



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

"COMPARACION ENTRE LA PRUEBA DE NITROGENO
VOLATIL TOTAL Y LA DETERMINACION DE INDOL
COMO BASE PARA EL ANALISIS DE FRESCURA
EN CAMARONES".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETLRINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A I
JOSE ALEJANDRO BARREIRO ISABEL

Asesores: M. V. Z. José Fernando Núñez Espinosa
I.Q. Miguel Rocha Quiroz



MEXICO, D.F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE.

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
OBJETIVOS	5
MATERIAL Y METODOS	6
RESULTADOS	8
DISCUSION	9
CONCLUSIONES	11
BIBLIOGRAFIA	13

Tesis de licenciatura: "COMPARACION ENTRE LA PRUEBA DE NITROGENO VOLATIL TOTAL Y LA DETERMINACION DE INDOL COMO BASE PARA EL ANALISIS DE FRESCURA EN CAMARONES" que presenta el alumno José Alejandro Barreiro Isabel bajo el asesoramiento del M.V.Z. José Fernando Núñez Espinosa y el I.Q. Miguel Rocha Quiroz.

RESUMEN.

Con el objetivo de implantar una prueba de laboratorio eficaz para determinar frescura en camarones, se compararon dos pruebas químicas: la determinación de indol y la prueba de nitrógeno volátil total (NVT). Se trabajaron 20 muestras de camarón (Penaeus vannamei) en las condiciones como se expenden en el centro de pescados y mariscos "La Nueva Viga". Los resultados fueron: para la prueba de NVT 19 muestras (95%) clasificaron como frescas y 1 (5%) como alterada, mientras que con la prueba de indol 15 (75%) fueron consideradas frescas y 5 (25%) como alteradas, según los parámetros establecidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Los resultados indican que la prueba de indol es más estricta en el análisis de los camarones al detectar un mayor número de muestras no frescas que no manifestaron cambios sensoriales francamente desagradables; en cambio, la prueba de NVT las consideró frescas. También se determinó la recuperación de indol puro para ver la eficacia del método, siendo ésta del 90%. Se recomienda adoptar la determinación de indol como base para el análisis de frescura en camarón y complementaria a otras pruebas químicas y microbiológicas usadas en el laboratorio como indicadores de calidad para este producto.

"COMPARACION ENTRE LA PRUEBA DE NITROGENO VOLATIL TOTAL Y LA DETERMINACION DE INDOL COMO BASE PARA EL ANALISIS DE FRESCURA EN CAMARONES"

INTRODUCCION.

Las determinaciones químicas para productos de origen animal, son métodos de laboratorio adecuados para distinguir parámetros de calidad nutricional y sanitaria en los alimentos. La determinación de frescura en productos naturales es uno de los análisis más importantes usados en carne de mamíferos, aves, pescados y mariscos.

Los pescados y mariscos, en comparación a otros productos de origen animal, representan uno de los alimentos donde determinar frescura es muy necesario, ya que éstos sufren con mayor rapidez los procesos de descomposición dadas sus características bioquímicas, como son la presencia de mayor cantidad de agua y de sustancias extractivas, además de bajos niveles de hidratos de carbono lo que provoca que se alteren más rápidamente (10, 11, 13).

En nuestro país es bien conocido que existen prácticas inadecuadas en el manejo de productos pesqueros desde su captura hasta su comercialización lo que provoca que el consumidor nacional no reciba un producto de óptima calidad, además de que se obstaculiza su comercialización a nivel internacional (17).

El Laboratorio Nacional de Salud Pública (LNSP) es la dependencia oficial encargada de realizar los análisis químicos de control de calidad de estos alimentos. En este lugar se

efectúa la prueba de nitrógeno volátil total (NVT) para determinar frescura en los alimentos naturales.

El NVT es el producto de la descomposición protéica y no protéica que sufre el alimento con el paso del tiempo. En el caso de productos marinos, cuando se encuentra una cantidad mayor de 30 mg de NVT por 100 g de producto, éste ya no se considera fresco (1, 2, 3, 4, 16).

