



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química

PRESERVACION DE PESQUERIAS CON
VAPORES DE AMONIACO



T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Químico Farmacéutico Biólogo
P R E S E N T A N
Martha Moreno Moreno
Ma. de los Angeles Valdivia López



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

LAB Tesis 1977
LBO [REDACTED]
ECHA _____
RBOC _____ **290**
S _____



LOS ANGELES

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

Químico Farmacéutico Biotécnicos

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y UNIVERSITARIO

de los Estados Unidos Mexicanos

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PRESIDENTE: NINFA GUERRERO DE CALLEJAS

VOCAL: RUBEN BERRA GARCIA- COSS

SECRETARIO: LUIS RAUL TOVAR GALVEZ

1er. SUPLENTE: FIDEL FIGUEROA MARTINEZ

2º SUPLENTE: SALVADOR BADUI DERGAL

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES
FACULTAD DE QUIMICA, UNAM.

SUSTENTANTES: MORENO MORENO MARTHA

VALDIVIA LOPEZ MA. DE LOS ANGELES

ASESOR DEL TEMA: .LUIS RAUL TOVAR GALVEZ

Con amor, por el cariño y apoyo recibidos
dedicamos esta tesis a:

RAFAEL VALDIVIA G.
ELIA L. DE VALDIVIA
abuelita y hermanos

JUAN MORENO M.
ELOISA M. DE MORENO
y hermanos

a:

JUAN MANUEL CASTAÑEDA A. JOSE HERNANDEZ S.
y familia

Con todo nuestro agradecimiento y respeto a:

Nuestros maestros

Nuestros amigos.

I N D I C E

	Pag.
INTRODUCCION -----	1
GENERALIDADES -----	2
MATERIALES Y METODOS -----	11
RESULTADOS Y DISCUSION -----	18
CONCLUSIONES -----	25
BIBLIOGRAFIA -----	27

I. I N T R O D U C C I O N

A pesar de la gran riqueza marítima que existe en los mares de México, la desnutrición está acentuada por falta de proteína de buena calidad, que la dieta a base de cereal no proporciona. En el país hay un consumo anual per cápita de 4 kg de pescado, mientras que en otros países -- con menos litorales alcanzan los 60 kg per cápita. Esto se debe a numerosos factores uno de los cuales es que en las costas del país se pierden toneladas de pescado antes de que, sean aprovechados como tal o procesados.

Esta situación y ciertos prejuicios de los consumidores nacionales, que prefieren el pescado fresco, ha hecho que un 60 % de la población en México, esto es unos 30 millones de mexicanos, no consuman pescado pese a padecer -- una deficiencia crónica en proteína.

Como objetivo principal de este trabajo, se propone -- un método de preservación de pescado con vapores de amoníaco, que comparativamente a la congelación y refrigeración -- pudiera ser más económico. Esto implica que en caso de llevarse a la práctica, el método de conservación aquí propuesto, haría disminuir substancialmente las pérdidas de -- pescado.

El pescado aquí empleado se someterá, a dos tratamientos, los cuales, tienen en común la aplicación del amoníaco.

El amoníaco en forma gaseosa ha probado ser muy prometedor, ya que es fácil de obtener, económico, de buena acción preservativa y al mismo tiempo fácil de remover. Se -- tratará de demostrar por medio de análisis químicos y organolépticos esta efectividad.

II. GENERALIDADES

A. COMPOSICION Y VALOR NUTRITIVO DEL PESCADO.

La composición y las propiedades nutritivas de la carne comestible de los pescados de cualquier especie varían mucho de acuerdo con la estación del año, el grado de madurez, el sexo, la temperatura del ambiente y otros factores. El aceite de pescado de arenque, por ejemplo, puede fluctuar entre el 8 y el 20 % con los cambios de la estación y la disponibilidad del alimento. Las composiciones de la mayoría de los peces están en la siguiente escala:

Humedad	----	70	-	80 %
Proteína	----	15	-	20 %
Grasa	----	1	-	10 %
Azúcares	----	0.3	-	1 %
Cenizas	----	1	-	1.5 %

Desde el punto de vista nutricional las proteínas del pescado son altamente digeribles y de la misma calidad que las de carne roja. Por consiguiente, la función más importante del pescado como producto alimenticio, es el suministro de proteínas de alta calidad.

Los aceites de pescado también se digieren fácilmente y son ricos en ácidos grasos insaturados penta ó hexaenos- (5 ó 6 dobles enlaces por molécula), por lo que son más efectivos para bajar el nivel de colesterol en la sangre.

El pescado es rico en vitaminas. Su aceite es una --- fuente excelente de las vitaminas liposolubles A y D. La - carne de pescado constituye una fuente aceptable de las vitaminas del complejo B. También suministran cantidades importantes de minerales y yodo especialmente.

Sin embargo, a pesar de todas estas cualidades nutri-

tivas, en México no se come pescado. Mientras en el D.F. - se consumen 9 kg por habitante anualmente, en el resto del país apenas llega a los 3.2 kg per cápita. Esto trae como consecuencia una problemática con un profundo significado desde el punto de vista de salud, (Ortiz, 1973). El cuadro N° 1 muestra una relación de consumo de pescado en todo el país.

B. FACTORES EN LA DESCOMPOSICION DEL PESCADO.

El pescado es uno de los alimentos más perecederos -- por lo que necesita unos cuidados adecuados desde que es - capturado, hasta que se sirve o se industrializa. La manera de manipular el pescado en este intervalo determina la intensidad con que se presentarán las alteraciones, que -- obedecen a tres causas: enzimática, química y bacteriana.- La rapidez con que se desarrolla cada una de estas acciones durante la descomposición del pescado depende en primer lugar de la puesta en práctica de los principios básicos de la conservación de alimentos y, en segundo lugar de la especie de los peces y de los métodos de pesca.

1. Alteración Enzimática.

Aunque las modificaciones que ocurren durante la descomposición son en parte desconocidas, es posible sin embargo relacionar de un modo satisfactorio los cambios químicos con las fases de la alteración apreciadas por medios sensoriales.

Las enzimas inducen transformaciones considerables en algunos componentes del músculo. En primer lugar estos cambios se hallan relacionados con el rigor mortis o rigidez del músculo que ocurre poco después de la muerte, fenómeno propio en este caso del pescado recientemente capturado. - El rigor mortis se ve acelerado por las sacudidas previas-

CUADRO N° 1
 CONSUMO TOTAL Y POR HABITANTE DE PRODUCTOS PESQUEROS COMESTIBLES
 EN EL DISTRITO FEDERAL Y OTROS CENTROS DE POBLACION DEL PAIS

AÑOS	Consumo	Consumo per cápita	Consumo per cápita
	Total	en el D.F.	en el resto del - país
	Toneladas	Kilogramos	Kilogramos
1960	78 799	6.666	1.462
1961	84 669	7.814	1.384
1962	84 140	7.513	1.338
1963	107 700	7.959	1.885
1964	112 655	8.719	1.808
1965	125 028	9.110	1.993
1966	132 348	9.610	2.006
1967	159 028	10.542	2.447
1968	161 150	9.994	2.468
1969	152 365	9.719	2.174
1970	163 624	9.452	2.319
1971	191 007	9.669	2.777
1972	195 463	9.764	2.709
1973	225 446	9.210	3.291

Referencia Ortiz Federico, Jr.(1973).

a la muerte, la falta de oxígeno y una temperatura elevada y se retrasa en cambio por un pH bajo que causa inactividad enzimática y por bajas temperaturas, (ver cuadro N° 2).

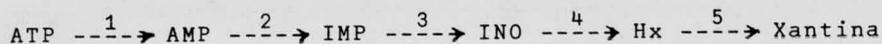
Como consecuencia de los diversos cambios algunos componentes desaparecen mientras que otros resultan químicamente muy alterados, como los nucleótidos, hasta el punto de perderse el característico olor y sabor del pescado -- fresco.

Los nucleótidos de interés primario presentes en el - músculo de pescado son inosin 5-monofosfato (IMP) y adenosin 5-trifosfato (ATP). El ATP al degradarse da como resultado liberación de IMP, principal contribuyente al sabor agradable de pescado fresco, lo cual es debido a la fosforilación en la posición 5 de la ribosa y al grupo hidroxilo- en la posición 6 de la purina.

La degradación de IMP a hipoxantina, que es una base-nitrogenada derivada de la purina, es un factor en la progresiva pérdida del sabor fresco y en el desarrollo de un-sabor amargo, en ésta fase el producto se encuentra dete--riorado.

Consecuentemente uno de los procedimientos para se --guir el curso de la reacción en la secuencia degradativa - de nucleótidos, sería medir la formación de hipoxantina., - (Kassemsarn & Jones N.R. 1963).

