

ZAMORANO

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

Diciembre, 2000

ZAMORANO

**Carrera de Ciencia y Producción
Agropecuaria**

**Evaluación de tres metodologías de
tratamiento con metabisulfito de sodio en la
cosecha de camarones enteros para prevenir
melanosis**

Proyecto especial presentado como requisito parcial
para optar al título de Ingeniero Agrónomo
en el grado académico de Licenciatura

Por:

Mario Roberto Alvarez Herrera

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2000

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos del autor.

Mario Roberto Alvarez Herrera

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2000

**Evaluación de tres metodologías de tratamiento con
metabisulfito de sodio en la cosecha de camarones enteros para
prevenir melanosis**

presentado por

Mario Roberto Alvarez Herrera

Aprobada

Daniel Meyer, Ph. D.
Asesor Principal

Miguel Vélez, Ph. D.
Coordinador de Area Temática

Claudia García, Ph. D.
Asesor

Jorge Iván Restrepo, M.B.A.
Coordinador de la Carrera de
Ciencia y Producción Agropecuaria

Carlos Aceituno, M. Sc.
Asesor Granjas Marinas

Antonio Flores, Ph. D.
Decano Académico

Aura Juárez, Ing.
Asesor

Keith L. Andrews, Ph. D.
Director General

John Jairo Hincapié, Ph. D.
Coordinador PIA Zootecnia

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso, por guiarme y brindarme sabiduría en cada faceta de mi vida.

También a mis padres, por el amor y apoyo que me han brindado para llegar a ser lo que soy. A mis hermanos José Luis y Uriel por la comprensión y cariño que han expresado a través de su delicada forma de tratarme. Ellos representan todo para mí en la vida.

A mi tío Octaviano y su familia, por tratarme como una persona muy especial y brindarme su apoyo incondicional. A mis abuelos, por su delicadeza y sus sabios consejos. A todos mis tíos y primos. Todos aportaron un granito de arena en la culminación de una meta muy importante en mi vida.

A Don Alonso, Doña Ruth, Aliesther, Alonso, Jannory y Brenda, por tratarme como un miembro más de su hermoso hogar.

A mis mejores amigos, Daniel, Lempira, Allyn, Angel, Reyniero, Ricardo, Norman y Tomás. Por comprenderme y soportarme día a día. A Paola y Bárbara, Gracia. Por regalarme una sonrisa siempre. A todos mis compañeros y colegas.

A Leonel Morales por demostrarme su amistad desinteresada y ser una persona muy íntegra. Representas algo muy especial para mi y mi familia.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme salud y sabiduría.

A mis asesores, Dr. Meyer, por brindarme todos sus conocimientos, ser muy paciente y ser sin duda muy especial. A la Dra. Claudia García por sus sabias orientaciones y delicado trato. Al Ing. Carlos Aceituno por su amistad de calidad total y su gran experiencia. A la Ing. Aura Marina Juárez, por su amistad y cada una de las consultas. A todos mil gracias por su importante apoyo en cada una de las áreas que manejan excelentemente y fundamento el desarrollo de este estudio.

Al Ing. Héctor Corrales, Ricardo Gómez, Henrique Weddle, Allan García, Gustavo Flores, Santiago López y las personas de Granjas Marinas San Bernardo, que permitieron el desarrollo de este trabajo.

Al Ing. Rafael Zelaya, por su delicado gesto de ofrecernos su importante presencia en la presentación de la defensa de tesis.

Al Ing. Napoleón Araujo por su excelente colaboración y su desinteresada amistad. A Galileo por apoyarnos.

Al Lic. Guillermo Espinoza, Carlos Palmese, Denis Canales y cada una de las personas que laboran en el Departamento de Investigación y Desarrollo del Grupo Granjas Marina S. A. Sin ustedes no se hubiera desarrollado este estudio.

Al personal del Departamento de control de calidad del GGM, Claudia, Blanca, Alba, Rosalba Osiris, Ricardo, Javier, José Ruben. Su apoyo fue fundamental para el desarrollo de este estudio, mil gracias.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A la Secretaría de Agricultura y Ganadería de Honduras por la ayuda financiera otorgada para mi formación profesional durante el cuarto año de estudio en Zamorano, su apoyo fue fundamental en el desarrollo de mi formación profesional.

Al Fondo Dotal Hondureño, por financiar parte de mi carrera en Zamorano.

Al Laboratorio de Acuicultura de Zamorano por financiar parte de mi último trimestre en cuarto año.

Al Grupo Granjas Marinas S.A, por financiar parte del desarrollo de mi proyecto especial

RESUMEN

Alvarez H., Mario R. 2000. Evaluación de tres metodologías de tratamiento con metabisulfito de sodio (MBS) en la cosecha de camarones enteros para prevenir melanosis. Proyecto Especial del Programa de Ingeniería Agronómica, Zamorano, Honduras. 28 p.

El camarón entero exportado al mercado francés representa una alternativa de diversificación al Grupo Granjas Marinas (GGM). Los franceses castigan fuertemente el camarón con presencia de melanosis y residuos de sulfitos superiores a 150 ppm. Los objetivos del estudio fueron evaluar tres metodologías para tratar camarones enteros con MBS, evaluar los niveles de absorción de sulfitos según el peso del camarón, determinar su reducción en congelamiento durante seis semanas, y comparar los métodos de detección de sulfito en tejidos de camarones, Monier Williams (M-W) e Iodometría (IM). La metodología tradicional (MT) fue evaluada con cinco lotes comerciales de camarón entero procesados por el GGM (30,000 kg). El método de inmersión controlada (MIC) se realizó tratando los camarones en una solución con 10% de MBS en mezclas, 4:1 y 1:1 (solución:hielo) durante 1, 6, 10 y 11 minutos. Además se realizaron tratamientos con MBS a camarones clasificados en cuatro pesos durante seis semanas en almacenamiento a -18 °C. La metodología de dinámica del recipiente (MDR) fue evaluada con soluciones de MBS (0.1, 0.5, 0.8, 1.0 y 1.5%) adicionadas a los recipientes de cosecha para tener 6, 12, 24 y 36 horas de contacto con los camarones. En las tres metodologías se evaluaron residuos de sulfitos y grado de melanosis. Todos los lotes de proceso de la MT tenían más de 150 ppm de residuos de sulfito y hubo mucha variación en la concentración detectada de sulfito. Los camarones manejados con la MIC y la mezcla de 4:1 absorbió más sulfitos que la mezcla 1:1 ($P < 0.001$). Los camarones de 14 y 17 g tratados con 10% MBS en mezcla 4:1 durante 10 minutos tenían menos de 150 ppm de residuos de sulfito. Los camarones de 8 g absorbieron 74% más sulfitos que los camarones de 17 g. Hubo 20.5% de reducción de residuos de sulfitos a lo largo de seis semanas de almacenamiento en los camarones tratados según el peso. Los camarones que mejor cumplían con las exigencias del mercado francés fueron los tratados con 0.5% de MBS durante 24 horas de contacto de la MDR. El método de detección de M-W detectó más residuos de sulfito que la IM ($P < 0.004$). El método de M-W resultó ser el más eficiente para detectar residuos de sulfito. La MDR resultó en una excelente alternativa para cosechar camarones enteros y exportarlos al mercado francés.

Palabras claves: Dinámica del recipiente, inmersión controlada, iodometría, mercado francés, metodología tradicional, Monier Williams.

Nota de Prensa

La melanosis en camarones enteros y como podemos prevenir su desarrollo.

La melanosis es referida a una coloración negruzca causada enzimáticamente por la polifenol oxidasa (tirosinasa). Esta enzima reacciona con el contenido celular del camarón para formar pigmentos. La melanosis es considerada el principal problema en la industria del camarón entero. Se desarrolla a las pocas horas de la muerte del camarón, comenzando en la cabeza del camarón y ramificándose a través de la cola.

El metabisulfito de sodio (MBS) provee un efectivo control en el desarrollo de la melanosis. La Comunidad Económica Europea (CEE) acepta hasta 150 ppm de residuos de sulfito para camarones enteros tratados con MBS. El Grupo Granjas Marinas (GGM) a través de su Departamento de Investigación y Desarrollo, evaluó en conjunto con Zamorano tres metodologías para tratar el camarón entero recién cosechado con MBS para prevenir la melanosis.

La metodología tradicional (MT) fue evaluada mediante cinco lotes de camarón entero procesados por el GGM. La MT involucra la preparación de soluciones de MBS (200,000 ppm) en 500 L de agua a temperatura ambiente en estructuras especiales de 1000 L de capacidad. Los camarones fueron inmersos en estas soluciones durante 3 a 4 minutos y empacados con hielo y agua en los recipientes de cosecha (bines). Para la metodología de inmersión controlada (IC) los camarones fueron tratados en solución preparada de MBS (100,000 ppm) con una mezcla 1:1 y 4:1 (solución:hielo) durante 1, 6, 10 y 11 minutos de inmersión. La metodología de dinámica del bin (MDB) fue evaluada con soluciones de MBS (0.1, 0.5, 0.8, 1.0 y 1.5%) adicionadas a los bins para tener 6, 12, 24 y 36 horas de contacto con los camarones.

La MT presentó mucha variación en la concentración detectada de sulfito en los tejidos de los camarones y no hubo un control efectivo en cuanto a melanosis. La IC resultó con residuos de sulfito mayores a 150 ppm y no hubo un control adecuado en cuanto a la melanosis. Los camarones que mejor cumplían con las normas de la CCE y con un excelente control en cuanto a melanosis fueron los tratados con 0.5% de MBS durante 24 horas de contacto con los en los recipientes de cosecha.

La MDB resultó en una excelente alternativa para cosechar camarones enteros y exportarlos a los mercados más exigentes de Europa en cuanto a presencia de melanosis,

los camarones tratados con esta metodología no presentaron melanosis después de seis semanas en almacenamiento a -18°C .

