

Estudio de la generación de hidrocarburos marcadores del proceso de irradiación en carne de cerdo.

Muñoz F. * Jiménez E. *

* Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química
Quito, Ecuador (e-mail: florinella.munoz@epn.edu.ec ; en.je2000@gmail.com)

Resumen: Se estudió la generación de hidrocarburos en la irradiación de grasa de carne de cerdo. Se extrajo la grasa, se aislaron los hidrocarburos y se realizó el análisis mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS). La irradiación se realizó con un acelerador lineal de electrones ELU 6U, en dos condiciones: con oxígeno limitado en el interior de los empaques de las muestras y en atmósfera de nitrógeno. Las muestras se mantuvieron en refrigeración antes de la irradiación. Se identificaron hidrocarburos parafínicos en la grasa de cerdo antes del proceso de irradiación. Después de la irradiación fueron identificados seis hidrocarburos insaturados: 1-tetradeceno, 1, 7, 10-hexadecatrieno (C16:3), 1,7-hexadecadieno, 1-hexadeceno, 6,9-heptadecadieno (C17:2) y 8-heptadeceno, que no se encontraban presentes antes del tratamiento, por lo que podrían ser utilizados como marcadores de la irradiación. El hidrocarburo 1,7-hexadecadieno fue identificado y cuantificado en las muestras irradiadas y su recuperación se encontró entre 88.6 y 102.0%. Las cantidades de hidrocarburos parafínicos no presentaron una tendencia definida con la dosis en el proceso de irradiación, en cambio la mayoría de los hidrocarburos insaturados mostraron un aumento de la cantidad detectada con la dosis aplicada. En el caso del uso de oxígeno limitado, se alcanzaron valores límite para las dosis más altas del estudio, mientras que en atmósfera de nitrógeno se observó una tendencia lineal creciente. En este último caso, las concentraciones fueron correspondientemente menores que las encontradas en las muestras irradiadas en empaques con límite de oxígeno.

Palabras clave: hidrocarburos marcadores de irradiación, irradiación, carne de cerdo, 1,7-hexadecadieno, GC/MS

Abstract: The hydrocarbon generation in the irradiation process of pork was studied. The fat was extracted, the hydrocarbons were isolated and analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). The irradiation process was carried out with a linear electron accelerator ELU 6U, under two conditions: limited oxygen inside the packaging of the samples, and nitrogen atmosphere. Before irradiation, the samples were kept under refrigeration. Paraffinic hydrocarbons were identified in lard before this process. After irradiation six unsaturated hydrocarbons were identified: 1-tetradecene 1, 7, 10-hexadecatriene (C16: 3) 1,7-hexadecadiene, 1-hexadecene, 6,9-heptadecadiene (C17: 2) and 8-heptadecene, which were not present before treatment. Therefore these hydrocarbons could be used as markers of the irradiation process. 1,7-hexadecadiene was identified and quantified in the irradiated samples, and his recuperation was between 88.6 and 102.0%. The amounts of paraffinic hydrocarbons do not show a definite trend with the dose in the irradiation process, however for most unsaturated hydrocarbons an increasing of the detected amount was observed by the dose applied. In the case of evacuation of oxygen, limit values were reached for the highest doses of the study, while at the nitrogen atmosphere was observed growing linear trend. In the latter case, the concentrations were correspondingly lower than those found in the samples irradiated in packaging with limited air.

Keywords: irradiation hydrocarbon markers, irradiation, pork, 1,7-hexadecadiene, GC/MS.

1. INTRODUCCIÓN

La irradiación es un proceso de tratamiento que permite prolongar la vida útil de los alimentos y prevenir enfermedades producidas por la presencia de microorganismos patógenos en ellos [9]. En la carne, se pueden controlar dichos microorganismos mediante tratamientos con irradiación a dosis apropiadas, según la finalidad que se desea alcanzar. Por ejemplo, se conoce que para prevenir la madurez de parásitos como la *Trichinella spirallis*, *Cysticercus cellulosae* y algunas tenias se requiere un rango de dosis bajas, entre 0.15 y 0.60 kGy [9], mientras que para

conseguir una inactivación inmediata de estos parásitos se deben emplear dosis entre 4.0 y 6.3 kGy [8]. El material y las condiciones de empaqueo para realizar el proceso de irradiación no tienen requerimientos específicos, sin embargo, existen ciertas prohibiciones de irradiar cerdo al vacío por temor a un potencial crecimiento de *Clostridium botulinum* y a la generación de toxinas. Para evitar esto, se utilizan materiales permeables al aire [8]. La FDA establece dosis máximas de irradiación entre 4.5 y 7.0 kGy para carne cruda. Estas dosis se han definido sobre la base de que la carne tiene ciertos componentes grasos, que son susceptibles de degradarse por la acción de la radiación y

por la formación de radicales [5].

