the irradiated product. A panel of 15 trained judges, through a triangular test at 0 and 7 days, performed the sensory evaluation.

The values obtained for pH and aw were 4,5 and 0,8432 respectively. As for the initial contamination of *L. monocytogenes* in the product, the count had a result of $<10 \text{ CFU/g}$ in all tests performed.

For the study of survival of *L. innocua* in the inoculated product, a concentration of $1,5 \times 10^2 \text{ CFU/g}$ was obtained as initial loading on day 0 and for day 11 the contamination was reduced to $5 \times 10^1 \text{ CFU/g}$.

From the dosimetric study, the positions of maximum and minimum radiation were obtained, with positions 2 and 5 respectively. The irradiation times were also established for the different doses used in this study, which ranged from approximately 40 to 242 minutes.

The calculated D_{10} value was 0,65 kGy for the product inoculated with *L. innocua* as a surrogate of *L. monocytogenes*.

The results of the triangular test revealed significant differences at day 0 for the sample with a higher irradiation dose compared to the non-irradiated sample, while the one with the lowest dose did not show significant differences. The results of day 7 were the same for the 2 sets analyzed, which did not show significant differences between the samples, independent of irradiation dose.

According to the results of the study, ionizing irradiation is a good treatment for products with high fat composition. By using an irradiation dose of less than 5 kGy, is possible to obtain a reduction of the microbiological contamination without affecting the sensory quality.

I. INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES GENERALES

1.1.1. Chorizo español

El chorizo es un embutido crudo, de origen español, que difiere muy poco de la longaniza en cuanto a su composición. Se elabora a partir de carne picada de cerdo mezclada con sal, especias y nitrato de potasio. El producto es embutido en tripa de cerdo y atado en fracciones de 10 cm a 25 cm. Existen diferentes clases y técnicas de elaboración dependiendo de los gustos de cada país, sin embargo, todos presentan condimentos comunes como sal, ajo, especias y ají.

En términos generales se les puede clasificar en cuatro categorías:

- primera o especial, elaborados con lomo o jamón puros;
- segunda o categoría industrial, que contienen 50% de lomo o jamón de cerdo y 50% de carne de ternera;
- tercera, elaborada con un 75% de carne de vacuno y 25% de cerdo y
- cuarta o tipo económico, que lleva carne de vacuno, otros tipos de carne o sustitutos de carne, adicionadas con grasa de cerdo.

En algunos países el chorizo se vende en forma cruda requiriéndose una etapa de fritura antes de su consumo. No obstante, en el procedimiento tradicional el chorizo es desecado y ahumado, proceso en que la actividad de agua disminuye hasta un punto en que se impide el crecimiento microbiano (0,60 – 0,75). Durante el desecado ocurre la maduración del producto, que es un fenómeno bioquímico y microbiológico muy complejo, donde se presentan tres fenómenos importantes: el enrojecimiento, el aumento de consistencia y la aromatización (FAO, en línea).

En Chile, este tipo de producto se consume sin tratamiento térmico previo, por lo que sería considerado como un producto cárnico listo para el consumo.

Según las estadísticas productivas de la ODEPA, Chile se posiciona con una producción de 5,9 ton anuales aproximadas bajo el tipo de “salames y similares”,

donde se ubicaría el producto por el tipo de elaboración y tipo de producto final (ODEPA, 2016).

1.1.2. Peligros microbiológicos y patogenicidad

Entre los principales peligros que pueden afectar la inocuidad del producto, se puede citar a representantes del género *Listeria*. Se caracterizan por ser bacilos Gram positivos cortos, regulares, no esporulados ni ramificados, que suelen observarse en disposición individual o formando cadenas cortas. En cultivos viejos pueden aparecer formando filamentos de 6 mm a 20 mm de longitud. Presentan de 1 a 5 flagelos peritricos que les confieren movilidad a 28°C.

Las especies de *Listeria* están muy extendidas en el medio ambiente. Se han aislado del suelo, materia vegetal en putrefacción, aguas residuales, alimentos para animales, pollo fresco y congelado, alimentos frescos y procesados, queso, leche no procesada, desechos de los mataderos, así como en el tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos.

Entre los patógenos de este género se encuentra *L. monocytogenes*, la cual se ha aislado de variadas especies de mamíferos, aves, peces, crustáceos e insectos. No obstante, su principal hábitat es el suelo y la materia vegetal en descomposición, en la cual sobrevive y crece como saprófito. Debido a su amplia distribución, este microorganismo tiene muchas oportunidades de contaminar alimentos en distintas etapas de la producción alimentaria, siendo ésta la vía más frecuente por la que el ser humano adquiere la infección (Oteo, en línea).

Al ser ingerido el microorganismo junto con los alimentos, puede causar serias enfermedades, principalmente en grupos de alto riesgo como inmunocomprometidos, mujeres embarazadas, adultos mayores y neonatos. *L. monocytogenes* es una importante causa de abortos, septicemia o infección del sistema nervioso central. Antiguamente, los brotes se vinculaban con una gran variedad de alimentos, especialmente carnes procesadas (salchichas, paté, productos precocidos); en la actualidad, la mayoría se vinculan al consumo de leche cruda o quesos elaborados con leche sin pasteurizar.

La importancia de la listeriosis para la salud pública no siempre es reconocida, sobre todo porque es una enfermedad relativamente rara, en comparación con otras más comunes como la salmonelosis. Sin embargo, debido a su alta tasa de letalidad, la listeriosis se encuentra entre las causas más frecuentes de muerte por enfermedades transmitidas por alimentos ocupando la segunda posición, después de la salmonelosis. Los cambios en la forma de producción, almacenamiento y distribución de los alimentos han propiciado diversos brotes.

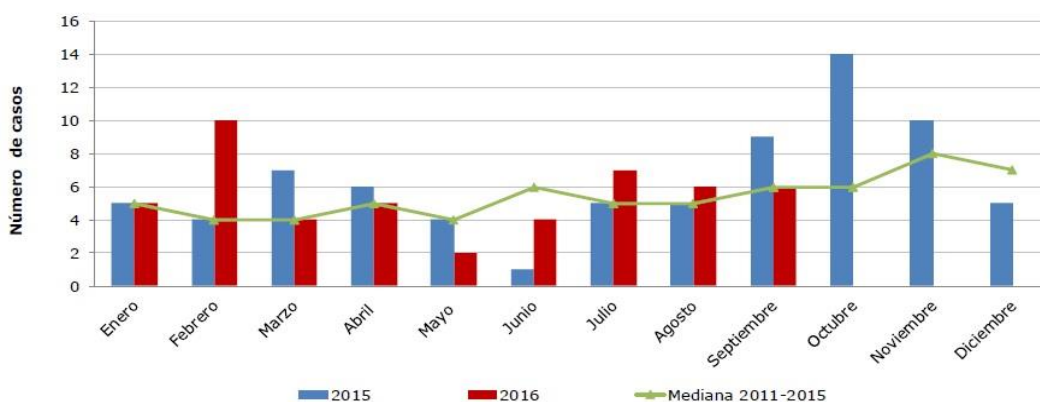
En las últimas décadas, muchos países han encaminado intensos trabajos hacia la prevención de la listeriosis; la notable reducción de su incidencia en la década del '90, sugiere una relación positiva con las medidas implementadas (Rossi et al, 2008).

Debido al peligro que significa realizar investigaciones con microorganismos patógenos y potencialmente mortales, es posible recurrir a sustitutos. Un sustituto es una bacteria que tiene características fisiológicas casi idénticas a una bacteria patógena de interés. Un sustituto útil debe tener una resistencia al calor equivalente o ligeramente mayor que el organismo objetivo, y debe encontrarse en la formulación final de un producto alimenticio. Los suplentes dan un margen de seguridad a los investigadores y evitan la exposición innecesaria a patógenos. *L. innocua* es una cepa que posee muchas de las cualidades de un excelente sustituto para *L. monocytogenes*, ya que es genéticamente la especie más cercana a *L. monocytogenes*, y ambas cepas no fueron reconocidas como especies separadas hasta 1981. Estudios genómicos comparativos entre *L. innocua* y *L. monocytogenes* han llevado al descubrimiento de 270 genes específicos para *L. monocytogenes* y 149 para *L. innocua*. Aunque las 2 especies difieren en patogenicidad, continúan compartiendo nichos ecológicos similares en el ambiente (Friedly et al, 2008).

1.1.3. Situación en Chile

En 2016, entre las semanas epidemiológicas 1 y 39, se presentaron 49 casos clínicos de listeriosis, aumentando en un 9% lo notificado en el año 2015 para el mismo periodo. Se presentaron valores por sobre la mediana en los meses de febrero, abril, julio y agosto, presentando una letalidad a la fecha de 36,7%, mayor que años anteriores. La **Figura N°1** muestra el número de casos de listeriosis en Chile en años 2015-2016.

Figura 1: Número de casos de listeriosis, según mes de inicio de síntomas. Chile, años 2015–2016 (*).



(*) Datos provisionales al 04 octubre 2016.

Fuente: Dpto. de Epidemiología, DIPLAS - Ministerio de Salud de Chile. Instituto de Salud Pública.

Según distribución geográfica, la mayor parte de los casos se ha presentado en la zona centro sur del país, desde la región de Coquimbo a Los Lagos, mientras que, en la zona norte del país, se registró un caso en la región de Tarapacá. La región Metropolitana concentró el 61% de los afectados (n=30), mostrando un alza de un 10% con respecto a igual periodo del año 2015. Otra región que aumentó el número de casos con respecto al año anterior fue Araucanía. Cabe recalcar que todos los datos otorgados pertenecen a casos clínicos de listeriosis, y no todos están estrictamente relacionados con consumo de alimentos contaminados.

