



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"IZTACALA"**

**FORMULACION DE UN INOCULO BACTERIANO
PARA LA CONSERVACION DEL CAMARON**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A :
ARNULFO RABIELA SALINAS



MEXICO, D. F.

1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

A mis padres

Arnulfo e Imelda quienes me
dan su apoyo, comprensión y
cariño...

A Rocio

Quien me brinda su comprensión y
ayuda desinteresada cuando más -
la necesito.

Este trabajo se realizó en el Departamento de Biotecnología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la U.N.A.M.- bajo la dirección del Dr. Pablo Pérez Gávilan a quien le -- agradezco su ayuda y paciencia en la realización del trabajo, al igual que a la Srita. Norma Hilda Vazquez Díaz.

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN | I |
| 2. INTRODUCCION | 1 |
| 2.1 Métodos de conservación del camarón | 1 |
| a) Refrigeración y congelación | 2 |
| b) Cocido | 3 |
| c) Enlatado | 4 |
| d) Seco-salado | 4 |
| 2.2 La fermentación ácido láctica en la conservación de alimentos | 4 |
| 3. MATERIALES Y METODOS | 9 |
| 3.1 Obtención y preparación de los ejemplares | 9 |
| 3.2 Conservación del camarón | 10 |
| 3.3 Análisis microbiológico | 10 |
| 3.4 Determinación de acidez | 11 |
| 3.5 Determinación de pH | 11 |
| 3.6 Evaluación sensorial | 12 |
| 3.7 Experimento No. 1 | 12 |
| 3.8 Experimento No. 2 | 13 |
| 3.9 Experimento No. 3 | 15 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSION | 17 |
| 4.1 Determinación de las mejores concentraciones que integran el inóculo | 17 |
| 4.2 Conservación del camarón con inóculos seleccionados | 21 |
| 4.3 Comparación del camarón conservado por fermentación con el conservado por congelación | 44 |
| 5. CONCLUSIONES | 55 |
| 6. BIBLIOGRAFIA | 56 |
| 7. ANEXOS | 61 |

RESUMEN

En los últimos años ha existido un notable incremento en la práctica de conservación de alimentos por fermentación ácido láctica, por medio de dicho proceso se han conservado múltiples alimentos tales como vegetales, carne y sus derivados, así como pescado.

Gracias a la presencia de las bacterias lácticas en la leche se pueden realizar fermentaciones por medio de ésta; es por esto que partiendo de la microflora de la leche, se formuló un inóculo bacteriano que permite conservar el camarón por 32 días a temperatura ambiente en buen estado. Dicho inóculo se compone de 16×10^8 m.o./g de camarón. Para llevar a cabo esto se diseñaron los siguientes experimentos: 1) determinación de las mejores concentraciones de los compuestos que integran el inóculo para obtener un adecuado medio de sobrevivencia de las lactobacterias; 2) se efectuó el ensilaje definitivo del camarón con los inóculos seleccionados y se siguieron los eventos que se presentaron durante éste; 3) se determinó la calidad del camarón después del periodo de conservación y se comparó contra la conservación por congelación. Los análisis de control fueron: pH, acidez, cuenta total de lactobacterias, coliformes, estafilococos, enterobacterias, hongos y cuenta total bacteriana, así como las condiciones organolépticas del camarón (textura, olor y color).

INTRODUCCION

Desde tiempos inmemoriales se ha practicado la pesca camaronera en la bahías y esteros del país para el consumo local; y no es sino hasta 1927 que se inicia la explotación comercial y exportación de este crustáceo; de esta fecha en adelante el camarón continúa siendo una de las pesquerías más importantes del desarrollo pesquero y del país, su explotación aumenta la disponibilidad de alimentos de alto valor nutricional, genera empleos y divisas por lo que ocupa el tercer o cuarto lugar de los productos no petroleros exportados (12). El camarón se caracteriza, así mismo, por el importante valor que agrega a la fase industrial ya que del 100% de la captura obtenida, se logra que un 89% de ésta se utilice como materia prima, integrada esta última por un 99.7% en productos congelados y un 0.3% en otros procesos. En la actualidad la producción camaronera mexicana se ha podido estabilizar aproximadamente en 52 mil toneladas. Dentro de la balanza comercial de productos -- pesqueros destaca la importancia de la captura camaronera en la generación de divisas para el país, ya que logra participar con un 34% en valor comercial (11, 23). Para que todo esto sea posible es necesario que el camarón se conserve en perfecto estado y bajo un riguroso procesado.

Métodos de conservación del camarón.

Todos los productos pesqueros incluyendo el camarón son inherentemente perecederos, pueden alterarse por autólisis, oxidación, melanosis y la actividad bacteriana; bajo estas circunstancias su calidad depende de factores tales como el manejo que tengan una vez capturados, el tiempo y temperatura de almacenaje.

La variedad de camarones existentes son altamente suscepti---bles a la descomposición; su alteración inicia 2 días después de su captura debido a que gracias a las condiciones ambientales y al inadecuado manejo que se les dá desde su captura, favorecen el desarrollo rápido de la flora bacteriana autóctona y contaminante; así mismo la autólisis o acción de las enzimas contenidas en sus tejidos, propician la formación de urea y amoniaco en el musculo del camarón, a su vez el pH del crustáceo tiene una gran influencia no sólo por su efecto sobre el rigor mortis y en la autólisis, sino también por su efecto sobre el crecimiento y desarrollo bacteriano; otro de los factores que contribuyen al deterioro del camarón ha sido sin duda el fenómeno conocido como melanosis o ennegrecimiento del cuerpo post-mortem que tiene una relación directa con el ciclo de muda, ya que se ha observado que los camarones próximos a mudar presentan una mayor incidencia de melanosis post-mortem (7, 8, 9, 14 ,16).

Debido a los factores mencionados anteriormente, que alteran la calidad del camarón tanto para su consumo como para su exportación, se han tenido que crear múltiples métodos de conservación para éste, tales como: refrigeración y congelación, cocimiento, enlatado y secado. El método utilizado dependerá básicamente de los recursos disponibles y del fin requerido.

Refrigeración y congelación.

Para el camarón congelado se presentan 2 métodos de conservación por frío, ya sea por refrigeración o por congelación.

El tratamiento con hielo en refrigeración permite conservar o estabilizar el camarón en el estado que se encuentra en el momento de la pesca, el desembarco o transporte hasta el lugar de consumo.