La prueba de NVT tiene algunos inconvenientes para su uso, como son el que no todo el nitrógeno detectado es producto de la degradación de proteínas, no es considerada específica para productos pesqueros y tiene una sensibilidad inferior al 90% en comparación a otras pruebas de laboratorio (5, 7, 15).

La prueba de indol es una opción para determinar frescura en pescados y mariscos, como el camarón y el cangrejo. El indol es el producto de la degradación del aminoácido triptófano por bacterias contaminantes (*E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus morganii*, etc.). Esta determinación tiene varias ventajas, como son su alta especificidad (mayor del 90%), su gran sensibilidad (alrededor del 95%), ya que detecta cantidades de indol tan pequeñas como 1 mcg, además de su relativa rapidez cuando se trata del método espectrofotométrico modificado (5, 6, 14).

La Asociación de Químicos Analistas Oficiales de Estados Unidos (A.O.A.C.) considera a la determinación de indol como la prueba oficial de frescura en camarón. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), basándose en la A.O.A.C. y en la Agencia para Alimentos y Drogas

de los Estados Unidos (FDA), recomienda su uso y establece un máximo de 25 mcg de indol por cada 100 g de producto para que este producto sea fresco (3, 5, 8).

Con la integración comercial de América del Norte, es necesaria una homologación entre las distintas pruebas de laboratorio para control de calidad de alimentos existentes en Canadá, Estados Unidos y México, con el deseo de mejorar los parámetros usados en nuestro país. En México se calcula que alrededor del 20% de productos de la pesca destinados a la exportación no son aceptados en otros países por no cumplir en uno o varios parámetros de calidad (17). El Laboratorio Nacional de Salud Pública, como institución oficial, tiene interés en establecer la determinación de indol como prueba de rutina para evaluar frescura en mariscos y se ha propuesto analizarla e instalarla comparándola con la prueba de NVT que actualmente se utiliza, problema que se resuelve con el presente trabajo.

OBJETIVOS.

1. Comparar los resultados de la prueba de NVT con los obtenidos por la prueba de indol.
2. Determinar la eficacia de la prueba de indol con el fin de establecerla en el Laboratorio Nacional de Salud Pública.

MATERIAL Y METODOS.

1. Tipo de estudio.

Prospectivo, descriptivo y observacional (12).

2. Ubicación de espacio y tiempo.

El estudio fue realizado en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud Pública de la Secretaría de Salud, ubicado en Calz. de Tlalpan y Feriférico en México, D. F. con una duración de 3 meses.

3. Universo de trabajo.

Estuvo constituido por camarón (*Penaeus vannamei*) recolectado del Centro de pescados y mariscos "la nueva Viga", ubicado en prolongación Eje 6 Sur 560, Delegación Iztapalapa, en México, D. F.

4. Tamaño de la muestra.

Se analizaron 20 muestras de camarón de 150 g cada una. El tamaño de la muestra se determinó por conveniencia económica, dada la alta especificidad y sensibilidad del método (9).

5. Toma de muestras.

Las muestras se recolectaron al azar sistemático en distintos puestos de mariscos al menudeo. Los camarones se colocaron en bolsas de plástico y fueron identificadas.

Se depositaron en un recipiente isotérmico con refrigerante y se transportaron al Laboratorio Nacional, en un tiempo no mayor de dos horas, para realizar las determinaciones.

6. Determinaciones químicas.

Las muestras fueron analizadas por el método de NVT descrito en

el manual del Laboratorio Nacional de Salud Pública (18) y la prueba de Indol Modificado (espectrofotométrico) tomada del Journal of Assoc. Off. Chem. (6).

RESULTADOS.

De las 20 muestras analizadas con NVT, 19 (95%) estuvieron dentro del parámetro de frescura recomendado, es decir igual o inferior a 30 mg por cada 100 g de producto, mientras que 1 (5%) fue mayor y se clasificó como no fresca.

Las mismas muestras fueron analizadas con el método de indol, mostrando que 15 de ellas (75%) estuvieron dentro del parámetro de frescura, igual o menor a 25 mcg por cada 100 g de camarón, mientras que 5 (25%) fueron mayores y se consideraron no frescas (Cuadro 1).