Uno de los análisis que se realiza en los alimentos irradiados que contienen grasa es la medición de productos volátiles derivados de lípidos, entre los cuales se encuentran los hidrocarburos. Dichos compuestos provienen de una ruptura preferencial de ciertos enlaces cercanos al grupo carbonilo. Uno de los principales hidrocarburos marcadores del proceso de irradiación para carnes y productos cárnicos es el 1,7-hexadecadieno, proveniente del ácido oleico [10].

A nivel mundial, desde el año 2001, el método de la detección de hidrocarburos se convirtió en una técnica estándar para identificar alimentos grasos irradiados, tales como carnes, y mariscos, que han sido tratados con dosis iguales o superiores a 1 kGy [1,4]. Esta técnica permite la identificación de una amplia gama de alimentos irradiados que contienen grasa, en altas o bajas concentraciones [7]. Se ha informado, además, de ciertos hidrocarburos que se encuentran en los alimentos no irradiados [6], lo cual obliga a definir analíticamente el efecto de las radiaciones sobre la formación de estos hidrocarburos.

El propósito de este trabajo es estudiar la generación de hidrocarburos en grasa de carne de cerdo y determinar la metodología que permita la implementación de esta técnica de control en un país como el Ecuador, donde la irradiación de alimentos podría constituir una importante alternativa de tratamiento de productos cárnicos, para disminuir los problemas de higiene alimentaria y las enfermedades que se originan por el consumo de productos contaminados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

Se utilizaron como reactivos químicos, 1,7 hexadecadieno >90% (Fluka), hexano grado HPLC (Fisher), florisil 60-100 mallas (Sigma Aldrich) y nitrógeno de grado 4.5.

En la experimentación se utilizaron un bloque de calentamiento VWR scientific, una centrífuga Wifug 200 E, un Vortex Jr. Mixer Scientific instruments, columnas de vidrio para cromatografía de 2 cm de diámetro interno y 25 cm de largo y un Rotavapor R KV Büchi.

Para la cuantificación de los hidrocarburos se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas Clarus 500 de Perkin Elmer con una columna cromatográfica (Zebrón) ZB-5 ms de 30 m de longitud, 250 μ m de diámetro interno con una película de 0.25 μ m de la fase estacionaria.

Las muestras analizadas correspondieron a carne de cerdo comercializada en supermercados locales con alto contenido de grasa.

2.2 Métodos

Método de irradiación de las muestras de carne de cerdo y pollo

Las muestras de carne se irradiaron en el acelerador de electrones ELU-6U de la Escuela Politécnica Nacional a las dosis de 2, 3, 5 y 7 kGy, a una temperatura inicial de -2 °C y una temperatura final entre 0 y 2 °C.

Las muestras se empacaron en bolsas plásticas de polietileno bajo dos condiciones. En la primera, se evacuó la mayor cantidad de aire por medio de una bomba de vacío y luego las bolsas fueron selladas. En la segunda, las muestras se empacaron y se evacuó el aire mediante nitrógeno grado 4.5.

Para ambos casos se mantuvieron muestras control, las cuales no recibieron el tratamiento por irradiación.

Extracción de la grasa por fusión

Las muestras fueron homogeneizadas en un procesador de alimentos. Posteriormente, la grasa se extrajo por fusión a 50 °C y mediante centrifugación a 900 g. La grasa fundida se colocó en un tubo de ensayo limpio con ayuda de una pipeta pasteur con cuidado de no arrastrar los sólidos sedimentados.

Activación y desactivación parcial del florisil

El florisil fue activado a 500 °C en una mufla durante 15 h. Se colocó el florisil en un desecador hasta que se enfriara a temperatura ambiente. Para desactivar parcialmente el florisil se utilizó una cantidad de agua destilada equivalente al 3% del peso del florisil activado. El florisil fue agitado por aproximadamente 5 min y se dejó reposar durante 8 h. Cuando el florisil no fue utilizado por más de 3 días, fue colocado en una estufa a 130 °C durante 8 h y después fue desactivado parcialmente.