Las reacciones degradativas en el músculo se pueden - resumir como sigue:



ATP adenosin 5-trifosfato

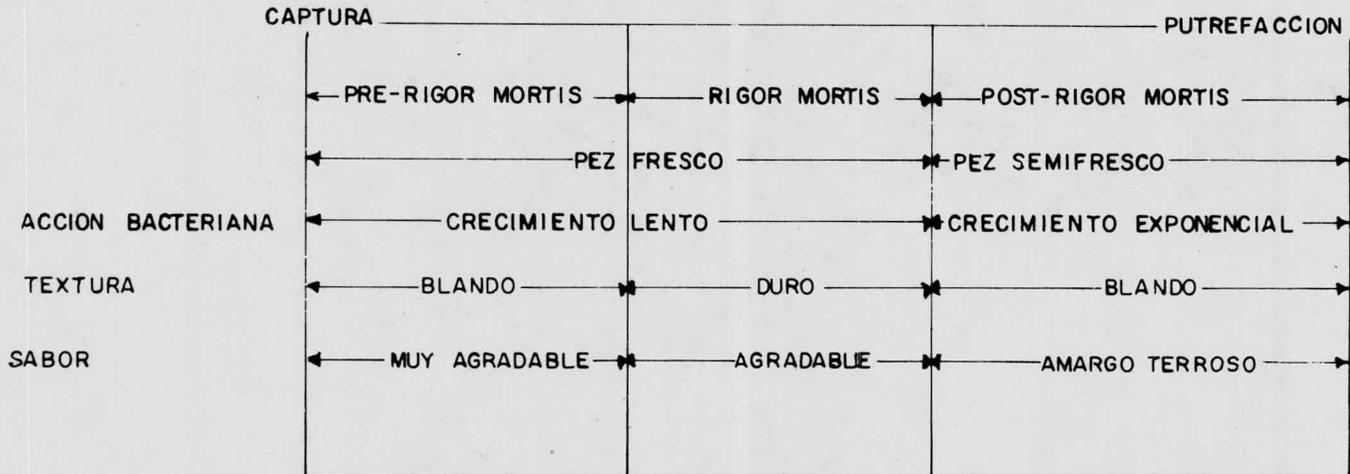
AMP adenosin monofosfato

IMP inosin 5-monofosfato

INO inosina

Hx hipoxantina

CUADRO Nº 2
CAMBIOS POST-MORTEM EN EL PESCADO



Las etapas 1 y 2 ocurren rápidamente y por lo general se completan con la muerte del pescado. Las etapas 3 a la 5 son más lentas y usualmente toman cierto tiempo para completarse, dependiendo de varios factores, siendo el más importante la temperatura.,(Jones & Murray 1964).

2. Alteración Microbiana.

La alteración microbiana de los pescados no se inicia sino hasta pasado el rigor mortis, cuando las fibras musculares empiezan a liberar su jugo. Cuanto más se retrase este momento, tanto más largo será el período de conservación del pescado.

Los cambios que acontecen en los tejidos de los peces por alteraciones enzimáticas sobre la proteína, es una hidrólisis que da como resultado aminoácidos y péptidos. Esta hidrólisis, estimula el desarrollo de los microorganismos, puesto que suministra compuestos nitrogenados, vitales para el desarrollo de ciertos microorganismos incapaces de actuar sobre las proteínas completas. El pH del pescado tiene gran influencia no solo por sus efectos en el rigor mortis sino también por su efecto en el desarrollo bacteriano. El descenso del pH es consecuencia de la conversión de glucógeno en ácido láctico.

Las bacterias y enzimas naturales al actuar sobre los aceites del pescado liberan trimetilamina de los fosfolípidos originando un fuerte olor a pescado.

Las alteraciones microbianas en el pescado se deben principalmente a los géneros: Achromobacter, Pseudomonas, Flavobacterium, Proteus, Bacillus, Serratia y Micrococcus. Su identificación y características son de importancia para mejorar los métodos de manipulación y conservación de productos marinos.

3. Alteración Química

La mayor parte de los aceites de pescado son también más susceptibles al deterioro por oxidación que la mayoría de las grasas vegetales y animales, debido a que los aceites de pescado son altamente insaturados. El aceite del tejido de pescado fresco mantenido refrigerado rara vez muestra acentuada tendencia hacia la oxidación o iniciación de enranciamiento. Casi en todos los casos el pescado ha dejado de ser comestible por putrefacción bacteriana antes de que apareciese algún inicio de enranciamiento. Cuando en el pescado se reduce o elimina la descomposición bacteriana mediante técnicas tales como la deshidratación, salazonado o irradiación, entoces la oxidación progresa al ritmo que normalmente sería de esperar y el aceite puede enranciarse en grado sumo.

C. PRERERVACION DEL PESCADO.

Serios deterioros ocurren en el período de descomposición, si estos pudieran ser detenidos el pescado podría ~~ser~~ ser almacenado sin estropearse.

Existen varios métodos de conservación de pescado como son, refrigeración, congelación, conservación por deshidratación, empleo de conservadores y en los últimos años el uso de radiaciones y amoniaco.

Subrahmanyam et al., (1963) describieron el uso de amoniaco para la preservación de aceite de sardina eviscerada por más de dos meses sin deterioro, en su valor nutritivo

Mitchell (1969), tiene una patente en la cual describe la preservación del pescado mediante aspersion de una solución acuosa de amoniaco durante dos semanas sin refrigeración.

Mandal y Mukherjee (1974) probaron diferentes métodos de tratamiento en pescado Mrigal, especie altamente consumida en la India, por inmersión, rociamiento, inmersión-rociamiento y vapores a diferentes concentraciones.

D. DIVERSOS INDICES DE FRESCURA EMPLEADOS EN PESQUERIAS.

Para la determinación de frescura en pescado, existen varios índices de calidad que se pueden dividir en:

1. Morfológicos.

En la compra y venta de productos pesqueros son esenciales cierta clase de requisitos o especificaciones de los productos y un determinado grado de calidad. El cuadro N° 3 muestra el grado en que el pescado resulta aceptable y no aceptable desde el punto de vista comercial.

CUADRO N° 3

Pescado Fresco	Pescado Alterado
Olor débil a mar.	Olor pútrido sobre todo en vísceras.
Rigidez, tejido muscular consistente.	Tejido muscular blando.
Piel brillante, escamas adheridas.	Piel opaca, escamas blandas que se desprenden fácilmente.
Vientre consistente y elástico.	Vientre blando y frágil.
Branquias rojas.	Branquias grisáceas decoloradas.
Ojo prominente con pupila negra y córnea transparente.	A las 24 hr la opalescencia principia. En 4 días -

te.	los ojos son grises y enco <u>g</u> idos.
-----	---

Referencia: "La Ciencia de los Alimentos". Potter, 1973.

2. Químicas.

Muchas de las pruebas químicas de fresura coinciden exactamente con las modificaciones alterativas que se presentan en las etapas medias y finales de la descomposición fases por otra parte en las que los olores predominantes indican la putrefacción.

Las determinaciones, de las sustancias básicas volátiles totales es de empleo ampliamente generalizado y se incluyen:

- a. Amoniaco
- b. Dimetil amina (DMA)
- c. Trimetil amina (TMA)

Otras determinaciones son:

- d. Hipoxantina
- e. Acido tiobarbitúrico (TBA)
- f. Carga bacterial empleando 2,3,5-trifeniltetrazolio.

Estas últimas determinaciones se fundamentan en:

- i) Hipoxantina (Jones et al., 1964).

Para esta determinación se hace una extracción y homogenización con ácido perclórico, para dejar en solución los nucleótidos, nucleósidos y bases nitrogenadas (púricas y pirimidicas).

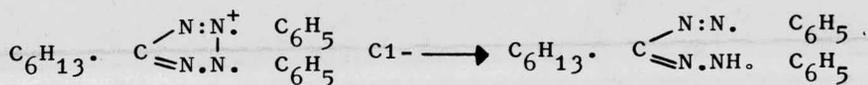
Para aislar las purinas, principalmente hipoxantina se precipitan, agregando AgNO_3 formándose un complejo. Las purinas son liberadas agitando con ácido clorhídrico precipi-

tando la plata como AgCl.

ii) Carga Bacterial (Fairbridge et al., 1951).

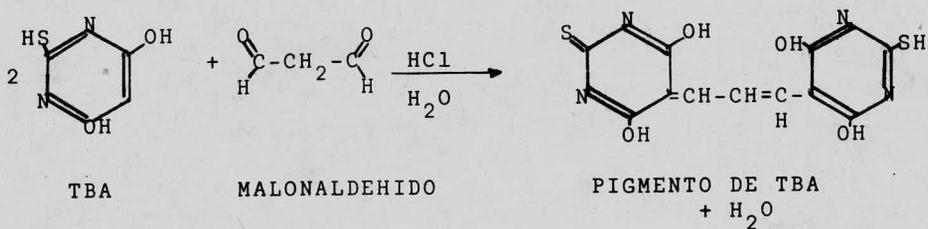
Se basa en las propiedades de la sal 2,3,5-trifenilte trazolio, la cual en forma oxidada es soluble en agua e in colora y en forma reducida es soluble en solventes orgánicos y colorida.

La reducción del 2,3,5-trifeniltetrazolio a trifenilformazan la llevan a cabo los microorganismos viables presentes en el pescado.



iii) Acido Tiobarbitúrico(TBA)..(Sinhuber y Yu, 1958).

Se fundamenta en la reacción del TBA con los ácidos-- grasos oxidados, que forman un pigmento rojo, compuesto -- que tiene una cadena de tres carbonos conteniendo un átomo de oxígeno. Se comprobó que el malonaldehído es el responsable del pigmento rojo. Se sabe que el malonaldehído ataca a los grupos metílicos activos del TBA, seguido por un cirre de anillo. La configuración molecular del pigmento - es un producto de la condensación de dos moléculas de TBA- con una de malonaldehído.



iv) Amoniaco (A.O.A.C. ,1975)

Se fundamenta en la destilación del amoniaco recibién-
 dolo en un volúmen conocido de ácido valorado. Por titula-
 ción del ácido no neutralizado se calcula la cantidad de -
 nitrógeno amoniacal.

III. M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

En un intento por establecer las bases para un futuro desarrollo en la preservación de pescado, se seleccionaron en este trabajo, ocho muestras al azar de la especie Lutjanus campechanus (huachinango); con el objeto de verificar la acción del amoniaco en el músculo del pescado. Una vez comprobada ésta acción preservativa, se sugiere diseñar el experimento de manera que las muestras sean representativas estadísticamente.

Las muestras de pescado huachinango, fueron obtenidas del Centro Distribuidor de Pescados y Mariscos ubicado en la Calzada de la Viga. Aparentemente el pescado había sido capturado el día anterior y transportado al D.F. en hielo.

Los pescados ya eviscerados fueron de aproximadamente 1 kg y el tiempo transcurrido en llevarlos al laboratorio no fué mayor de 1 hr. Una vez en el lugar de trabajo fueron descamados y descabezados.

Dichos pescados se dividieron en dos grupos cada uno de cuatro muestras para seguir dos métodos diferentes dados a continuación:

METODO A. Tratamiento con vapores de NH_3 (1 ml de NH_4OH por 100 g de pescado).

1. Material.

a) Cámaras de vidrio.