Lic. Sobeyda Alvarez

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimientos a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de Prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Indice de Cuadros.....	xi
	Indice de Figuras.....	xii
	Indice de Anexos.....	xiii
1.	INTRODUCCION.....	1
2.	MATERIALES Y METODOS.....	4
2.1	UBICACION.....	4
2.2	METODOLOGIAS DE TRATAMIENTO CON MBS.....	4
2.2.1	METODOLOGIA TRADICIONAL.....	4
2.2.1.1	Preparación de la solución y tratamientos.....	4
2.2.1.2	Toma de las muestras.....	4
2.3	METODOLOGIA DE INMERSION CONTROLADA.....	5
2.3.1	Prueba de laboratorio.....	5
2.3.1.1	Análisis de SO_2^- de las muestras.....	5
2.3.2	Concentración de SO_2^- en camarones de diferentes pesos promedios y su reducción durante seis semanas de almacenamiento a -18°C.....	5
2.3.2.1	Preparación de la solución, tratamientos y recolección de muestra.....	5
2.3.2.2	Análisis de las muestras.....	6
2.3.3	Prueba de campo de la metodología de inmersión controlada.....	6
2.4	METODOLOGA DE DINAMICA DEL BIN.....	6
2.4.1	Preparación de la solución, tratamientos y recolección de muestra.....	7
2.5	ANALISIS ESTADISTICO.....	7

3.	RESULTADOS Y DISCUSION	8
3.1	METODOLOGIA TRADICIONAL.....	8
3.2	METODOLOGIA DE INMERSION CONTROLADA.....	9
	Ensayos en el laboratorio.....	9
3.2.2	Absorción de MBS, reducción de SO_2^- a través del tiempo y evaluación de melanosis en cuatro pesos pomedios de camarón entero.....	11
3.2.3	Prueba de campo de la metodología de inmersión controlada	15
3.2.4	Comparación de dos métodos de detección de residuos de SO_2 M-W vs IM.....	16
3.2.4.1	Comparación general.....	16
3.2.4.2	Comparaciones detectadas con M-W inferiores a 100 ppm de SO_2 comparadas a las detectadas por IM.....	18
3.3	METODOLOGIA DE DINAMCA DEL BIN.....	20
4.	CONCLUSIONES	21
5.	RECOMENDACIONES	22
6.	BIBLIOGRAFIA	23
7.	ANEXOS	24

INDICE DE CUADROS

Cuadro

1.	Concentración de residuos de SO_2^- con el método de Monier Williams y el grado de melanosis en cinco lotes de camarón entero, tratados durante su cosecha con el método tradicional con MBS.....	8
2.	Concentración de residuos de SO_2^- y evaluación de melanosis en cuatro tiempos pos-tratamiento en camarones enteros(promedio 12 g) tratados con 10% MBS en una mezcla de 4:1 (solución:hielo) durante 11 minutos.....	16
3.	Comparación general de costos por muestra analizada, de dos metodologías de determinación de SO_2^- en tejidos de camarones.....	17
4.	Comparación de medias ajustadas de 16 tratamientos, utilizando cinco concentraciones de MBS con cuatro tiempos de contacto de los camarones con las soluciones.	22

INDICE DE FIGURAS

Figura

1.	Concentración de SO_2^- (ppm) en camarones enteros, tratados en el laboratorio con MBS al 10% en dos mezclas de solución:hielo y con cuatro tiempos de inmersión.....	10
2.	Concentración de residuos de SO_2^- (determinado por el método de M-W) en camarones enteros, tratados con MBS al 10% en una mezcla 4:1 (solución:hielo) durante diez minutos.	13
3.	Evaluación de melanosis en tres tiempos pos-tratamiento de camarones enteros, tratados con 10% de MBS en una mezcla 4:1 (solución: hielo) durante 10 min de inmersión bajo condiciones de laboratorio.	13
4.	Reducción de la concentración de SO_2^- en tejido de camarones enteros con cuatro pesos promedios durante seis semanas de almacenamiento a -18°C pos-tratamiento a 10% MBS en una mezcla solución:hielo 4:1 durante 10 minutos.	14
5.	Comparación de dos métodos (M-W y IM) de detección de SO_2^- en tejido de camarón. Se incluye el porcentaje de SO_2 detectado por IM en comparación con la concentración determinada por el método M-W y su promedio.....	17
6.	Comparación de dos métodos (M-W y IM) de detección de SO_2^- en tejido de camarón. Se incluye el porcentaje de detección de SO_2 detectado por IM en comparación con la concentración determinada por el método M-W entre el rango de 35 a 95 ppm de SO_2 y su promedio.....	18
7.	Concentraciones de SO_2^- detectado (método de M-W) en camarones enteros tratados con cinco concentraciones de MBS y cuatro tiempos de contacto por la metodología de “dinámica del bin”.....	19

INDICE DE ANEXOS

Anexo

1. Procedimiento del método de detección de residuos de sulfito denominado Monier Williams (M-W)..... 24
2. Grados de afección de melanosis en una escala de 0 a 10 grados..... 27

1. INTRODUCCION

La industria del camarón cultivado en Honduras contribuye socioeconómicamente al desarrollo de la zona sur del país. La actividad genera alrededor de 25,000 empleos directos (Sampson, 1997) y 112 millones de dólares al año en divisas (ANDAH, 1994). El mayor exportador hondureño de camarón cola es el Grupo Granjas Marinas S.A. (GGM). El GGM tiene interés en diversificar sus productos de exportación y ampliar los mercados donde son comercializados. El mercado tradicional para el camarón cultivado en Centroamérica es de colas exportadas a Norteamérica.

En Europa existe la posibilidad de comercializar el camarón entero (Villalón, 1994). Ecuador tiene más de 15 años de experiencia exportando camarón entero a Europa. El mercado europeo es el más exigente en cuanto a calidad de producto. El GGM cuenta con algunos antecedentes sobre el proceso adecuado del camarón entero (GGM, 1999) pero no conoce en totalidad los parámetros de calidad que estos mercados selectos exigen. Los procedimientos actuales de exportación de camarón con cabeza, implementados por las principales exportadoras de camarón en Honduras, aún no logran satisfacer las exigencias del mercado francés.

La presentación del camarón entero como producto, constituye una fuente potencial de problemas en el control de calidad. La mayoría de los órganos y enzimas digestivas se encuentran en la región del cefalotórax del camarón. Estos órganos son los primeros en descomponerse al morir y su congelamiento no prolongará, sustancialmente, la prevención del deterioro en la calidad del camarón (Villalón, 1994).

El mercado francés exige un camarón con carne de consistencia firme y con un exoesqueleto rígido. Además, el sabor del hepatopáncreas es importante para los compradores europeos. Para ofrecer un producto de alta calidad, el hepatopáncreas del camarón debe tener un sabor a marisco y no amargo. Los europeos son muy exigentes en cuanto a la apariencia del camarón y castigan fuertemente el camarón con presencia de “melanosis” (black spot). El término melanosis se refiere a una coloración negruzca causada enzimáticamente por la polifenol oxidasa (tirosinasa). La enzima reacciona con el contenido celular formando pigmentos insolubles. Los pigmentos se desarrollan principalmente en un medio alcalino (McEvelly *et al.*, 1991)

La melanosis hace su aparición pocas horas después de haber muerto el camarón. La coloración negruzca aparece primeramente en la cabeza, extendiéndose paulatinamente a la cola y ramificándose por las extremidades del camarón (Hispano Química S.A., 1987).

La melanosis resulta en un problema de apariencia, análoga al oscurecimiento de manzanas y papas. El proceso bioquímico se asemeja al broncearse la piel humana cuando es expuesta por periodos prolongados de tiempo a la luz solar (Slattery *et al.*, 1992). La melanosis reduce el valor comercial y la aceptación del producto (Wigglesworth, 1995). Las normas oficiales de los Estados Unidos consideran a la melanosis como una mancha, no como una alteración (López, 1990). Esta diferencia es de gran importancia económica. El productor de camarón entero queda exento de responsabilidades sanitarias, ya que la melanosis es considerada como un fenómeno natural del camarón.

Uno de los métodos más sencillos para la prevención de melanosis es el descabezado, ya que la mayoría de la enzima causante del oscurecimiento está ubicada en la zona del cefalotórax del camarón. Las altas temperaturas alcanzadas en cocinar los camarones inactivan la enzima que causan melanosis. El ácido bórico evita melanosis pero su uso fue prohibido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) por tener efectos negativos al cerebro especialmente en niños (López, 1990). Los sulfitos han sido usados por la industria pesquera desde los años '50 para prevenir melanosis (Slattery *et al.*, 1992).

El dióxido de azufre (SO_2^-) y sus derivados han sido utilizados en alimentos como preservante general. Inhiben y controlan microorganismos y son usados como antioxidantes y agentes reductores. Igualmente, los sulfitos inhiben la enzima responsable de desarrollar la melanosis, que es el problema con mayor importancia en la industria del camarón entero (Wigglesworth, 1995; López, 1990).

Las formas de sulfito más comúnmente utilizadas en alimentos incluyen el gas de dióxido de sulfuro (SO_2^-), sales de sulfito (SO_2^{-2}), bisulfito (HSO_3^{-1}) o metabisulfito (MBS). El utilizado más frecuentemente para tratar camarones es el MBS, porque exhibe buena estabilidad química contra la autooxidación en la fase sólida (Fennema, 1996).

El uso de metabisulfito de sodio (MBS), bien sea mediante inmersiones en soluciones a ciertas concentraciones o mediante un rocío con o sin agregar ácido cítrico, provee un efectivo control del oscurecimiento enzimático del camarón (Fennema, 1996). El MBS comercial es de bajo precio y totalmente soluble en agua. El MBS origina diversos productos según la acidez del agua. El MBS se presenta en el mercado en forma de un polvo blanco. La humedad descompone el MBS. La acción inhibidora del MBS sobre la enzima polifenol oxidasa es irreversible.

