

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Comparación de vida útil de defecados de músculo de pescado con ácido tricloroacético al 5 %, almacenados a temperatura de refrigeración ($\approx 4^{\circ} \text{C}$) y congelación ($\approx -20^{\circ} \text{C}$).

Por

**Antonio BENÍTEZ
Santiago DÍAZ**

TRABAJO FINAL presentado como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias (Orientación: Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal)

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2005**

040 TG
Comparación de
Benítez, Antonio



FV/26665

TRABAJO FINAL aprobado por:

Presidente de Mesa:

Nombre completo y firma

Segundo Miembro (Tutor):

Nombre completo y firma

Tercer Miembro:

Nombre completo y firma

Co Tutor:

Nombre completo y firma

Fecha:

Autores:

Antonio Benítez

Firma

Santiago Díaz

Firma

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	IV
1. <u>RESUMEN</u>	1
2. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
Objetivos.....	2
3. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
4. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	4
4.1. <u>MATERIALES</u>	4
4.2. <u>METODOLOGÍA</u>	4
4.2.1. Método de Microdifusión de Conway.....	4
4.2.2. Metodología aplicada en los ensayos.....	6
5. <u>RESULTADOS</u>	7
Análisis estadístico de los resultados.....	9
6. <u>DISCUSIÓN</u>	10
7. <u>CONCLUSIONES</u>	10
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	11

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS:

CUADRO 1. Material de laboratorio.....	4
CUADRO 2. Muestra y reactivos necesarios.....	4
FIGURA 1. Cámara de microdifusión de Conway.....	5
CUADRO 3. Resultados REFRIGERADAS.....	7
CUADRO 4. Resultados CONGELADAS.....	7
FIGURA 2. Evolución de las muestras REFRIGERADAS.....	8
FIGURA 3. Evolución de las muestras CONGELADAS.....	8
CUADRO 5. Estadísticos de muestras REFRIGERADAS.....	9
CUADRO 6. Estadísticos de muestras CONGELADAS.....	9

AGRADECIMIENTOS:

- **A todo el personal docente y no docente del Instituto de Investigaciones Pesqueras, que nos brindó toda la colaboración necesaria para la realización de los ensayos.**
- **Al Sr. Mario Garabello, preparador del Instituto, que brindó todo el material y los equipos necesarios en óptimas condiciones para la realización de los ensayos.**
- **A la Dra. Cristina López por su colaboración con el préstamo de algunos reactivos (Azul de metileno y Rojo metilo) para la elaboración del reactivo de Tashiro.**
- **En especial agradecemos a nuestros tutores Dr. José Pedro Dragonetti y Dra. Cristina Friss por el constante apoyo académico brindado.**

1. RESUMEN:

El presente trabajo forma parte de los requisitos para la culminación de la carrera de Doctor en Ciencias Veterinarias de la UDELAR. La planificación del mismo, su ejecución y análisis de resultados abarcó el período comprendido entre abril y noviembre del año 2005. El objetivo del trabajo fue la comparación de dos métodos de conservación (refrigeración y congelación) de los defecados extraídos a partir de músculo de pescado y su influencia sobre el resultado de la determinación de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) y Nitrógeno de Trimetilamina (NTMA). Se utilizó músculo de pescado proveniente de peces óseos de nuestra fauna costera, los cuáles fueron sometidos al tratamiento establecido por el método de Conway y se obtuvieron 12 defecados, los cuáles fueron fraccionados y conservados por los dos métodos citados. La determinación de BNVT y NTMA se realizó el primer día y luego con intervalos de 7 días hasta el día 35, abarcando un período suficiente para el almacenamiento de los defecados a nivel práctico.

La metodología de trabajo determinó que tuvieron que ser sembradas 576 cámaras para lograr una consistente justificación estadística de los resultados. Los mismos demuestran que tanto el congelado como el refrigerado son métodos confiables para la conservación de los defecados ($p < 0,05$).

2. INTRODUCCIÓN:

La utilización de métodos objetivos, como lo es la determinación de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) y Nitrógeno de Trimetilamina (NTMA) por medio del método de microdifusión de Conway ha sido una valiosa herramienta para la determinación de frescura de los productos pesqueros.