Las cámaras de vidrio se hicieron con bloques de vidrio comercial, fueron diseñadas con un sistema de ganchos en la parte superior que permitían sostener el pescado. El cierre era hermético pues las cámaras se cortaron de tal manera, quedando tapa y recipiente con juntas esmeriladas. Las dimensiones de las cámaras fueron de 29.9 x 29.9 x 9.5 cm; cabe notar que son muy semejantes a las cámaras usadas

para cromatografía de capa fina. (Esquemas N° 1 y 2).

b) Vasos de precipitados de vidrio pyrex de 10 ml.

2. Reactivos.

a) Solución de NH_4OH 5 N.

3. Técnica.

Se introdujo una muestra de pescado en cada una de -- las cámaras de vidrio, manteniéndolas en las siguientes -- condiciones:

Cámara N° 1 Se utilizó 10 ml de solución de NH_4OH 5 N como fuente de vapores de amoníaco. Se mantuvo en un cuarto frío en el cual la temperatura era de 10 ± 1 C.

Cámara N° 2 Control a 10 ± 1 C

Cámara N° 3 Se utilizó 10 ml de solución de NH_4OH 5 N como fuente de vapores de amoníaco. Se mantuvo a temperatura ambiente.

Cámara N° 4 Control a temperatura ambiente.

METODO B. Tratamiento con vapores de amoníaco (1 ml - de NH_4OH por 100 g de pescado). Previo salado.

En un intento de alargar aún más la vida de anaquel - del pescado, en éste método B aunado con los vapores de amoníaco, se utilizó la sal, por sus bien conocidas características preservativas. Por lo tanto es un método que no - ha sido reportado en la literatura.

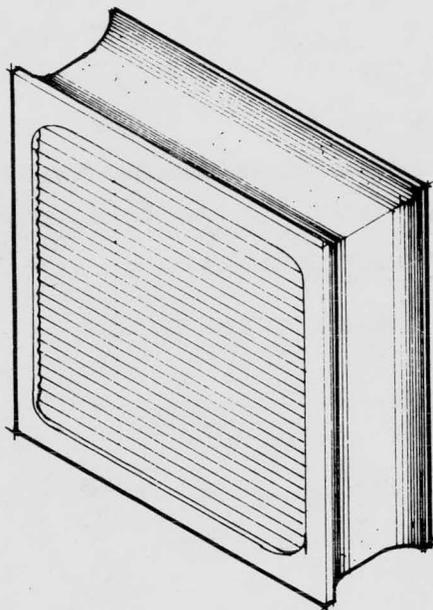
1. Material.

a) Cámaras de vidrio como las del método A

2. Reactivo.

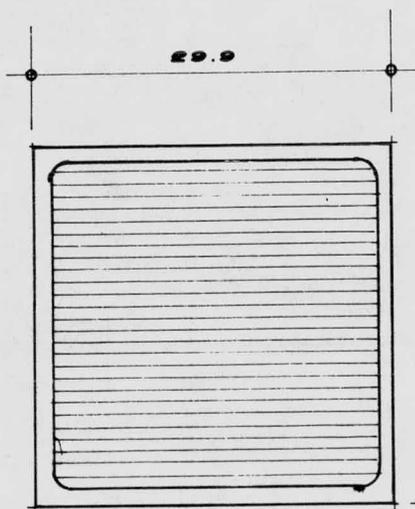
a) Solución de NH_4OH 5 N

b) Solución de NaCl al 20 %

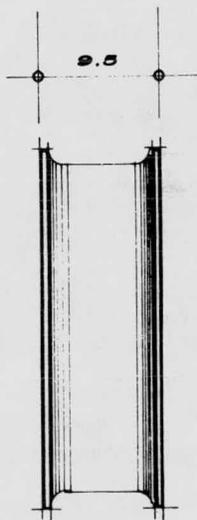


ESQUEMA Nº 1

I S O M E T R I C O

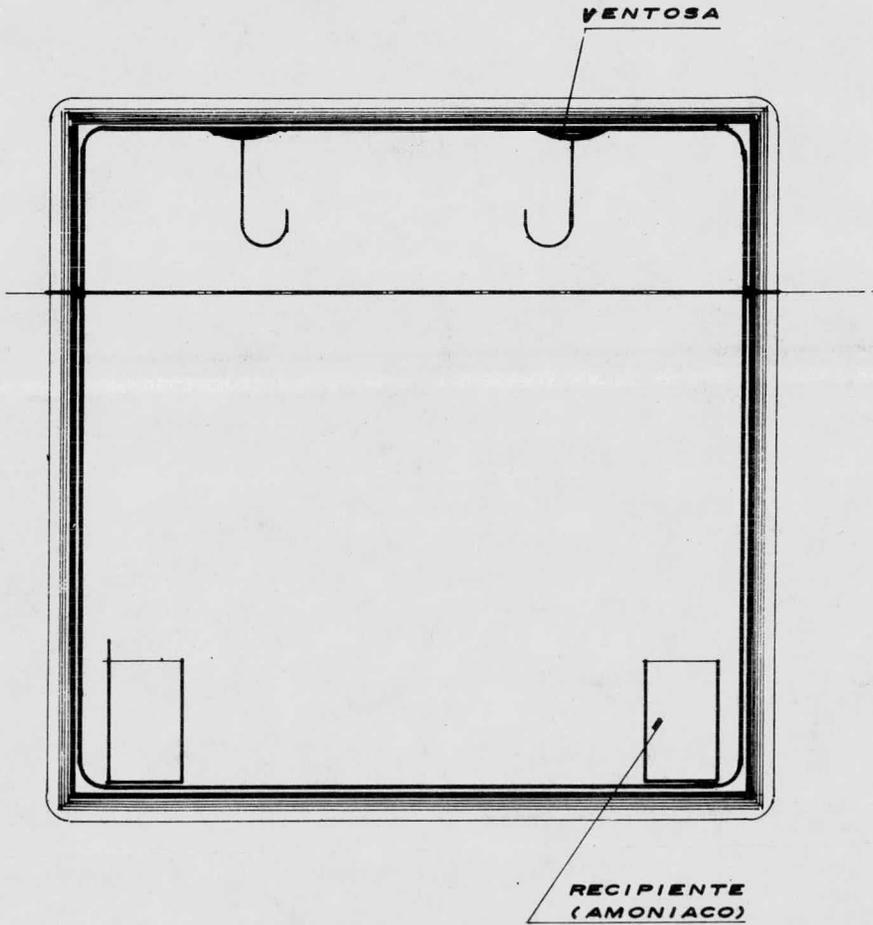


**SECCION
LONGITUDINAL**



**SECCION
LATERAL**

ESQUEMA Nº 2



CORTE LONGITUDINAL

3. Técnica

Las muestras se introdujeron en una solución salina - al 20 % durante 30 min. La acción conservadora principal - se consigue con la reducción de la tasa de humedad. Sucede así porque sólo con concentraciones salinas fuertes se interrumpe la mayor parte de la acción bacteriana, o por lo menos se retrasa mucho, por más que esto no afecte a los microorganismos halófilos. La concentración de la sal en el exterior del pescado es, de hecho, otro factor de importancia, ya que a concentraciones salinas elevadas corresponde una mayor rapidez en los fenómenos osmóticos y en la eliminación de humedad.,(Frazier, 1972).

Las muestras fueron tratadas a continuación, de la misma manera que el método A.

A. DETERMINACION DE HIPOXANTINA

1. Material.

Matraces erlenmeyer de 250 ml, probetas de 100 ml, -- pipetas graduadas de 10, 5, 1 ml. Centrífuga. Espectrofotómetro.

2. Reactivos.

Acido perclórico 6 N, solución de nitrato de plata -- 1 M, ácido perclórico 0.1 N, solución de nitrato de plata- 0.02 M, solución de ácido clorhídrico 1 N.

3. Técnica

Para medir frescura se empleó la determinación de hipoxantina usando el método de precipitación de la plata -- (Jones et. al., 1964).

Para la preparación del extracto se usaron 25 g de -- músculo de pescado de la porción anteriorodorsal siendo homogenizada con 50 ml de ácido perclórico 0.6 N a una temperatura alrededor de 0 C. El homogenizado fué filtrado a va--

cío rápidamente aproximadamente a 0 C.

Dos ml del extracto se diluyeron con 7 ml de agua desionizada, más 0.2 ml de AgNO_3 M fueron agregados agitando, el precipitado se forma en 15 min a una temperatura de aproximadamente 0 C y se separó por centrifugación. El sobrenadante se descartó. El precipitado que contiene las purinas del extracto fué lavado con ácido perclórico 0.1 N - conteniendo AgNO_3 0.02 M (5 ml) y recentrifugado, el sobrenadante fué descartado. Se agregó 15 ml de HCl 1 N con agitación vigorosa. El AgCl formado se remueve por centrifugación y las purinas fueron estimadas a 248 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 55.

B. DETERMINACION DE CARGA BACTERIAL

1. Material.

Matraces erlen meyer de 250 ml, embudos de separación de 100 ml, pipetas volumétricas de 0.5, 5 ml, probeta de - 100 ml, estufa, centrifuga, espectrofotómetro.

2. Reactivos.

Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 0.5 %, solución reguladora de fosfato pH 7, sal de 2,3,5-trifeniltetrazolio, ácido ascórbico, solución de NaOH al 10 %, butanol.

3. Técnica.

Para esta determinación se usó la sal 2,3,5-trifeniltetrazolio (Faribridge et al., 1951).