El GGM a través del Departamento de Investigación y Desarrollo ha investigado entre 1999-2000 la metodología de inmersión controlada para tratar camarones

enteros con MBS, y recientemente sobre la metodología de dinámica del bin. Ambas metodologías se investigan para encontrar una mejor alternativa para tratar con MBS a camarones para ser exportados a mercado francés.

La metodología tradicional de tratamiento con MBS resulta en concentraciones de SO_2^- en el camarón que sobrepasan los límites aceptados para el mercado francés. La metodología tradicional involucra la preparación de soluciones con 100 kg de MBS en 500 L de agua a temperatura ambiental en pilas (matadores). Los camarones recién cosechados son bañados en las soluciones utilizando canastas o mallas durante 3 a 4 minutos.

La detección de residuos de SO_2^- en tejidos de camarones se realiza con dos métodos de laboratorio, que son de Monier Williams (M-W) e Iodometría (IM). El método de M-W es empleado internacionalmente (López, 1990). El método de IM es menos costoso y necesita menos tiempo para realizar cada análisis. La Comunidad Económica Europea (CEE) actualmente acepta hasta 150 ppm de SO_2^- en camarones enteros tratados con MBS (CEE, 2000).

El mercado francés es atractivo por permitir al GGM comercializar un producto de menor tamaño comparado al mercado de camarón cola. Cosechar camarones más pequeños, contribuirá a la eficiencia productiva de la empresa, acortando los ciclos de producción y reduciendo el tiempo de exposición de los camarones a diferentes patógenos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar metodologías para tratar el camarón recién cosechado con MBS para evitar la melanosis y cumplir con las exigencias del mercado francés.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Comparar los métodos de M-W e IM de detección de SO_2^- en camarones enteros.

Analizar la concentración de SO_2^- y melanosis según el peso del camarón.

Determinar los porcentajes de reducción de residuos de SO_2^- en camarones enteros en función del tiempo en almacenamiento a -18°C .

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 UBICACION

Los tratamientos del camarón entero con metabisulfito de sodio (MBS) fueron realizados en Granjas Marinas San Bernardo (GMSB), ubicada en el Departamento de Choluteca, Honduras. Las pruebas de detección de residuos de SO_2^- y evaluaciones de melanosis fueron realizadas en Biolab, Departamento de Investigación y Desarrollo (DID) del Grupo Granjas Marinas (GGM), Punta Ratón, Honduras.

2.2 METODOLOGIAS DE TRATAMIENTO CON MBS

El GGM a través de su DID evaluó tres metodologías para tratar los camarones enteros durante su cosecha. Las metodologías evaluadas fueron: la metodología tradicional, inmersión controlada y dinámica del bin.

2.2.1 METODOLOGIA TRADICIONAL

2.2.1.1 Preparación de la solución de MBS y tratamiento con matadores. En varios bins se prepararon 500 L de una solución a 200,000 ppm de MBS con agua de la laguna a temperatura ambiental. Se realizaron los tratamientos en canastas con 15 a 20 kg de *Litopenaeus vannamei*, realizando inmersiones en los bins durante 3 a 4 min, aproximadamente. Los camarones tratados con MBS se depositaron en los bins de cosecha, agregando una capa de hielo (20 kg) y luego, una capa de camarones (30 kg). A cada capa se agregaron 20 L de agua de la laguna para evitar el daño físico de los camarones y el roce con el hielo.

2.2.1.2 Toma de las muestras. Los camarones utilizados en estas pruebas fueron tomados de cosechas comerciales realizadas por el GGM (6,000 kg cada una) de camarón entero que fueron tratados con MBS con la metodología tradicional, procesados y almacenados en diferentes lotes en la Empacadora San Lorenzo (ESL), en julio del 2000.

Se evaluaron cinco lotes de camarones tratados en soluciones de MBS con 20, 19, 14, 15 y 8 días en almacenamiento en ESL. Se tomó al azar dos cajas de camarón entero de 2.25 kg cada una para cada prueba. Se realizó análisis de SO_2^- (con el método de M-W) y determinación de los grados de melanosis por duplicado para cada

lote de camarón procesado. La evaluación de melanosis se hizo con lotes de 20 camarones procesados según la escala de melanosis de 0 a 10 grados (Anexo 2). Se calculó el promedio de melanosis para cada lote.

2.3 METODOLOGIA DE INMERSION CONTROLADA

Esta metodología involucra la preparación de una solución de MBS a 100,000 ppm. La solución se mezcla con hielo en bins de 1000 L de capacidad. Los camarones enteros recién cosechados fueron sumergidos en las mezclas de solución de MBS y hielo durante periodos cortos de tiempo manejados rigurosamente.

2.3.1 Prueba de laboratorio

Se realizaron tratamientos de camarones enteros con una solución de MBS (10%) mezclados con hielo a las proporciones 1:1 y 4:1 y con tiempos de inmersión de 1, 6, 10 y 11 min. Estas pruebas fueron realizadas en Biolab en baldes de 20 L de capacidad.

Para cada tratamiento (mezcla solución:hielo y tiempo de inmersión) se utilizaron 100 camarones cosechados con atarrayas en horas de la mañana en lagunas de producción de GMSB. Los camarones fueron depositados en baldes con agua de la laguna y aireados.

Una vez cosechados los 100 camarones para cada tratamiento, se realizaron las inmersiones con una malla o canasta que permitió el paso uniforme de la solución alrededor de todos los camarones. Luego de la inmersión en la solución de MBS los camarones recibieron un baño en una solución de cloro a 30 ppm durante tres minutos. Los camarones tratados con MBS fueron depositados en bolsas plásticas etiquetadas por tratamiento, que fueron colocadas en una hielera a 5°C para su transporte a Biolab.

2.3.1.1 Análisis de SO_2^- de las muestras. Se realizaron análisis de residuos de SO_2^- al día siguiente de las inmersiones en las soluciones de MBS, mediante los métodos M-W e IM. Cada método de detección de residuos se realizó dos veces para cada lote de camarones tratados y con tres repeticiones.

2.3.2 Concentración de SO_2^- en camarones de diferentes pesos promedios y su reducción durante seis semanas de almacenamiento a -18°C

2.3.2.1 Preparación de la solución, tratamientos y recolección de muestras. Grupos de 150 camarones con pesos promedio de 8, 12, 14 y 17 g fueron tratados mediante la metodología de inmersión controlada, utilizando 10% MBS en una

mezcla solución:hielo de 4:1 durante 10 min. La preparación de las soluciones se realizó 30 min antes de realizar la inmersión en baldes de 20 L de capacidad. Los camarones fueron cosechados con atarrayas en horas de la mañana en las lagunas de producción de GMSB. Los camarones cosechados presentaron pesos promedios similares a los evaluados en los tratamientos anteriores. Se utilizó una balanza digital de bolsillo para clasificar los camarones según su peso. Cada balde tenía un aireador.

Una vez recolectados los 150 camarones, se realizaron las inmersiones de cada grupo con ayuda de una canasta o malla que permitió el paso de la solución preparada alrededor de todos los camarones. Luego cada lote recibió un baño en una solución de cloro (30 ppm) durante tres minutos. Cada lote de camarones tratados se empacó en tres bolsas plásticas de 50 camarones cada una, etiquetadas con la fecha de tratamiento, peso y número de laguna.

2.3.2.2 Análisis de las muestras. Se realizó la detección de residuos de SO_2^- mediante el método M-W en la semana uno, tres y seis pos-tratamiento. Cada muestra fue analizada dos veces. Se realizó una evaluación para la presencia de melanosis en los camarones tratados en la semana uno, tres y seis pos-tratamiento. Cada vez se evaluaron 20 camarones. Ellos fueron clasificados en una escala de 1 a 10 grados de melanosis (Anexo 2).

2.3.3 Prueba de campo de la metodología de inmersión controlada

Durante el mes de julio del 2000 se realizó una cosecha parcial de una laguna previamente seleccionada según la calidad de los camarones (sabor y textura). El 17 de julio a las 11:00 p.m. comenzó la cosecha. Se prepararon soluciones con 10% de MBS, en mezcla de solución:hielo de 4:1, en tres tinas de plástico de 200 L de capacidad cada una. A cada tina se le agregó 72 L de agua, 18 kg de hielo y 10 kg de MBS. Los camarones fueron recolectados en canastas con capacidad de 20 kg y sumergidos en la solución de MBS durante 11 min. Se trató un total de 80 kg de camarón, el cual fue empacado en hieleras de 0.10 metros cúbicos. Se colocó una capa de hielo y luego una de camarones de un grosor de 10 cm cada una en la hielera. Las hieleras fueron transportadas al día siguiente a ESL donde los camarones fueron procesados y empacados en cajas de 2.25 kg y almacenadas en cuartos fríos de la misma empresa. Se realizó el análisis de residuos de SO_2 en los camarones con el método de M-W y una evaluación de melanosis en las semanas uno, dos, cuatro y seis pos-tratamiento.

2.4 METODOLOGIA DE DINAMICA DEL BIN

Esta metodología involucra la adición de soluciones con baja concentración de MBS (< 1.5% MBS), que se distribuye uniformemente en todo el perfil del bin de cosecha. Así la solución permanece en contacto con los camarones por un tiempo prolongado

(12 a 36 hs). El tiempo de contacto depende de la facilidad de transporte de los bins de cosecha hasta la planta de proceso y la capacidad de procesamiento de la planta.