Hoy en día se utilizan este tipo de pruebas tanto a nivel industrial como oficial para controlar los productos de la pesca, además de complementar la inspección o evaluación sensorial que se realiza sobre la materia prima, por lo tanto, contribuyendo a la calidad e inocuidad de los productos.

En la práctica cotidiana los laboratorios de nuestro medio realizan las determinaciones al momento de procesarse la muestra, pero no hay uniformidad de criterios sobre un método confiable de conservación del defecado sobrante. En algunos casos estos sobrantes son conservados congelados, pero sin ninguna base científica que demuestre que de esta manera la muestra no sufre modificaciones que puedan alterar resultados ulteriores.

La posibilidad de hallar un método de conservación confiable permitiría a las industrias pesqueras y organismos de contralor contar con defecados testigos para muestras ya analizadas, fortaleciendo los sistemas HACCP (Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos) y los controles de calidad ya existentes.

OBJETIVOS:

Esta investigación tiene como objetivo comparar los métodos de conservación (refrigeración y congelación) de defecados de músculo de pescado, para evaluar su incidencia en los resultados del método analítico de Microdifusión de Conway modificado por el Prof. Dr. V. H. Bertullo (Bertullo, 1975).

A su vez mediante este análisis se pretende brindar a los técnicos de plantas pesqueras un método confiable para la conservación de los defecados sobrantes de sus evaluaciones de frescura. De esta manera se pretende brindar mayor confianza en la evaluación de frescura de productos pesqueros fortaleciendo los controles de inocuidad de los mismos y fortaleciendo los intercambios comercial de los mismos.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

El deterioro y más específicamente la putrefacción de los productos de la pesca, son de los principales problemas que enfrentan las industrias de este rubro. Con la finalidad de obtener productos de alta calidad e inocuos para los consumidores, la ciencia ha hecho gran hincapié en el estudio de la génesis, determinación y prevención de este fenómeno.

Luego de la captura y muerte del pescado se desencadenan una serie de fenómenos autolíticos en el producto que abarcan una serie de reacciones a diferentes niveles, dependiendo del grupo funcional que se trate.

La alteración de los carbohidratos esta dada por la falta de reacciones aeróbicas que sufre el pescado al morir. De esta manera la glicólisis en el tejido muscular *post mortem* esta dada en condiciones anaerobias y el glucógeno contenido en el tejido deriva en la formación de ácido láctico (Bertullo, 1975).

A nivel de los nucleótidos se observa que el ATP no puede ser resintetizado y sigue una ruta degradativa, en donde una serie de reacciones de defosforilación y desaminación concluyen con la transformación de este en IMP (Inosín Mono Fosfato) , que a su vez continúa degradándose a Inosina e Hipoxantina (Olivera, 2003). La formación de estos dos productos es comparada con la concentración de ATP y compuestos relacionados con este, para determinar un valor utilizado para determinar la frescura del producto (valor K).

Los lípidos del pescado tienen la particularidad de ser de cadenas largas y con gran cantidad de dobles enlaces covalentes (C=C). Debido a estas características los lípidos son fácilmente oxidables ante presencia de oxígeno, dando la alteración conocida como enranciamiento, que produce olor y color desagradables.

La degradación de los compuestos nitrogenados varía si se trata de nitrógeno proteico o nitrógeno no proteico.

Las proteínas son atacadas por un grupo de enzimas lisosomales, las catepsinas, las cuales por acción hidrolítica generan péptidos y aminoácidos. Estos últimos, cuando se encuentran en grandes concentraciones, favorecen el desarrollo y proliferación de bacterias que transforman los aminoácidos en aminas biógenas (NH₃, Histamina, Cadaverina, Putrescina), que además de alterar el producto y generar olores desagradables son perjudiciales para el consumidor.

El nitrógeno no proteico (grupo en el que basaremos nuestra investigación) es fundamental para la determinación de frescura de los pescados, ya que los compuestos derivados son buenos indicadores de deterioro del producto y estos a su vez se relacionan aceptablemente con la Carga Bacteriana Total (CBT).