Cromatografía de columna (clean up)

La grasa de la muestra fue eliminada mediante cromatografía de columna. La columna usada tuvo 2 cm de diámetro interno y 25 cm de largo y estuvo rellena con 20 g de florisil desactivado. Se pesó 1 g de grasa y se agregaron 3 mL de hexano grado HPLC al tubo de ensayo. Se homogeneizó la mezcla con ayuda de un vortex y se la colocó en la columna. Los hidrocarburos se eluyeron con 60 mL de hexano a un flujo de 3 mL/min.

Concentración de la muestra

La muestra obtenida fue concentrada en un rotavapor a 370 mbar con un baño de agua a 40 - 45 °C, hasta que el volumen se redujera a un valor inferior a 1 mL. La muestra

concentrada se aforó a un volumen de 1 mL con hexano grado HPLC.

Recuperación de 1,7-hexadecadieno

Para evaluar la eficiencia de los métodos de extracción, separación por cromatografía de columna y concentración, del hidrocarburo 1,7-hexadecadieno, se ensayaron procesos de recuperación en tres niveles de concentración: bajo, medio y alto. Las concentraciones de los niveles de recuperación se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1: Concentración de las soluciones de 1,7-hexadecadieno para recuperación.

Concentración [ppm]		
Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
2.3	9.3	18.3

Método de análisis de los hidrocarburos por cromatografía de gases/ espectrometría de masas

Se inyectó 1 uL de muestra en el GC/MS a una temperatura de 200 °C en modo *splitless*. El flujo de gas portador se controló a 0.7 mL/min a lo largo de toda la corrida. La temperatura del horno se programó a 55 °C por 2 min, subió hasta 155 °C con tasa de 12 °C/min, posteriormente subió hasta 230 °C con tasa de 5 °C/min y permaneció 5 min a 230 °C. La temperatura de la línea de transferencia fue de 270 °C, mientras que la temperatura de la fuente de ionización fue 200 °C y la energía de los electrones para la ionización fue de 70 eV. Se analizó el rango de masas de 41 a 300 u.m.a (Total Ion Current TIC). Para analizar el hidrocarburo 1,7-hexadecadieno, se observó el ion de masa 55 desde los 14 min hasta los 15 min (Selected ion Recording SIR m/z=55).

Identificación y cuantificación de 1,7- hexadecadieno

Las curvas de calibración de 1,7-hexadecadieno se prepararon con soluciones de las siguientes concentraciones: 1.9, 4.6, 9.3, 13.9, 18.6 y 27.8 ppm. La presencia de este compuesto en las muestras irradiadas se verificó mediante el espectro de masas correspondiente y se cuantificó mediante la respuesta de las áreas y la curva de calibración construida.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Metodología de extracción y análisis

El método ensayado permitió la extracción, detección y análisis de los hidrocarburos presentes en la grasa de cerdo antes y después de ser sometidas al proceso

de irradiación. El método de análisis con cromatografía de gases espectrometría de masas, logró separar tales hidrocarburos presentes en las muestras.

Análisis de hidrocarburos presentes en grasa de carne de cerdo antes de ser sometida al proceso de irradiación

Los hidrocarburos identificados en las muestras, su tiempo de retención y la coincidencia entre el espectro del compuesto monitoreado y el espectro de referencia de la librería de espectros se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2: Principales hidrocarburos encontrados en las muestras de grasa de cerdo antes del proceso de irradiación.

Hidrocarburo	T. R.	Coincidencia
	[min]	/1000
Tetradecano	11.815	886
Pentadecano	13.245	865
Hexadecano	14.835	872
Heptadecano	16.556	830

Los hidrocarburos presentes en la grasa de cerdo antes de ser irradiados fueron parafínicos, lineales con cadenas que contenían entre 14 y 17 carbonos. Debido a que los espectros de los hidrocarburos parafínicos son muy parecidos, los resultados de las búsquedas en la librería de espectros no eran concluyentes; esto se debe también a que a medida que el peso molecular de los hidrocarburos aumenta, la abundancia del ion molecular disminuye, lo que no permite tener un valor referencial definido para la identificación. Sin embargo, la identificación y la definición del tiempo de retención del 1,7-hexadecadieno permitieron confirmar la identidad del hexadecano. Los demás hidrocarburos se confirmaron por comparación del orden de salida en columnas no polares citada en bibliografía [2]. Se encontró que los hidrocarburos presentes variaban en cantidad, debido a características propias de la muestra, relacionadas con su naturaleza y el proceso de manipulación a los que había sido sometida [2].