Para conservar los camarones por este método se reciben con cabeza o sin ella, se someten a un lavado previo con agua, se clasifican por especies; al término de esto se introducen en bolsas de polietileno y se depositan ya sea entre bloques de hielo o se mezclan con hielo en una relación 1:2 (una parte de camarón por dos partes de hielo), una vez realizado esto se guardan en refrigeración de 0 a -3°C (8, 9, 14, 34).

Si los camarones van a ser congelados por un tiempo mayor después del desembarco, se someten a congelación de la manera siguiente; generalmente el producto se recibe sin cabeza, se pesa y se lava con agua clorada 10 ppm, se realiza una clasificación según la especie, pueden pelarse o no, al término de esto se empaquetan en cartones y se someten a un glaciado en agua fría con bactericida y se almacenan a una temperatura de -30°C (32).

La acción del frío baja la actividad enzimática que provoca la autólisis de los tejidos y a su vez inhibe la acción de las bacterias que son la base de la descomposición de las materias nitrogenadas que llevan a la putrefacción.

Cocido.

La etapa de recepción y lavado es igual a la del congelado, se pelan con el uso de agua a presión a una temperatura inferior a los 10°C , se desvenan a través de una cortadura, efectuando un corte dorsal. Una vez pelados y desvenados se someten a una ebullición durante 5 minutos. el producto se empaqueta en bolsas de polietileno y se congelan.

Enlatado.

La etapa de recepción, lavado, pelado y desvenado es igual a la del cocido, al término de éste se someten a cocción en -- salmuera a una temperatura de 98-100°C durante 2-3 minutos, - se realiza una inspección visual, a continuación se envasan manualmente en latas cilíndricas con barniz tipo epoxifenóli co con pigmento de óxido de zinc en el interior. Una vez lle nas las latas se cierran mecánicamente y se lavan para a con tinuación esterilizarlas a una temperatura entre 116 - 121°C durante 18 minutos con una presión de 1 - 1.5 atmósferas.

Seco-salado.

EL camarón se pesa y se lava con agua clorada, se cocer en -- salmuera por 30 minutos, después se pone al sol sobre una ba se de cemento limpia y se voltea cada 45 minutos. El camarón seco se empaca en sacos de 45 Kg (32).

La fermentación ácido láctica en la conservación de alimentos

No solamente con las formas tradicionales se puede conservar el camarón ya que Sundhagul et al. en 1975, reportaron que - en ciertas localidades de Tailandia el camarón es preservado vía fermentación bacteriana (33).

A partir de estas últimas décadas ha existido un notable in cremento en la práctica de producir inóculos para ensilar a limentos para el ganado, a través de una selección de la mi croflora nativa de bacterias ácido lácticas, las cuales son utilizadas para elaborar inóculos de tipo comercial como bac terias deshidratadas, que se emplean como aditivos en el en silaje de los productos (32). Sin embargo estos inóculos bac

terianos no solamente han sido utilizados para la conservación de alimentos para el ganado, ya que históricamente, la preservación de algunos alimentos para consumo humano se efectuaba por medio de la fermentación ácido láctica de una manera empírica, en base a esto en los últimos años ha existido una gran variedad de alimentos crudos que son preservados por fermentación ácido láctica y producidos aceptablemente como alimento estable para el hombre. Estos alimentos o materiales crudos son fermentados y conservados por medio de bacterias ácido lácticas, las cuales comprenden por lo general cepas tales como: Lactobacillus, Lactococcus (Grupo N -- Streptococcus), Leuconostoc y Pediococcus (10), no solamente estas cepas están implicadas en la preservación de ciertos alimentos, sino son los responsables de una identidad única y atributos sensoriales inalcanzables por otros métodos de preservación de alimentos.

Dentro de los productos que han podido ser conservados satisfactoriamente para el consumo humano han sido: carne y sus derivados (2, 3, 18), pescado (24), cereales y vegetales (15, 17, 20).

En cuanto a las condiciones que deben cubrirse para que se realice una buena fermentación ácido láctica en los alimentos a conservar, es necesario tomar en cuenta la adecuada concentración inicial de lactobacterias, como ha sido estudiado y descrito por algunos autores, entre los que podemos citar a: Bartholomew y Blumer (2) quienes obtuvieron una buena fermentación ácido láctica para conservación de jamón por medio de un inóculo líquido inicial de 1×10^8 lactobacterias/g, con lo que conservaron a éste por 2 semanas en perfecto estado; Ortíz et al. (25) trataron con un inóculo de 3×10^6 lactobacterias/g, maíz y sorgo, obteniendo los conservados

por aproximadamente un mes; Olivares (24) obtuvo buenos resultados de conservación del pescado mediante un inóculo inicial de 2×10^6 m.o./g.

Además de una adecuada concentración inicial de lactobacterias existen otros factores que han sido estudiados por múltiples autores entre los que tenemos a Seal (31) y Gibb (17) -- que nos mencionan que para la formulación de los inóculos es preferible utilizar bacterias homofermentativas, ya que éstas a partir de una molécula de glucosa o fructuosa son capaces de producir 2 moléculas de ácido láctico y un pH inferior de 5 (4). Grau, en 1980 obtuvo una buena fermentación para la carne bajo condiciones anaerobias, altas concentraciones de ácido láctico y un pH inferior a 5.8 (18). Helsseltine (20) reportó una serie de bebidas fermentadas por medio de bacterias ácido lácticas nativas de ciertos vegetales, que poseen un alto valor nutritivo y éstas se conservan por algunos meses si el pH se mantiene por abajo de 5.

Otro factor muy importante es el que el alimento que se va a conservar por fermentación tenga la cantidad de azúcares necesarios para que la fermentación ácido láctica deseada no sea desviada, sobre todo en alimentos con bajo contenido de carbohidratos solubles; por tal motivo es necesario añadir a los inóculos una fuente de carbono consistente en diversos azúcares. Este hecho se basa en los estudios que han realizado algunos autores tales como: Hesseltine, 1979 (20); Kung *et al.*, 1984 (22); Bartholomew y Blumer, 1980 b (3); Seal, 1986 (31) y Gibb, 1987(17), entre otros.