El Oxido de Trimetilamina (OTMA) es un compuesto osmorregulador de los peces de agua salada y también se puede encontrar en algunos de agua dulce. La reducción de este compuesto es usualmente debida a la acción microbiana, aunque algunos peces poseen en sus tejidos una enzima (OTMA-asa ó OTMA-dimetilasa), capaz de descomponer el OTMA en Dimetilamina (DMA) y Formaldehído (Huss, 1988). Vale mencionar que la cantidad de Formaldehído formada es proporcional a la de Dimetilamina, pero comercialmente el formaldehído importa más debido a su capacidad de entrecruzar las proteínas musculares, dando endurecimiento muscular.

Cuando la reducción del OTMA es de tipo bacteriana pasa a Trimetilamina (TMA), que luego pasa por desaminación a Dimetilamina, Monometilamina y Amoníaco (no necesariamente por acción bacteriana). La reducción del OTMA está generalmente asociada con géneros de bacterias del ambiente marino (*Alteromonas*, *Photobacterium*, *Vibrio* y *S. putrefaciens*), pero también es llevada a cabo por *Aeromonas* y bacterias intestinales de la familia de las Enterobacteriáceas (Huss, 1988). Como resultado de la acción bacteriana los compuestos derivados de la reducción de OTMA son volátiles y se los denomina: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT).

El estudio analítico realizado para cuantificar BNVT es determinante del grado de frescura del producto, ya que cuanto menor valor de BNVT más fresco es el mismo, además de estar relacionado con la CBT del producto.

Los métodos utilizados para la determinación de BNVT son: Microdifusión de Conway, Destilación directa y Destilación por arrastre de vapor (Antonacopoulos). En nuestro Instituto de Investigaciones Pesqueras Prof. Dr. V. H. Bertullo (UDELAR – Facultad de Veterinaria), se utiliza con buenos resultados el método de Microdifusión de Conway modificado por el Prof. Dr. V. H. Bertullo.

Hoy en día se utilizan este tipo de pruebas a nivel industrial u oficial para controlar los productos de la pesca, además de complementar la inspección o evaluación sensorial que se realiza sobre la materia prima, por lo tanto, contribuyendo a la calidad e inocuidad de los productos. Además apuntamos a establecer bases para la conservación de defecados y para promover el uso de los mismos en sistemas *recall* (GMP) o en la trazabilidad de los productos pesqueros (requisito recientemente incorporado para la exportación de estos productos por los Estados Unidos y la Comunidad Europea).

4. MATERIALES Y MÉTODOS:

4.1. Materiales:

CUADRO 1. Material de Laboratorio utilizados.

Cámara para Microdifusión de Conway	Balanza de precisión.
Pipetas graduadas (10 ml)	Papel filtro
Pipetas graduadas (1 y 2 ml)	Vaselina
Probetas graduadas (100 ml)	Estufa de incubación
Embudos de vidrio (diámetro: 7 cm)	Frascos con tapa (material: PET)
Erlenmeyer (250 ml)	Heladera (temperatura $\approx 4^{\circ} \text{C}$)
Microbureta 2 ml (graduada 0,1 ml)	Freezer (temperatura $\approx -20^{\circ} \text{C}$)

CUADRO 2. Muestra y reactivos necesarios.

<i>Pescado notoriamente alterado</i> (color opaco, olor pútrido en agallas, hundimiento de globo ocular)	Formol neutralizado
Acido tricloroacético (P.P.A)	Reactivo de Tashiro
Acido bórico (P.P.A)	Acido sulfúrico (N/100)
Hidróxido de potasio (P.P.A)	Alcohol

Los defecados fueron almacenados dentro de recipientes de polímero plástico del material polietilén tereftalato (**PET**), que no reacciona con el defecado que contiene, además de resistir la temperatura de congelación.

El número de recipientes con defecados congelados (-20°C) fue 72, para el caso de los refrigerados (4°C) solamente 12, ya que contaban con el volumen suficiente para realizar todos los ensayos (durante los 35 días por períodos de 7 días).

Los defecados conservados mediante congelación eran desechados luego de su análisis, de manera de evitar el efecto de recongelación de los mismos.

4.2. Metodología:

A continuación describimos el método de Microdifusión de Conway, método analítico que es la base de nuestra investigación.

4.2.1. Método de microdifusión de Conway:

Es muy preciso y nos permite tanto la dosificación de BNVT, como de NTMA. Por su precisión y el tiempo que insume su realización es más adecuado para investigación, si bien es utilizado a nivel de plantas industriales.