La **Figura N°2** y la **Tabla N°1** muestran el número de caso de listeriosis según región de residencia (Boletín E.T, MINSAL 2016).

Tabla 1: Número de casos de listeriosis, según región de residencia. Chile, SE 1 a 39, años 2015-2016 (*).

Región	2016		2015	
	Nº casos	Porcentaje (%)	Nº casos	Porcentaje (%)
Arica y Parinacota	0	0	0	0
Tarapacá	1	2	3	7
Antofagasta	0	0	0	0
Atacama	0	0	0	0
Coquimbo	3	6	3	7
Valparaíso	2	4	4	9
Metropolitana	30	61	20	44
O'Higgins	2	4	3	7
Maule	2	4	2	4
Biobío	4	8	5	11
Araucanía	3	6	0	0
Los Ríos	0	0	3	7
Los Lagos	2	4	2	4
Aisén	0	0	0	0
Magallanes	0	0	0	0
Importado	0	0	0	0
Total país	49	100	45	100

(*). Datos provisionales al 04 octubre 2016.

Fuente: Instituto de Salud Pública; Dpto. de Epidemiología, DIPLAS - Ministerio de Salud de Chile.



Figura 2: Número de casos de listeriosis, según región de residencia. Chile, SE 1 a 39, año 2016.

1.1.4. Problemas a nivel de industria de alimentos

Las plantas procesadoras de carnes y aves deben enfocarse en prevenir la contaminación de los productos cocidos con *L. monocytogenes*. La mayor parte de la contaminación con esta bacteria en este tipo de productos cárnicos cocidos, sucede entre las etapas de cocción y empaque, por manipulación o contacto con superficies no sanitizadas adecuadamente.

La bacteria presente en las áreas de procesamiento puede ser consecuencia de ingreso a través de operarios, animales, reservorios ambientales, equipos, o

ingredientes. Junto a esto, es necesario considerar que el agente puede crecer en ambientes húmedos y fríos, como los que se encuentran en cualquier área de procesamiento, en los refrigeradores o en los pisos de los cuartos donde se efectúa el sacrificio de animales.

En todos los niveles de producción deben tomarse las medidas adecuadas para prevenir la contaminación de los productos cárnicos, lo que no es una tarea fácil, ya que *L. monocytogenes* se encuentra ampliamente distribuida en el medio ambiente. En una planta de procesamiento de alimentos no es posible eliminarla por completo del ambiente por lo que implica un riesgo potencial de contaminación de productos precocidos o Listos Para el Consumo (LPC).

La capacitación de todo el personal de la industria, incluyendo la plana directiva es otro paso indispensable para controlar el problema. Los empleados deben conocer esta bacteria, cumplir los principios básicos de higiene y sanitización y compartir el mismo sentido de responsabilidad con el personal directivo y los oficiales de las agencias reguladoras (Cutter et al, 2003).

1.1.5. Irradiación de alimentos

Entre las tecnologías aplicadas para reducir la carga microbiológica de los alimentos se encuentra la irradiación de alimentos, que corresponde a la aplicación de radiación ionizante la que asegura la inocuidad y prolonga la vida útil de los alimentos durante su comercialización. Esto se obtiene a través de la reducción o eliminación de microorganismos e insectos presentes en los alimentos (FDA, 2016).

Los principales mecanismos en que la energía radiante es aplicada a los alimentos son:

- microondas y radiación infrarroja que tiene por finalidad calentar y/o mantener a temperaturas elevadas los alimentos;
- luz visible o luz ultravioleta, utilizadas para secar alimentos o destruir a los microorganismos que se encuentran en la superficie, respectivamente y

- la radiación ionizante, como resultado de la aplicación isótopos de Cobalto (^{60}Co) o de Cesio (^{137}Cs), máquinas de rayos X, o aceleradores de electrones, todas ellas tienen la propiedad de penetrar profundamente en los alimentos, eliminando insectos y microorganismos sin elevar la temperatura de manera significativa (FSISa, 1999).

Para aplicar este tratamiento es necesario previamente efectuar un estudio dosimétrico, a fin de determinar el tiempo adecuado para obtener una determinada dosis absorbida por el producto y en base a esos resultados, calcular el valor D_{10} del microorganismo en cuestión, es decir la dosis necesaria para reducir en 1 ciclo logarítmico (90%) la concentración inicialmente presente en el producto irradiado. (Moreira *et al.* 2010)

Dentro de las aplicaciones de la radiación ionizante para tratar alimentos, destacan la radurización, radicación y radapertización. La radurización corresponde al uso de la radiación ionizante como tratamiento para prolongar la vida de almacenamiento de los alimentos, aplicando una dosis suficiente para reducir el nivel de organismos patógenos no esporados, incluyendo parásitos, hasta un nivel no detectable por cualquier método. La radicación es la destrucción de organismos patógenos que contenga el alimento mediante la exposición a la radiación ionizante. Por último, la radapertización corresponde al tratamiento de los alimentos con radiación ionizante hasta una dosis suficiente para reducir el nivel de microorganismos hasta niveles de esterilidad, de tal manera que no se detecte prácticamente ningún organismo (excepto virus) en el alimento tratado (Glosario Química, en línea).

La irradiación es una aplicación cada vez más utilizada por los países desarrollados o en vías de desarrollo para su uso en alimentos. Existen más de 200 instalaciones de radiación gamma en más de 60 países, entre los cuales destacan China, Estados Unidos, Ucrania, Canadá, Brasil (IBTEN, 2014).

En la actualidad se comercializan alrededor de 700.000 ton por año de alimentos irradiados en el mundo, lo cual constituye aún un volumen incipiente. Los

productos que se irradian con más frecuencia son las especias y otros alimentos deshidratados. Los principales países que aplican la tecnología son, en orden aproximado de volúmenes decreciente: China, Estados Unidos, República de Sudáfrica, Holanda, Japón, Vietnam, Indonesia, Francia, Hungría, Bélgica, Corea, India, México, Canadá, Brasil, Croacia, Argentina, República Checa, Dinamarca, Polonia, Turquía, Egipto, Finlandia, Indonesia, Israel, Irán, Inglaterra, Noruega, Tailandia, y Chile (CNEA, en línea).

En Chile, el organismo encargado del estudio, investigación y aplicación de la radiación ionizante es la Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN), que entre sus funciones está la de irradiar productos alimenticios, de acuerdo a protocolos establecidos.

La reglamentación vigente por la cual se rige es el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), que en su artículo 184 establece que “los alimentos irradiados son aquellos que hayan sido sometidos a tratamiento con radiación ionizante, en establecimientos autorizados y en dosis absorbida media global no superior a 10 kGy” (RSA, 2011).

Según la legislación vigente, establece 7 clases de alimentos que se pueden irradiar en Chile, con la finalidad de inhibir germinación, prolongar la vida útil, combatir plagas de insectos, reducir el número de microorganismos patógenos, entre otros. Los alimentos agrupados en clases son:

Clase 1, bulbos, raíces y tubérculos;

Clase 2, frutas y hortalizas frescas (que no pertenezcan a la clase 1);

Clase 3, cereales y sus productos de molienda, nueces, semillas de oleaginosas, leguminosas, frutas frescas;

Clase 4, pescados, mariscos crudos y productos derivados (frescos y congelados), carne de rana congelada;

Clase 5, aves y su carne cruda, así como productos derivados (frescos y congelados);

Clase 6, hortalizas secas, especias, condimentos, hierbas secas y té de hierbas y

Clase 7, alimentos deshidratados de origen animal.

Como se describió anteriormente, la dosis máxima a aplicar es de 10 kGy (RES 636, 2014). Cabe mencionar que, entre las clases de alimentos establecidas en esta resolución, no se encuentran contempladas las carnes rojas, posiblemente debido a su alto contenido graso.

Los efectos de la radiación ionizante sobre los alimentos dependen de la composición de éstos y se evidencian a través de sus características organolépticas. Los cambios en el sabor se han señalado como una de las consecuencias del tratamiento y una de las causas de la alteración. Aparentemente este cambio está íntimamente relacionado con la concentración de grasa del producto, y se ha descrito que podría estar relacionada con la supervivencia de los microorganismos. Esto haría que no sea recomendable la irradiación de los alimentos grasos. Sin embargo, hace tiempo que se ha descartado la concentración de grasa como un elemento determinante en la supervivencia microbiana, especialmente de los patógenos. En consecuencia, estos efectos no afectarían a la seguridad del alimento, siempre que el producto sea mantenido con posterioridad en refrigeración (Eroski, en línea).

La oxidación de la grasa es directamente proporcional a la cantidad de radiación recibida y a la calidad de la misma. En este sentido, es más sensible la grasa del pescado que la de la carne, puesto que la grasa del pescado es altamente insaturada, lo que la hace más sensible a la acción de la oxidación, sea cual sea el elemento desencadenante. En cualquier caso, como medida preventiva, parece necesario que el límite del tratamiento sea una dosis no superior a 5 kGy. Por

sobre esta dosis es posible que se evidencien signos de alteración de la grasa, especialmente en alimentos sensibles. Por otra parte, es posible que la irradiación afecte a la calidad proteica de los alimentos. Cuando la dosis es inferior a 5 kGy, la composición y características de los alimentos no suelen verse afectadas. Sin embargo, cuando esta dosis se incrementa hasta 10 kGy puede apreciarse un cambio en la composición de aminoácidos. Además, esta composición se ve modificada, aún más, durante el almacenamiento previo al consumo (Dvořák et al, 2004).