La caída del pH, el efecto bactericida del ácido láctico y la eliminación de una gran cantidad de carbohidratos como efecto de la fermentación no son los únicos factores que contribuyen

a la conservación de los alimentos por fermentación ácido -- láctica, ya que también se ha reconocido que las lactobacterias son capaces de producir sustancias inhibitorias y otros ácidos orgánicos (lactato y acetato) que son antagonistas de otros microorganismos; estas sustancias son producidas constantemente en pequeñas cantidades e incluyen al peróxido de hidrógeno y sustancias antimicrobianas como el reuterin, diacetil y bacteriocinas que afectan a protozoarios, hongos y bacterias Gram positivas y negativas respectivamente (10).

Pulusani, et al. en 1979 reportaron que Streptococcus thermophilus, extraído de la fermentación de la leche era capaz de producir un compuesto de bajo peso molecular, el cual posiblemente sean aminas estables al calor, que tienen la capacidad de inhibir el desarrollo de las bacterias Pseudomonas fluorescens, P. aeruginosa y Bacillus subtilis (26).

Coallier-Ascah e Idziak en 1985, reportaron que Streptococcus lactis produce y excreta un compuesto de bajo peso molecular, estable al calor que es capaz de degradar la aflatoxina B₁ formada por el hongo Aspergillus flavus, el cual contamina los quesos y cacahuates almacenados (6).

Existen reportes de que Lactobacillus bulgaricus, produce una o más sustancias contra varios microorganismos. Abdel-Bar et al. (1) reportaron que las sustancias producidas por este bacilo son de bajo peso molecular y que probablemente tengan un grupo aromático.

Dubois, et al. (13) reportaron que cultivos de Pediococcus, Lactobacillus acidophilus, Leuconostoc y Streptococcus lactis son capaces de inhibir el crecimiento de las bacterias psicrótrofas aisladas de la carne.

Otra importante ayuda a la conservación por fermentación ácido láctica es el sistema de lactoperoxidasa que en la leche se encuentra como un bactericida natural; Wray y Maclaren -- (35) realizaron estudios del efecto de este sistema sobre -- Salmonella typhimurium in vitro e in vivo y encontraron que la bacteria disminuía en número por efecto del sistema.

Por todo lo anterior el presente estudio pretende explorar - la posibilidad de utilizar las bacterias ácido lácticas contenidas en la leche para la preservación del camarón a temperatura ambiente.

MATERIALES Y METODOS

Obtención y preparación de los ejemplares.

Los crustáceos utilizados para este estudio fueron Penaeus -- setiferus, conocido en el mercado como camarón "Cristal", éstos se obtuvieron en el mercado de la viga, debido a que en este lugar es la zona de descargo y abasto de productos del mar para el Distrito Federal, la elección del camarón fue hecha bajo los criterios organolépticos que se determinan en el manual de calidad del camarón de la Secretaría de Pesca (32), con la finalidad de poder obtener camarones lo más fresco posible.

En el laboratorio los ejemplares fueron seleccionados al azar para ser sometidos a un tratamiento en agua caliente o para ser almacenados en congelación; los primeros se descabezaron manualmente y se depositaron en agua caliente a 92°C durante 3 minutos, realizado esto se tomaron 3 camarones por cada Kg al azar y se procedió a efectuar el análisis microbiológico, pH, acidez y características organolépticas.

Los camarones designados al almacenaje en congelación fueron descabezados y empaquetados con hielo en bolsas de polietileno individuales selladas y se almacenaron en refrigeración a -4°C. Estos camarones se utilizaron a los 0, 4, 7, 13, 20, 30 y 40 días de almacenamiento para determinarles análisis microbiológico, pH, acidez y características organolépticas.

Conservación de camarón.

Para preparar un Kg de camarón sin cabeza se requiere: 350 ml de leche fermentada, 140 g de azúcar, 1.050 l de agua y 0.8% de propionato de sodio.

Para llevar a cabo la conservación del camarón por medio de la fermentación ácido láctica se utilizaron aquellos ejemplares que fueron pasados por agua caliente, se tomó un Kg de éstos y se repartieron 8 camarones (150-180 g) en frascos individuales de vidrio de boca ancha con tapa de metal, para facilitar su manejo, una vez dentro de los frascos se les agregó a cada uno de éstos el inóculo, el cual consta de leche fermentada, azúcar, agua y 0.8% de propionato de sodio por g de camarón, respectivamente.

Después de envasados se dejaron destapados por 3 días para -- eliminar el gas producido; una vez transcurrido el tiempo se taparon y se almacenaron a temperatura ambiente (18-25°C) por un periodo de 4, 7, 11, 18, 27 y 32 días durante los cuales -- se siguió la fermentación mediante las pruebas control, que -- fueron: análisis microbiológico, pH, acidez y características organolépticas del camarón.

Análisis microbiológico.

Para el control por placa de los microorganismos se utilizaron los siguientes medios de cultivo: agar de bilis y rojo - violeta (Bioxon) para coliformes (30), agar S-110 para estafilococos (Bioxon), agar eosina azul de metileno para enterobacterias (Bioxon), agar dextrosa sabouraud para hongos (Bioxon), agar tripticaseína soya para cuenta total (Difco) (9, 19) y agar Lee para lactobacterias (ver anexo 1)

Una muestra de camarón de 10 g, se macero en un mortero estéril agregándole 90 ml de agua peptonada al 0.2% (Difco) estéril (19), se tomó 1 ml del líquido obtenido y se realizaron diluciones seriadas según fuera necesario. De estas diluciones se tomó 1 ml y se depositó en una caja Petri estéril, a continuación se adicionó de 12 a 15 ml de medio de cultivo apropiado, previamente fundido y enfriado a 40°C y se dejó so lidificar el medio (28, 29), posteriormente se incubaron las cajas a 29°C por 48 horas para la cuenta de lactobacterias y hongos, mientras que para coliformes, estafilococos, enterobacterias y cuenta total bacteriana a 25°C por 72 horas (9, - 19).

Transcurrido el tiempo de incubación se leyeron las cajas en un cuenta colonias y se reportó la cantidad de bacterias desarrolladas en las placas.

Determinación de acidez.

Se tomaron 10 ml del inóculo o del líquido obtenido del macerado del camarón en un matraz de 50 ml, se agregaron 5 gotas de fenoftaleina y se tituló con NaOH al 0.1 N hasta la aparición de un color rosado palido que persistiera por 10-15 segundos (21).

Determinación de pH.