Preparación de la muestra:

- 1) Pesar 25 gr. de músculo de pescado.
- 2) Medir 75 ml. de ácido tricloroacético al 5%, (tiene como función coagular las proteínas, que luego quedan retenidas en el papel filtro no interviniendo en los resultados).
- 3) Colocar todo en una licuadora y homogeneizar (a temperatura ambiente durante 3 minutos).
- 4) Filtrar (obteniendo un defecado transparente).

Mediante estos pasos se obtiene un defecado que tiene en solución las bases nitrogenadas no proteicas que queremos investigar.

Para la dosificación se utiliza la cámara de microdifusión de Conway, ésta consta de una cámara central (A) y una cámara externa (B), así como una tapa de vidrio esmerilado.

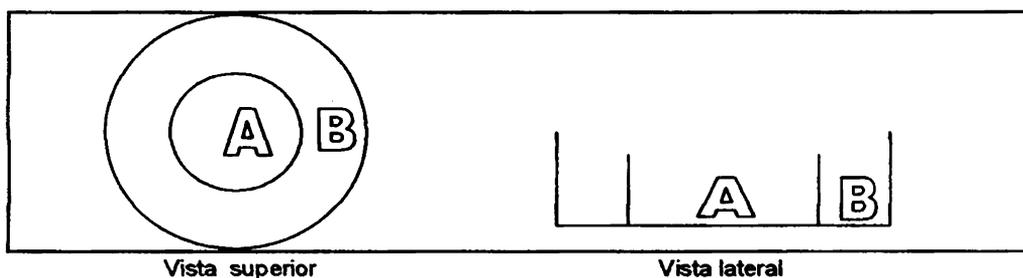


FIGURA 1. Cámara de microdifusión de Conway.

Previo a colocar los reactivos colocamos vaselina (como sellador) en el perímetro exterior de la cámara.

En la cámara central se coloca 2 ml de ácido bórico al 1 %, este tiene como finalidad captar las bases volátiles que se liberan durante la reacción.

En la cámara externa se colocan 2 ml del defecado (que tiene las bases en solución ya que la fracción proteica fue coagulada por el ácido tricloroacético y retenida por el filtro). En este momento colocar la tapa de vidrio esmerilado (con la parte esmerilada hacia abajo), dejando una pequeña ventana.

Por último por la ventana agregar 2 ml de solución saturada de carbonato de potasio (que alcalinizará el medio permitiendo que se liberen las bases), inmediatamente cerrar la ventana para que la cámara quede sellada y llevar a estufa a 36° C por dos horas, esta reacción también se puede producir a temperatura ambiente pero se debe incubar por veinticuatro horas.

Una vez cumplido el tiempo de incubación (2 horas a 36° C) retiramos de la estufa, agregamos 2 o 3 gotas de reactivo de Tashiro (solución alcohólica de azul de metileno y rojo de metilo) en la cámara central. Si el ácido bórico captó las bases el reactivo de Tashiro vira al verde (indicando medio alcalino).

Titulamos con ácido sulfúrico (N/100) dejándolo caer gota a gota de una microbureta de 2 ml graduada en décimas. En el momento que el reactivo vira al violeta (indicando medio ácido), leemos el gasto.

Seguendo esta rutina se doasn **BNVT**.

$$\text{Cálculo: } \text{mg BNVT \%} = \frac{\text{A} \times \text{B} \times \text{C}}{\text{D} \times \text{E} \times \text{F}} \times 100$$

A: Gasto de ácido sulfúrico.

B: Peso molecular del nitrógeno.

C: Cantidad de agua en que están disueltas las bases (debemos incluir la humedad del propio músculo, que asumimos que es el 80 % de la muestra).

D: es el volumen de defecado utilizado.

E: Peso de pescado utilizado.

F: Dividendo de la Normalidad (N) del ácido sulfúrico (**N/100**).

100: expresión del resultado en porcentaje (%).

Para valorar **TMA**, procederíamos igual que en el caso anterior, pero en la técnica antes de agregar el carbonato de potasio, añadiríamos 0,5 ml de formol neutralizado. El formol retiene la monometilamina (MMA), y el amoníaco (NH₃). Si bien la dimetilamina (DMA) no es retenida, esta se libera en pequeñas cantidades que escapan a la apreciación de este método por lo que consideramos que estamos dosificando sólo TMA.