1.1.6. Reglamentación vigente

Considerando que se debe garantizar la inocuidad de los productos que llegan al consumidor, el RSA en el artículo 174, establece para los alimentos LPC, que sería el caso del chorizo español, 5 parámetros que deben ser considerados para establecer si un alimento favorece o no el desarrollo de *Listeria monocytogenes*. Los que no favorecen el crecimiento pueden ser:

- pH menor o igual a 4,4;
- actividad de agua (aw) menor o igual a 0,92;
- combinación de pH y aw, con pH menor o igual de 5,0 y con aw, menor o igual a 0,94;
- congelación, siempre que esta condición se mantenga durante todo el período, hasta antes de ser consumido y
- vida útil en refrigeración por un lapso de menos de 5 días.

De acuerdo a esta clasificación se han establecido los criterios microbiológicos para *L. monocytogenes* en alimentos LPC

Tabla N°2: Criterios microbiológicos para *Listeria monocytogenes*.

1. Alimentos LPC que **no** favorecen el desarrollo

Parámetro	Plan de muestreo		Límite por gramo			
	Categoría	Clases	n	c	m	M
<i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/g)	10	2	5	0	100	---

2. Alimentos LPC que favorecen el desarrollo

Parámetro	Plan de muestreo		Límite por gramo			
	Categoría	Clases	n	c	m	M
<i>Listeria monocytogenes</i> en 25 g	10	2	5	0	0	---

3. Alimentos LPC destinados a infantes menores de 12 meses de edad

Parámetro	Plan de muestreo		Limite por gramo			
	Categoría	Clases	n	c	m	M
<i>Listeria monocytogenes</i> en 25 g	11	2	10	0	0	---

En base a lo expuesto anteriormente, en este estudio se propone determinar la radiosensibilidad de la *Listeria innocua* como marcador de *Listeria monocytogenes*, en muestras de chorizo español y evaluar el efecto que pueda tener este proceso en la calidad microbiológica y las características organolépticas del producto.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

- Determinar el efecto de la radiación ionizante sobre *Listeria innocua* como marcador de *Listeria monocytogenes* y sobre las propiedades sensoriales del chorizo español.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar características fisicoquímicas (pH y aw) y microbiológicas (recuento *Listeria monocytogenes*) en chorizo español.
- Estudiar la sobrevida en el tiempo de *L. innocua* como marcador de *L. monocytogenes* en el producto inoculado.
- Establecer la dosimetría para el producto en estudio.
- Determinar el valor D_{10} para *Listeria innocua* como marcador de *Listeria monocytogenes*.
- Evaluar las propiedades sensoriales del producto irradiado, mediante un panel sensorial entrenado.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LUGAR DE TRABAJO

La presente investigación fue realizada en los laboratorios de Microbiología Aplicada y de Evaluación sensorial de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile y en las Plantas de irradiación de la Comisión Chilena de Energía Nuclear (CChEN), sede La Reina y Lo Aguirre.

2.2. MATERIAS PRIMAS

2.2.1. Insumos

- Chorizo español, 100 g por unidad, marca Embutidos Alejandro, otorgado por la empresa
- Cepa de *Listeria innocua*
- Agar TSA (Tryptic soy agar)
- Caldo TSB (Tryptic soy broth)
- Agar Listeria (base) según OTTAVIANI y AGOSTI
- Suplementos Agar Listeria (base) según OTTAVIANI y AGOSTI
- Jeringas de 5 ml
- Mango bisturí n°4
- Hojas para bisturí n°24

2.2.2. Equipos

- Irradiador ⁶⁰Co Gammacell 220-R
- Autoclave
- Estufa de cultivo marca LabTech
- Agitador Vortex Mixer marca Vision
- Espectrofotómetro Perkin Elmer
- Otros equipos y materiales de trabajo en Laboratorio de Microbiología Aplicada

2.3. MÉTODOS

2.3.1. Características fisicoquímicas y microbiológicas en chorizo español

Para determinar las características fisicoquímicas del producto, se realizaron mediciones de pH y actividad de agua (aw). Para el caso del pH, se realizaron 3 mediciones utilizando papel tornasol o papel pH 0-14 marca DF. Para medir la aw, se realizaron 3 mediciones en el analizador de actividad de agua AquaLab. Para determinar la carga microbiana presente en el producto listo para su comercialización, se efectuó el recuento de *Listeria monocytogenes* en el chorizo español utilizando agar Listeria (base) según OTTAVIANI y AGOSTI de acuerdo a la NCh 2657/2 Of2007. (INN, 2007). Los ensayos se realizaron en triplicado en el Laboratorio de Microbiología Aplicada de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

2.3.2. Sobrevida *L. innocua* en chorizo inoculado

Para determinar la sobrevida de la bacteria en el producto sin irradiar, se realizó un estudio durante 11 d. Se hicieron mediciones de contaminación de cada muestra a los días 0, 4, 7 y 11. Cada muestra se inoculó con una dosis de 10^4 ufc/ml, y por ser muestras de 50 g, la concentración inicial en todas las muestras fue de 10^2 ufc/g. Las muestras se almacenaron en condiciones de refrigeración ($4\pm 1^\circ\text{C}$). Se realizaron los recuentos de acuerdo a la NCh 2657/2 Of2007 (INN, 2007).

2.3.2. Evaluación dosimétrica

2.3.2.1. **Unidad de irradiación**

Los ensayos para la determinación de las dosis de irradiación se realizaron en la Comisión Chilena de Energía Nuclear, utilizando el irradiador de ^{60}Co Gammacell 220-R. El irradiador de Cobalto es de tipo batch, posee una cámara con capacidad de 3,86 l. La fuente de irradiación está protegida por un blindaje de concreto de alta densidad y la unidad completa tiene un peso total de 4 ton (Gammacell, 1978). En la **Figura 1** se muestra el irradiador de ^{60}Co Gammacell 220-R.



Figura 1. Irradiador experimental de ^{60}Co Gammacell 220-R.

2.3.2.2. Dosimetría

La dosimetría es el estudio que se utiliza para determinar la dosis de la irradiación absorbida por el producto de acuerdo a una cierta forma geométrica, determinada dentro del espacio del contenedor. El sistema dosimétrico utilizado fue el dosímetro de Fricke, el cual es una solución acuosa de Sulfato Ferroso de Amonio y Cloruro de Sodio, que calibra campos de irradiación y mide la irradiación absorbida, de acuerdo a la norma ASTM E 1026-95 (ASTM, 1995).

2.3.2.3. Preparación de la solución dosimétrica

Para preparar el dosímetro de Fricke se utilizó una solución de ácido sulfúrico 0,4 M, sulfato ferroso de amonio y cloruro de sodio, disueltos en agua tridestilada y se llenaron en ampollas de 2 ml (ASTM, 1995).

Los rayos Gamma en contacto con la solución, oxidaron el ión ferroso a ión férrico, provocando un cambio en la densidad óptica de la solución, la que fue medida en un espectrofotómetro Perkin Elmer.

2.3.2.4. Estudio dosimétrico

Para el estudio dosimétrico en el irradiador de ^{60}Co se utilizaron 4 muestras de 50 g aproximadamente (la mitad de un chorizo). Las muestras fueron puestas dentro de bolsas plásticas selladas, las cuales a su vez fueron ubicadas en un contenedor de vidrio (vaso precipitado de 2 l) y éste sobre una plataforma de poliestireno expandido para que pudiera quedar al centro del irradiador. Junto con las muestras se dispusieron cinco dosímetros, tal como se muestra en la **Figura 2**. Una vez definidas las posiciones de los dosímetros, se irradió durante 9, 18 y 27 min, cambiando dosímetros en cada tiempo. Esta determinación se realizó en triplicado.

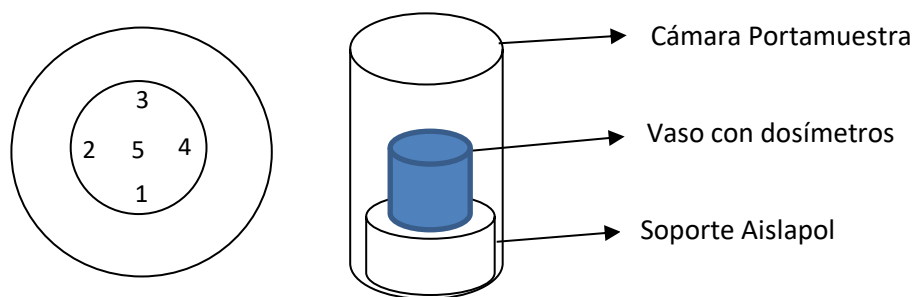


Figura 2. Diagrama de la geometría de irradiación y disposición de los dosímetros para la medición de dosis.

2.3.2.5. Medición de la dosis absorbida

Se determinó por medición en la densidad óptica en el espectrofotómetro utilizando una longitud de onda de 302,4 nm y los datos de densidad óptica fueron transformados a dosis absorbida según las normas ASTM D 2954-71 (ASTM, 1977) y ASTM E 1026-95 (ASTM, 1995).

2.3.2.6. Determinación de la curva ajustada a la calibración

El propósito del estudio fue obtener dentro del volumen, los puntos de dosis máxima y mínima de radiación, para luego construir una curva de calibración ajustada, que relaciona la dosis de radiación absorbida con el tiempo de medición de los puntos determinados. De esta manera se obtiene la ecuación que permite determinar el tiempo de irradiación necesario para una dosis específica.

2.3.3. Determinación del valor D₁₀.

El valor D₁₀ o de reducción decimal, corresponde a la dosis de energía ionizante necesaria para reducir en un ciclo logarítmico el número de microorganismos presentes en un alimento. Con este valor es posible calcular las dosis de 4D₁₀ y 5D₁₀, que se utilizaron para irradiar el producto final y determinar el efecto en las propiedades sensoriales del producto con respecto a un producto no irradiado.