Se tomó de 15 a 20 ml del inóculo y se depositó en un vaso de precipitados. El potenciómetro se calibro previamente con soluciones amortiguadoras de pH conocido. Se introdujo el electrodo al vaso y se tomó directamente la lectura del pH (21).

Evaluación sensorial.

La evaluación sensorial fué realizada por miembros del laboratorio una vez que los ejemplares habían cumplido el periodo de conservación respectivo; se evaluaron por su textura, olor, color y sabor, tomando como punto de referencia para estos parámetros la tabla general para clasificación y calificación organoléptica del manual de control de calidad para el camarón y la NOM-FF-42 de SCFI (27, 32); tomando en cuenta la suma o resta de dichas tablas (ver anexo 2) y la opinión del grupo panel se designó una escala de 15 puntos en la que se tiene de 15-11 puntos buenos, 10-6 regulares y de 5-0 malos; con la finalidad de reforzar la calidad del producto, también se tomó en cuenta el sistema de deducciones (ver anexo 3) y con las observaciones del grupo panel se designó una escala de 100 puntos en donde de 100-98 se tiene una buena calidad y de 97-70 mala calidad.

Para la realización del trabajo fué necesario dividirlo en 3 experimentos, a saber:

Experimento No. 1

Determinación de las mejores concentraciones de los componentes que integran el inóculo.

Este experimento tuvo como objetivo encontrar la proporción adecuada de los componentes del inóculo, los cuales permitirán el desarrollo óptimo de las lactobacterias, así como la mayor producción de ácido láctico y un pH bajo que nos garantizara obtener las mejores características organolépticas -- del camarón.

Las variables que se manejaron en este experimento fueron 3: la cantidad de leche fermentada, agua y azúcar agregada.

Preparación de los inóculos.

Teniendo leche fermentada con 16×10^8 lactobacterias/ml se -- realizaron los siguientes porcentajes de ésta con agua y azúcar por gramo de camarón, como lo muestra el cuadro A.

Se tomaron los camarones pasados por agua caliente y se pesa ron cada uno, ya que se utilizo un sólo camarón por triplicado por inóculo. El ensilaje se efectuó en bolsas de plástico individuales selladas y se almacenaron durante 15 días a tem peratura ambiente. La razón de utilizar bolsas selladas fué de producir un medio anaeróbico, así como cubrir lo mejor po sible al camarón con el inóculo; por otra parte se realizó -- por triplicado la prueba de cada inóculo debido a que se bus co reforzar y comprobar por una prueba estadística los resul tados obtenidos.

Las determinaciones que se hicieron a cada una de las mues-- tras fueron: pH, acidez en % de ácido láctico y característica s organolépticas (olor, textura, color), realizadas a los 15 días después del ensilaje para permitir estabilizar la -- fermentación.

Experimento No. 2.

Conservación del camarón con los inóculos seleccionados.

Este experimento tuvo como objetivo encontrar cual era el me jor inóculo que nos conservara en perfecto estado el camarón después de 30 días de almacenaje a temperatura ambiente.

PREPARACION DE LOS INOCULOS

| Inóculo | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| Leche fermentada (ml) | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 |
| Agua (ml) | 2.1 | 2.24 | 2.31 | 2.30 | 2.44 | 2.51 | 2.55 | 2.69 | 2.76 | 1.05 | 1.12 | 1.115 | 1.275 |
| Azúcar (g) | 0.28 | 0.14 | 0.07 | 0.28 | 0.14 | 0.07 | 0.28 | 0.14 | 0.07 | 0.14 | 0.07 | 0.035 | 0.14 |

Cuadro A. Concentraciones de los compuestos que integran el inóculo por gramo de camarón.

De los resultados obtenidos en el experimento No. 1 se seleccionaron los inóculos que dieron el mayor porcentaje de ácido láctico, un pH bajo y que conservaron en mejor estado el camarón.

Se tomaron 48 camarones pasados por agua caliente, para cada inóculo escogido y se repartieron en 6 frascos de boca ancha con tapa de metal (8 camarones por frasco), una vez en los frascos se les agregó el respectivo inóculo, así como un 0.8% de propionato de sodio como inhibidor de hongos, y al tercer día de la fermentación se cerraron perfectamente los frascos.

La razón de tener 6 frascos por cada inóculo fué para tener una muestra para cada uno de los días de las determinaciones control, sin afectar con ésto las condiciones de anaerobiosis que se requieren en la fermentación del ensilaje. Por otra parte fué necesario dejar destapados los frascos durante 3 días, ya que se observó que durante este tiempo en el experimento No. 1 algunas de las muestras presentaron formación de gas y con la finalidad de evitar acúmulo de éste en los frascos se procedió a cerrarlos hasta el tercer día.

Las determinaciones control se hicieron a los 0, 4, 11, 18, 27 y 32 días de fermentación y fueron: pH, acidez en % de ácido láctico, cuenta total de lactobacterias, coliformes, estafilococos, enterobacterias y hongos, así como determinación de las características organolépticas del camarón (textura, olor, color y sabor).

Experimento No. 3

Comparación del camarón conservado por fermentación con el conservado por congelación.

Determinar la efectividad de la conservación del camarón por medio de la fermentación ácido láctica comparándola contra la conservación por congelación.

El siguiente experimento tuvo como objetivo tratar de demostrar las ventajas que tiene la conservación por fermentación ácido láctica sobre la congelación.

Los camarones utilizados para este experimento fueron desca-bezados manualmente y empaquetados con hielo en bolsas de polietileno, utilizando un camarón por duplicado por muestra y se almacenaron en refrigeración a -4°C durante 4, 7, 13, 20, 30 y 42 días.

Las determinaciones control se efectuaron en cada día indicado y fueron: pH, acidez en % de ácido láctico y cuenta bacteriana de coliformes, estafilococos, enterobacterias y hongos así como determinaciones organolépticas del camarón.

RESULTADOS Y DISCUSION

Experimento No. 1

Determinación de las mejores concentraciones de los compuestos que integran el inóculo.

Los cuadros 1, 2 y 3 muestran los resultados obtenidos en este experimento. Los silos de cada inóculo se consideraron estables a los 15 días de la fermentación, al término de los cuales se alcanzaron en promedio las siguientes condiciones: 1.08% de ácido láctico como acidez y un pH de 4.5; encontrándose además que en los tres primeros días de la fermentación algunas de las muestras de los inóculos D, F, G, H e I presentaron formación de gas, lo cual inclina a pensar que en estos días se llevó a cabo una fermentación heteroláctica -- que origina CO_2 como el gas detectado y posteriormente se continuó con una fermentación homoláctica, ya que no se observó más producción de gas en los siguientes días; esto es posible debido a que se utilizó toda la microflora bacteriana de la leche y como es conocido en ésta se encuentran tanto bacterias heterolácticas como homolácticas.