De los resultados de las 20 muestras analizadas en ambas pruebas, 16 (80%) coincidieron (15 frescas y 1 no fresca), mientras que 4 (20%) no coincidieron ya que por el método de indol se consideraron no frescas y para NVT sí lo fueron (Cuadro 2).

En cuanto a la eficacia de la prueba del indol se hizo una recuperación de indol puro con extracción y centrifugación (6), como si se tratara de una muestra, para obtener una curva de 5 puntos, de 5 a 40 mcg, en la que se logró una recuperación del 90%, comparándola contra la curva de lectura directa al espectrofotómetro (fig.1). También se graficaron los espectros obtenidos de una curva de indol puro contra otra curva de indol recuperado de una muestra de camarón, siendo ambas similares, ya que alcanzan su pico de lectura a la misma longitud de onda (570 nm) y presentan las mismas depresiones a lo largo de la gráfica (fig. 2).

DISCUSION.

La adopción de más y mejores pruebas de laboratorio para control de calidad de nuestros productos pesqueros es necesaria para mejorar su calidad. Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los de otros investigadores. Chang et. al., Baldini et. al. y Qadri et. al. (4, 5, 15), en el sentido de que la prueba de indol es más estricta para clasificar al camarón en cuanto a su frescura que la de NVT, ya que detectó más muestras alteradas, cuando estas todavía no presentaban características organolépticas francamente desagradables (aspecto y olor). Otras ventajas que tiene esta prueba son una mejor detección para productos inadecuadamente refrigerados y una menor variación en los resultados para distintas especies de camarón (4, 5, 14). Sin embargo, es necesario recalcar que los mismos estudios recomiendan que ninguna prueba debe ser descartada o sustituida al momento del análisis de laboratorio y que lo ideal es siempre utilizar el mayor número de pruebas posibles para facilitar la labor del verificador sanitario y tener más parámetros para evaluar la calidad del producto. También Chang et. al. mencionan que el NVT puede ser más adecuado para dar un parámetro de calidad en determinada situación, como cuando el producto se almacena con una temperatura adecuada pero rebasándose el periodo de tiempo recomendado (5). Se aclara que los estudios de dichos autores se realizaron en condiciones diferentes, ya que compararon las pruebas durante todo el proceso de alteración del producto y no sólo midieron dos, sino que utilizaron otras

pruebas como trimetilamina, mesófilos aerobios y pH.

Con respecto a la validación de la prueba de indol, las dos gráficas (fig. 1 y 2) demuestran que ésta es eficaz, ya que se observa una recuperación del 80% de indol, la cual se considera adecuada, y además se detectó sólo la sustancia indicada.

También es necesario añadir que la prueba de indol modificada (espectrofotométrica) tiene amplias ventajas sobre otros métodos de determinación de indol, como son el espectrofotométrico por destilación, el fluorométrico y la cromatografía de gases, en lo que se refiere a costo, tiempo y necesidad de capacitación del personal que lo realiza (3, 4, 5, 6).

Por lo tanto, es recomendable utilizar la prueba de indol modificada junto con otras pruebas disponibles en el LNSP, como la del NVT, la determinación de pH y los conteos microbiológicos, para tener más y mejores parámetros que ayuden a evaluar la calidad de los productos pesqueros.

CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos indicaron que la prueba de indol detecta más productos no frescos que la de NVT, basándose ambas en sus respectivos parámetros recomendados por la FAO. Todos los camarones presentaron características similares a la inspección sensorial en cuanto a olor y aspecto general y fueron analizados al mismo tiempo con ambas pruebas para evitar que se desarrollaran alteraciones que los modificaran.

La comparación entre los resultados de ambas pruebas concuerda con la efectuada por investigadores como Cheuk et. al. y Baldini et. al., en cuanto a la mayor sensibilidad y especificidad de la prueba de indol contra la del NVT (4, 5, 15). Esto explica el reconocimiento de la determinación del indol a nivel internacional como mejor parámetro de laboratorio para medir frescura en camarón y sin presentar los errores que pueda tener la prueba de NVT al momento de la medición (1, 2, 4, 5, 15).