Análisis de hidrocarburos presentes en la grasa de carne de cerdo después de ser sometida al proceso de irradiación

Al comparar los cromatogramas de las muestras antes y después de ser irradiadas, se identificaron hidrocarburos formados en el proceso de irradiación. Los principales hidrocarburos, su tiempo de retención y la coincidencia de los espectros con los espectros de referencia, se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3: Principales hidrocarburos encontrados en las muestras de grasa de cerdo, después de ser sometidas a procesos de irradiación.

Hidrocarburo	T. R.	Coincidencia /1000
	[min]	
1 tetradeceno	11,735	920
C16:3	14,310	846
1,7 hexadecadieno	14,425	994
1-hexadeceno	14,765	923
C17:2	16,076	865
8 heptadeceno	16,224	960

Identificación del hidrocarburo 1,7-hexadecadieno

Para identificar el hidrocarburo 1,7-hexadecadieno se procedió a inyectar el estándar comercial y a comparar los tiempos de retención de las muestras con el tiempo que presentaba el estándar, como se muestra en la Fig. 1. Posteriormente, se confirmó la identidad del 1,7-hexadecadieno mediante su espectro de masas. Debido a que este hidrocarburo no se encontraba dentro de la librería de espectros de masas utilizada, se procedió a tomar el espectro obtenido de la inyección del estándar y compararlo con el espectro obtenido de las muestras irradiadas. Los espectros comparados se presentan en la Fig. 2. La identificación del 1,7-hexadecadieno en las muestras de grasa de carne de cerdo irradiada, concuerda con resultados de otros estudios [2,6,9].

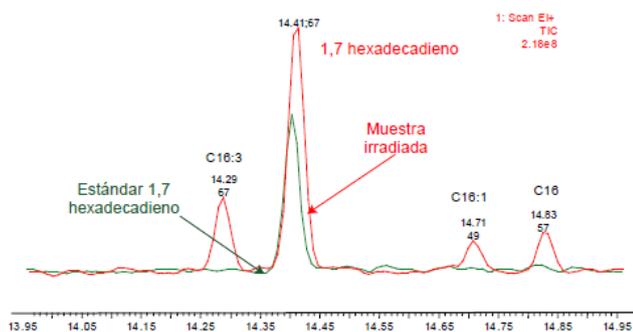


Figura 1: Identificación del 1,7-hexadecadieno por su tiempo de retención.

Curva de calibración y recuperación de 1,7-hexadecadieno

Las curvas de calibración que se construyeron al analizar la corriente de iones de relación masa/carga (m/z) de 55 (Selected Ion Recording), así como aquellas correspondientes a la corriente total de iones (Total Ion Current TIC), se encuentran en las Figs. 3 y 4 y muestran linealidad en el rango de concentraciones utilizadas.

La Tabla 4 presenta las recuperaciones promedio alcan-

zadas en grasa de carne de cerdo y la desviación estándar relativa para cada nivel de concentración practicado.

Tabla 4: Recuperación media y desviación estándar relativa en grasa de cerdo.

Nivel [ppm]	Media [%]	Desviación estándar relativa [%]
2.3	102.27	3.58
9.3	93.10	2.90
18.6	92.19	3.95

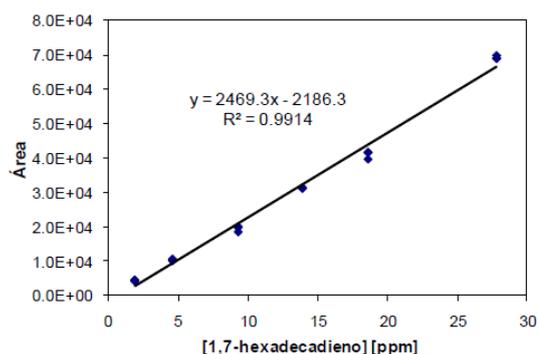


Figura 3: Curva de calibración del 1,7-hexadecadieno para el control de la corriente del ion de $m/z = 55$ (SIR m/z 55).

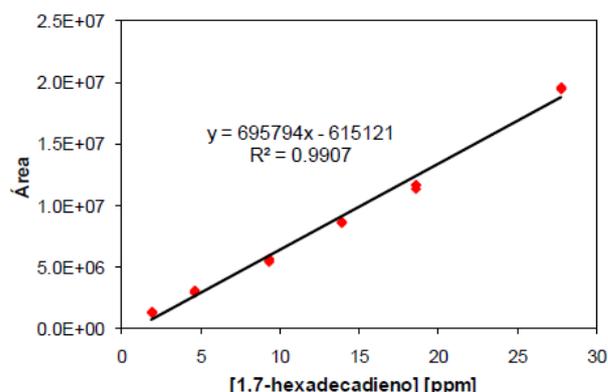


Figura 4: Curva de calibración del 1,7-hexadecadieno para el control de la corriente total de iones (TIC).