Debido a que se utilizaron ejemplares individuales para cada inóculo y éstos no presentaron el mismo peso, se tuvo como consecuencia en los resultados las variaciones observadas en pH y acidez, ya que la concentración de lactobacterias aplicada por cada inóculo fué relacionada con el peso de cada camarón.

En lo que respecta a los resultados de las características organolépticas, se puede apreciar que los inóculos A, B, C, I y F no fueron aceptables en la textura por ser masuda y no

| Inóculo | pH | Acidez | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducción | Observaciones |
|----------------|------|--------|-------------------|---------|---------|----------------|-----------|-------------------|
| A ₁ | 4.01 | 0.77 | Elástica | Inodoro | Natural | 10 | 96 | |
| A ₂ | 3.97 | 1.07 | Masuda | Inodoro | Natural | 5 | 79 | |
| A ₃ | 4.13 | 1.13 | Elástica | Inodoro | Natural | 10 | 96 | |
| B ₁ | 4.46 | 0.85 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| B ₂ | 4.46 | 0.90 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| B ₃ | 4.23 | 1.12 | Elástica | Inodoro | Natural | 10 | 96 | |
| C ₁ | 4.47 | 0.79 | Masuda | Inodoro | Natural | 5 | 79 | |
| C ₂ | 3.97 | 0.99 | Elástica | Inodoro | Natural | 10 | 96 | |
| C ₃ | 4.09 | 1.09 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| D ₁ | 4.08 | 1.05 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| D ₂ | 4.08 | 1.16 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| D ₃ | 3.98 | 0.99 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | Formación de Gas. |

CUADRO 1. Características generales de los inóculos probados.

| Inóculo | pH | Acidez | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Dedución | Observaciones |
|----------------|------|--------|-------------------|---------|---------|----------------|----------|-------------------|
| E ₁ | 3.99 | 0.98 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| E ₂ | 4.10 | 1.06 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| E ₃ | 3.99 | 0.96 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| F ₁ | 3.98 | 1.05 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | Formación de Gas. |
| F ₂ | 4.03 | 0.97 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| F ₃ | 3.94 | 0.97 | Masuda | Inodoro | Natural | 5 | 79 | |
| G ₁ | 4.06 | 0.95 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| G ₂ | 4.03 | 1.01 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | |
| G ₃ | 3.98 | 1.04 | Firme | Inodoro | Natural | 10 | 98 | Formación de Gas. |
| H ₁ | 4.05 | 1 | Firme Elástica | Marisco | Natural | 15 | 100 | Formación de Gas. |
| H ₂ | 4.09 | 1.03 | Firme Elástica | Marisco | Natural | 15 | 100 | Formación de Gas. |
| H ₃ | 4.03 | 0.97 | Firme | Marisco | Natural | 10 | 98 | Formación de Gas. |

CUADRO 2. Características generales de los inóculos probados.

| Inóculo | pH | Acidez | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducción | Observaciones |
|----------------|------|--------|-------------------|---------|---------|----------------|-----------|------------------|
| I ₁ | 4.21 | 0.98 | Firme | Marisco | Natural | 10 | 98 | |
| I ₂ | 4.21 | 0.74 | Firme | Marisco | Natural | 10 | 98 | Formación de Gas |
| I ₃ | 4.11 | 0.95 | Elástica | Inodoro | Natural | 10 | 96 | |
| J ₁ | 4.23 | 1.27 | Firme Elástica | Marisco | Natural | 15 | 100 | |
| J ₂ | 4.20 | 1.39 | Firme Elástica | Marisco | Natural | 15 | 100 | |
| J ₃ | 4.33 | 1.49 | Firme Elástica | Marisco | Natural | 15 | 100 | |
| K ₁ | 4.29 | 1.23 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| K ₂ | 4.19 | 1.57 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| K ₃ | 4.30 | 1.42 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| L ₁ | 4.43 | 1.30 | Firme | Marisco | Natural | 10 | 98 | |
| L ₂ | 4.57 | 1.24 | Elástica | Marisco | Natural | 10 | 96 | |
| L ₃ | 4.42 | 1.42 | Firme Elástica | Marisco | Natural | 15 | 100 | |
| M ₁ | 4.25 | 1.14 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| M ₂ | 4.24 | 1.05 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |
| M ₃ | 4.19 | 1.41 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 | |

CUADRO 3. Características generales de los inóculos probados.

tan firme elástica, así mismo en estos inóculos la acidez obtenida fué relativamente baja con respecto a los demás, por tal motivo se piensa que la concentración de azúcar utilizada en estos inóculos no fué la adecuada para las altas cantidades de lactobacterias utilizadas, por lo que éstas no pudieron crecer y desarrollarse adecuadamente. El resto de los inóculos se observó que fué necesario una acidez mínima del 98% para poder mantener la textura firme elástica del camarón que nos permitiera mantener la calidad del producto, además de ser inodoros y mantener su color característico.

Orientándose en lo anterior y con los resultados de altos porcentajes de acidez y pH más estables; así como apropiadas características organolépticas y condiciones aceptables en la calidad del camarón, se tomaron para continuar el siguiente experimento los inóculos E, H, J, K y M; así mismo éstos mostraron ser los compuestos necesarios para formar el inóculo que conservara el camarón por fermentación ácido láctica, ya que por medio de una prueba estadística de ANOVA de 2 factores se demostró que efectivamente existen diferencias significativas entre cada uno de los inóculos probados (ver anexo 4) y por ende en las concentraciones de los compuestos utilizados.

Experimento No. 2

Conservación del camarón con los inóculos seleccionados.