Cálculo: En la fórmula utilizada para BNVT debemos sustituir el peso molecular del Nitrógeno por el de la TMA, de esta forma obtenemos la fórmula de necesaria para hallar mg TMA %. En caso de cálculo de nitrógeno de Trimetilamina (NTMA) utilizamos el mismo peso molecular que para BNVT expresando también el resultado como **mg NTMA %**.

Metodología aplicada en los ensayos:

- La muestra de pescado consistió en peces óseos de nuestra pesca costera:

Muestra 1,2,3,10,11 y 12: Pescadilla calada (*Cynoscion guatucupa*).

Muestra 4,5 y 6: Palometa (*Parona signata*).

Muestra 7,8 y 9: Merluza (*Merluccius hubbsi*).

- Se buscó trabajar con pescado notoriamente alterado para tener valores elevados de BNVT y NTMA en los defecados.

- El número de muestras procesadas fueron 12 (**n=12**).

- El primer día de ensayo se tomaron "muestras 0" de pescado que se procesaron de acuerdo a la técnica.

- El defecado sobrante se dividió en dos, debidamente identificado según el tratamiento térmico (refrigeración o congelación) que se le aplicó para su almacenamiento, por lo tanto se lo denominó "**defecado R**" y "**defecado C**".

- Siempre se sembraron dos cámaras por muestra almacenada (refrigerada o congelada) y se informó por promedio.

- Por día de trabajo se sembró una cámara testigo con agua destilada, para aseguramos el correcto funcionamiento del procedimiento utilizado.
- Debido a la metodología de planificación que se propuso, se sembraron 8 cámaras de cada muestra de pescado por día de ensayo (totalizando 576 siembras), por lo tanto los resultados recogidos fueron notoriamente resumidos para facilitar la comprensión de los mismos.
- Los datos obtenidos se procesan por el método estadísticos adecuado para este tipo de ensayos, en este caso se utilizó el método paramétrico para la comparación de dos medias (*Test de Student*).

5. RESULTADOS:

Los resultados promedio de BNVT y NTMA para cada método de conservación para el período de 35 días se presentan en los cuadros 3 y 4. La evolución de BNVT y NTMA (promedio) de los defecados refrigerados y congelados durante los 35 días estipulados se presentan en las figuras 2 y 3.

CUADRO 3. Resultados REFRIGERADAS.

(BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales; NTMA: Nitrógeno de Trimetilamina; Día 0: Inicio; Día 35: Fin)

DÍA	Muestras	BNVT (mg/100 gr)	Desvío estándar	NTMA (mg/100 gr)	Desvío estándar
0	N=12	43,24	0.97	12,26	0.50
7	N=12	43,71	0.90	11,93	0.42
14	N=12	43,86	1.77	11,50	0.47
21	N=12	43,52	0.52	10,72	0.40
28	N=12	43,42	1.31	11,59	0.56
35	N=12	43,87	1.44	11,96	0.40

CUADRO 4. Resultados CONGELADAS.

(BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales; NTMA: Nitrógeno de Trimetilamina; Día 0: Inicio; Día 35: Fin)

DÍA	Muestras	BNVT (mg/100 gr)	Desvío estándar	NTMA (mg/100 gr)	Desvío estándar
0	N=12	43,24	0.93	12,21	0.39
7	N=12	42,90	0.95	11,88	0.53
14	N=12	43,97	1.50	11,96	0.37
21	N=12	43,81	1.35	11,78	0.40
28	N=12	43,61	0.72	11,80	0.39
35	N=12	43,51	0.89	12,17	0.28

mg/100 gr.