Las recuperaciones obtenidas para todos los niveles fueron aceptables, de acuerdo con lo establecido en la guía para validación de métodos químicos dado por la AOAC, (80-110%) [3].

Relaciones cuantitativas de la presencia de hidrocarburos en función de la dosis recibida.

1,7-hexadecadieno (1,7-C16:2)

La cantidad de 1,7-hexadecadieno presente en las muestras de grasa de cerdo, empacadas de tal forma que el aire fue parcialmente evacuado, se comparó con la cantidad de 1,7-hexadecadieno generada en las muestras de grasa de cerdo irradiadas en atmósfera de nitrógeno en la Fig. 5.

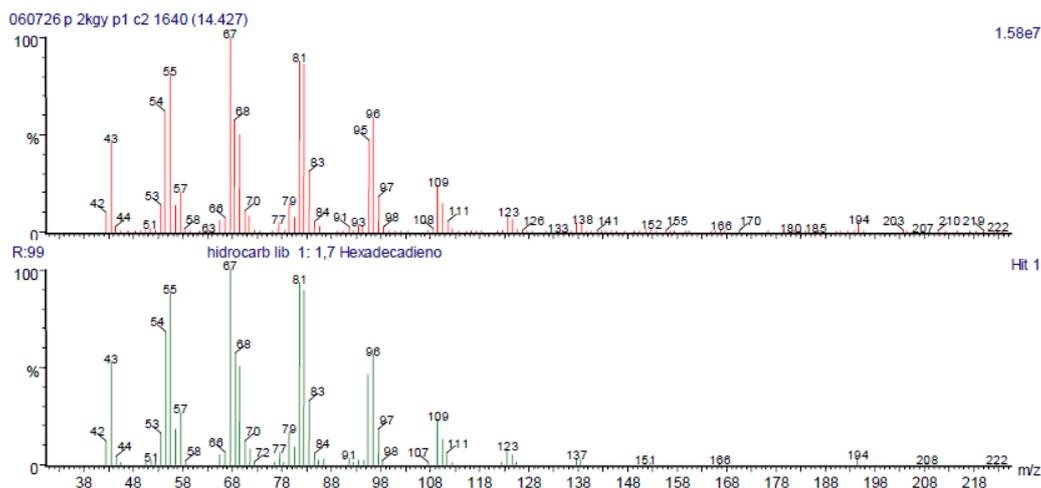


Figura 2. Identificación del hidrocarburo 1,7-hexadecadieno por comparación de espectros de masas entre la muestra de grasa de cerdo y el estándar.

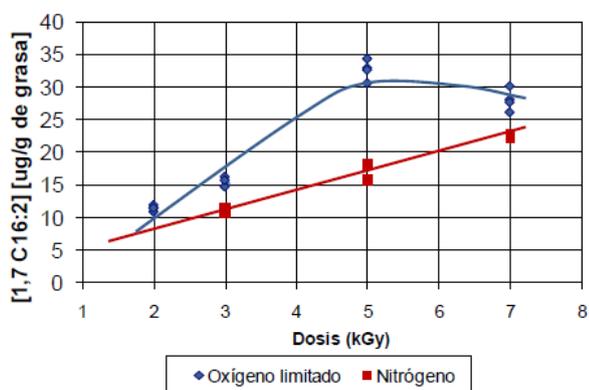


Figura 5: Comparación de las cantidades de 1,7- hexadecadieno en grasa de cerdo irradiada en empaques con aire y atmósfera de nitrógeno.

En los experimentos realizados con evacuación parcial de aire, la cantidad de 1,7-hexadecadieno aumentó con la dosis recibida hasta los 5 kGy. A partir de esta dosis la cantidad de este hidrocarburo se mantuvo constante. En cambio, se observa que en atmósfera de nitrógeno, las concentraciones de 1,7-C16:2, en las muestras irradiadas aumentaron linealmente con la dosis de irradiación. Adicionalmente, en atmósfera de nitrógeno, las cantidades de 1,7-C16:2 generadas fueron menores que las correspondientes a las muestras irradiadas con evacuación parcial de aire.

Hidrocarburos parafínicos

La comparación de las áreas de los hidrocarburos parafínicos encontrados en las muestras de grasa de cerdo irradiadas, con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno se presentan en las Figs. 6, 7, 8 y 9.