El método consiste en la adición de una suspensión de tejido (5 g de tejido abdominal mezclado con 30 ml de agua destilada y esterilizada). Se pasaron a un matraz que contenía 0.5 ml de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 0.5 % y 5 ml de solución reguladora de fosfato pH 7, des ---

pués de una agitación inicial se incubaron a 38 ± 1 C durante 7 hr y el formazan formado que es de color rojo se extrajo rápidamente por centrifugación. Se leyó a 485 nm en el espectrofotómetro antes mencionado. La concentración de formazan formado se calcula a partir de una curva estándar preparada de la siguiente manera:

El formazan se obtiene por reducción de 1 g de 2,3,5-trifeniltetrazolio, por 1 g de ácido ascórbico; se disuelve en 25 ml de agua destilada con 5 ml de NaOH al 10 % (w/v). La reacción se completa en 20 min. Se neutraliza, se filtra y el trifenil formazan formado se lava sobre papel filtro y se seca a 37 C. Se preparan las diluciones con concentraciones conocidas, usando butanol como solvente y se lee a 485 nm (fig. N° 1).

C. DETERMINACION DE AMONIACO

1. Material.

Matraz erlenmeyer de 250 ml, matraz macrokjeldahl, equipo de destilación, bureta de 100 ml.

2. Reactivos.

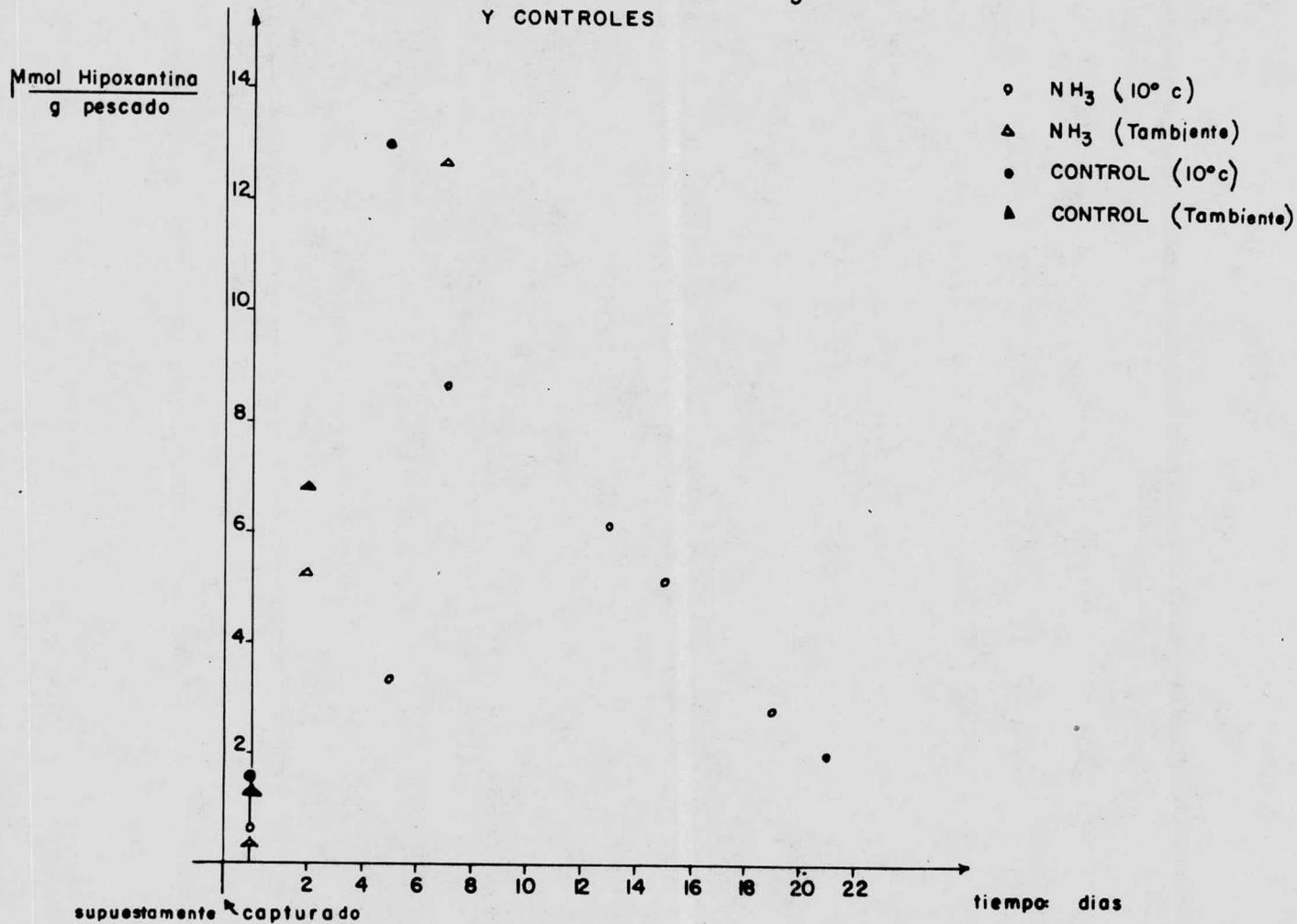
Oxido de magnesio libre de carbonatos, solución de ácido clorhídrico valorado, solución de hidróxido de sodio valorada, rojo de metilo como indicador.

3. Técnica

Se determinó amoniaco por el método de la A.O.A.C. (1975).

Se pesan 3.0 g de músculo de pescado, se introduce en un matraz macrokjeldahl, con 200 ml de agua destilada y 2-g de MgO (libre de carbonatos) se destiló 100 ml de líquido, recibéndolos en un matraz erlenmeyer con 50 ml de ácido clorhídrico valorado, usando rojo de metilo como indicador. Se tituló con solución valorada de hidróxido de sodio

FIG. 7 HIPOXANTINA
PESCADO CON VAPORES DE NH_3
Y CONTROLES



D. DETRMINACION DE ACIDO TIOBARBITURICO.(TBA)

1. Material.

Matraz de bola de 250 ml con boca esmerilada 24/40, -refrigerantes con juntas esmeriladas 24/40, pipetas de 5 y 10 ml, probetas de 100 ml, recipientes para baño maría, -centrifuga, embudos de separación de 100 ml, espectrofotómetro.

2. Reactivos.

- a). Acido tricloroacético. 20 g en 100 ml de agua destilada.
- b) Solución de clorhidrato de piridina. 30 ml de piridina más 70 ml de ácido clorhídrico 6 N.
- c). Reactivo de ácido 2-tiobarbitúrico (Merck). Dos g de TBA más 193 ml de agua destilada y 6.6 ml de hidróxido de sodio 2 N, se mezclan calentando por varios minutos a baño maría hasta total disolución.
- d). Se prepara una solución reguladora de citrato de sodio que contiene 59 g de citrato de sodio más 50 ml de ácido clorhídrico y 400 ml de agua destilada, se mezcla y se filtra. El reactivo de TBA se obtiene mezclando 2 partes de reactivo de TBA con una parte de la solución reguladora de citrato, ajustar a pH 2.6.
- e). Reactivo de ácido clorhídrico-tricloroacético-piridina. Mezclar 650 ml de HCl 0.6 N con 50 ml de ácido tricloroacético y 50 ml de la solución de clorhidrato de piridina.
- f). Eter de petróleo.

3. Técnica.

Se usó el método de análisis del ácido tiobarbitúrico reportado por (Sinhuber y Yu, 1958).

Previamente se toman aproximadamente 3 g de músculo de pescado, se seca a 50 C en una estufa con vacío y pos--

teriormente se muele en un mortero.

Se pesan 0.260 g de muestra en un matraz de 250 ml de bola con boca esmerilada, adicionándole 4 ml de agua destilada, 5 ml de clorhidrato de piridina, 10 ml de solución de ácido tricloroacético y 0 ml de solución de TBA. Conectar el matraz al refrigerante y poner el sistema a baño maría, agitando de vez en cuando.

Se puso a reflujo por 30 min exactamente y se adicionó por la parte superior del refrigerante 75 ml de reactivo de HCl-Tricloroacético-Piridina; al término de los 30 min, se agitó y se dejó refluir por 10 min. Pasando este tiempo, se enfriaron los matraces con agua fría hasta temperatura ambiente. Se centrifugó aproximadamente 40 ml de la solución por 5 min a 1800 rpm. Se midieron 15 ml en un embudo de separación y se adicionaron 10 ml de éter de petróleo agitando vigorosamente por 30 seg. Posteriormente se centrifugó por 3 min a 1200 rpm. En caso de cualquier turbidez de la solución, se centrifuga. Se repite esta operación cuantas veces sea necesario. La densidad óptica se leyó a 545 nm. Los resultados son expresados en unidades de absorbancia.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Las primeras determinaciones de hipoxantina y carga bacteriana efectuadas al pescado antes de que fuera tratado por los dos métodos A y B dieron valores promedios bajos - tomando en cuenta que habían transcurrido 24 hr desde su captura. Las tablas de la I-VIII muestran los cambios en la concentración de hipoxantina y de formazan, en los pescados tratados por los dos métodos y sus controles.

Las figuras 2,3,4 y 5 son fotografías de las cámaras con el pescado, usadas en éste trabajo.

Tabla I. El control a temperatura ambiente, a las 24-hr, tenía características típicas de la putrefacción y las pruebas de hipoxantina y carga bacteriana realizadas a las-48 hr revelan un avanzado estado de descomposición.

TABLA I

PESCADO CONTROL A TEMPERATURA AMBIENTE		
Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacteriana ug/g
0	0.14	16.2
2	6.86	incontable

incontable mayor de 500 ug/g

En la Tabla II se muestra que la hipoxantina y la carga bacteriana del pescado tratado con amoníaco a temperatura ambiente, aumentan gradualmente hasta el séptimo día en el que la frescura ha sido destruída como sus características morfológicas así lo indican. A pesar de ello se nota que la carga bacteriana es mucho menor que el control (tabla 1).