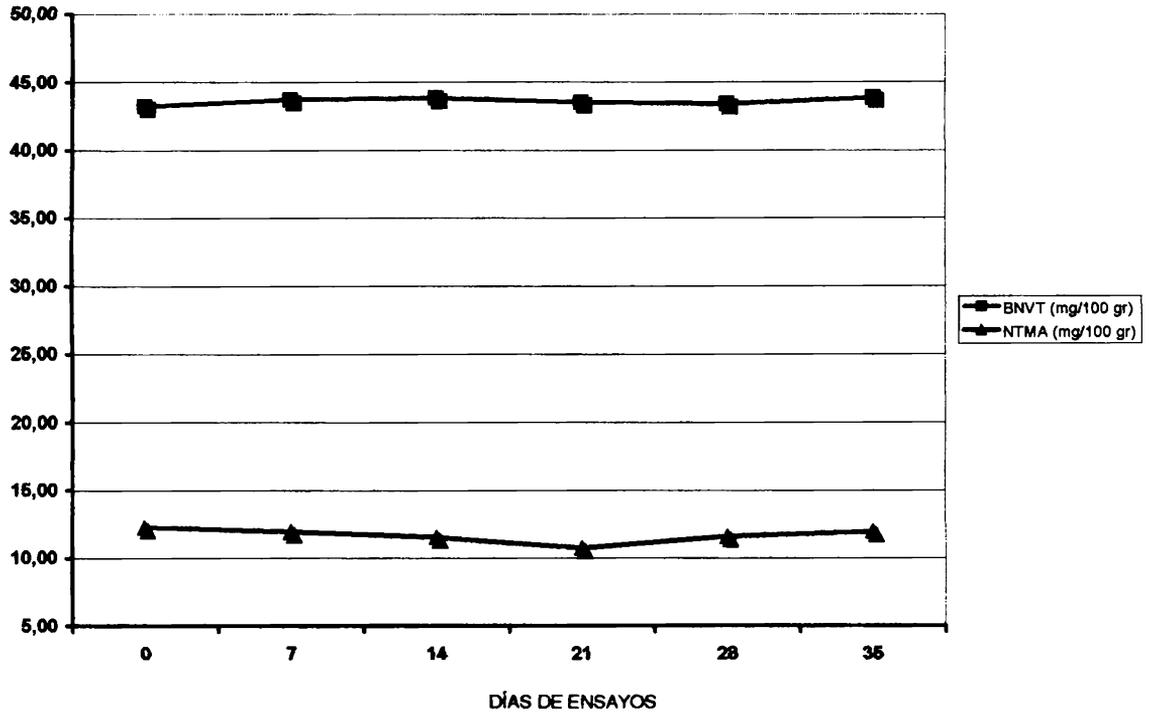


FIGURA 2. Evolución de las muestras REFRIGERADAS.

mg/100 gr.

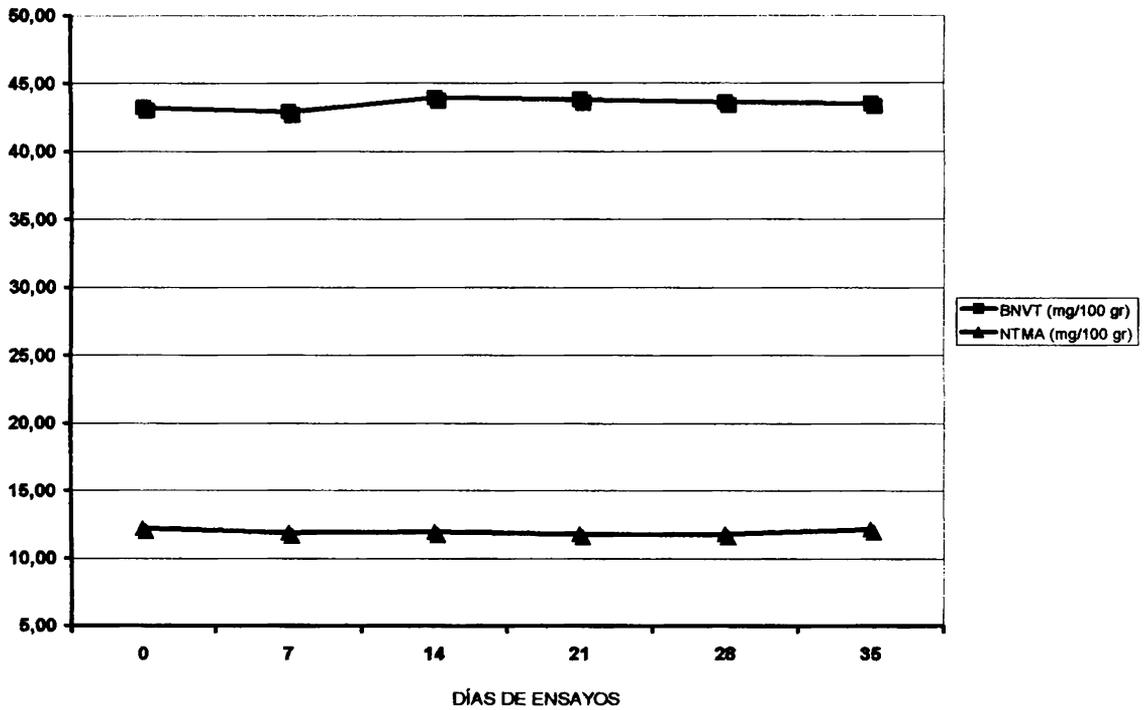


FIGURA 3. Evolución de las muestras CONGELADAS.