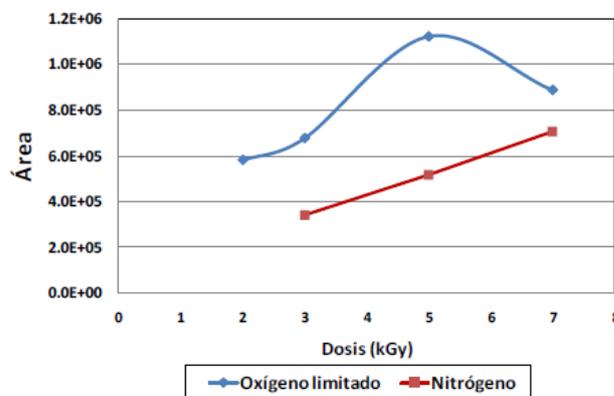


Figura 6: Comparación de la respuesta del tetradecano presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

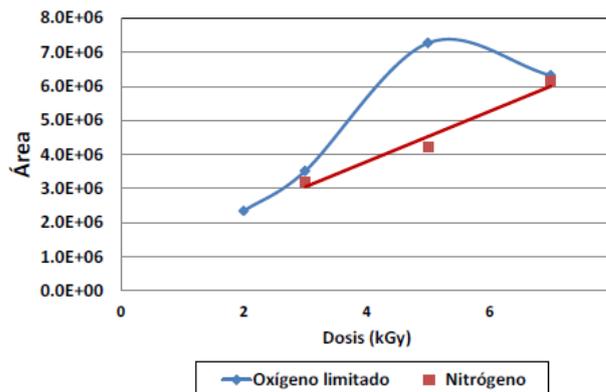


Figura 7: Comparación de la respuesta del pentadecano presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

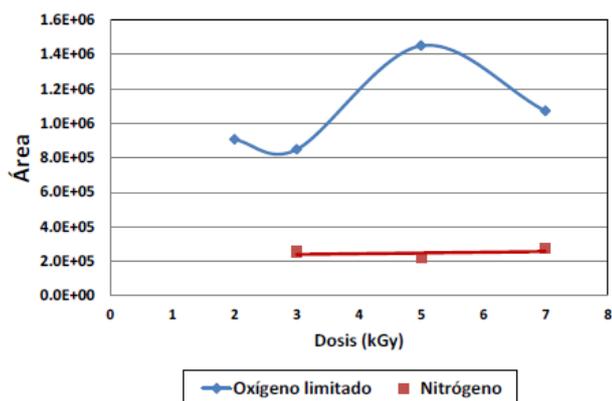


Figura 8: Comparación de la respuesta del hexadecano presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

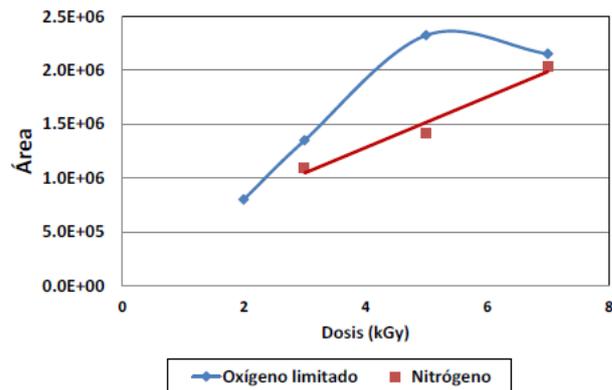


Figura 10: Comparación de la respuesta del 1-tetradeceno presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

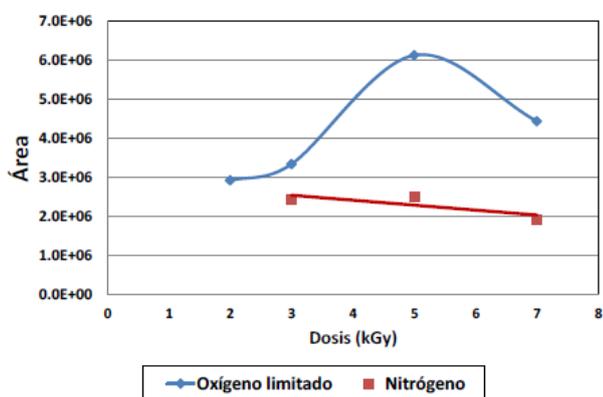


Figura 9: Comparación de la respuesta del heptadecano presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