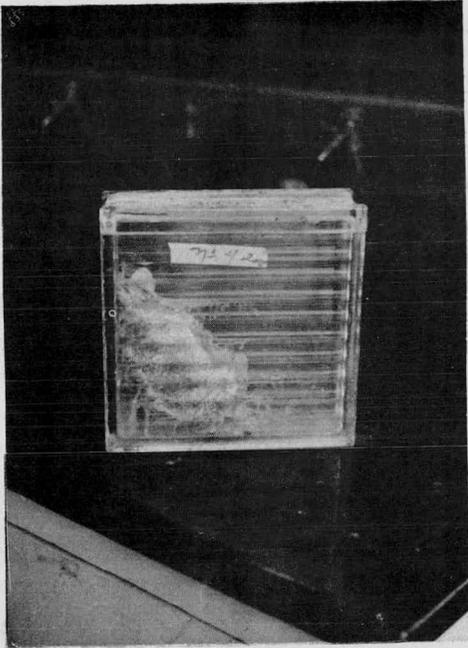
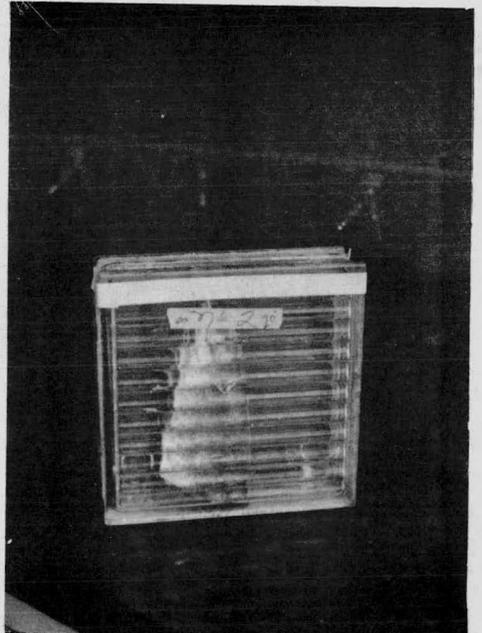


Fig. 2 Pescado control
temperatura ambiente a
las 48 hr.

Fig. 3. Pescado tratado
por el método A, tempe-
ratura ambiente a las -
48 hr.



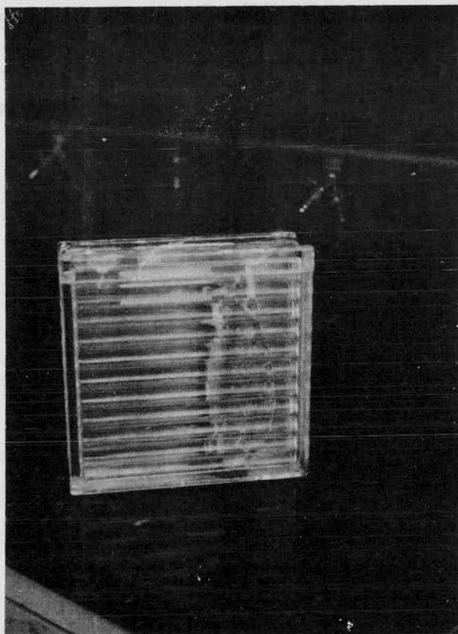


Fig. 4. Pescado control
temperatura 10 C a las
48 hr.

Fig. 5. Pescado tratado por el
método A, temperatura 10 C a -
las 48 hr.

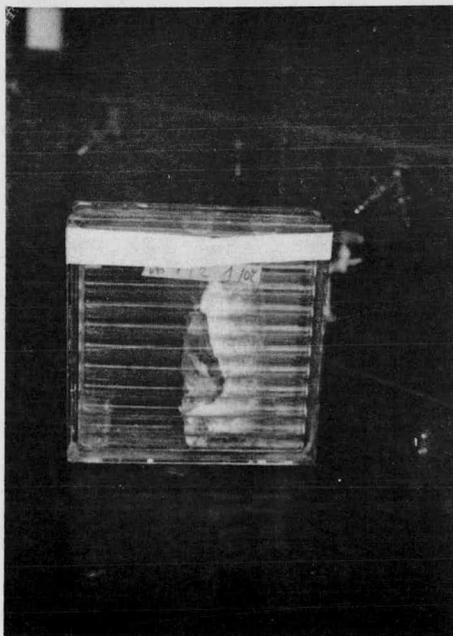


TABLA II
PESCADO CON VAPORES DE AMONIACO TEMPERATURA AMBIENTE.

Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacterial ug/g
0	0.47	22.2
2	5.43	134.0
7	12.66	264.0

La tabla III muestra que la hipoxantina en el pescado-control a 10 C aumenta significativamente a los 5 días de almacenamiento, perdiendo por completo su calidad, en tanto la carga bacterial se hace incontable.

TABLA III
PESCADO CONTROL A TEMPERATURA 10 C

Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacterial ug/g
0	0.15	33
5	13.0	incontable
7	12.66	incontable

incontable mayor de 500 g/g

El pescado conservado con amoniaco a 10 C (Tabla IV), tuvo una vida de anaquel más prolongada. La hipoxantina -- aumenta progresivamente, hasta alcanzar un valor máximo al séptimo día, disminuyendo posteriormente, mientras que la carga bacterial se considera bastante baja a los 21 días.

El incremento de hipoxantina esta relacionado con el decremento en la concentración de IMP y AMP del músculo de pescado y disminuye debido a que se degrada a xantina como se observa en la fig. 6 (Kassemsarn et.al., 1963). En esto último existe una discrepancia con respecto al trabajo de-

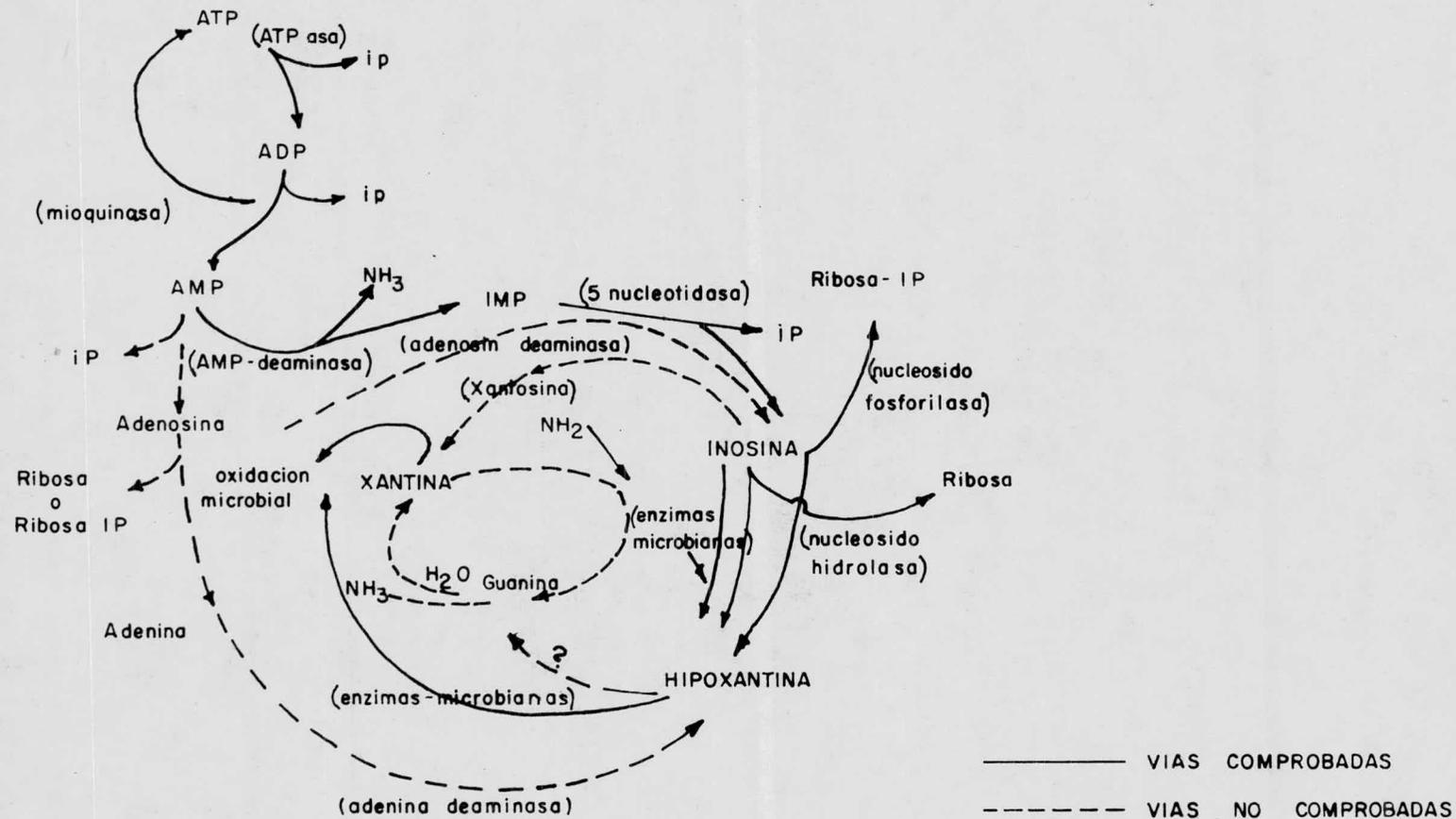


FIG. 6 Degradacion del ATP en músculo de pescado

Mandal y Mukherjee, ya que a pesar de que el tiempo experimental sobre sus muestras fué mayor, siempre obtienen incremento en la concentración de hipoxantina.

La acción del amoniaco por tanto es inhibir a los sistemas enzimáticos involucrados en las vías de degradación, para la preservación de AMP a IMP, retardando la reacción a causa del aumento en la concentración de amoniaco.

TABLA IV
PESCADO CON VAPORES DE AMONIACO TEMPERATURA 10 C

Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacterial ug/g
0	0.60	19.2
5	3.40	23.5
7	8.52	23.7
13	6.28	26.0
15	5.20	30.6
19	2.73	30.3
21	1.97	39.0

Resultados del METODO B se indican en las tablas V-VIII.

Tabla V. El pescado control a temperatura ambiente se mantuvo en buenas condiciones hasta las 48 hr debido a la acción de la sal: Al tercer día una cierta cantidad de hipoxantina esta en etapa degradativa y aunque la carga bacterial aumenta un poco, morfológicamente se considera toda vía aceptable. Burt, J.R. (1977) reporta que la intervención de las enzimas microbianas presentes en el pescado, -degradan la hipoxantina posiblemente a ácido úrico.