2.4.1 Preparación de las soluciones, tratamientos y recolección de muestras

En horas de la mañana se cosecharon 75 kg de camarón de una laguna de producción, utilizando atarrayas. Los camarones fueron recolectados en canastas con capacidad de 20 kg. Se prepararon soluciones al 0.1, 0.5, 0.8, 1.0 y 1.5% de MBS 30 min antes de cosechar los camarones en baldes de 20 L. Para cada solución de MBS se utilizó una hilera de 0.20 metros cúbicos y con una altura de 50 cm. A cada hielera se le agregó 15 kg de camarón entero, distribuidas en tres capas uniformes. Cada capa de camarones fue colocada sobre una capa de hielo y se les agregaron proporciones iguales de las soluciones de MBS preparadas para cada hielera.

De cada hielera se sacaron muestras de 50 camarones a intervalos de 6, 12, 24 y 36 hs pos-tratamiento para realizar pruebas de detección de SO_2^- con el método de M-W y evaluar por la presencia de melanosis. La detección de SO_2^- fue repetida dos veces para cada lote de camarones evaluados.

2.5 ANALISIS ESTADISTICO

El análisis de los resultados se realizó con el programa “Statistical Analysis System” (SAS®, 1991). Se analizó la variable residuos de SO_2^- (ppm) y grado de melanosis utilizando un diseño completo al azar (DCA), para la metodología tradicional e inmersión controlada. Se analizó la variable residuos de SO_2^- (ppm) utilizando un modelo de medidas repetidas en el tiempo, para los tratamientos con MBS según los pesos y almacenados durante seis semanas a -18°C .

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 METODOLOGIA TRADICIONAL

El mercado francés acepta camarones con un promedio máximo de 0.30 grados de melanosis. Todos los lotes de camarones tratados con MBS en este estudio sobrepasaron el nivel de melanosis permisible para exportar al mercado francés (Cuadro 1). En general hubo mucha variación en la concentración de SO_2^- detectado en los camarones. Los camarones tratados con MBS fueron almacenados por diferentes períodos de tiempos antes de ser evaluados por la presencia de SO_2^- . Estos periodos varían de 8 a 20 días.

La concentración de SO_2^- en los tejidos de los camarones disminuye progresivamente durante el tiempo de su almacenamiento en congelamiento (López, 1990). En este estudio no se detectó una relación entre el tiempo de almacenamiento y la concentración de SO_2^- en los camarones tratados (Cuadro 1).

No se observó una relación entre la concentración de SO_2^- en las muestras y melanosis en los camarones tratados con MBS en este estudio. Según Fennema (1996), el MBS es un producto efectivo en controlar melanosis en crustáceos. La metodología probada en este estudio no resultó en un control adecuado de melanosis.

Los factores más importantes que incrementan la tasa de formación de melanosis son: incrementos en el pH del tejido del camarón, la presencia de oxígeno y cobre en la solución de MBS, la exposición de los camarones a luz, y altas temperaturas (Slattery *et al.*, 1992). Posiblemente hubo un incremento en la temperatura de la solución de MBS, el cual aumentó la tasa metabólica de los camarones y favoreció el desarrollo de melanosis en algunos lotes tratados con MBS. A medida que se realizan las inmersiones de los camarones en una cosecha comercial (> 6,000 kg de peso vivo) que puede durar más de seis horas, la solución de MBS puede variar de temperatura.

Los camarones tratados en este estudio fueron cosechados durante la noche. No se realizó ningún monitoreo de temperatura, pH y oxígeno en la solución de MBS en la cual fueron tratados los camarones.

Cuadro 1. Concentración de residuos de SO_2^- con el método de Monier Williams y el grado de melanosis en cinco lotes de camarón entero tratados durante su cosecha con el método tradicional con MBS.

Lote No	Días de almacenamiento previo análisis	Sulfitos (ppm)	Evaluación de melanosis Grado promedio
2	19	150.8 ^a	1.05 ^b
4	13	29.8 ^b	1.55 ^{ab}
1	20	27.0 ^b	2.50 ^a
3	14	25.6 ^b	1.90 ^{ab}
5	8	3.6 ^b	0.80 ^b
Promedio \pm c.v.	14.8 \pm 4.9	50.2 \pm 74.0	1.56 \pm 0.68

Escala de melanosis 0 = ausencia completa de melanosis y 10 = melanosis en todos los segmentos de los camarones.

3.2 METODOLOGIA DE INMERSION CONTROLADA

3.2.1 Ensayos en el laboratorio

A los seis y diez min de inmersión, la mezcla 4:1 resultó en la absorción de mayor residuos de SO_2^- en los tejidos de los camarones que la mezcla de 1:1 solución:hielo ($P < 0.001$) (Figura 1). Con un mayor volumen de líquido, los camarones están más en contacto con la solución de MBS y consecuentemente se encuentra una mayor concentración de SO_2^- en sus tejidos.

Hubo un incremento de 83.5% en los niveles de absorción de SO_2^- en los camarones tratados en la mezcla 4:1 solución:hielo comparada a la mezcla 1:1 solución:hielo. Esta diferencia probablemente se debió a incrementos en las temperaturas de las soluciones en el momento que el camarón entra en contacto con ellas. La mezcla 4:1 solución:hielo se mantuvo entre 5 a 7°C, mientras que la mezcla 1:1 solución:hielo se mantuvo entre 0 a 2°C. A temperaturas entre 0 a 2°C los camarones mueren rápidamente. Un camarón muerto absorbe más lentamente la solución preparada con MBS. En cambio un camarón mantenido entre 5 a 7°C posiblemente absorbe una mayor cantidad de MBS. Regulando el tiempo de inmersión en la solución con MBS de los camarones cosechados se puede cumplir con las exigencias del mercado francés para residuos de SO_2^- .

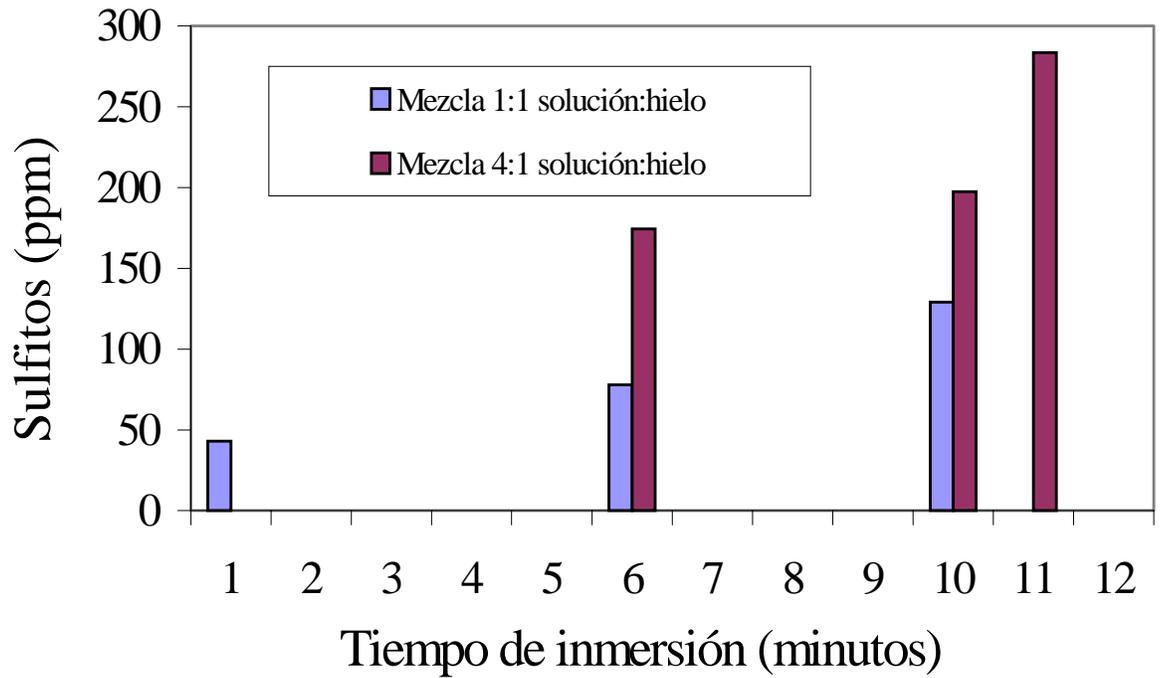


Figura 1. Concentración de SO_2^- (ppm) en camarones enteros, tratados en el laboratorio con MBS al 10% en dos mezclas de solución:hielo y con cuatro tiempos de inmersión.

3.2.2 Absorción de MBS, reducción de SO_2^- a través del tiempo y evaluación de melanosis en cuatro pesos promedios de camarón entero.

Hubo un descenso general en los niveles de SO_2^- desde la semana uno hasta la semana seis pos-tratamiento en los camarones congelados a -18°C (Figura 2). Los camarones más pequeños tuvieron mayor ($P<0.001$) concentración de SO_2^- en sus tejidos en comparación con los grandes, a lo largo de seis semanas de almacenamiento a -18°C . No hubo diferencia en la concentración de SO_2^- en los camarones de pesos promedios de 12, 14 y 17 g a lo largo de seis semanas de almacenamiento.

La proporción entre área superficial y volumen es mayor en camarones pequeños que en camarones grandes. El MBS es absorbido por la superficie del exoesqueleto de los camarones, por tanto es lógico pensar que los camarones más pequeños absorbieron más solución con MBS y con ello mayor cantidad de SO_2^- .