En los cuadros 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 se muestran las características generales y organolépticas de los camarones conservados con los inóculos seleccionados (E, H, J, K y M) en los diferentes días de fermentación.

| Inóculo | E |
|-----------------------|------|
| Leche Fermentada (ml) | 0.50 |
| Agua (ml) | 2.24 |
| Azúcar (g) | 0.14 |

| Días | pH | Acidez | Cuenta Total | Lacto-bacillus | Coliformes | Estafilococos | Enterobacterias | Hongos |
|------|------|--------|--------------------|--------------------|-------------------|---------------------|--------------------|--------|
| 0 | 4.21 | 0.23 | 53x10 ⁸ | 16x10 ⁸ | 1x10 ³ | 1x10 ⁴ | 40x10 ² | 0 |
| 4 | 4.04 | 0.70 | 68x10 ⁸ | 24x10 ⁸ | 0 | 148x10 ³ | 19x10 ² | 0 |
| 7 | 4.46 | 0.79 | 35x10 ⁸ | 28x10 ⁷ | 0 | 20x10 ³ | 0 | 0 |
| 11 | 4.25 | 0.94 | 43x10 ⁷ | 34x10 ⁷ | 0 | 18x10 ³ | 0 | 0 |
| 18 | 4.15 | 0.97 | 27x10 ⁷ | 16x10 ⁷ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 4.40 | 0.82 | 9x10 ⁷ | 11x10 ⁷ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 4.41 | 0.76 | 62x10 ⁶ | 40x10 ⁶ | 0 | 0 | 0 | 0 |

Cuadro 4. Características generales y microbiológicas del inóculo E.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 11 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 18 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 27 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 32 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |

CUADRO 5. Características organolépticas del inóculo E.

| Inóculo | H |
|-----------------------|------|
| Leche Fermentada (ml) | 0.25 |
| Agua (ml) | 2.69 |
| Azúcar (g) | 0.14 |

| Días | pH | Acidez | Cuenta Total | Lacto-bacillus | Coliformes | Estafilococos | Enterobacterias | Hongos |
|------|------|--------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|--------|
| 0 | 4.21 | 0.23 | 53×10^8 | 16×10^8 | 1×10^3 | 1×10^4 | 40×10^2 | 0 |
| 4 | 4.29 | 0.57 | 59×10^8 | 22×10^8 | 5×10^2 | 38×10^3 | 15×10^2 | 0 |
| 7 | 4.28 | 0.72 | 35×10^7 | 27×10^7 | 0 | 15×10^3 | 40 | 0 |
| 11 | 4.20 | 0.73 | 28×10^7 | 16×10^7 | 0 | 8×10^3 | 0 | 0 |
| 18 | 4.11 | 0.74 | 17×10^7 | 6×10^7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 4.31 | 0.73 | 20×10^6 | 8×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 4.15 | 0.81 | 14×10^6 | 3×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Cuadro 6. Características generales y microbiológicas del inóculo H.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 11 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 18 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 27 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 32 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |

CUADRO 7. Características organolépticas del inóculo H.

| | |
|-----------------------|------|
| Inóculo | J |
| Leche Fermentada (ml) | 0.35 |
| Agua (ml) | 1.05 |
| Azúcar (g) | 0.14 |

| Días | pH | Acidez | Cuenta Total | Lacto-bacillus | Coliformes | Estafilococos | Enterobacterias | Hongos |
|------|------|--------|------------------|------------------|-----------------|-------------------|------------------|--------|
| 0 | 4.21 | 0.23 | 53×10^8 | 16×10^8 | 1×10^3 | 1×10^4 | 40×10^2 | 0 |
| 4 | 4.17 | 1.18 | 55×10^8 | 25×10^8 | 0 | 3×10^3 | 7×10^2 | 0 |
| 7 | 4.47 | 1.09 | 47×10^7 | 37×10^7 | 0 | 148×10^2 | 0 | 0 |
| 11 | 4.30 | 1.25 | 38×10^7 | 29×10^7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 4.13 | 1.29 | 17×10^7 | 12×10^7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 4.30 | 1.25 | 21×10^6 | 16×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 4.22 | 1.25 | 7×10^6 | 1×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Cuadro 8. Características generales y microbiológicas del inóculo J.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 11 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 18 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 27 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 32 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |

CUADRO 9. Características organolépticas del inóculo J.

| Inóculo | K |
|-----------------------|------|
| Leche Fermentada (ml) | 0.35 |
| Agua (ml) | 1.12 |
| Azúcar (g) | 0.07 |

| Días | pH | Acidez | Cuenta Total | Lacto-bacillus | Coliformes | Estafilococos | Enterobacterias | Hongos |
|------|------|--------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|--------|
| 0 | 4.21 | 0.23 | 53×10^8 | 16×10^8 | 1×10^3 | 1×10^4 | 40×10^2 | 0 |
| 4 | 4.33 | 0.97 | 60×10^8 | 23×10^8 | 0 | 11×10^3 | 18×10^2 | 0 |
| 7 | 4.65 | 1.06 | 39×10^7 | 34×10^7 | 0 | 2×10^3 | 1×10^2 | 0 |
| 11 | 4.24 | 1.12 | 35×10^7 | 25×10^7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 4.22 | 1.15 | 21×10^7 | 10×10^7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 4.30 | 1.31 | 16×10^6 | 14×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 4.24 | 1.28 | 3×10^6 | 1×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Cuadro 10. Características generales y microbiológicas del inóculo K.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 11 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 18 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 27 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 32 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |

CUADRO 11. Características organolépticas del inóculo K.

| Inóculo | M |
|-----------------------|-------|
| Leche Fermentada (ml) | 0.125 |
| Agua (ml) | 1.275 |
| Azúcar (g) | 0.14 |

| Días | pH | Acidez | Cuenta Total | Lacto-bacillus | Coliformes | Estafilococos | Enterobacterias | Hongos |
|------|------|--------|------------------|------------------|-----------------|-------------------|------------------|--------|
| 0 | 4.21 | 0.23 | 53×10^8 | 16×10^8 | 1×10^3 | 1×10^4 | 40×10^2 | 0 |
| 4 | 4.48 | 0.84 | 53×10^8 | 22×10^8 | 0 | 189×10^3 | 12×10^2 | 0 |
| 7 | 4.65 | 1.06 | 43×10^7 | 38×10^7 | 0 | 136×10^2 | 3×10^2 | 0 |
| 11 | 4.20 | 0.73 | 28×10^7 | 23×10^7 | 0 | 14×10^2 | 0 | 0 |
| 18 | 4.21 | 1.12 | 7×10^7 | 2×10^7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 4.31 | 1.31 | 16×10^6 | 11×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | 4.24 | 1.18 | 16×10^6 | 1×10^6 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Cuadro 12. Características generales y microbiológicas del inóculo M.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 11 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 18 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 27 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 32 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |

CUADRO 13. Características organolépticas del inóculo M.