2.3.3.1. Contaminación de las muestras

La contaminación de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología Aplicada de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile. La contaminación fue realizada con 1 ml de inóculo *L. innocua*, extraído con jeringa del tubo contenedor, en una concentración de 10⁸ ufc para 50 g de muestra. Al ser muestras de 50 g, la concentración inicial por gramo de producto fue de aproximadamente 10⁶ ufc. Se inyectó en forma longitudinal 1 ml del inóculo esparciéndolo de forma uniforme dentro de la muestra. Luego se dispuso cada muestra dentro de una bolsa plástica y se selló al vacío. Las muestras fueron transportadas a la planta de irradiación en un cooler con gelpack para inhibir el crecimiento bacteriano y mantener las condiciones en las que se efectuó la inoculación en el laboratorio.

2.3.3.2. Irradiación de las muestras contaminadas con *Listeria innocua*

Con las ecuaciones obtenidas de acuerdo al punto 2.3.3.6, se calculó el tiempo para dosis de 0,5; 1,0; 2,0 y 3,0 kGy.

2.3.3.3. Determinación del efecto de la irradiación

Las muestras irradiadas fueron transportadas en un cooler con gelpack al Laboratorio de Microbiología Aplicada de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, donde se realizó el recuento de *Listeria innocua* utilizando Agar Listeria (base) según OTTAVIANI y AGOSTI e incubando las placas a 35°C durante 24 h a 48 h, según BAM (FDA, en línea).

2.3.3.4. Determinación del valor D_{10}

Se calculó el valor D_{10} para *Listeria innocua* en base a los datos obtenidos expresados en \log_{10} , los cuales se graficaron versus la dosis de radiación absorbida (kGy).

2.3.4. Evaluación sensorial

Para determinar si se perciben diferencias entre las muestras sin irradiar y las muestras irradiadas, se realizó un test triangular al tiempo cero (recién irradiado) y a los siete días de almacenamiento en condiciones de refrigeración ($4\pm 1^\circ\text{C}$). Este test es efectivo para determinar si existen diferencias en el producto debido a cambios en los ingredientes, procesos, empaques o almacenamiento, lo que en este caso se debería al añadir un proceso para asegurar la inocuidad del alimento (Meilgaard, 1999).

Para realizar el test triangular, se entregaron a los panelistas muestras de chorizo español estandarizadas de 10 g cada muestra aproximadamente.

En el test triangular, cada panelista recibió una bandeja con un trío de dos muestras iguales y una distinta, conformados por la muestra irradiada y el patrón en forma aleatoria, las muestras estaban codificadas en forma numérica y al azar. También recibieron una hoja de respuestas para realizar el test (**Anexo 1**). Los panelistas evaluaron las tres muestras marcando la muestra diferente en el trío. Luego recibieron un segundo trío con dos muestras iguales y otra distinta, esta vez con una dosis más alta en las muestras irradiadas. En el test triangular no se especifica cual es la diferencia entre las muestras y en caso de no encontrar la muestra diferente dentro del trío, el panelista debe marcar obligatoriamente una de las opciones en la hoja de respuesta. El test tiene una probabilidad de aciertos de $1/3$ ($p = 1/3$) a causa del azar (Wittig de Penna, 1981). Las muestras fueron ubicadas como se muestra en la **Figura 3**.

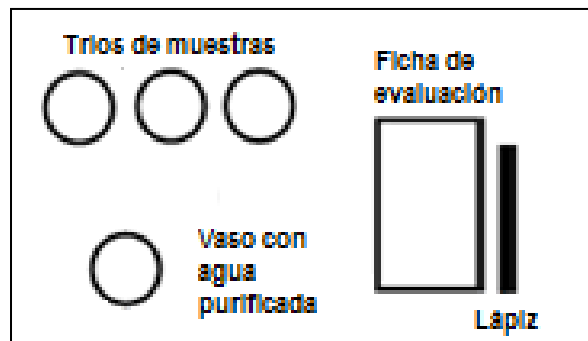


Figura 3. Diagrama de la bandeja entregada a los panelistas.

2.3.4.1. Materiales para la evaluación sensorial

Las muestras fueron enviadas desde la planta de elaboración a la planta de irradiación días antes de realizar la evaluación sensorial, para una vez irradiadas ser enviadas al laboratorio donde se realizó la evaluación.

Para la evaluación sensorial se utilizaron 20 muestras de chorizo de 10 g irradiados y 20 muestras de chorizo de 10 g sin irradiar para el control. Las muestras se mantuvieron en refrigeración ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$), hasta el momento de la evaluación.

2.3.4.2. Panel de evaluadores

El panel de evaluadores para el estudio sensorial fue de 15 panelistas entrenados, de ambos sexos, pertenecientes a la carrera de Ingeniería en Alimentos de la Universidad de Chile.

2.3.4.3. Irradiación de las muestras de chorizo español

Se aplicaron dos dosis distintas de irradiación en dos sets de muestras de chorizo español para su evaluación. La muestra M1 fue irradiada con 3,43 kGy, mientras la muestra M2 fue irradiada con 2,54 kGy. Estas dosis correspondientes a $4D_{10}$ y $5D_{10}$, fueron seleccionadas ya que implican una reducción de 4 y 5 ciclos logarítmicos, respectivamente. Esto aseguraría cumplir con la reglamentación vigente en el caso de que el producto presentara una contaminación con *L. monocytogenes*.

2.3.4.4. Almacenamiento de los productos

Tanto las muestras irradiadas como los controles sin irradiar, se refrigeraron a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ y se evaluaron sensorialmente al tiempo cero (día de la irradiación) y a los 7 d.

2.3.4.5. Análisis estadístico de las evaluaciones sensoriales de los productos

Se aplicó un análisis de resultados mediante el análisis de χ^2 y el análisis por tablas de mínimos juicios correctos. En ambos casos se compararon los resultados obtenidos con los datos tabulados, para ver si existen o no diferencias significativas entre las muestras.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación de las características fisicoquímicas y microbiológicas del producto

Para medir el pH del producto, se realizaron 3 mediciones de acuerdo a lo señalado en 2.3.1. La medición arrojó un pH de 4,5 en las 3 mediciones realizadas. En cuanto a la medición de actividad de agua, los resultados arrojaron un promedio de $0,8432 \pm 0,01$, por lo que, según lo revisado en la bibliografía, el producto no permitiría el desarrollo de *L. monocytogenes*, ya que se encuentra bajo el límite de a_w en que se favorece el crecimiento del microorganismo (RSA, 2011).

Se realizaron ensayos preliminares en el producto para determinar la contaminación por *Listeria monocytogenes*. Se efectuaron 3 recuentos en triplicado, obteniendo < 10 ufc/g en todos ellos, consiguiendo determinar con esto la calidad microbiológica inicial del producto.

3.2. Sobrevida de *L. innocua* en chorizo inoculado

Se realizaron los recuentos en cada muestra de chorizo inoculado no irradiado a los tiempos indicados. La concentración al día 0, recién inoculada la *Listeria innocua*, fue de 10^2 ufc/g. Luego, se observó una clara disminución en la concentración de *Listeria*, en muestras de chorizo, manteniéndolas en condiciones de refrigeración ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). En la **Tabla N°3** se puede observar los recuentos del microorganismo, expresado en log ufc/g, en los días analizados (**Anexo 2 (a)**).

Tabla N°3: Concentración de inóculo en el tiempo.

	Día 0	Día 4	Día 7	Día 11
Concentración promedio (log ufc/g)	2,2	1,9	1,7	1,7
DS	0,2	0,5	0,3	0,3

DS: desviación estándar proveniente de 3 réplicas

De la tabla anterior, se pudo obtener el siguiente gráfico:

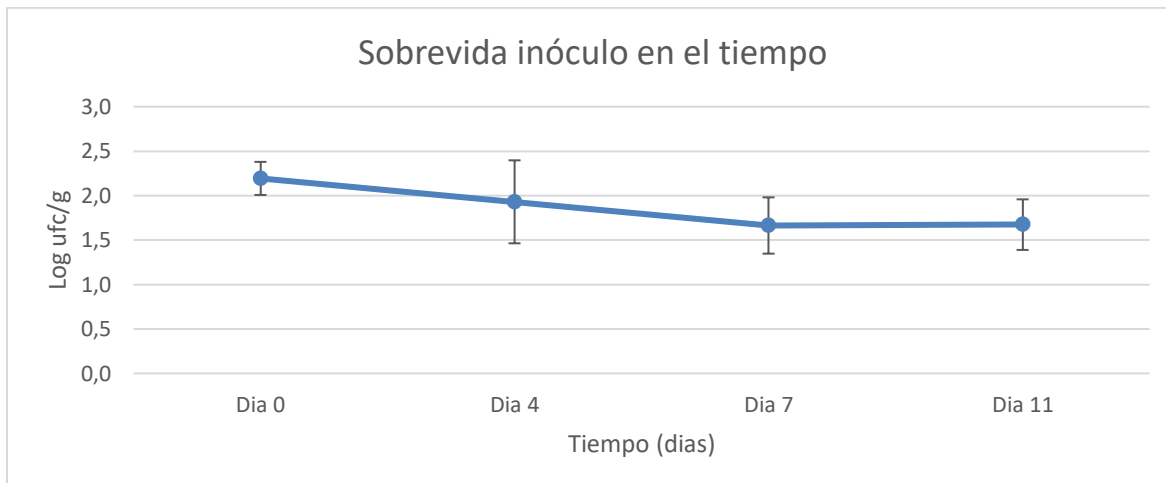


Gráfico N°1. Sobrevida del inóculo, expresado como concentración (log ufc/g) en el tiempo (d). Desviación estándar proveniente de 3 réplicas.