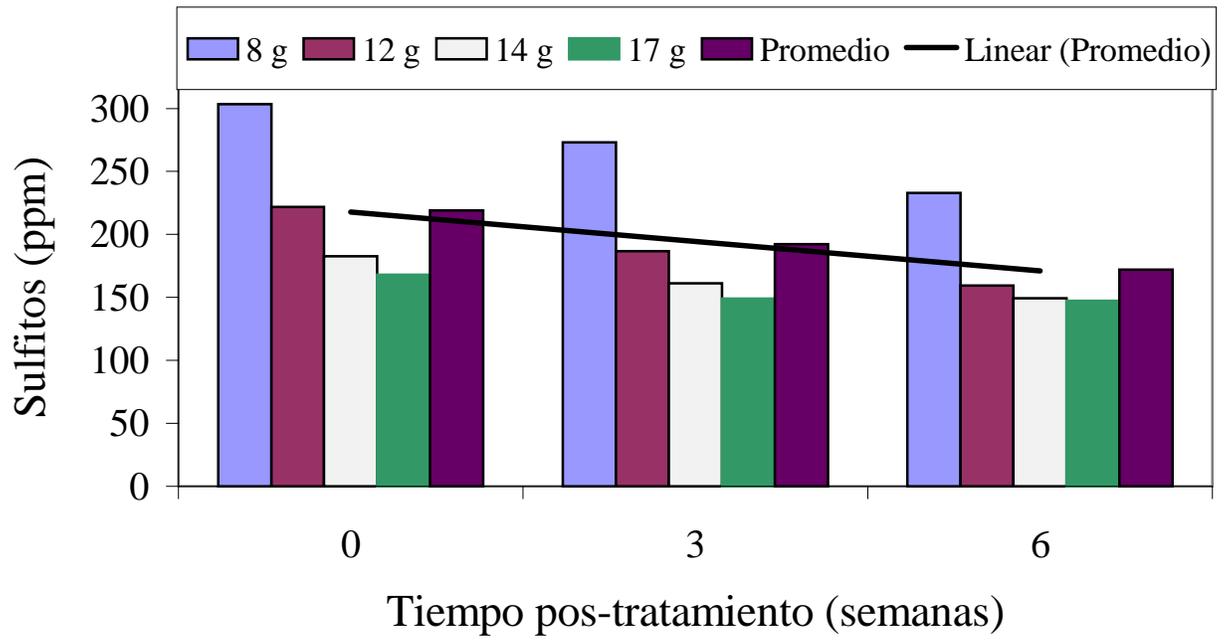
A las seis semanas de almacenamiento, solamente los camarones de 14 y 17 g cumplían con las exigencias del mercado francés en cuanto a residuos de SO_2^- (Figura 2). Los camarones de los otros pesos tenían concentraciones de SO_2^- superiores a los permisibles por el mercado francés.

Hubo un incremento general en el desarrollo de melanosis desde la semana uno hasta la semana seis pos-tratamiento con los camarones congelados a -18°C (Figura 3). A menor concentración de residuos de SO_2^- hubo una mayor cantidad de melanosis en los camarones ($P<0.001$).

En general la concentración de SO_2^- disminuyeron con el tiempo de almacenamiento (Figura 2). Por consiguiente, la presencia de melanosis incrementó con el tiempo en congelamiento.

Figura 2. Concentración de residuos de SO_2^- (determinado por el método de M-W) en camarones enteros, tratados con MBS al 10% en una mezcla 4:1 (solución:hielo) durante diez minutos.

Peso promedio de los camarones (gramos)



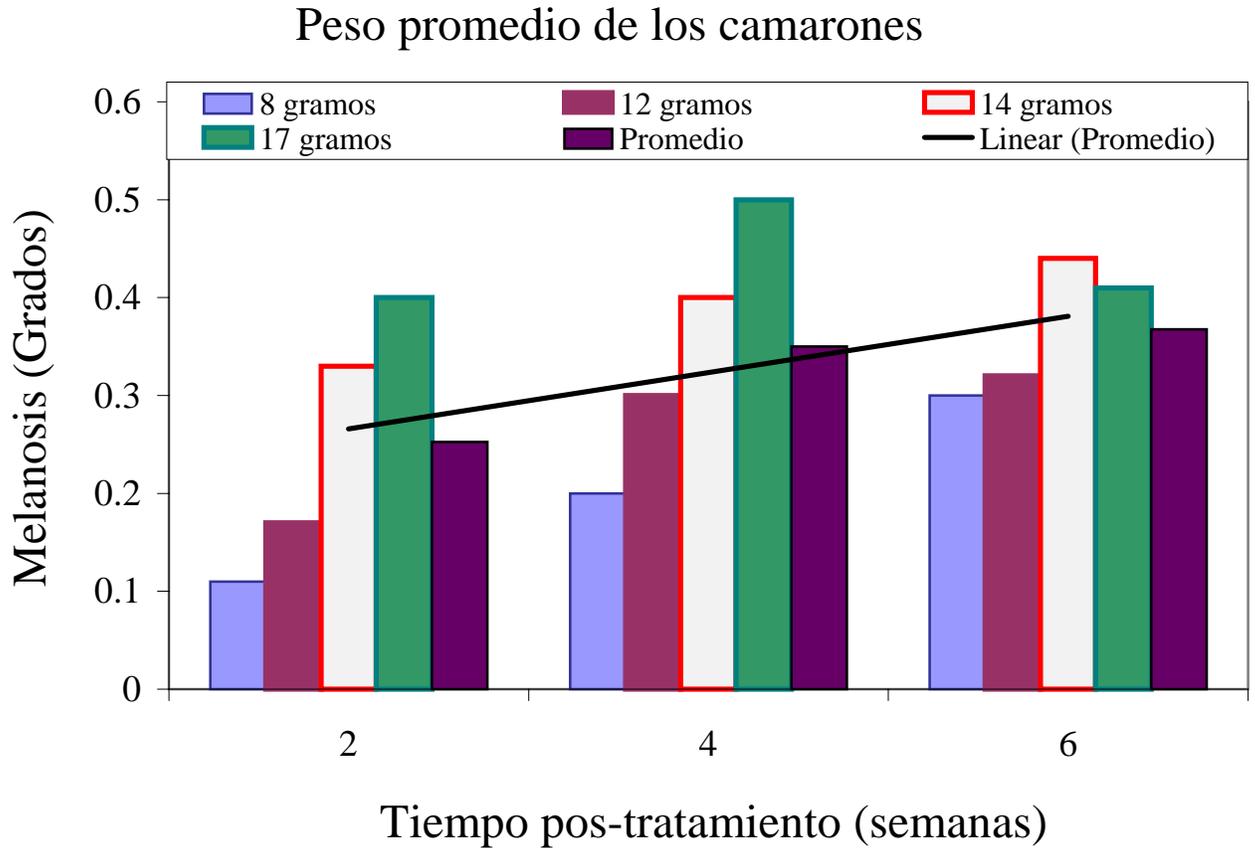


Figura 3. Evaluación de melanosis en tres tiempos pos-tratamiento de camarones enteros, tratados con 10% de MBS en una mezcla 4:1 (solución: hielo) durante 10 min de inmersión bajo condiciones de laboratorio.

Los camarones de 8, 12, 14 y 17 g experimentaron reducciones promedios en los niveles de SO_2^- de 70.47, 62.46, 33.32 y 20.82 ppm de SO_2^- , respectivamente. Sin embargo, los camarones de 12 g presentaron niveles mayores de reducción porcentual de SO_2^- (Figura

4) debido a la menor absorción de SO_2^- comparados a los camarones de 8 g. Durante seis semanas de congelamiento en -18°C hubo una reducción de SO_2^- en los tejidos de los camarones de 20.5%, muy similar a las reducciones de SO_2^- por congelación y almacenamiento de 20% que reporta López (1990).

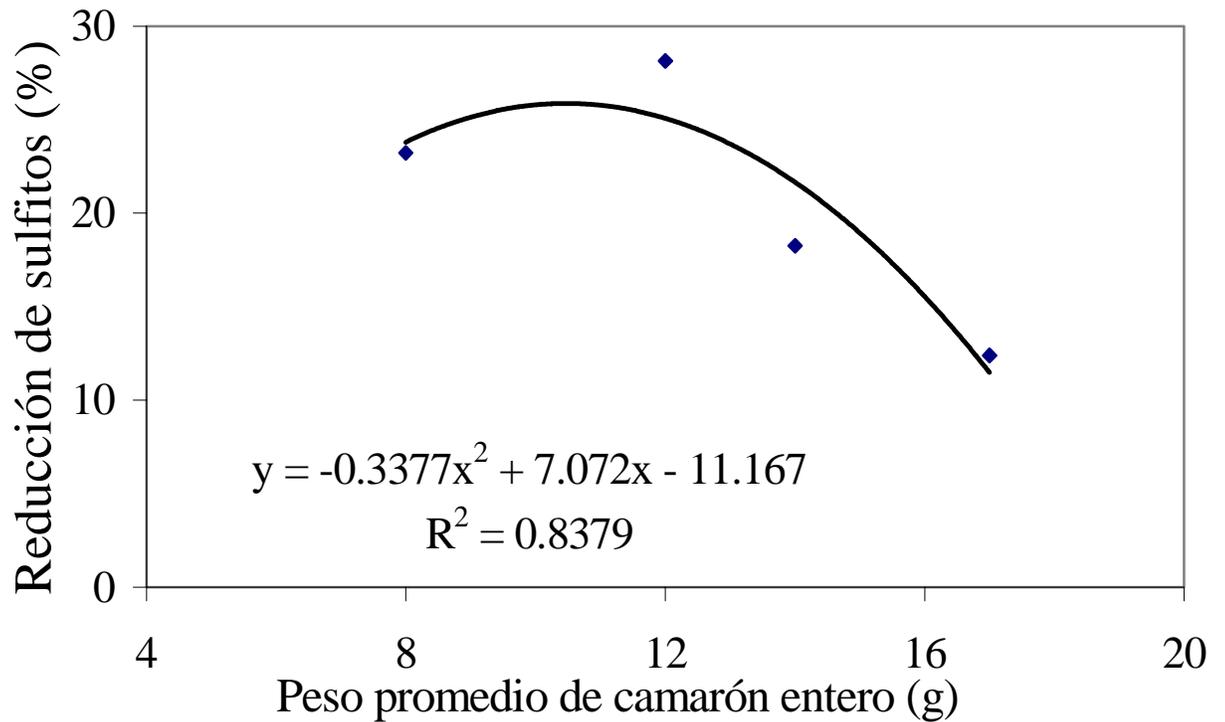


Figura 4. Reducción de la concentración de SO_2^- en tejido de camarones enteros con cuatro pesos promedios durante seis semanas de almacenamiento a -18°C tratados con 10% MBS en una mezcla solución:hielo 4:1 durante 10 minutos.