Las figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 muestran los resultados obtenidos en este experimento.

Las gráficas de acidez en % de ácido láctico y de pH de los inóculos E, fig. 1; H, fig. 3; J, fig. 5; K, fig. 7 y M, -- fig. 9 aún conteniendo diferente fuerza de inóculo, es decir, microorganismos por gramo de camarón, según lo designando para cada inóculo, presentaron un comportamiento casi similar durante los primeros 5 días de la fermentación, pero durante los 25 días restantes del ensilaje se observaron cambios más notables en los 3 últimos inóculos, ya que en el inóculo J - la acidez se incrementó de 0.23% a 1.25% en K de 0.23% a - - 1.28% y en M de 0.23% a 1.19%, sin embargo el pH aumentó ligeramente en promedio de 4.21 a 4.27.

En las gráficas respectivas de la cuenta total microbiana y de lactobacterias de los inóculos E, fig. 2; H, fig. 4; J, - fig. 6; K, fig. 8 y M, fig. 10, se puede observar que en estas poblaciones existió un incremento al cuarto día de la -- fermentación, ya que partiendo de 16×10^8 lactobacterias/ml y 53×10^8 m.o./g, se obtuvo que en este tiempo alcanzaron su máximo desarrollo en promedio con una cuenta de 23×10^8 lactobacterias/ml y 59×10^8 m.o./g.

A pesar de haber sometido por agua caliente a los camarones por 3 minutos antes de llevarlos a la fermentación, se partió con una microflora inicial de 1×10^3 coliformes/g, 1×10^4 estafilococos y 4×10^2 enterobacterias/g, sin embargo las bacterias coliformes fueron eliminadas totalmente al cuarto día de la fermentación en los inóculos E, J, K y M como se puede apreciar en las respectivas gráficas de cada inóculo (fig. 2, fig. 4, fig. 6, fig. 8 y fig. 10, sin embargo en el inóculo H se presentó la eliminación completa de estas bacterias hasta el séptimo día de la fermentación, por lo que se pudo observar aquí la importancia de la concentración del inóculo,

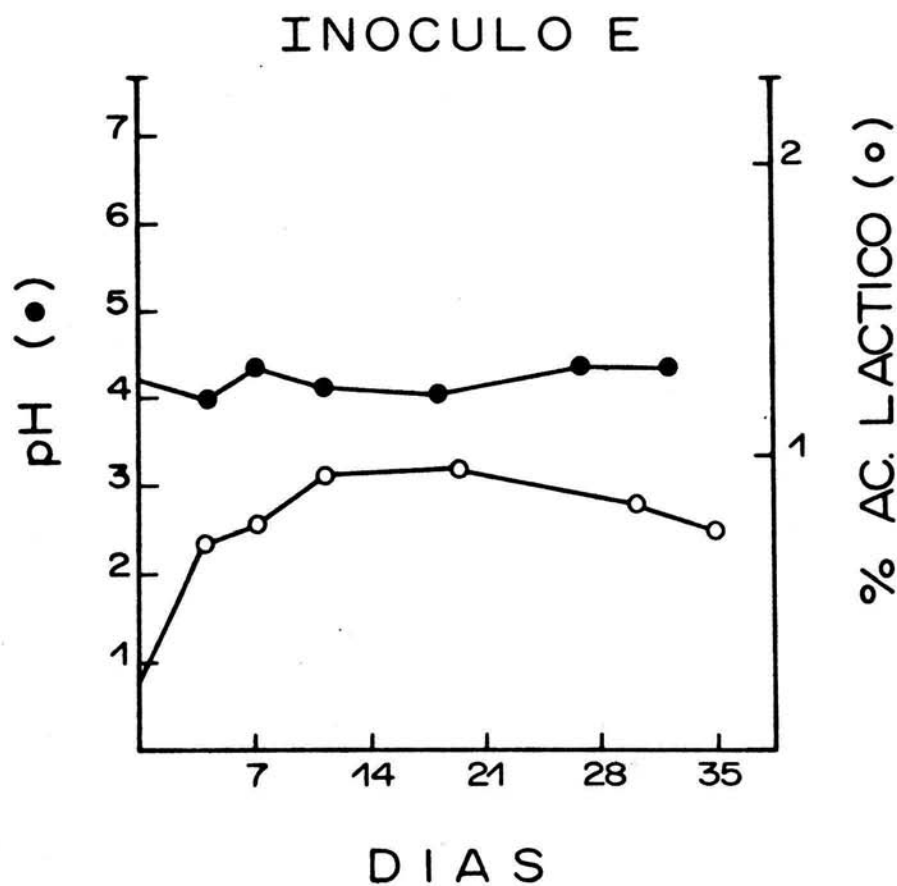


FIGURA 1. Cambios registrados en el pH y porcentaje de ácido láctico del inóculo E durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