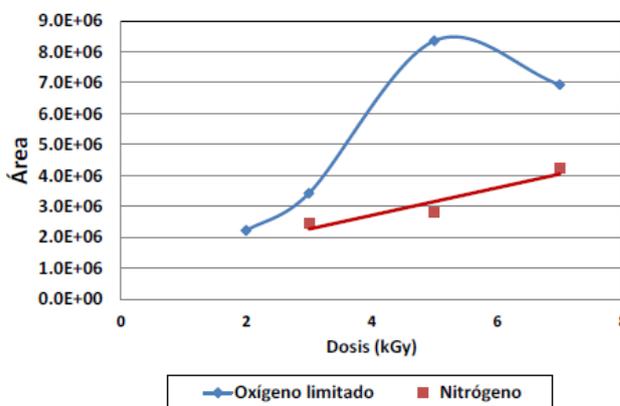


Figura 11: Comparación de la respuesta del C16:3 presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

Al comparar las áreas de las muestras irradiadas en empaques con evacuación parcial de aire, se puede apreciar que la mayoría de hidrocarburos se generaron con la misma tendencia; las áreas aumentaron y alcanzaron un máximo en 5 kGy y para 7 kGy se observa un ligero descenso. En contraste, para las muestras irradiadas en atmósfera de nitrógeno, se observa una relación creciente lineal de la concentración del tetradecano y pentadecano con la dosis. Es posible que para los otros dos hidrocarburos analizados, se presentara una influencia relacionada con el contenido inicial de estos en las muestras.

Hidrocarburos insaturados

La comparación de las áreas de los hidrocarburos insaturados presentes en las muestras de cerdo irradiadas con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno se muestran en las Figs. 10, 11, 12, 13 y 14.

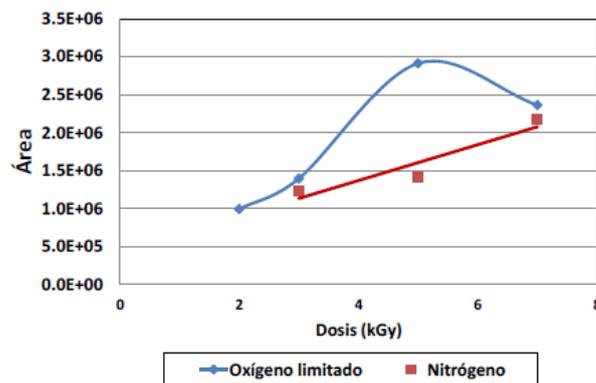


Figura 12: Comparación de la respuesta del 1-hexadeceno presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

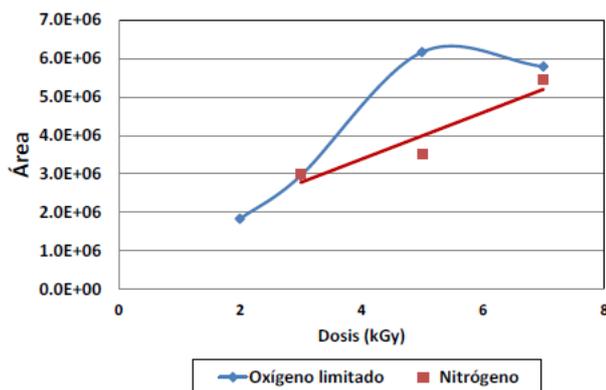


Figura 13: Comparación de la respuesta del C17:2 presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

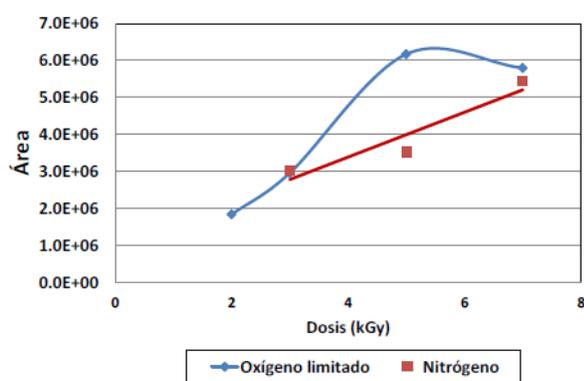


Figura 14: Comparación de la respuesta del 8-heptadeceno presente en grasa de cerdo al ser irradiada con evacuación parcial de aire y en atmósfera de nitrógeno.