3.2.3 Prueba de campo de la metodología de inmersión controlada

Se observó una reducción de 26% en los niveles de residuos de SO_2^- en camarones enteros tratados con MBS y luego almacenados durante seis semanas (Cuadro 2). Esta reducción es similar a lo observado en camarones con peso promedio de 12 g en condiciones de laboratorio (Figura 4). Después de seis semanas de almacenamiento, estos camarones presentaron concentraciones de SO_2^- mayores de 150 ppm y grados promedio de melanosis mayor de 0.3. Estos niveles superan las normas francesa en cuanto a residuos de SO_2^- y melanosis. Estos camarones fueron cosechados con atarrayas y estaban contaminados con lodo del estanque. Esto puede ayudar a explicar el alto grado de melanosis observado en ellos a las seis semanas de almacenamiento.

Los camarones de 12 g tratados en una solución con 10% de MBS en una mezcla de 4:1 solución:hielo durante 10 min de inmersión en condiciones de laboratorio tuvieron 0.32 grados de melanosis (Figura 3). Estos mismos camarones no cumplen con las normas de los franceses sobre presencia de SO_2^- . Similares tratamientos en condiciones de campo resultaron en evaluaciones de melanosis más elevadas y concentraciones de SO_2^- mayores de 150 ppm (Cuadro 2).

Esta disminución en el control de melanosis en la prueba de campo, probablemente se debió al exceso de materia orgánica presente en la muestra. La materia orgánica pudo haber incrementado la temperatura de la solución y acelerado el desarrollo de la melanosis. El lodo posiblemente redujo el efecto del MBS en controlar melanosis en los camarones.

Cuadro 2. Concentración de residuos de SO_2^- y evaluación de melanosis en cuatro tiempos pos-tratamiento en camarones enteros (promedio de 12 g) tratados con 10% MBS en una mezcla de 4:1 (solución:hielo) durante 11 minutos.

Tiempo de muestreo	Sulfitos (ppm)	Escala (1 a 10 grados)
		Grados promedio de melanosis
0 semana pos-tratamiento	287.6	--
2 semanas pos-tratamiento	243.4	0.45
4 semanas pos-tratamiento	223.6	0.625
6 semanas pos-tratamiento	213.0	0.525

3.2.4 Comparación de dos métodos de detección de residuos de sulfitos (SO₂), Monier Williams (M-W) vs Iodometría (IM)

3.2.4.1 Comparación general. Se hizo una comparación de los métodos M-W y IM para determinar la concentración de SO₂⁻ en muestras de tejidos animales (Cuadro 3). Ambos métodos son aceptados oficialmente por la “Food and Drug Administration” (FDA) de los USA. El procedimiento de M-W requiere más tiempo para analizar una muestra y requiere el uso de equipo más sofisticado y reactivos más costosos que el método de IM. Además requiere una persona capacitada en técnicas de laboratorio y un mayor nivel de sofisticación en cuanto a infraestructura y equipo. El procedimiento de IM consiste en un proceso de titulación de la muestra macerada.

En 35 análisis comparativos, en promedio el método M-W detectó 91.4 ppm de SO₂⁻ más (P<0.001) que el método IM (Figura 5). En general, el método IM dio una concentración de SO₂⁻ inferior a la obtenida con el método M-W. En promedio, la determinación de la concentración de SO₂⁻ del método IM representa el 58% del valor obtenido con el método de M-W. Los resultados de ambos métodos coinciden más con concentraciones de SO₂⁻ < 100 ppm en las muestras (Figura 6).

Cuadro 3. Comparación general de costos por muestra analizada de dos metodologías de determinación de SO₂⁻ en tejidos de camarones

Descripción	Monier Williams	Iodometría
Costo de reactivos (Lps)	52.00	6.95
Depreciación de equipo e instrumentos (Lps)	31.25	0.69
Costo de mano de obra (Lps)	125.00	16.50
Procedimiento básico de análisis	Destilación	Titulación
Equipo especial	Destilador	Ninguno
Mano de obra calificada (hs)	2.50	--
Tiempo para realizar un análisis (hs)	2.50	0.33
Nivel de precisión	+++	+

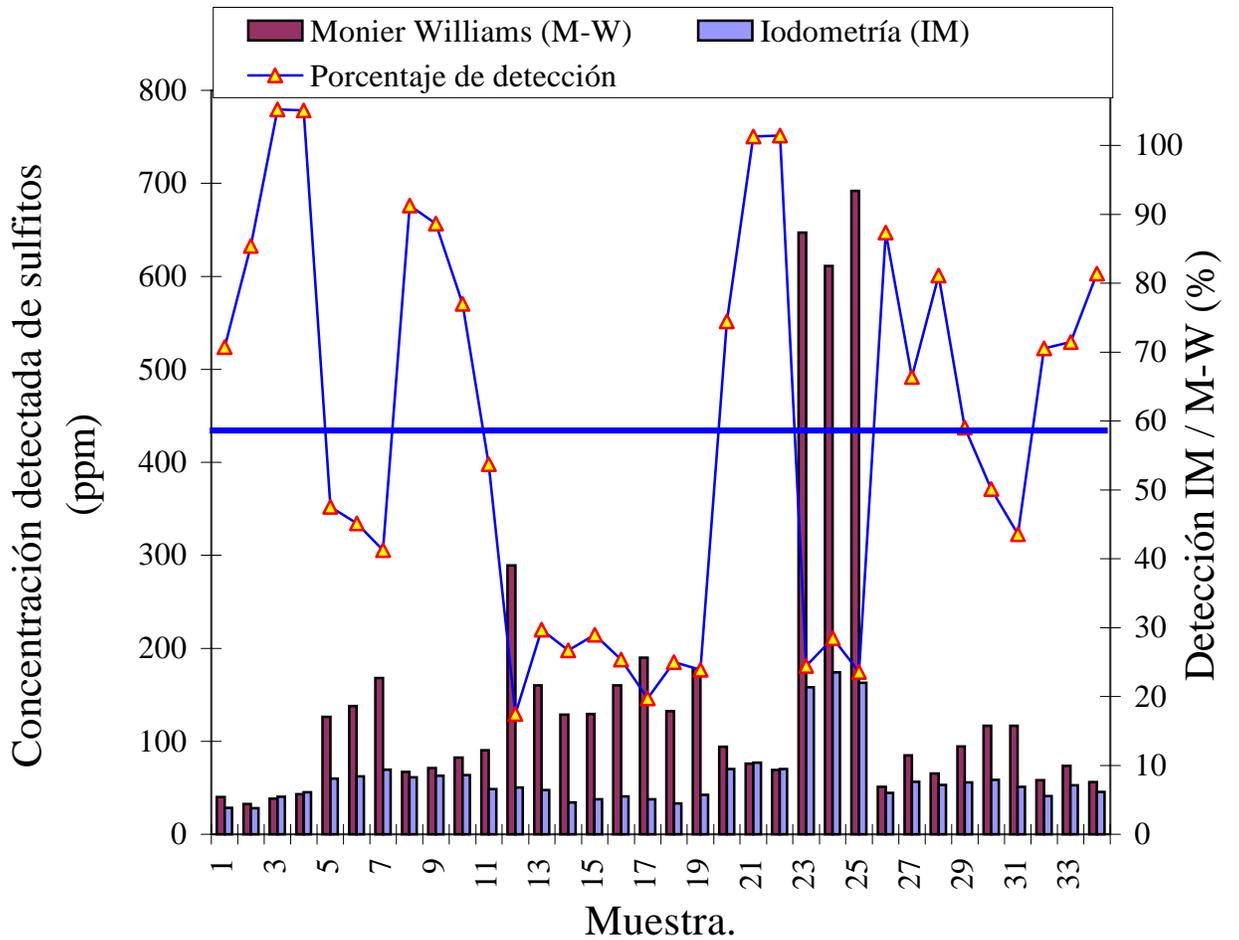


Figura 5. Comparación de dos métodos (M-W y IM) para la detección de SO_2^- en tejido de camarón. Se incluye el porcentaje de SO_2^- detectado por IM en comparación con la concentración determinada por el método M-W y su promedio.

3.2.4.2 Comparación de concentraciones detectadas con M-W inferiores a 100 ppm de SO_2^- comparadas a las concentraciones detectadas con el método IM. La Figura 6 muestra que con concentraciones detectadas con M-W inferiores a 100 ppm de SO_2^- la proporción de concentraciones detectadas como IM / M-W resultó ser 50% más de la concentración detectada por el método M-W. El método IM es poco sensible y ningún resultado de este método superó 108 ppm de SO_2^- en las muestras analizadas.

En general, aún tomando solo las concentraciones detectadas con el método de M-W menores a 100 ppm de SO_2^- y comparándolas a IM, el método M-W detecta 9.73 ppm de SO_2^- más que IM. El resultado del método de M-W es diferente ($P < 0.0043$) del de IM.