La concentración disminuyó paulatinamente en el tiempo hasta llegar a un punto en el que se mantuvo. Como se pudo apreciar anteriormente, el valor experimental obtenido de actividad de agua (a_w) fue de 0,84, lo que no permite el desarrollo del microorganismo, por lo que la disminución en la concentración de inóculo era de esperarse (RSA, 2011).

Es importante buscar en la literatura o en alguna base de datos productos similares para poder efectuar una buena comparación. Para este propósito, la base de datos disponible en el portal ComBase, actualmente contiene más de 8.000 registros de experimentos sobre el comportamiento de *Listeria* (*L. innocua* y *L. monocytogenes*) en diferentes matrices (medio de cultivo y diversos alimentos). Así es posible revisar la evolución de *L. monocytogenes* inoculado en alimentos como carne cruda, pollo o jamón, estableciendo condiciones de almacenamiento, empaque, entre otras. Para el caso de la carne cruda, es posible observar una leve disminución en la concentración de *Listeria*, pasando de 5,26 log ufc/g en tiempo 0 a 3,88 log ufc/g luego de 800 h. En el caso de la pechuga de pollo cruda, la concentración de *Listeria* aumenta visiblemente, pasando de 6,21 log ufc/g en tiempo 0 a 8,64 log ufc/g luego de 330 h. Finalmente, para el caso de salame del

tipo cremonese, la concentración de *Listeria* se mantuvo constante en el tiempo, con un valor de 4,01 log ufc/g, incluso luego de 9 h. Cabe destacar que los productos buscados estaban en condiciones de almacenamiento muy similares, entre 0 y 4°C aproximadamente (ComBase Browser, en línea).

3.3. Dosimetría

3.3.1. Caracterización Dosimétrica

Mediante el mapeo dosimétrico, se determinó la dosis absorbida por el producto en el irradiador de ⁶⁰Co. Se irradiaron las muestras en las posiciones mencionadas en el punto 2.3.2.4. Las muestras de chorizo español fueron irradiadas junto a los dosímetros de Fricke; se realizó en triplicado a un tiempo de exposición de 5 min, para determinar las posiciones de dosis máxima y mínima en las condiciones de trabajo. Los primeros resultados correspondieron a la lectura de los blancos, dosímetros de Fricke no sometidos a irradiación, mostrados en la **Tabla N°4**.

Tabla N°4: Lectura de blancos de la caracterización dosimétrica.

BLANCO	D.O. Leida	T °C	D.O Correg,
1	0,00000	14,1	0,00000
2	0,00000	14,1	0,00000
3	0,00000	14,2	0,00000
4	0,00000	14,1	0,00000
5	0,00000	14,2	0,00000
Promedio	0,00000	14,1	0,00000

Las siguientes son las lecturas dosimétricas de las densidades ópticas de trabajo y las dosis absorbidas, los cuales se muestran en la **Tabla N°5**.

Tabla N°5: Determinación de dosis absorbida por las muestras de chorizo español en 5 minutos.

Posición	D.O leida	T °C	D.O. Correg,	Dosis (Gy)
1	0,4952	14,8	0,5333	148,29
	0,5027	14,7	0,5418	150,65
	0,4838	15	0,5202	144,66
2	0,5044	14,7	0,5436	151,16

	0,4935	14,6	0,5322	148,00
	0,4835	14,9	0,5203	144,68
6	0,4961	14,9	0,5338	148,45
	0,4813	14,7	0,5187	144,24
	0,4837	14,7	0,5213	144,96
4	0,4927	15	0,5298	147,32
	0,4905	15	0,5274	146,66
	0,4957	15,2	0,5322	147,99
5	0,4759	15,3	0,5106	141,98
	0,4685	15,1	0,5034	139,98
	0,4586	15,4	0,4916	136,71

Utilizando los resultados obtenidos, se obtuvo el siguiente gráfico:

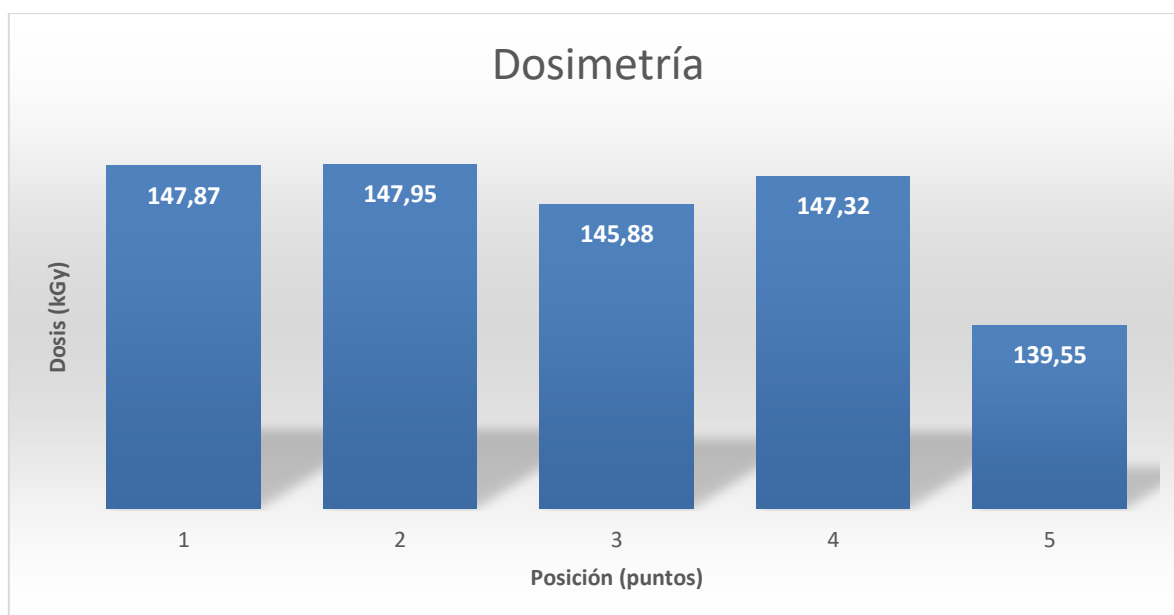


Gráfico N°2. Puntos de máxima y de mínima absorción.

De acuerdo a estos resultados, se determinó que la posición de dosis máxima para las muestras de chorizo español fue la posición 2 y la dosis mínima fue la posición 5, con una dosis de irradiación de 147,95 kGy y 139,55 kGy respectivamente.

3.3.2. Calibración Dosimétrica

Para poder controlar el proceso de irradiación se realizó una curva de calibración, para lo cual se irradiaron dosímetros en las posiciones de dosis máxima y mínima.

En el **Tabla N°6** se encuentran las lecturas de los blancos sin irradiar de los dosímetros utilizados.

Tabla N°6: Lectura de los blancos de la calibración dosimétrica para chorizo español.

BLANCO	D.O. Leida	T °C	D.O Correg,
1	0,0633	13,2	0,0690
2	0,0773	13,1	0,0843
3	0,067	13,2	0,0730
4	0,067	13,4	0,0729
5	0,067	13,3	0,0729
PROMEDIO	0,0683	13,3	0,0744

Los resultados de las dosis absorbidas, a tiempos 9, 18 y 27 min con los que se realizó la curva ajustada de calibración, se encuentran en el **Anexo 4 (a)**.

Los tiempos de irradiación fluctuaron entre 40,12 y 241,67 min, dependiendo de la dosis, según muestra la **Tabla N°7**.

Tabla N°7: Tiempos de irradiación para chorizo español.

Chorizo Español	
Dosis (KGy)	Tiempo (min)
0,5	40,12
1	80,43
2	161,05
3	241,67

La uniformidad es la razón entre la dosis máxima y la mínima. Para este estudio dosimétrico se obtuvo una uniformidad de dosis de 1,07, valor que señala una homogeneidad en la dosis absorbida. La **Tabla N°8** muestra los valores de dosis máxima, mínima y la uniformidad del proceso.

Tabla N°8: Dosis máxima, mínima y promedio de exposición para chorizo español obtenidas a distintos tiempos de irradiación.

Tiempo (min.)	Dosis (Gy)			Uniformidad
	Máxima	Mínima	Promedio	
9	117,27	108,82	113,0	1,08
18	234,66	219,8	227,2	1,07
27	348,31	324,33	336,3	1,07
			Uniformidad promedio	1,07

3.3.3. Curva de Calibración

El gráfico de la curva de calibración muestra el promedio ajustado de la dosis mínima y máxima.

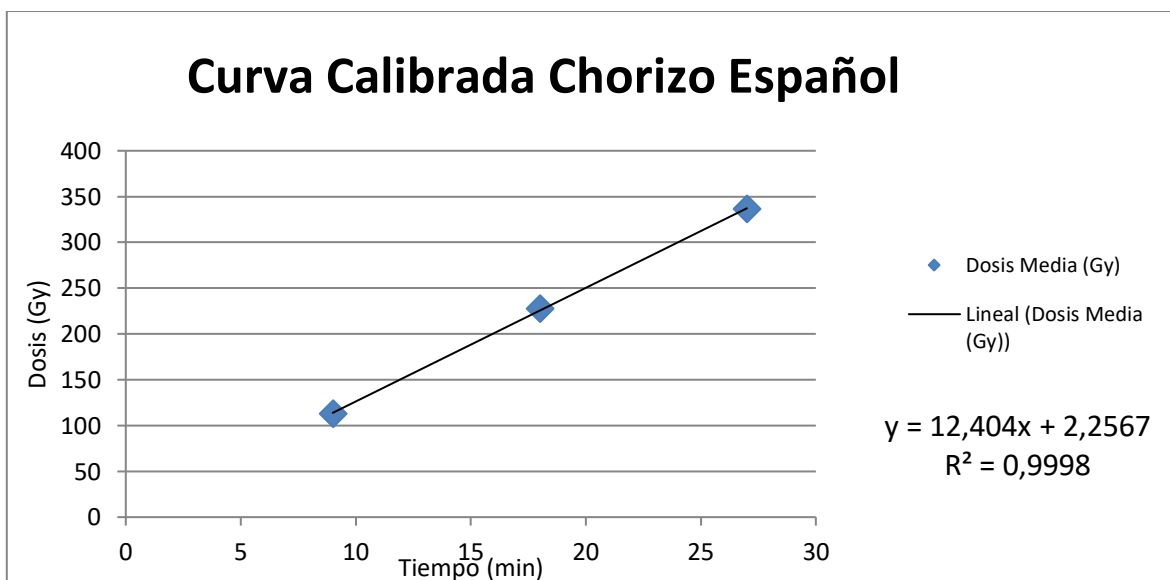


Gráfico N°3. Curva de calibración ajustada para chorizo español.