Se observó que durante el período estipulado no existen variaciones significativas en los resultados

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS:

A continuación se detalla la comparación de medias de muestras emparejadas mediante el Test de Student para $p < 0.05$.

Mediante el análisis estadístico se pretende comparar si existe variación entre los resultados obtenidos el Día 0 y el Día 35, tanto para las muestras refrigeradas como las congeladas, con un nivel de significación menor al 5%. Las muestras refrigeradas se muestran en el cuadro 5 y las congeladas en el cuadro 6.

CUADRO 5.

(BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales; NTMA: Nitrógeno de Trimetilamina; Día 0: Inicio; Día 35: Fin)

BNVT			NTMA	
	Día 0	Día 35	Día 0	Día 35
Media	43,24	43,62	12,21	12,17
Varianza	69,08	66,72	6,66	6,07
Observaciones	12	12	12	12
Grados de libertad	11		11	
Estadístico t	-1,85		0,31	
Valor crítico de t	2,20		2,20	

Dado que el valor del estadístico t está dentro del rango $\pm 2,20$, aceptamos la hipótesis Día 0=Día 35 (tanto para BNVT como para NTMA) a un nivel de significación = 0,05 ya que la diferencia entre las medias no es estadísticamente significativa.

CUADRO 6.

(BNVT: Bases Nitrogenadas Volátiles Totales; NTMA: Nitrógeno de Trimetilamina; Día 0: Inicio; Día 35: Fin)

BNVT			NTMA	
	Día 0	Día 35	Día 0	Día 35
Media	43,24	43,51	12,21	11,96
Varianza	69,08	70,81	6,66	6,22
Observaciones	12	12	12	12
Grados de libertad	11		11	
Estadístico t	-1,25		2,04	
Valor crítico de t	2,20		2,20	

Dado que el valor del estadístico t está dentro del rango $\pm 2,20$, aceptamos la hipótesis Día 0=Día 35 (tanto para BNVT como para NTMA) a un nivel de significación = 0,05 ya que la diferencia entre las medias no es estadísticamente significativa.

El análisis estadístico demuestra que no existen diferencias significativas entre los métodos utilizados (refrigeración y congelación) para la conservación de las muestras de defecado de músculo de pescado.

6. DISCUSIÓN:

Los resultados de la investigación evidencian que no existen diferencias significativas para los métodos de conservación utilizados. Tanto los resultados de BNVT y NTMA se mantuvieron constantes a lo largo del período estipulado.

Seguramente el método de conservación no influyó sobre los resultados debido a que las sustancias nitrogenadas (incluyendo a la trimetilamina) se encuentran estables en el ácido fuerte que las contiene (ácido tricloroacético al 5%) a pesar de las diferentes temperaturas de conservación.

Esta última hipótesis se ve reforzada por algunos ensayos realizados en forma paralela y no concluidos, que demostrarían una mayor vida útil que la estipulada en este trabajo (35 días) para cualquiera de los métodos de conservación utilizados. A su vez en estos ensayos también se observan similares resultados en muestras almacenadas a temperatura de laboratorio. De todas maneras no es conveniente afirmar la validez de estos casos ya que no se posee un número razonable de muestras para validar estas afirmaciones.

No existen trabajos previos que recomienden el uso de alguna de las técnicas de conservación, pero ya fue explicado que empíricamente en nuestro país se utiliza tanto la congelación como la refrigeración de los defecados.

Por lo tanto es muy importante conocer la eficacia de cualquiera de los métodos de conservación de los defecados, con el fin de utilizar esta técnica objetiva como complemento a sistemas de control de calidad e inocuidad de los productos de la pesca. Además, contar con respaldos de muestreos ya realizados fortalece estos controles, justificado a su vez por la fácil implementación y bajo costo.