TABLA V
PESCADO CONTROL A TEMPERATURA AMBIENTE (SALADO)

Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacterial ug/g
0	1.28	3.9
2	5.85	170.0
3	1.78	348.0
5	1.5	incontable

incontable mayor de 500 ug/g

Tabla VI. Se observa que el pescado tratado con amoníaco previo salado a temperatura ambiente, dura seis días más que su control en condiciones muy aceptables alcanzando la hipoxantina su valor máximo al sexto día. Por otra parte, se nota que la carga bacterial al noveno día es aún baja.

TABLA VI
PESCADO CON VAPORES DE AMONIACO A TEMPERATURA AMBIENTE
(SALADO)

Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacterial ug/g
0	1.88	9.6
2	4.12	24.0
3	5.86	25.8
6	11.86	34.8
8	6.14	28.2
9	6.16	92.4

Cuando el pescado es almacenado a 10 C, (Tabla VII),- tiene una vida de anaquel mayor en comparación al control- a temperatura ambiente. El valor más alto de hipoxantina- lo alcanza al sexto día, empezando a degradarse dentro de- las 24 hr siguientes. La carga bacterial aumenta continua- mente y al sexto y octavo días se considera ligeramente al- to.

TABLA VII
PESCADO CONTROL A TEMPERATURA 10 C (SALADO)

Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacterial ug/g
0	2.09	6.0
3	2.19	40.0
6	12.20	196.5
8	6.05	172.2
9	*	*

*No se corrió por falta de muestra.

La Tabla VIII muestra resultados del pescado tratado- con amoniaco y almacenado a 10 C, los cuales son muy alen- tadores, debido a que al noveno día la cantidad de hipoxan- tina es baja al igual que la carga bacterial, que son trazas. (Trazas menor de 3 ug/g).

TABLA VIII
PESCADO CON VAPORES DE AMONIACO TEMPERATURA DE 10 C
(SALADO)

Días	Hipoxantina umol/g	Carga bacterial ug/g
0	2.9	9.84
3	5.11	trazas
6	8.53	trazas

FIG. 1 CURVA ESTANDAR DE TRIFENIL FORMAZAN

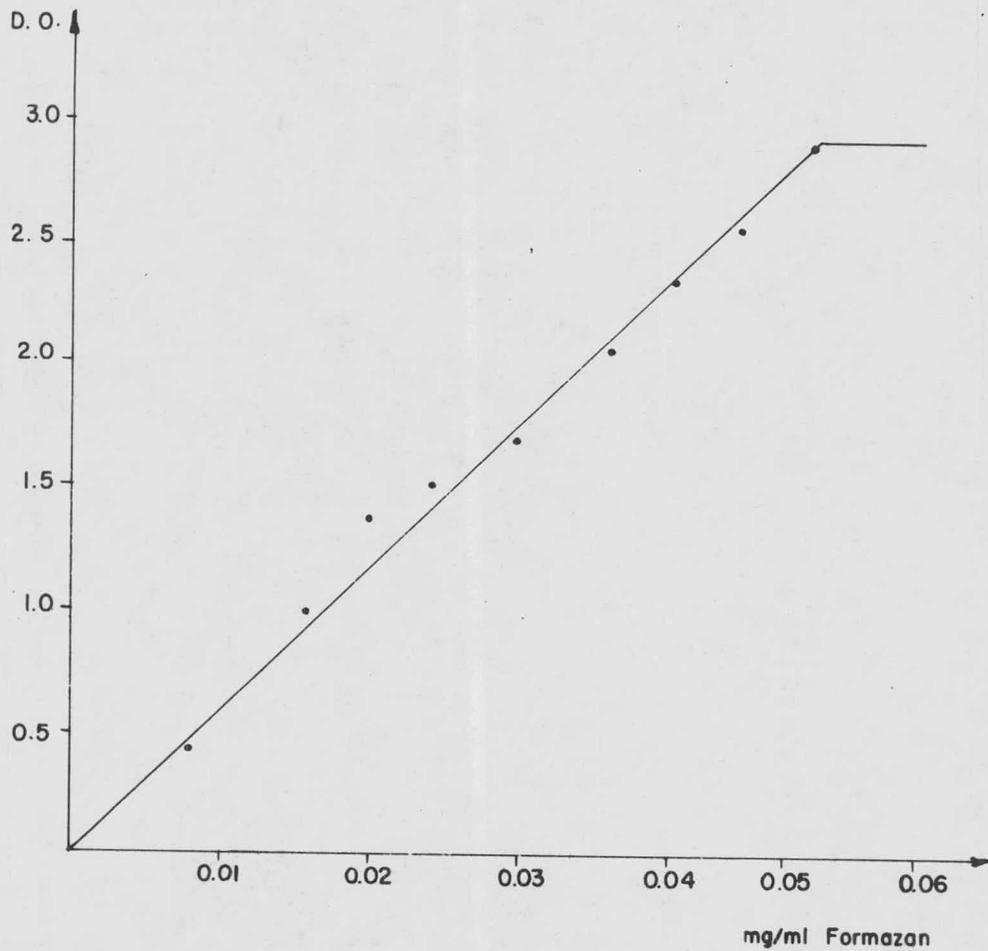


FIG. 8 CARGA BACTERIAL
 PESCADO TRATADO CON VAPORES DE NH_3

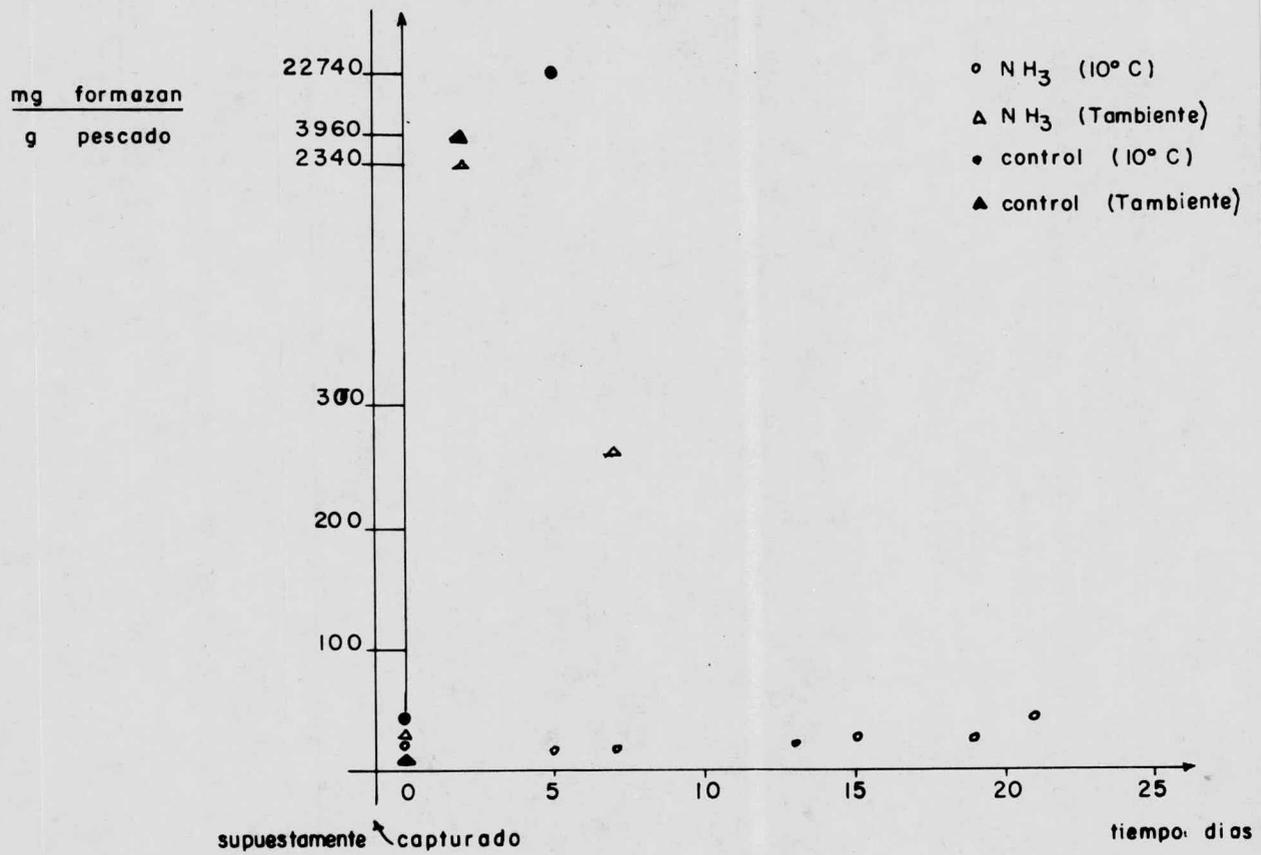


FIG. 9 HIPOXANTINA
PESCADO CON VAPORES DE NH_3 (SALADO)