Con este gráfico fue posible obtener la ecuación que modela el tiempo necesario para conseguir la dosis de irradiación requerida.

3.4. Determinación del valor D_{10}

Los datos para la obtención de la curva ajustada y determinación del valor D_{10} de la cepa *Listeria innocua* se presentan en la **Tabla N°9** y **Gráfico N°3**.

Tabla N°9. Valor D₁₀ para *Listeria innocua* en chorizo español

Dosis (kGy)	Media (log ufc/g)	D ₁₀ (kGy)
0	5,37 ± 0,1	0,65 ± 0,05
0,5	4,67 ± 0,1	
1	3,76 ± 0,2	
2	2,46 ± 0,2	

Desviación estándar proveniente de 2 mediciones

Utilizando los resultados obtenidos, se obtuvo el siguiente gráfico:

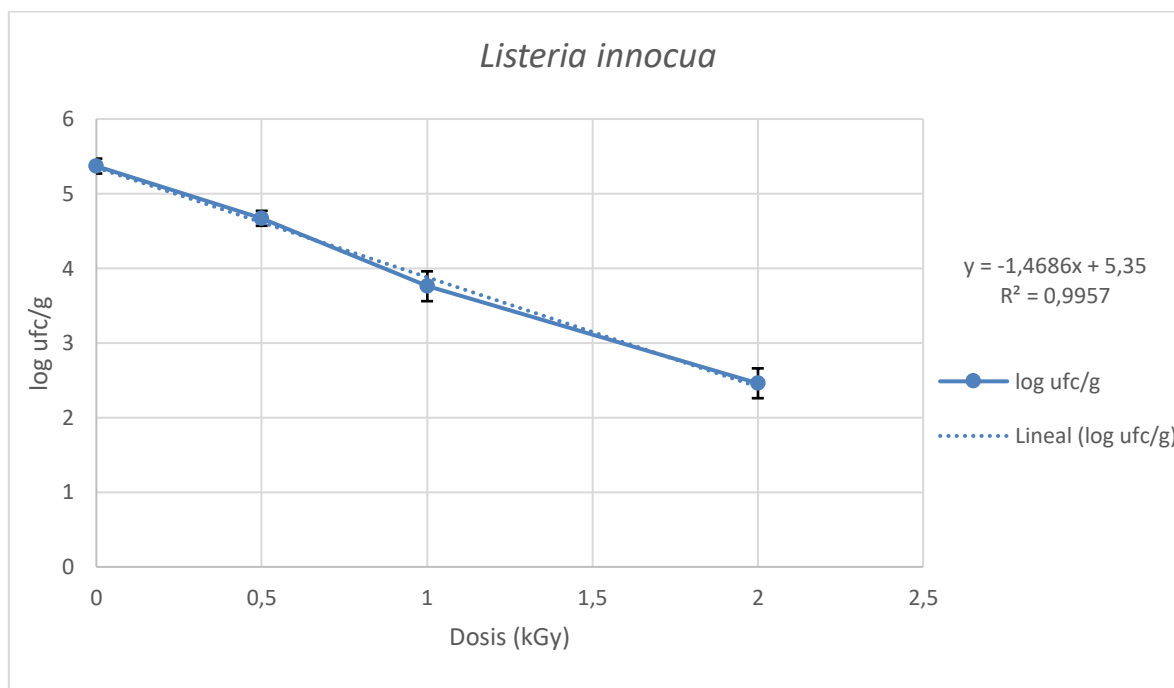


Gráfico N°4. Curva ajustada para la determinación del valor D₁₀ para *Listeria innocua*. Desviación estándar proveniente de 3 réplicas.

El valor D₁₀ obtenido para *Listeria innocua* en chorizo español fue de 0,65 kGy.

De acuerdo a lo encontrado en la bibliografía, el valor D₁₀ informado para *Listeria monocytogenes* para productos de origen cárnico fluctúa entre 0,4 a 0,64 kGy. Comparando el valor D₁₀ obtenido de forma experimental con el valor referencial, podemos apreciar que es un valor bastante cercano, el cual pudo verse afectado por la diferencia en el producto, ya que el valor referencial es para productos cárnicos en general, en cambio el valor experimental es lo obtenido en chorizo

español, un producto cárnico embutido y con buena presencia de grasa en su composición (FSISb, 1999).

Es importante aclarar que, si bien se realizaron mediciones con una dosis de 3,0 kGy, ésta no se utilizó para la obtención de la curva ajustada y la determinación del valor D_{10} , ya que al aplicar esta dosis no se pudieron realizar recuentos de acuerdo al procedimiento (límite de detección <100 ufc/g), por lo tanto, se debía informar un recuento < 100 ufc/g, lo que afectaba directamente la construcción de la curva.

Comparando el valor D_{10} obtenido con otros datos bibliográficos de productos similares, se aprecian valores bastante cercanos. En el caso del estudio de irradiación en pechuga de pollo y carne cruda cortada para ver los efectos de sobrevivencia de *L. monocytogenes*, los valores D_{10} obtenidos para estos productos fueron 0,599 y 0,699 kGy respectivamente. Los distintos los valores D_{10} obtenidos en estos productos pueden estar asociados a las diferencias en su composición química y física (Gursel and Gurakan, 1997).

También es conveniente comparar los valores D_{10} con otro tipo de producto. En cuanto a productos vegetales, existe un gran rango de valores D_{10} dependiendo del tipo de producto y de su forma o medio de empaque. Algunos ejemplos son: Zanahoria 0,66 kGy, zanahorias con aire 0,36 kGy, zanahorias con AM 0,17 kGy, células vegetales altamente resistentes 0,28 – 0,58 kGy, achicoria 0,24 kGy, brotes de soya 0,4 kGy, mix de ensalada (tomate cherry, zanahoria, lechuga y repollo) 0,23 kGy (IAEA, 2006).

3.5. Evaluación sensorial

Se realizaron 2 test triangulares para poder determinar de manera organoléptica si existieron cambios sensoriales del chorizo español sometido a 2 dosis distintas de irradiación. Las dosis están consignadas como $5D_{10}$ (3,43 kGy) y $4D_{10}$ (2,54 kGy). Con estas dosis se asegura la disminución de la posible contaminación de *L.*

monocytogenes sin ser lo suficientemente altas para generar problemas en la calidad sensorial (Dvořák et al, 2004).

Es importante recalcar que todas las muestras utilizadas para la evaluación sensorial no estaban contaminadas con *Listeria*, independiente si fueron irradiadas o no.

Los datos obtenidos de los test triangulares están tabulados en el **Anexo 4 (a, b)**, los cuales muestran las hojas maestras de los días 0 y 7. Las letras marcadas con negritas indican la elección que hizo el juez, que en caso de ser correcta (que haya elegido la letra distinta) se contabiliza como acierto, el cual está marcado con sombreado de celda; y en el caso contrario, se contabiliza como falta.

La **Tabla N°10** muestra el resumen de los resultados obtenidos:

Tabla N°10. Resultados test triangular (15 juicios totales por test)

Tiempo (d)	Aciertos dosis (3,43 kGy)	Aciertos dosis (2,54 kGy)	Mínimo de aciertos para dif. sig. ($p \leq 0,05$)	Mínimo de aciertos para dif. sig. ($p \leq 0,01$)
0	11**	6	9	10
7	6	5	9	10

*Diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

**Diferencias significativas ($p \leq 0,01$)

Según los resultados obtenidos, para el día 0, el test triangular concluyó que para la dosis 2,54 kGy, no existieron diferencias significativas entre las muestras, lo que manifiesta que la aplicación de ésta dosis de irradiación en las muestras de chorizo no altera sus propiedades organolépticas al punto de ser percibidas por el consumidor. En el caso de la dosis 3,43 kGy, si existieron diferencias significativas entre las muestras, con una significancia de 1%, lo que indica que, al aplicar esta dosis de irradiación, el panel nota la diferencia de esta muestra contra una no

irradiada (**Anexo 5 (a, b)**). La mayoría de los jueces que acertaron en encontrar la muestra diferente expresó que la diferencia se percibía en el sabor, teniendo las muestras irradiadas un sabor más intenso o fuerte, incluso más picante.

En el caso del día 7, tanto en la dosis 3,43 kGy como en la dosis 2,54 kGy, no se encontraron diferencias significativas entre las muestras. Esto manifiesta que, pasados los 7 días en que el producto se almacenó en condiciones de refrigeración, no existen diferencias notorias de sabor, textura o color en ambas muestras de chorizo español, independiente de la dosis irradiada (**Anexo 5 (c, d)**). Es posible que luego de estos días de almacenamiento los sabores se hayan equilibrado, o que el aumento en la intensidad de sabor se haya regulado. Estos resultados abren la posibilidad a una nueva investigación en la que se pueda seguir estudiando este tema.