Una de las limitaciones del uso del BNVT y NTMA como índice de frescura o deterioro, es el hecho de que presenta niveles variables en función de la especie, estación del año, hábitat y procesado (Pons, 2005). Estas consideraciones deben ser tenidas en cuenta por los técnicos al momento de ponderar los resultados obtenidos por este método.

7. CONCLUSIONES:

Es de gran importancia validar los métodos de conservación utilizados en nuestro medio (tanto refrigerado como congelado) para garantizar la buena conservación de los defecados y la integridad de lo que éstos contienen. Este trabajo determina que no existen diferencias significativas en la conservación de defecados de músculo de pescado, ya sea refrigerados como congelados. A su vez, puede resultar en mayor practicidad la conservación de los defecados mediante la refrigeración, debido a las ventajas que ofrece no descongelar las

muestras, pero claro está que a partir de los resultados obtenidos eso quedará a criterio de cada técnico.

El uso adecuado de métodos objetivos para determinación de frescura en los productos de la pesca, indirectamente fortalecen los controles de inocuidad utilizados en estos productos, generando información confiable para los sistemas HACCP y a los recientes requerimientos de trazabilidad de los productos pesqueros implantados y controlados por técnicos en el área pesquera.

Sabido es, que hoy en día tanto el consumidor como los propios mercados determinan condiciones de calidad e higiénico-sanitarias muy exigentes al momento de la adquisición del producto, por lo tanto la concientización del uso de técnicas objetivas evitará graves problemas comerciales y económicos para el sector.

8. BIBLIOGRAFÍA:

ALVES, A.C., et al. 2002. Determinação dos índices de ABVT e ATMA em extractos de pescado (*Merluccius merluccius*) e de sarda (*Scomber scombrus*) pelo método de Conway. Universidade do Algarve. Faro, Brasil.

BERTULLO, E. 2001. Tecnología de los productos de la pesca, Guía de trabajos prácticos. Edición Electrónica. www.pes.fvet.edu.uy/publica.htm . Montevideo, Uruguay.

BERTULLO, V. H. 1975. Tecnología de los Productos y Subproductos de la Pesca. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.

BURGESS, G.H.O. 1971. El Pescado y las Industrias Derivadas de la Pesca. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

CRISTIANI, A. 2005. Guía práctica para la presentación de tesis. Dpto. Documentación y Biblioteca, Facultad de Veterinaria. 23 p.

HUSS, H.H. 1988. El Pescado Fresco: su calidad y cambios de calidad. Colección Food and Agriculture Organization of the United Nation.

HUSS, H.H. 1988. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. Colección Food and Agriculture Organization of the United Nation. Laboratorio Tecnológico Ministerio de Pesca, Dinamarca.

Métodos de Análisis Químicos para Productos Pesqueros de Exportación. Programa de laboratorios. 2004. Chile: Servicio Nacional de Pesca. 23 p.

NEAVE, V. H. 1986. Introducción a la Tecnología de los Productos Pesqueros. Editorial Continental. México.

OLIVERA, C. 2003. Guía didáctica, "Deterioro del Pescado". Proyecto Institucional: Métodos alternativos de aprendizaje (MEAAP/UAP). Instituto de Investigaciones Pesqueras Prof. Dr. V. H. Bertullo (Facultad de Veterinaria – UDELAR). Montevideo, Uruguay.

PONS, S. 2005. Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del boquerón (*Engraulis encrasicolus*) y sus derivados. Tesis para optar al grado de Doctor en Farmacia. Barcelona: Universidad de Barcelona. 287 p.

Requisitos Específicos para la Certificación Sanitaria de los Productos Pesqueros de Exportación, de Acuerdo con los Mercados de Destino. Programa de control de producto final. 2005. Chile: Servicio Nacional de Pesca. 59 p.

Requisitos para la Elaboración de Sistemas de Trazabilidad. Trazabilidad de productos pesqueros. 2005. Chile: Servicio Nacional de Pesca. 14 p.

SIKORSKI, Z. E. 1994. Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

YEANNES, M.I. 2002. La evaluación sensorial y los productos pesqueros. Revista Infopesca Internacional (12): 32-41. Montevideo, Uruguay.