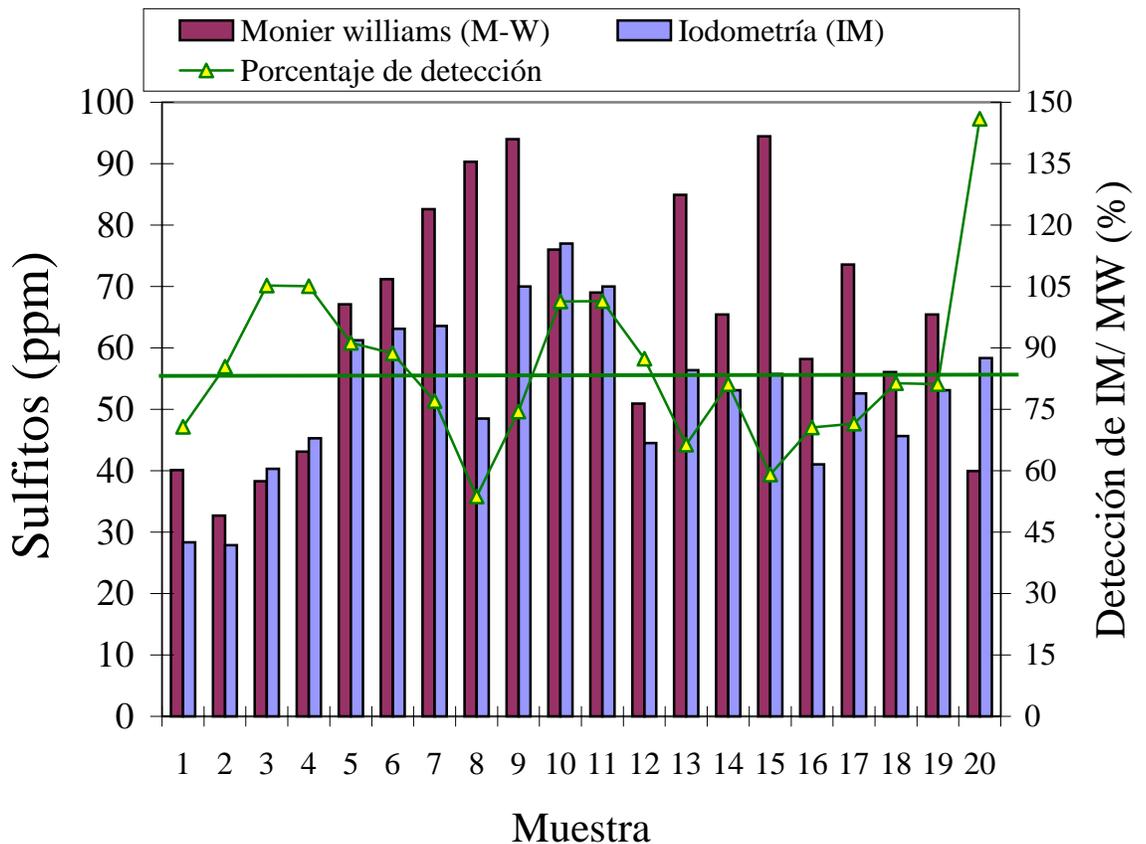


Figura 6. Comparación de dos métodos (M-W y IM) de detección de SO_2^- en tejido de camarón. Se incluye el porcentaje de detección de SO_2^- detectado por IM en comparación con la concentración determinada por el método M-W entre el rango de 35 a 95 ppm de SO_2^- y su promedio.

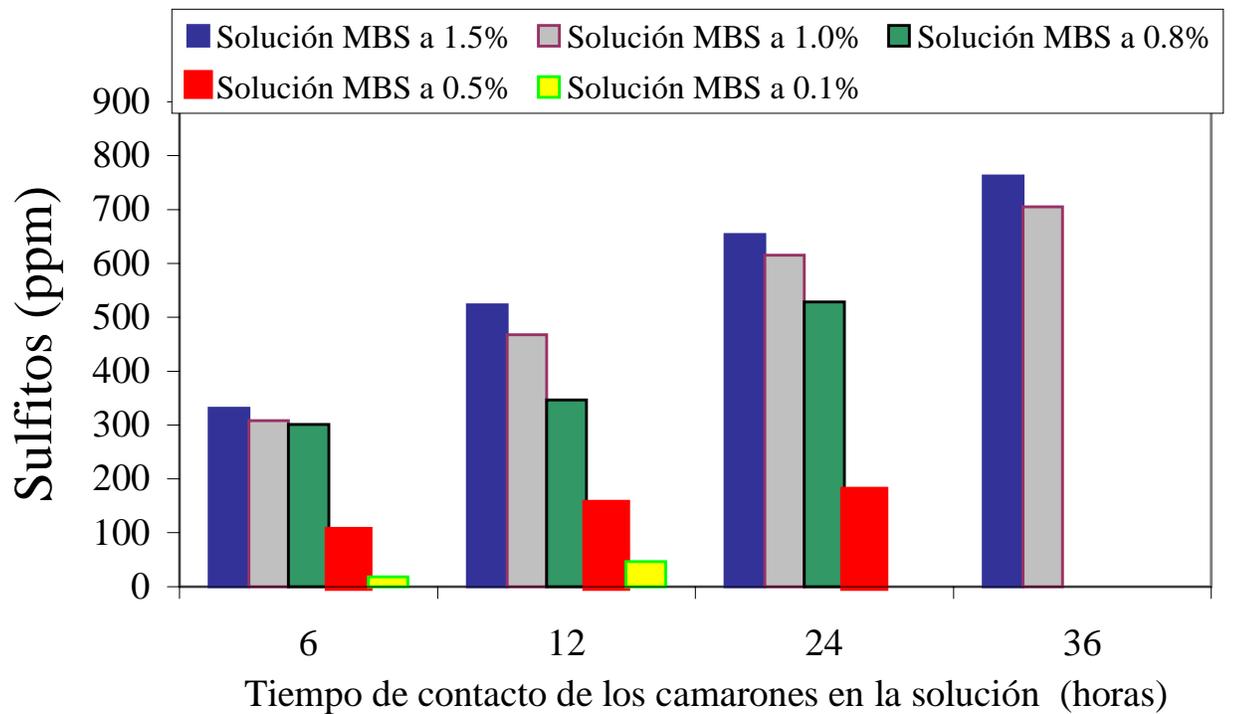


Figura 7. Concentraciones de SO_2^- detectadas (método de M-W) en camarones enteros tratados con cinco concentraciones de MBS y cuatro tiempos de contacto por la metodología de “dinámica del bin”.

3.3 METODOLOGIA DE DINAMICA DEL BIN

Con un mayor tiempo de contacto de los camarones con las soluciones hubo un incremento en la concentración de SO_2^- ($P < 0.05$). A medida que se aumentó la concentración de las soluciones, incrementó la concentración de SO_2^- detectada en el tejido de los camarones (Figura 7 y Cuadro 4).

El MBS es un producto útil en controlar melanosis en camarones. La presencia de residuos de MBS (sulfito) en los camarones tratados se limita a 150 ppm en el mercado francés. Según los resultados de esta prueba, los camarones deben ser tratados en el bin con una concentración de 0.5% MBS y durante 24 hs de inmersión. Luego de un periodo de almacenamiento de aproximadamente seis semanas, estos camarones cumplieron con las exigencias del mercado francés de residuos de SO_2^- (López, 1990).

Cuadro 4. Comparación de medias ajustadas de 16 tratamientos, utilizando cinco concentraciones de MBS con cuatro tiempos de contacto de los camarones con las soluciones

No	Tratamiento Horas / %MBS	Concentración detectada con M-W SO_2 (ppm) ⁽¹⁾
16	36 / 1.5	767.15 ^a
4	36 / 1.0	709.85 ^{ab}
15	24 / 1.5	658.25 ^{bc}
3	24 / 1.0	619.75 ^{cd}
12	24 / 0.8	532.85 ^{de}
14	12 / 1.5	523.69 ^e
2	12 / 1.0	472.49 ^e
11	12 / 0.8	346.50 ^f
13	6 / 1.5	331.48 ^f
1	6 / 1.0	308.05 ^f
10	6 / 0.8	301.00 ^f
9	24 / 0.5	177.75 ^g
8	12 / 0.5	153.65 ^{gh}
7	6 / 0.5	107.85 ^{hi}
6	12 / 0.1	50.85 ^{ij}
5	6 / 0.1	18.60 ^j

(¹) Promedios con letras diferentes difieren estadísticamente ($P < 0.05$)

4. CONCLUSIONES

1. La metodología tradicional evaluada en este estudio no resultó en un control efectivo de melanosis en los camarones tratados con MBS.
2. El tratamiento en campo de inmersión controlada en MBS evaluado en este estudio no cumplió con las exigencias del mercado francés para residuos de SO_2^- y melanosis.
3. Los camarones de 14 y 17 g tratados en 10% de MBS en mezcla 4:1 solución:hielo, durante 10 min cumplieron con las exigencias del mercado francés en cuanto a residuos de SO_2^- , pero sobrepasaron ligeramente los niveles permisibles de melanosis. Los camarones de 8 y 12 g sobrepasaron los niveles de residuos de SO_2 , pero cumplieron con las exigencias de melanosis.
4. Los camarones de 8 g absorbieron 74% más SO_2^- que los camarones de 17 g con similar exposición a la solución de MBS.
5. La concentración de SO_2^- en los tejidos de los camarones disminuyó con el tiempo de almacenamiento en un 20.5% a lo largo de seis semanas en congelamiento a -18°C .
6. La presencia de melanosis incrementó con el tiempo en congelamiento de los camarones tratados con MBS.
7. Con una mayor cantidad de SO_2^- en los tejidos de los camarones en congelamiento hubo una menor cantidad de melanosis. A medida que se redujo el nivel de SO_2 incrementó la cantidad de melanosis en los camarones evaluados.
8. El método de detección de residuos de Monier Williams es más eficiente en detectar concentraciones de SO_2^- y resultó estadísticamente diferente al método de detección de residuos de Iodometría.

5. RECOMENDACIONES

1. Investigar el pH en los tejidos de los camarones, presencia oxígeno y cobre en la solución de MBS, y exposición de los camarones a altas temperaturas y la luz solar, factores que podrían estar relacionados con favorecer el desarrollo de la melanosis en el camarón entero.
2. Determinar las condiciones óptimas de preparación de las lagunas de producción para la cosecha de camarones enteros.
3. Durante la cosecha se debe realizar muestreos en intervalos de 30 minutos, evaluando la textura del exoesqueleto y presencia de arena en las branquias de los camarones enteros.
4. Se debe establecer una fluida comunicación con los compradores en Francia para entender mejor las exigencias y preferencias de su mercado.
5. Diversificar y agregar valor al camarón entero, como por ejemplo producir el camarón entero cocinado.
6. Investigar sobre métodos de detección de residuos de sulfito rápidos y precisos en sustitución al método IM.