Cabe señalar que el NVT tiene un menor costo que la prueba del indol, además de realizarse en un tiempo menor (45-50 min. contra 2 1/2 hrs.).

La utilización de la prueba del indol en el LNSP se recomienda para que se pueda realizar una mejor valoración de la calidad de los productos de la pesca, junto con las otras pruebas utilizadas en este laboratorio, además de que se debe buscar que se disponga de un mayor número de análisis químicos para ayudar en la determinación de calidad, como serían la prueba de

trimetilamina y la determinación de histamina, entre otras.

BIBLIOGRAFIA.

1. Alaniz, I.; Cobb, B. and Thompson, C. : Biochemical and microbial studies on shrimp: volatile nitrogen and amino nitrogen analysis. J. Food Sci., 38: 431-438 (1973).
2. Analytical Methods Committee of U.K.: Recommended general methods for the examination of fish and fish products. Analyst, 104: 434-450 (1979).
3. A.O.A.C.: Official methods of analysis. 12th ed. A.O.A.C., Washington, U. S. A., 1975.
4. Baldini, V.; Draetta, I.; Iaderoza, M. e Leitão M.: Alterações bioquímicas e microbiológicas do camarão-sete-barbas (Xyphopenaeus kroyeri) durante a estocagem em gelo. Boletim do Instituto de Tec. de alimentos, 23: 203-219 (1986).
5. Chang, O.; Cheuk, W.; Finne, G.; Martin, R. and Nickelson, R.: Indole in shrimp: effect of fresh storage temperature, freezing and boiling. J. Food Sci., 48: 812-816 (1983).
6. Cheuk, W. L. and Finne, G.: Modified colorimetric method for determining indole in shrimp. J. Assoc. Off. Chem., 64: 783-785 (1981).
7. Connell, J. J.: Control de calidad del pescado. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 1988.
8. FAO: Manuals of food quality No. 8. Food analysis: quality, adulteration and test of identity. FAO, Rome, Italy, 1986.
9. González, C. L.; Guerrero, V. R. y Medina, L. E.: Epidemiología. Fondo Educativo Latinoamericano, México, D.

- F., México. 1986.
10. Ketzmann, U.; Priebe, K. y Rakwow, D.: Inspección veterinaria de pescados. Ed. Acribia. Zaragoza, España, 1984.
 11. Macouzet, G. M. y Rodríguez, M. D.: Naturaleza de la descomposición del pescado. Facultad de Química. México, D. F., México. 1993.
 12. Méndez, R. I.; Moreno, A. L. y Sosa, M. C.: El Protocolo de Investigación. Lineamientos para su elaboración y análisis. Ed. Trillas, México, D. F., México, 1986.
 13. Pérez, S. L. A.: Higiene y control de productos de la pesca. CECSA, México, D. F., México, 1985.
 14. Ponder, C.: Fluorometric determination of indole in shrimp. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61: 1089-1091 (1978).
 15. Qadri, R.; Riaz, M.; Shamashad, S. and Zuberi, R.: Shelf life of shrimp (Penaeus merguensis) stored at different temperatures. J. Food Sci., 55: 1201-1205 (1990).
 16. Sawyer, R. y Egan, H.: Análisis Químico de los Alimentos de Pearson. CECSA. México, D. F., Mexico, 1985.
 17. Secretaría de Pesca. Sistema de aseguramiento de la calidad de los productos de la pesca. SEPECSA. México, D.F. México, 1981.
 18. Secretaría de Salud. Control físico-químico de productos cárnicos. S.S.A Dirección General de Epidemiología. Laboratorio Nacional de Salud Pública, México, D. F., México, 1989.

Cuadro 1. Resultados de las pruebas de NVT e Indol en camarón (*Penaeus vannamei*) con apreciación organoléptica.