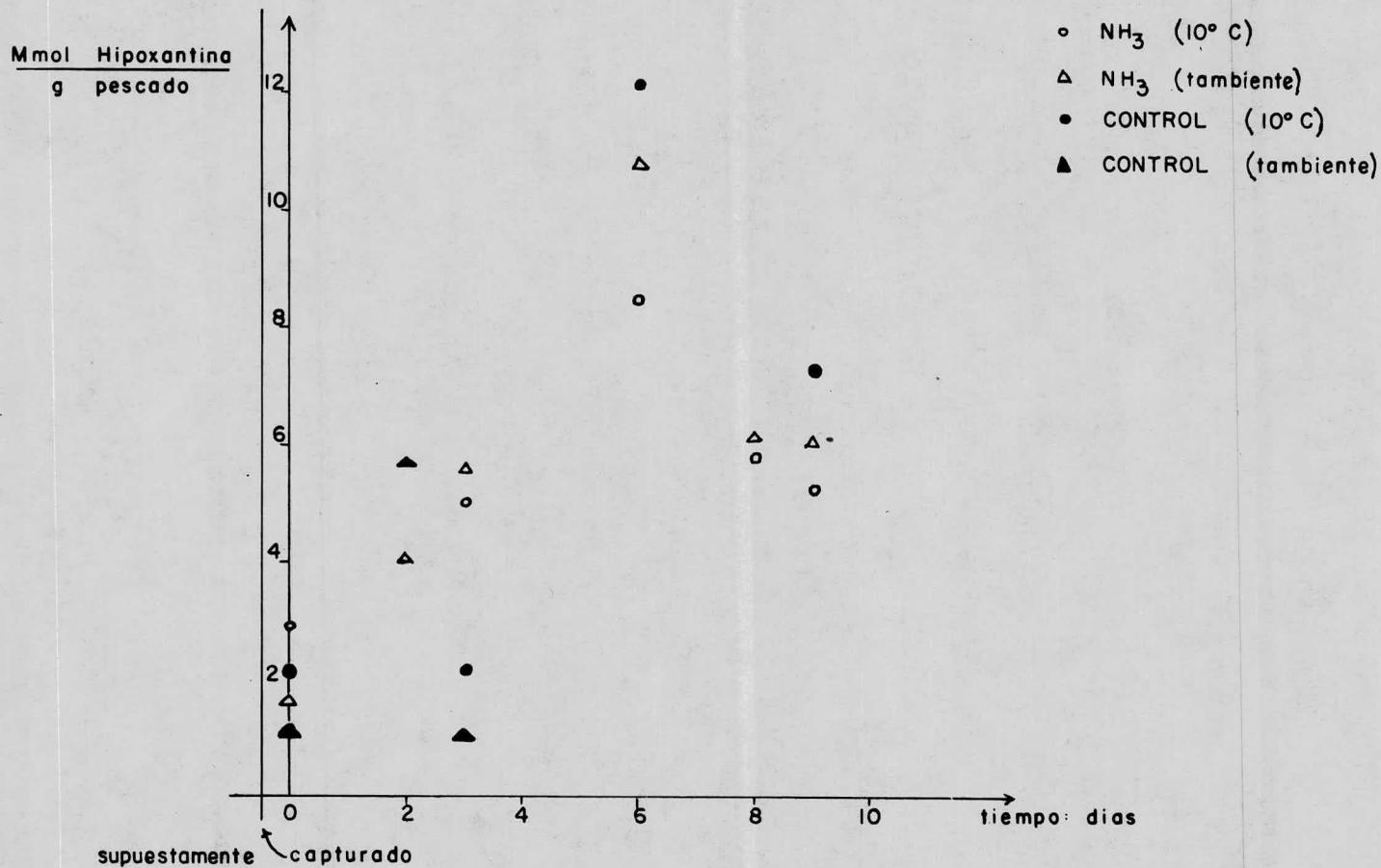
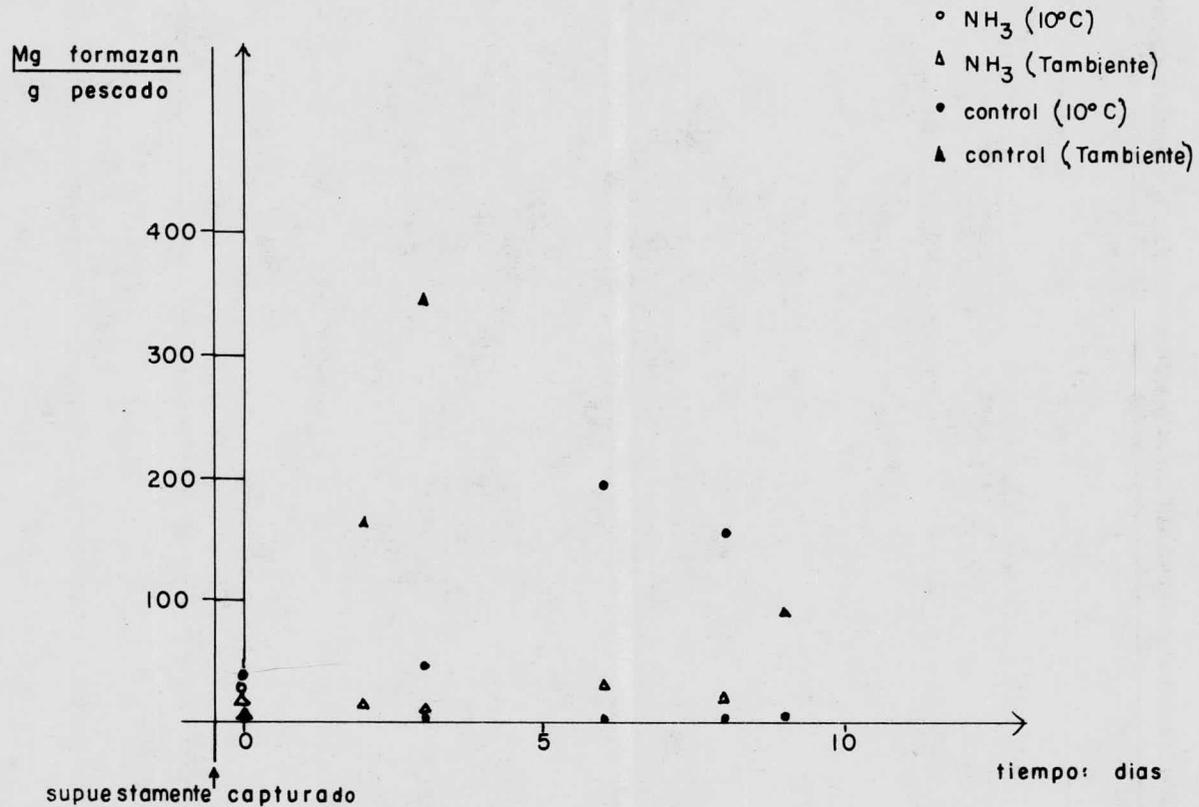


FIG. 10 CARGA BACTERIAL
PESCADO TRATADO CON VAPORES DE NH_3
PREVIO SALADO



8	5.97	trazas
9	5.40	trazas

Comparando las Tablas IV y VIII es importante notar - que mientras que en la primera se obtiene un valor máximo de hipoxantina al séptimo día, en la segunda al noveno día la cantidad de hipoxantina es menor.

Es conveniente subrayar que el pescado que se empleó en el método B venía mucho menos fresco que el usado en el método A según puede observarse en el día 0 de cada Tabla, en la columna de hipoxantina y carga bacterial.

RESULTADOS EN LA DETERMINACION DE AMONIACO.

En el método B, se detrmirió la cantidad de amoniaco - presente en el pescado tratado con vapores de amoniaco almacenado a 10 C, así como la cantidad residual de amoniaco cuando el pescado es sometido a lavados sucesivos. También se cuantificó en el control a 10 C, con los resultados que se indican en la Tabla IX.

TABLA IX
Temperatura 10 C

	NH ₃ (método B)	NH ₃ (lavado) (método B)	NH ₃ (control) (fresco)
% NH ₃	0.295	0.199	0.192

Se observa que la cantidad de amoniaco residual en el pescado tratado con vapores de amoniaco previo lavado fué - significativamente bajo, alcanzando valores casi iguales - al control.

Estas determinaciones se efectuaron por duplicado para minimizar errores.

RESULTADOS EN LA DETERMINACION DE ACIDO TIOBARBITURICO.

La prueba para determinar el grado de oxidación en el pescado tratado y no tratado no dieron información. Los resultados obtenidos no muestran valores a considerarse.

Esto se debe a que las grasas se deterioran más lentamente en comparación a la descomposición bacteriana y degradación enzimática de nucleótidos. Otro motivo es la cantidad de grasa en el pescado huachinango, que es baja según análisis bromatológicos realizados, dando 0.6 %. (Cuadro N° 4)

CUADRO N° 4

ANALISIS BROMATOLOGICO

Humedad -----	74.0 %
Proteína-----	21.1 %
Grasa -----	0.6 %
Métodos de la A.O.A.C.	

EVALUACION ORGANOLEPTICA.

Se determinaron pruebas organolépticas usando 25 g de pescado de cada muestra. Fueron freídos con 10 ml de aceite vegetal, adicionando 0.5 g de sal a cada uno y se sirvieron en tres recipientes iguales, diferenciándolas con claves. Las muestras fueron calificadas por un grupo de 10 jueces, se calificó apariencia morfológica y sabor, en una escala de 5 puntos.

En la Tabla X se describen los resultados obtenidos de las evaluaciones organolépticas de las muestras tratadas con amoníaco, empleando el método B; pues como quedo establecido, la vida de anaquel del pescado con el salado previo es mayor. El método A no se analizó.

Se nota que el pescado fresco y el que se mantuvo con amoníaco a 10 C son los más eceptados.

El orden de aceptación que se observa es como sigue -
 $PF > M-3 > M-1$. (ver anexos para análisis de varianza).