Al examinar las respuestas de los hidrocarburos insaturados identificados en las muestras irradiadas con evacuación parcial de aire, se encontró la misma tendencia observada para los hidrocarburos parafínicos. Las áreas correspondientes a los hidrocarburos insaturados encontrados en las muestras irradiadas en atmósfera de nitrógeno fueron menores que las respuestas encontradas en las muestras irradiadas con evacuación parcial de aire. Las concentraciones determinadas presentaron una tendencia lineal con la dosis. Al extrapolar esta tendencia a dosis menores (hasta 2 kGy) los valores se aproximan a los valores experimentales observados para las muestras que fueron irradiadas con evacuación parcial de aire, lo que sugiere que la generación de hidrocarburos a dosis bajas no se encuentra influenciada por la presencia de oxígeno.

4. CONCLUSIONES

El análisis de grasa de carne de cerdo irradiada permitió identificar la formación de hidrocarburos insaturados, que fueron 1-tetradeceno, 1, 7, 10-hexadecatrieno (C16:3), 1,7-hexadecadieno, 1-hexadeceno, 6,9-heptadecadieno (C17:2) y 8-heptadeceno.

La recuperación alcanzada en el análisis en la grasa de cerdo, para el 1,7-hexadecadieno, en las concentraciones ensayadas, estuvo en el rango de 88.6 a 102.0%, que puede considerarse aceptable en tal rango de concentraciones. De igual forma, los valores de desviación estándar relativa (DER) observados en las repeticiones, tanto de las recuperaciones como de la curva de calibración (4.3%), son valores que se encuentran por debajo de los indicados en norma (6%).

La presencia de oxígeno fue un factor determinante en la generación de hidrocarburos marcadores. En presencia de oxígeno existe una mayor proporción de estos y no existe linealidad entre la concentración del hidrocarburo y la dosis aplicada. A altas dosis (5 y 7 kGy), el oxígeno se consume y cambia el mecanismo de reacción.

En la irradiación en atmósfera de nitrógeno, se observó una disminución de la cantidad de hidrocarburos marcadores generados, en comparación con el proceso en presencia de oxígeno. Las cantidades de los hidrocarburos son crecientes y lineales con la dosis aplicada.

Los hidrocarburos identificados que estaban presentes, aún antes de que las muestras fueran sometidas al proceso de irradiación fueron: tetradecano, pentadecano, hexadecano y heptadecano. Para estos hidrocarburos no se encontró una tendencia definida entre la concentración y la dosis de irradiación recibida, debido a la variabilidad de estos compuestos en las muestras sin irradiar.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su agradecimiento al Proyecto PL-480-USDA por el financiamiento de los equipos y a Gabriela Rosero por el apoyo en el levantamiento del documento final.

REFERENCIAS

- [1] ALINORM 01 04, Viena, 2001, pp. 197-200
- [2] A. Spiegelberg, G. Schulzki, N. Helle, K. W. Bögl, A. Schreiber. (1994). Methods for routine control of irradiated food: Optimization of a method for detection of radiation-induced hydrocarbons and its application to various foods. *Radiat. Phys, Chem*, [Online]. 43(5), pp. 433-444. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0969806X94900590>
- [3] AOAC "Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals", 2002, pp. 21.
- [4] British Standar Institute (1997) "Foodstuffs. Detection of irradiated food containing fat. Gas chromatographic analysis of hydrocarbon", EN1784, Brussels.
- [5] FDA, (2012) Federal Register. Rules and Regulations. Recuperado de:

- <http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2012-11-30/pdf/2012-28967.pdf>
- [6] H. Ito. (2001). Principles and Safety of Irradiated Food. In JAERI-Review 2001-029. The Japan Atomic Energy Institute, Takasaki, Japan.
- [7] M. Miyahara, A. Saito, T. Kaminura, T. Nagasawa, Y. Kobayashi, H. Ito, and T. Matitani, (2003). Detection of Hydrocarbons in Irradiated Foods. *Journal of health Science* [Online], 49(3), pp. 179-188. Recuperado de: [http://jhs.pharm.or.jp/data/49\(3\)/49_179.pdf](http://jhs.pharm.or.jp/data/49(3)/49_179.pdf)
- [8] R. Molis, (2001). "Irradiation of meats and poultry. In food irradiation: Principles and Applications, Wylene-Intersciencie", New York, pp. 131-173.
- [9] R. Muñoz, M. Sánchez, E. Uzcátegui, C. Vaca. (1985) "Preservación de alimentos por irradiación", Escuela Politécnica Nacional, Quito Ecuador, pp. 127-133.
- [10] W. Nawar, Z. Zhu, H. Wan, E. DeGroot, Y. Chen, T. AciuKewicz. (1996). "Progress in the detection of irradiated foods by measurement of Lipid-derived volatiles. Detection methods for irradiated foods: Current status". The Royal Society of Chemistry. Gran Bretaña, pp. 241-248.