6. BIBLIOGRAFIA

- ANDAH. 1994. Boletín informativo. No 5. Tegucigalpa, Honduras. 6 p.
- CEE. 2000. Legislación sobre la utilización de sulfitos, nitritos y nitratos en los productos alimenticios http://www.cde.ua.es/dsi/doc.htm?DOL:I_32919991222es00010014.pdf (30 de Octubre).
- FENNEMA, O.R. 1996. Food Chemistry. 3 ed. New York, Marcel Dekker. 1067 p.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 1987. Método Monier Williams. *In* Pesticide Analytical Manual. USA. 4 p.
- GGM. 1999. Empacadora San Lorenzo, Manual de Procedimientos. Narración del proceso de camarón con sulfito. San Lorenzo, Valle. s.n. s.p. 150 p.
- HISPANO QUIMICA S.A. 1987. Manual informativo de BACTEROL F. Barcelona, España. 11 p.
- LOPEZ, F. 1990. LA MELANOSIS DEL CAMARON: ¿Tendremos que olvidar el bisulfito?. ALIMENTARIA (España) 90(47):47 – 52.
- McEVELY, A. J.; IVENGAR, R.; OTWELL, S. 1991. Sulfite alternative Prevents Shrimp Melanosis. FOOD TECHNOLOGY (USA):80 – 86.
- SAMPSON, M. 1997. Comparación físico-química del agua de dos esteros del sur de Honduras en época seca. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 20 p.
- SAS Institute. 1991. SAS® user guide: Statics. Version 6.04. Edition. SAS Institute Inc., Cary, N.Y.
- SLATTERY, L.; WILLIAMS, D.J.; DEETH, H.C. 1992. How to Use Sodium Metabisulphite to Prevent Black Spot on Prawns. Fishing Industry. Queensland, Australia. 3 p.
- VILLALON, R. 1994. Manual práctico para la producción comercial semi-intensiva de camarón marino. Texas A&M University. Bryan Texas, U.S.A. 122 p.
- WIGGLESWORTH, J. 1995. Analysis of the mechanism of blackspot formation during the moult cycle of *Litopenaeus vannamei*. The Queen's University Belfast (Northern Ireland). 9 p.

ANEXO 1. Procedimiento del método de detección de residuos de sulfitos denominado Monier Williams (M-W).

El método estándar de laboratorio para la detección de residuos de sulfitos M-W es basado en un proceso de destilación. El método M-W mide los residuos sulfitos en solución o en el tejido de un animal. El método M-W es preciso pero tiene el inconveniente que necesita varias horas para desarrollarse (Slaterry *et al.*, 1992). El método M-W es aceptado por la "Food and Drug Administration" FDA de USA.

PREPARACION DE REACTIVO:

Acido clorhídrico (4N): Para cada análisis preparar 90 ml de ácido clorhídrico agregando 30 ml de ácido concentrado (12N) en 60 ml de agua destilada.

Indicador rojo de metilo: Disolver 250 mg de rojo de metilo en 10 ml de etanol si el rojo de metilo es en polvo (si es líquido no disolver), mantenga fuera de la luz.

Peróxido de hidrógeno 3%: Diluir reactivo ACS 30% de peróxido de hidrogeno al 3% con agua destilada.(100 ml de peróxido de hidrógeno en 900 ml de agua destilada, considerando que solo se utilizan 30 ml por análisis queda preparada la solución para varias pruebas)

Titulante estandarizado NaOH 0.01N: El titulante se obtiene de la mezcla de 0.4 g de NaOH con un litro de agua destilada, sellar bien el recipiente de NaOH por ser altamente higroscópico.

Gas nitrógeno: Una fuente de alta pureza (99.9%) es requerida y esta debe ser aplicada utilizando un regulador de flujo que lo mantendrá en 200 cc/min (90 burbujas/minuto)

NOTA: Una vez preparados todos los reactivos y la trampa de pyrogallol comience con el paso 1 del protocolo M-W.

Preparación de la trampa de pyrogallol

- Agregar 4.5 g de pyrogallol en un erlenmeyer de 1000 ml y purgar durante 3 minutos con gas nitrógeno para evacuar el oxígeno y crear una atmósfera de nitrógeno en el erlen meyer.

- Preparar una solución con 85 ml de agua destilada y 65 g de KOH, agregar al erlenmeyer después de haber sido purgado con gas nitrógeno.

El método M-W involucra 16 pasos para la determinación de la presencia de sulfitos en una muestra:

1. Revisar y ensamblar el aparato como se muestra en la figura 1., agregar una película de vaselina a cada una de las uniones.
2. El balón separador (A) debe estar posesionado sobre la manta de calor, el flujo de enfriamiento del condensador debe de iniciar.

3. Agregar 400 ml de agua destilada en el balón y cierre la llave de paso del embudo. Agregue 90 ml de ácido clorhídrico (4N) al embudo. Comience el flujo de gas nitrógeno a una tasa de 200 cc/min (90 burbujas en la probeta o trampa G).
4. Agregue 30 ml de peróxido de hidrógeno al 3% a la trampa (G), el cual ha sido titulado con 3 gotas de NaOH al 0.01 N hasta llegar a un punto amarillo claro.
5. Después de 15 minutos de estar funcionando el aparato, el agua destilada estará libre de oxígeno, el aparato está listo para introducir la muestra.
6. Preparar una muestra de 50 g de cola de camarón con exoesqueleto, partido en tres pedazos cada camarón.
7. Preparar una solución de 100 ml de etanol al 5% en un beaker de 250 ml
8. Remover el embudo (B) y transferir la muestra al balón (C).
9. Limpiar el orificio de entrada de la muestra, el flujo de nitrógeno a través de la solución de peróxido de hidrógeno debe ser reiniciado tan pronto como el embudo sea reinsertado.
10. Examinar cada unión para asegurarse que este bien sellado el equipo.
11. Aplique presión con ayuda de un bulbo equipado con válvula, a la solución de ácido clorhídrico que se encuentra en el embudo (B).
12. Abrir la válvula del embudo y permita que el ácido fluya dentro del balón aplicando presión para facilitar el procedimiento. Antes de que se evacue todo el ácido del embudo hacia el balón cierre la llave de paso para evitar la salida del dióxido de azufre hacia el embudo.
13. Aplicar calor sobre la manta (en el nivel 5.3/10) usando un poder regulador que cause 80 a 90 gotas por minuto de condensado al retorno del frasco condensador (E).
14. Después de 105 minutos de hervor del contenido del balón, retire la trampa (G).
15. Titule el contenido con NaOH a 0.01 N hasta alcanzar un color amarillo que persista por mas de 20 segundos.
16. Determine la cantidad de sulfitos en la muestra mediante la siguiente formula:

$$\text{ppm de SO}_2^- = 32.03 \times V1 \times N \times 1000 / Wt$$

Donde:

32.03 = miliequivalentes del peso del dioxido de azufre

V1 = volumen de hidróxido de sodio titulante de 0.01 N

N = 0.01, que es la normalidad del NaOH

1000 = factor de conversión de miliequivalentes a microequivalentes

Wt = peso en gramos de la muestra de camarón que fue introducido dentro del balón.

PUNTOS CRITICOS EN EL DESARROLLO DE LA PRUEBA

1 Trampa de pyrogallol

La fuente de gas nitrógeno debe ser de 99.9% de pureza, debido a que si hay contaminación de oxígeno no se capturan los sulfitos reales.

Al agregar la solución de KOH a los 4.5 gramos que se están purgando durante 3 minutos en el erlen meyer debe tornarse transparente y no negro o verde. Cada trampa de pyrogallol puede desarrollar hasta un máximo de ocho pruebas y luego volverse a preparar. A medida se realicen las pruebas la trampa tomara un color oscuro.

2 Condensado

A los 30 minutos de desarrollo de la prueba, con el condensado deben alcanzarse 90 gotas del condensador que caen al interior del balón separador. Estas 90 gotas son reguladas mediante la temperatura de la manta de calor, el flujo de gas nitrógeno y agua a temperatura de 0 a 5 °C.

3 Reactivo certificado grado ACS. Use una pipeta para cada reactivo y no los reutilize.

EQUIPO:

- ❖ Manta de calor
- ❖ Balón separador
- ❖ Embudo
- ❖ Válvula de entrada
- ❖ Conectores
- ❖ Condensador
- ❖ Mangueras
- ❖ Trampa de Pyrogallol
- ❖ Fuente de enfriamiento
- ❖ Fuente de enfriamiento
- ❖ Bureta
- ❖ Cilindro de gas nitrógeno
- ❖ Probeta o trampa de sulfitos

ANEXO 2. Grados de afección de melanosis en una escala de 0 a 10 grados.

Grado	Descripción
0	Ausencia de melanosis
1	Manchas negras moderadas en el rostrum del camarón
2	Manchas negras moderadas en el rostrum del camarón acompañadas con manchas fuertes en el primer par de periópodos y manchas leves en los urópodos
3	Manchas negras fuertes en el rostrum, primer par de periópodos y manchas negras fuertes en los urópodos
4	Grado 3 más manchas negras fuertes en el segundo par de periópodos y maxilas
6	Todo el cefalotórax está oscuro e inician oscurecimiento en el primer par de pleópodos y

- urópodos completamente oscuros
- 8 Grado 6 más oscurecimiento del segundo, tercer par de pleópodos y algunas manchas en los segmentos de la cola
- 10 Todos los segmentos del camarón presentan fuertes manchas oscuras
-