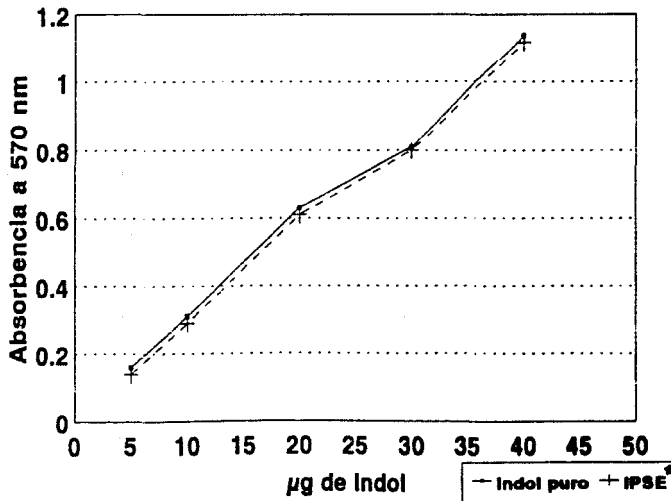
Numero de muestra	NVT (mg)	Clasificación	Indol mcg	Clasificación	Organoléptico (olor y aspecto general)
1	19.28	-	3.84	-	normal
2	18.50	-	3.90	-	normal
3	14.73	-	1.18	-	normal
4	18.95	-	2.14	-	normal
5	22.84	-	18.28	-	normal
6	25.42	-	22.0	-	normal
7	25.81	-	82.10	+	ligeramente alterado
8	12.65	-	2.05	-	normal
9	18.39	-	1.16	-	normal
10	15.12	-	2.08	-	normal
11	29.10	-	47.86	+	ligeramente alterado
12	16.40	-	4.77	-	normal
13	22.94	-	3.02	-	normal
14	12.43	-	1.16	-	normal
15	20.90	-	1.15	-	normal
16	24.42	-	51.26	+	ligeramente alterado
17	22.55	-	5.65	-	normal
18	22.78	-	2.07	-	normal
19	27.30	-	64.74	+	ligeramente alterado
20	32.38	+	58.41	+	ligeramente alterado

Fresco = - No fresco = + Parámetros de frescura: NVT < 30 mg/100g Indol < 25 mcg/100g

**Cuadro 2. Concordancia de muestras de camarón
(*Penaeus vannamei*) aceptadas y rechazadas según
las pruebas NVT e indol.**

Muestras	NVT	%	Indol	%	Concuerdan	%	No concuerdan	%
Aceptadas	19/20	95	15/20	75	15/20	75	4/20	20
Rechazadas	1/20	5	5/20	25	1/20	5		
Total	20	100	20	100	16	80	4	20

Fig 1. Curvas estándar de las soluciones de indol puro e indol puro sin extracción



* IPSE: Indol puro sin extracción

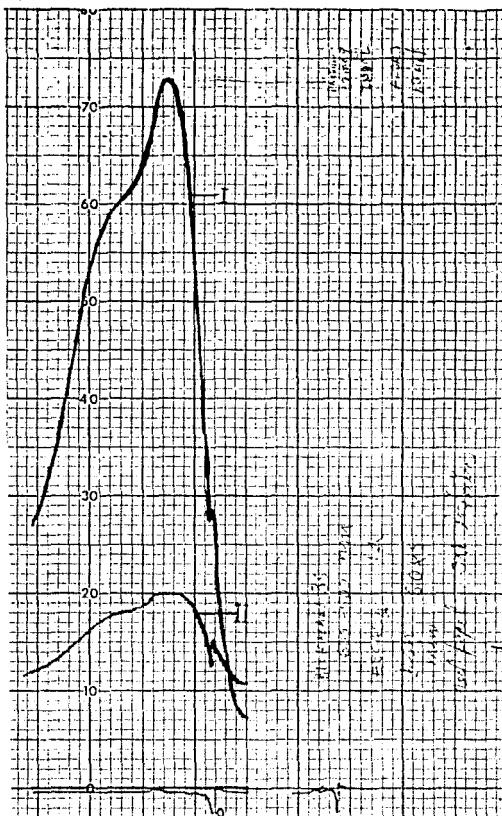


Figura 2: Curva espectrofotométrica de indol puro (I) y de indol recuperado de semazón (II).