De acuerdo a datos bibliográficos de productos similares al estudiado, ya que no existen específicamente para productos como el chorizo, hay muchos casos donde la irradiación de estos alimentos no afecta la calidad sensorial del producto final. Como el caso de un estudio realizado a nuggets de pollo irradiados, con el fin de eliminar microorganismos patógenos. En este caso, los resultados obtenidos en el análisis sensorial no mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en los atributos estudiados, entre las muestras irradiadas con 1,5 kGy y las del grupo control (no irradiadas), incluso al día 60 post irradiación (Kaempffer et al, 2005). También se obtuvo el mismo resultado un estudio sobre la irradiación de carne molida de res destinada para la elaboración de hamburguesas, en el cual no se mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre la muestra tratada y el control (Salgado F., 2009). Otro estudio dedicado exclusivamente a la evaluación sensorial de pescado merluza, por un panel de expertos compradores, reveló que, al momento de elegir, los expertos prefirieron los pescados irradiados por sobre los controles no irradiados, aunque para efectos estadísticos, no existieron diferencias significativas (Lescano G., 1989).

Con estos resultados, es posible ratificar la efectividad del tratamiento, ya que con dosis de mediana intensidad, es posible disminuir la carga microbiológica de forma

considerable sin alterar el producto organolépticamente. También demuestra la efectividad de *L. innocua* como marcador de *L. monocytogenes*, la cual puede seguir siendo utilizada para este tipo de estudios. Es importante destacar que las fuentes de irradiación, como el ^{60}Co , van decayendo en el tiempo, por lo que hay que repetir la dosimetría cada vez que se realice un estudio luego de un tiempo, lo que no fue necesario en este estudio ya que el tratamiento se realizó en un plazo corto. Finalmente, se debe mencionar que la dosis máxima aplicada en el estudio, que fue 3,43 kGy, está dentro de las recomendaciones de uso del RSA y RES EX 635 con una irradiación menor a 10 kGy; y con las recomendaciones bibliográficas, la cual indica que, para cualquier tipo de alimento, una irradiación menor a 5 kGy no genera daños en el producto (Dvořák et al, 2004).

IV. CONCLUSIONES

Las muestras de chorizo español utilizadas para la investigación no presentaron *L. monocytogenes* al inicio del estudio.

Durante el estudio de sobrevivencia de *Listeria innocua*, los chorizos inoculados con $1,5 \times 10^2$ ufc/g al día 0, presentaron una reducción de la contaminación a 5×10^1 ufc/g al día 11, lo que significaría que en el producto no se presentan las condiciones para la proliferación de la *Listeria*.

Por caracterización dosimétrica, se determinaron las posiciones de dosis de absorción máxima y mínima, las cuales fueron la posición 2 y la posición 5, respectivamente. La calibración dosimétrica permitió determinar los tiempos de irradiación necesarios para las dosis requeridas. Para la dosis de 0,5 kGy el tiempo de irradiación fue de 40,12 min; para 1,0 kGy el tiempo fue de 80,43 min; para 2,0 kGy el tiempo fue de 161,05 min y para 3,0 kGy el tiempo de irradiación fue de 241,67 min.

Para determinar el valor D_{10} se realizó una curva ajustada con los valores obtenidos de forma experimental. Se obtuvo un valor D_{10} de $0,65 \pm 0,05$; valor muy cercano a los observados en bibliografía.

Para las mediciones de evaluación sensorial se realizaron 2 test, uno con muestras irradiadas con 3,43 kGy, y otro con 2,54 kGy. Los resultados al día 0 sólo mostraron diferencias significativas para la dosis 3,43 kGy, mientras que después de 7 días de almacenamiento refrigerado, las muestras irradiadas no mostraron diferencias significativas. Esto muestra que luego de ser irradiadas las muestras y con almacenamiento refrigerado, no existieron cambios organolépticos visibles o perceptibles sensorialmente.

Con esto, se abre un camino de estudio para que la radiación ionizante pueda ser utilizada en productos con alto contenido graso, como el caso de los embutidos, para asegurar su inocuidad sin afectar sus propiedades organolépticas.

V. REFERENCIAS

- ASTM D 2954-71. Standard Test Methods for Absorbed Gamma and Electron Radiation Dose with the Ferrous Sulfate – Cupric Sulfate Dosimeter. ASTM, Philadelphia, P.A.; 1971.
- ASTM E 1026-95. Standard Practice for using the Fricke Reference Standard Dosimetry System, ASTM, Philadelphia, P.A.; 1995.
- Boletín Epidemiológico Trimestral, Listeriosis, Semana epidemiológica 1 a 39, 2016. MINSAL. 112(3):3-5.
- CNEA. Comisión Nacional de Energía Atómica - Centro Atómico Ezeiza. [En línea] <<http://caebis.cnea.gov.ar/aplicaciones/alim/lrra1.html>> [Consulta: 30/05/2017]
- ComBase Browser. ComBase Predictive Models Database. [En línea] <www.combase.cc> [Consulta: 30/05/2017]
- Cutter, C., Henning, W. “Control de *Listeria monocytogenes* en pequeñas plantas procesadoras de carnes y aves”. College of Agricultural Sciences. Pennsylvania State University. USA. 2003.
- Dvořák P., Kratochvíl B. y Grolichová M. Changes of colour and pH in fish musculature after ionizing radiation exposure. Eur Food Res Technol. 2004.
- Eroski. Tratamiento de alimentos con radiación ionizante. [En línea] <<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2004/11/03/15100.php>> [Consulta: 30/05/2017]
- FAO. Fichas técnicas, procesados de carnes, pag. 14. [En línea] <<http://www.fao.org/3/a-au165s.pdf>> [Consulta: 20/01/2016]
- FDA, Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) [En línea] <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>> [Consulta: 26/07/2016]
- FDA, Food and Drug Administration. Hechos sobre alimentos: Irradiación de alimentos: lo que usted debe saber, pag 1. Junio, 2016.

- Friedly E.C, Crandall P.G, Ricke S., O'Bryan C.A., Martin E.M. and Boyd L.M. Identification of *Listeria innocua* surrogates for *Listeria monocytogenes* in hamburger patties. 2008. Journal of Food Science. 73(4):1-2.
- FSISa. Food Safety and Inspection Service, USA. 1999. Irradiation of Meat Food Products: Final Rule. Federal Register, 64(246):1.
- FSISb. Food Safety and Inspection Service, USA. Ionizing Radiation as an Additive in Unrefrigerated Meat Food Products. United States Department of Agriculture. Washington. Agosto, 1999. 1(1):1.
- Glosario Química. [En línea] <<http://glosarios.servidor-alicante.com/quimica>> [Consulta: 30/05/2017]
- Gursel, B. and Gurakan, G. (1997). Effects of gamma irradiation on the survival of *Listeria monocytogenes* and on its growth at refrigeration temperature in poultry and red meat. Poultry Science, 76(12):1661-1664.
- IAEA. Use of irradiation to ensure the hygienic quality of fresh, pre-cut fruits and vegetables and other minimally processed food of plant origin. (2006). Vienna: International Atomic Energy Agency, pp.4-7.
- IBTEN. Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear. "Aspectos generales de la tecnología de irradiación". Departamento del Irradiador Gamma. Instituto Nacional de investigaciones Nucleares. Bolivia. 2014
- INN. NCh 2657/2 Of2007. Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal - Método horizontal para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes* – Parte 2: Método de enumeración. 2007.
- Kaempffer D., Espinoza J., Maier L., Torres X., Zarate H. Utilización de Radiación Ionizante como Método de Eliminación de Microorganismos Patógenos en Nuggets de Pollo. Universidad Santo Tomás. Comisión Chilena de Energía Nuclear. Noviembre, 2005.
- Lescano, G. Sensory evaluation of irradiated hake (*Merluccius merluccius hubbsi*) by an expert trade panel. 1989. Alimentacion Latinoamericana, 23(179):21-29.
- Manual for use gammacell 220R. 1978

- Meilgaard, M. Civille, G. Carr, B. “Sensory Evaluation Techniques”. Capítulo 6, VIII “Test Triangular”. 1999.
- Moreira, R.G.; Ekpanyaskun, N. and Braby L.A. Theoretical approach for the calculation of radiation D₁₀-value. 2010. Journal of Food Process Engineering, 33:314-340
- ODEPA. Estadísticas Productivas. Encuesta Industria Nacional de Cecinas. 2016
- Reglamento Sanitario de los Alimentos. DTO. N° 977/96. Ministerio de Salud. Santiago, Chile. 2011
- RES 636 EXENTA. Ministerio de Salud. Subsecretaría de Salud Pública. 2014
- Rossi, M., Paiva, A., Tornese, M., Chianelli, S., Troncoso, A. “Brotos de infección por *Listeria monocytogenes*: Una revisión de las vías que llevan a su aparición”. Revista Chilena de Infectología. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina. 2008.
- Salgado, F. Irradiación de carne molida de res destinada para la elaboración de hamburguesas para determinar los beneficios técnicos y económicos del proceso. 2009. Revista Politécnica, Quito: EPN, 30(1): 161–166.
- Wittig de Penna, Emma. “Evaluación sensorial; una metodología actual para tecnología de alimentos”. Universidad de Chile, Santiago, Chile. 1981.

VI. ANEXOS

Anexo 1

Hoja de respuesta entregada a los panelistas para el test triangular.

TEST DE DIFERENCIAS

Set: _____ Nombre _____ :

Fecha: _____

En cada trío, dos de las muestras son iguales y una diferente. Por favor indique encerrándola en un círculo cuál es la muestra diferente.

En qué se diferencia la muestra que Ud. marcó:

TEST DE DIFERENCIAS

Set: _____ Nombre _____ :

Fecha: _____

En cada trío, dos de las muestras son iguales y una diferente. Por favor indique encerrándola en un círculo cuál es la muestra diferente.