TABLA X

Características	Calificación				
	5	4	3	2	1
	pésimo	malo	regular	bueno	excelente

Número de panelistas

Muestra N° 1 (NH₃ temperatura ambiente 9 días)
(M-1)

Olor	1	2	4	2	1
Color	0	0	3	6	1
Sabor	0	2	3	5	0
Textura	0	1	5	3	1
Apariencia	0	1	3	6	0

Muestra N° 2 (Pescado fresco control)
(PF)

Olor	0	1	1	6	2
Color	0	0	1	4	5
Sabor	0	0	5	3	2
Textura	0	1	1	5	3
Apariencia	0	0	0	4	6

Muestra N° 3 (NH₃ temperatura 10 C)
(M-3)

Olor	0	0	5	5	0
Color	0	1	7	2	0
Sabor	0	1	2	7	0
Textura	0	1	5	4	0
Apariencia	0	1	6	2	1

V. C O N C L U S I O N E S

- 1.- Se comprobó la acción preservativa de los pescados -- tratados con vapores de amoniaco.
- 2.- Se observó que el pescado tratado con vapores de amoniaco previo salado, al noveno día, la carga bacte -- rial se ve disminuída a trazas en comparación al trata do solo con vapores de amoniaco.
- 3.- Es necesario estudiar con mayor profundidad el compor tamiento de la hipoxantina durante el tratamiento. Pa ra esto se necesita investigar posibles cambios de la hipoxantina a xantina ó a ácido úrico, para confirmar las vías degradativas de esta purina. Ya que en este trabajo no se concluye que sea un índice válido de la calidad en el pescado; aunque conforme se incrementa la cantidad de hipoxantina hasta un máximo, el pesca do va perdiendo sus características morfológicas ini ciales.
- 4.- Efectuándose los lavados sucesivos en el pescado tra tado con amoniaco, la cantidad de amoniaco residual-- disminuye de 0.29 % a 0.19 %, que es el contenido de amoniaco en un pescado fresco.
- 5.- El método del TBA (ácido tiobarbitúrico) para la de-- terminación de rancidez en los aceites del pescado, - indicó que no había generación de malonaldehído, debi do a la cantidad de aceite presente en el músculo del pescado (0.6 %), ya que éste dejó de ser comestible - antes de que apareciera algún indicio de enranciamien to. Esto no sucedería en pescado con alto contenido - de lípidos.

- 6.- Se recomienda hacer un estudio, sobre las concentraciones óptimas de amoníaco, para diferentes especies marinas, así como diferentes métodos de tratamiento con amoníaco.

- 7.- El tratamiento con amoníaco del pescado deberá empezar desde su captura, con el fin de preservarlo fresco para consumo inmediato, o para preservar fauna de acompañamiento o pescado no comercial destinado a la producción de harina de pescado o concentrado proteico, ya que se demostró en el presente trabajo que la vida de anaquel es larga aún sin refrigeración, la cual favorece ésta proposición.

- 8.- Una vez estudiadas las concentraciones óptimas de amoníaco, para diferentes especies marinas, se propone hacer un estudio económico profundo para tener una comparación de costos del método propuesto con la congelación y refrigeración, en caso de llevarse a la práctica.

VI. B I B L I O G R A F I A

A.O.A.C. 12a. Edición (1975).

Bendall, J.R. y Davey, C.L., *Biochem. Biophys.*, 26,93(1957)

Burt, J.R., *Proc. Biochem.*, 32 (1977).

Dyer, W.J. y Hiltz, D.I., *J. Fish. Res. Board of Canada*, --
26, 1597 (1969).

Fairbridge, R.A., Willis, K.J. y Booth, R.G., *J. Biochem.*, -
49, 423 (1951).

Fisher, P. y Bender, A., "Valor Nutritivo de los Alimentos"
Editorial Limusa -- Wileys A., (1972).

Fraizier, W.C., "Microbiología de los Alimentos", Editorial
Acribia Zaragoza, España (1972).

Jones, N.R. y Murray, J., *J. Sci. Fd. Agric.*, 15,763 (1964)

Jones, N.R. y Murray, J., *J. Sci. Fd. Agric.*,15,684 (1964).

Kassemarn, B.O., Sanz, B., Murray, J. y Jones, N.R., *Food,
Sci.*, 28,28 (1963).

Larmond Elizabeth. "Methods For Sensory Evaluation of Food"
Canada Department of Agriculture. 1970

Mandal, S.K. y Mukherjee, S.K., *J. Agric, Food Chem.*, 22,5-
(1974).

Ortiz, Federico Jr., "La Pesca en México", Editorial Fondo-
de Cultura Económica(1973).

Potter, N.N., "La ciencia de los alimentos", Edutex S.A. -
(1973).

Sinhub er, R.O. y Yu, T.C., Food Technology, 12,9 (1958).

Subrahmanyam, V., Lahiry, N.L., Moorjani, M.N., Nair, R.-
B. y Krishnaswami, M.A., Science, 142,233(1963).

A N E X O S

ANALISIS DE VARIANZA

1. Factor de corrección = $(\text{Total})^2 / \text{N}^\circ \text{ de respuestas}$
(FC)
2. Suma del cuadrado de las muestras = (Suma del cuadrado del total
(SS)_m de cada muestra) / (Nº de --
juicios por cada muestra)-FC
3. Suma del cuadrado de los panelistas = (Suma del cuadrado del to-
(SS)_p tal por cada panelista) /
(Nº de juicios por cada pa-
nelista) - FC
4. Suma total de cuadrados = Suma de los cuadrados de cada juicio -
(ST) FC
5. df = Grados de libertad: a) para las muestras, es el Nº de mues-
tras menos 1. b) para los panelistas, el Nº de panelistas,
menos 1. c) el df total es el Nº de juicios totales menos-
1.
6. Error = Para determinar el error de df, se restan los valores --
obtenidos al total. Para determinar el error del SS se -
restan los valores obtenidos para las otras variables --
del total.
7. MS = El cuadrado significativo para cada variable se determina -
dividiéndose el SS de cada una por su respectivo grado de -
libertad.

8. F = El radio de variación o F , para cada muestra se determina -
dividiéndose el MS de cada muestra entre el MS error. El F ,
para los panelistas se puede determinar dividiéndose su MS-
entre el MS del error.

Para determinar si hay diferencia entre las muestras y si ésta es significativa, el valor calculado de F se compara en tablas. (Larmond, 1970).

Por medio del análisis de varianza se comprobó que no hay diferencia significativa en el olor, sabor y textura. Pero si existe una diferencia en color y apariencia tanto al 1 como al 5 %, en textura- hay diferencia al 5 %.

Prueba Nº 1 (Olor)

Panelistas	M-1	PF	M-3	Total
1	2	1	2	5
2	5	3	3	11
3	3	2	2	7
4	4	1	2	7
5	2	2	3	7
6	3	2	3	8
7	4	2	3	9
8	1	4	3	8
9	3	2	2	7
<u>10</u>	<u>3</u>	<u>2</u>	<u>2</u>	<u>7</u>
Total	30	21	25	76

FC = 192.53
SS _m = 4.07
SS _P = 7.47
ST = 25.47

Muestras	Panelistas
5 %	
F ₂₋₁₈ = 3.55	F ₉₋₁₈ = 2.46
1 %	
F ₂₋₁₈ = 6.01	F ₉₋₁₈ = 3.60

Fuente de variación	df	SS	MS	F
Muestra	2	4.07	2.03	2.63
Panelistas	9	7.47	0.83	1.07
Error	<u>18</u>	<u>13.93</u>	0.77	
Total	29	25.47		

Prueba N° 2 (Color)

Panelistas	M-1	PF	M-3	Total
1	2	1	3	6
2	3	2	3	8
3	3	1	2	6
4	2	1	3	6
5	2	1	3	6
6	2	2	3	7
7	2	2	4	8
8	1	3	3	7
9	2	2	2	6
<u>10</u>	<u>3</u>	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>7</u>
Total	22	16	29	67

FC = 149.63

SS_m = 8.47

SS_P = 2.03

ST = 19.37

Fuente variación	df	SS	MS	F
Muestra	2	8.47	4.23	8.63 *, **
Panelistas	9	2.03	0.22	0.44
Error	<u>18</u>	<u>8.87</u>	0.49	
Total	29	<u>19.37</u>		

Prueba N°3 (Sabor),

Panelistas	M-1	PF	M-3	Total
1	2	1	2	5
2	4	3	3	10
3	2	1	2	5
4	3	3	2	8
5	4	2	3	9
6	2	3	2	7
7	2	3	2	7
8	2	3	4	9
9	3	2	2	7
<u>10</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>2</u>	<u>8</u>
Total	27	24	24	75

FC = 187.5
SS _m = 0.6
SS _p = 8.16
ST = 17.5

Fuente de variación	df	SS	MS	F
Muestra	2	0.6	0.30	0.62
Panelistas	9	8.16	0.90	1.87
Error	<u>18</u>	<u>8.74</u>	0.48	
Total	29	17.50		

Prueba N° 4 (Textura)

Panelistas	M-1	PF	M-3	Total
1	3	1	3	7
2	3	2	3	8
3	2	1	2	5
4	1	1	2	4
5	2	2	3	7
6	3	4	4	11
7	3	2	3	8
8	4	2	2	8
9	3	2	3	8
<u>10</u>	<u>2</u>	<u>2</u>	<u>2 27</u>	<u>6</u>
Total	26	19		72

FC = 172.8
SS _m = 3.8
SS _p = 11.2
ST = 21.2

Fuente de variación	df	SS	MS	F
Muestras	2	3.8	1.9	5.5 **
Panelistas	9	11.2	1.24	3.6
Error	<u>18</u>	<u>6.2</u>	0.34	
Total	29	21.2		

Prueba N° 5 (Apariencia)

Panelistas	M-1	PF	M-3	Total
1	2	1	3	6
2	3	1	3	7
3	2	1	2	5
4	2	1	1	4
5	2	1	3	6
6	3	2	3	8
7	2	2	4	8
8	4	2	3	9
9	3	1	2	6
<u>10</u>	<u>2</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>7</u>
Total	25	14	27	66

$$FC = 145.2$$

$$SS_m = 9.8$$

$$SS_p = 6.8$$

$$ST = 22.8$$

Fuente de variación	df	SS	MS	ST
Muestras	2	9.8	4.9	14.41 *, **
Panelistas	9	6.8	0.75	2.20
Error	<u>18</u>	<u>6.2</u>	0.34	
Total	29	22.8		

ESTA EDICION SE IMPRIMIO EN LOS TALLERES
GRAFICOS DE GUADARFAMA IMPRESORES, S. A.
AV. CUAUHEMOC 1201, COL. VERTIZ NARVARTE
MEXICO 13, DF TEL. 5592277 CON TRES LINEAS



FACULTAD DE QUIMICA
BIBLIOTECA

fecha de devolución

El lector se obliga a devolver este libro
antes del vencimiento de préstamo. señalado
por el último sello

<p>10 DIC. 1980 26 AGO 1985</p>		<p>10 DIC. 1980 RS</p>	<p>13 MAYO 1986</p>
--	--	---------------------------------------	---------------------