En qué se diferencia la muestra que Ud. marcó:

Anexo 2

Recuento en muestras de chorizo a través del tiempo

	Día 0	Día 4	Día 7	Día 11
	Muestra 1	Muestra 1	Muestra 1	Muestra 1
Promedio	105	190	65	100
log	2,02	2,28	1,81	2
DS	7,07	155,56	49,50	0
	Muestra 2	Muestra 2	Muestra 2	Muestra 2
Promedio	150	130	75	30
log	2,17	2,11	1,88	1,48
DS	70,71	169,71	35,36	28,28
	Muestra 3	Muestra 3	Muestra 3	Muestra 3
Promedio	245	25	20	35
log	2,39	1,4	1,3	1,54
DS	63,64	21,21	14,14	35,36
Muestra 1:	2,02	2,28	1,81	2
Muestra 2:	2,17	2,11	1,88	1,48
Muestra 3:	2,39	1,4	1,3	1,54
Promedio	2,2	1,9	1,7	1,7
DS	0,2	0,5	0,3	0,3

Anexo 3

Dosis máximas y mínimas de la calibración dosimétrica para chorizo español.

Tiempo: 9 minutos

Posición	D.O leída	T °C	D.O. Correg,	Dosis (Gy)
2	0,4713	17,1	0,4989	117,93
2	0,4624	16,9	0,4902	115,51
2	0,4718	16,8	0,5005	118,38

Tiempo: 9 minutos

Posición	D.O leída	T °C	D.O. Correg,	Dosis (Gy)
5	0,4386	16,9	0,4650	108,49
5	0,4362	16,9	0,4624	107,79
5	0,4443	16,9	0,4710	110,17

Tiempo: 18 minutos

Posición	D.O leida	T °C	D.O. Correg,	Dosis (Gy)
2	0,8625	16,2	0,9191	234,78
2	0,8706	17,4	0,9195	234,89
2	0,868	17,3	0,9175	234,32

Tiempo: 18 minutos

Posición	D.O leida	T °C	D.O. Correg,	Dosis (Gy)
5	0,8227	16,4	0,8754	222,62
5	0,8109	17,1	0,8584	217,89
5	0,8143	17,1	0,8620	218,89

Tiempo: 27 minutos

Posición	D.O leida	T °C	D.O. Correg,	Dosis (Gy)
2	1,2458	16,4	1,3256	347,81
2	1,255	17,4	1,3255	347,79
2	1,2621	17,6	1,3310	349,33

Tiempo: 27 minutos

Posición	D.O leida	T °C	D.O. Correg,	Dosis (Gy)
5	1,1672	17,3	1,2337	322,26
5	1,1717	16,5	1,2458	325,63
5	1,1786	17,5	1,2439	325,10

Anexo 4

a. Hoja maestra día 0

Hoja Maestra							
Juez	3,43 kGy			Juez	2,54 kGy		
1	C325	C553	M938	1	M116	M449	C932
2	C932	M119	C797	2	M233	C577	M655
3	M658	C286	C471	3	C224	M532	M862
4	M868	M461	C983	4	C145	C658	M797
5	M658	C145	M896	5	C896	M655	C577
6	C719	M894	M921	6	M495	C145	C658
7	C461	C868	M325	7	M719	M233	C797
8	C983	M797	C377	8	M868	C719	M894
9	M938	C471	C658	9	C116	M921	M224
10	M553	M119	C286	10	C577	C655	M377
11	M862	C896	M932	11	C461	M233	C325
12	C119	M797	M658	12	M495	C461	C896
13	C862	C553	M797	13	M658	M471	C932
14	C286	M449	C119	14	M938	C377	M124
15	M932	C461	C377	15	C233	M325	M116
Aciertos		11		Aciertos		6	
Faltas		4		Faltas		9	

b. Hoja maestra día 7

Hoja Maestra							
Juez	3,43 kGy			Juez	2,54 kGy		
1	C829	C537	M824	1	M636	M755	C245
2	C954	M489	C398	2	M214	C395	M167
3	M776	C421	C349	3	C489	M982	M755
4	M662	M481	C973	4	C214	C752	M967
5	M113	C752	M593	5	C829	M172	C398
6	C398	M878	M636	6	M333	C636	C421
7	C954	C641	M755	7	M218	M824	C349
8	C973	M395	C776	8	M954	C982	M662
9	M167	C481	C641	9	C755	M752	M537
10	M245	M593	C755	10	C489	C349	M967
11	M878	C824	M113	11	C982	M333	C662
12	C218	M398	M776	12	M214	C398	C245
13	C537	C421	M395	13	M829	M593	C954

14	C973	M752	C755	14	M398	C214	M489
15	M641	C481	C954	15	C245	M755	M982
Aciertos		6		Aciertos		5	
Faltas		9		Faltas		10	

Anexo 5

a. Día 0 (3,43 kGy)

En esta evaluación sensorial se realizaron 15 juicios totales, uno por cada juez, obteniendo 11 aciertos totales, es decir, 4 faltas.

- Análisis por χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{(|4a - 2f| - 3)^2}{8n}$$

Donde:

- a= número de aciertos = 11
- n= total de juicios =15
- f= número de faltas = 4

$$\chi^2 = \frac{(|4 * 11 - 2 * 4| - 3)^2}{8 * 15}$$

$$\chi^2 = 9,1$$

Los datos tabulados para una distribución χ^2 es el siguiente:

χ^2 calculado	Grados de libertad	Nivel de significación		
		5%	1%	0,1%
9,1	1	2,71	5,41	9,55

Al comparar el χ^2 calculado y los datos tabulados, se obtiene entonces, **diferencias significativas entre las muestras, con una significancia de un 1%**.

- Análisis por tablas de mínimos juicios correctos (distribución binomial):

Los datos tabulados para el número de juicios realizados, para una significancia en el test triangular ($p=1/3$); es el siguiente:

Número de juicios	Nivel de significación		
	5%	1%	0,1%
15	9	10	12

Por lo tanto, al obtener 11 aciertos, existen **diferencias significativas entre las muestras, con una significancia de un 1%**.

b. Día 0 (2,54 kGy)

En esta evaluación sensorial se realizaron 15 juicios totales, uno por cada juez, obteniendo 6 aciertos totales, es decir, 9 faltas.

- Análisis por χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{(|4a - 2f| - 3)^2}{8n}$$

Donde:

- a= número de aciertos = 6
- n= total de juicios =15
- f= número de faltas = 9

$$\chi^2 = \frac{(|4 * 6 - 2 * 9| - 3)^2}{8 * 15}$$

$$\chi^2 = 0,1$$

Los datos tabulados para una distribución χ^2 es el siguiente:

χ^2 calculado	Grados de libertad	Nivel de significación		
		5%	1%	0,1%
0,1	1	2,71	5,41	9,55

Al comprar el χ^2 calculado y los datos tabulados, se obtiene entonces, **no existen diferencias significativas entre las muestras.**

- Análisis por tablas de mínimos juicios correctos (distribución binomial):

Los datos tabulados para el número de juicios realizados, para una significancia en el test triangular ($p=1/3$); es el siguiente:

Número de juicios	Nivel de significación		
	5%	1%	0,1%
15	9	10	12

Por lo tanto, al obtener 6 aciertos, **no existen diferencias significativas entre las muestras.**

c. Día 7 (3,43 kGy)

En esta evaluación sensorial se realizaron 15 juicios totales, uno por cada juez, obteniendo 6 aciertos totales, es decir, 9 faltas.

- Análisis por χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{(|4a - 2f| - 3)^2}{8n}$$

Donde:

- a= número de aciertos = 6
- n= total de juicios =15
- f= número de faltas = 9

$$\chi^2 = \frac{(|4 * 6 - 2 * 9| - 3)^2}{8 * 15}$$

$$\chi^2 = 0,1$$

Los datos tabulados para una distribución χ^2 es el siguiente:

χ^2 calculado	Grados de libertad	Nivel de significación		
		5%	1%	0,1%
0,1	1	2,71	5,41	9,55

Al comprar el χ^2 calculado y los datos tabulados, se obtiene entonces, **no existen diferencias significativas entre las muestras.**

- Análisis por tablas de mínimos juicios correctos (distribución binomial):

Los datos tabulados para el número de juicios realizados, para una significancia en el test triangular ($p=1/3$); es el siguiente:

Número de juicios	Nivel de significación		
	5%	1%	0,1%
15	9	10	12

Por lo tanto, al obtener 6 aciertos, existen **no existen diferencias significativas entre las muestras.**

d. Día 7 (2,54 kGy)

En esta evaluación sensorial se realizaron 15 juicios totales, uno por cada juez, obteniendo 5 aciertos totales, es decir, 10 faltas.

- Análisis por χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{(|4a - 2f| - 3)^2}{8n}$$

Donde:

- a= número de aciertos = 5
- n= total de juicios =15
- f= número de faltas = 10

$$\chi^2 = \frac{(|4 * 5 - 2 * 10| - 3)^2}{8 * 15}$$

$$\chi^2 = 0,1$$

Los datos tabulados para una distribución χ^2 es el siguiente:

χ^2 calculado	Grados de libertad	Nivel de significación		
		5%	1%	0,1%

0,1	1	2,71	5,41	9,55
-----	---	------	------	------

Al comprar el χ^2 calculado y los datos tabulados, se obtiene entonces, **no existen diferencias significativas entre las muestras.**

- Análisis por tablas de mínimos juicios correctos (distribución binomial):

Los datos tabulados para el número de juicios realizados, para una significancia en el test triangular ($p=1/3$); es el siguiente:

Número de juicios	Nivel de significación		
	5%	1%	0,1%
15	9	10	12

Por lo tanto, al obtener 5 aciertos, **no existen diferencias significativas entre las muestras.**