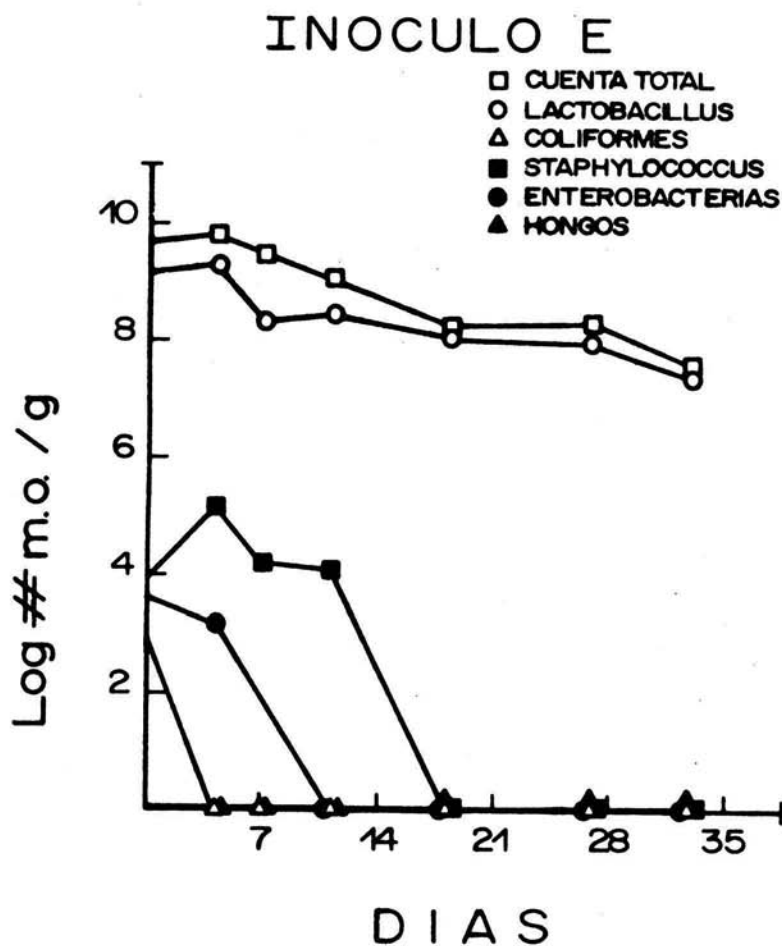


FIGURA 2. Contenido bacteriano presente en el camarón del inóculo E durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

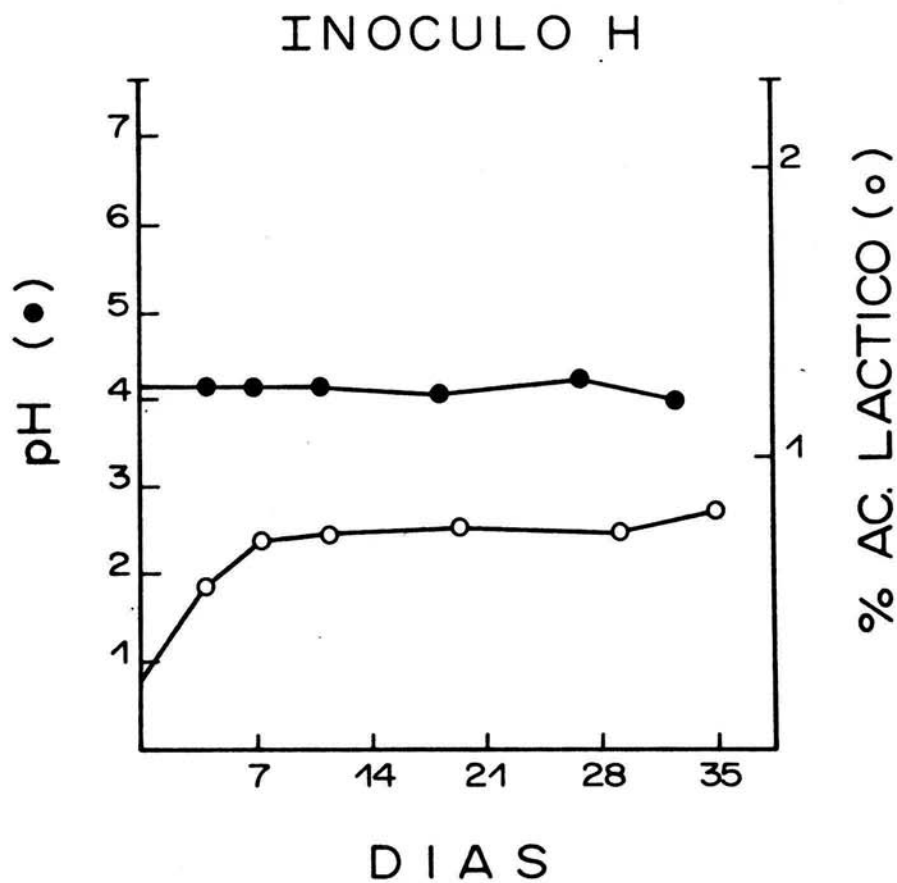


FIGURA 3. Cambios registrados en el pH y porcentaje de ácido láctico del inóculo H durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

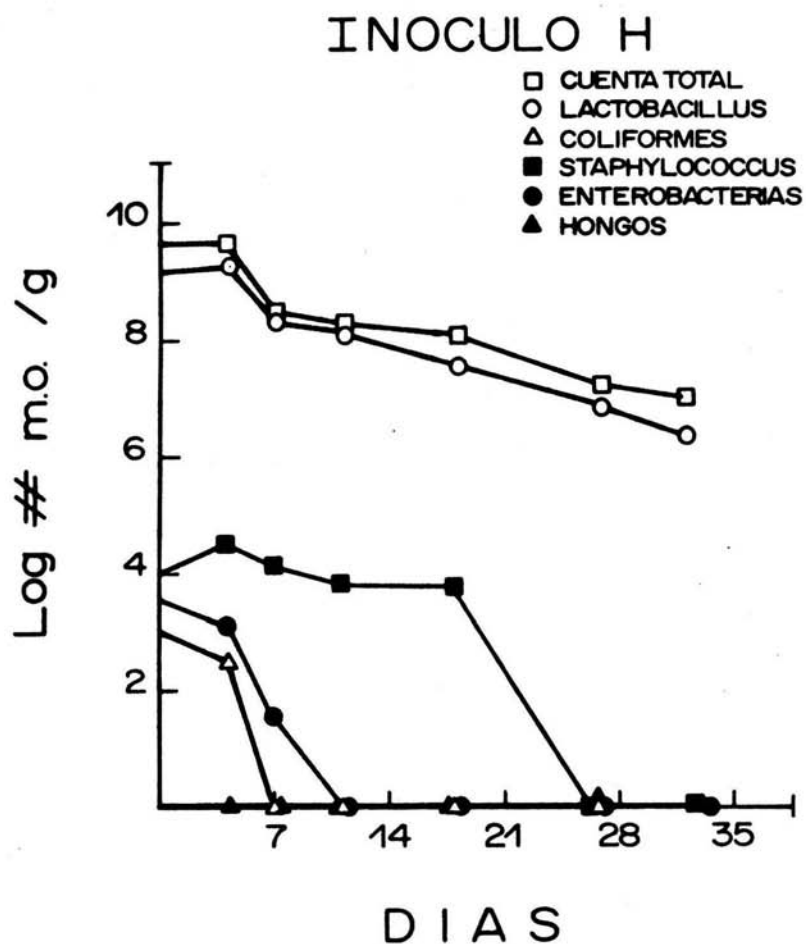


FIGURA 4. Contenido microbiano presente en el camarón del inóculo H durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

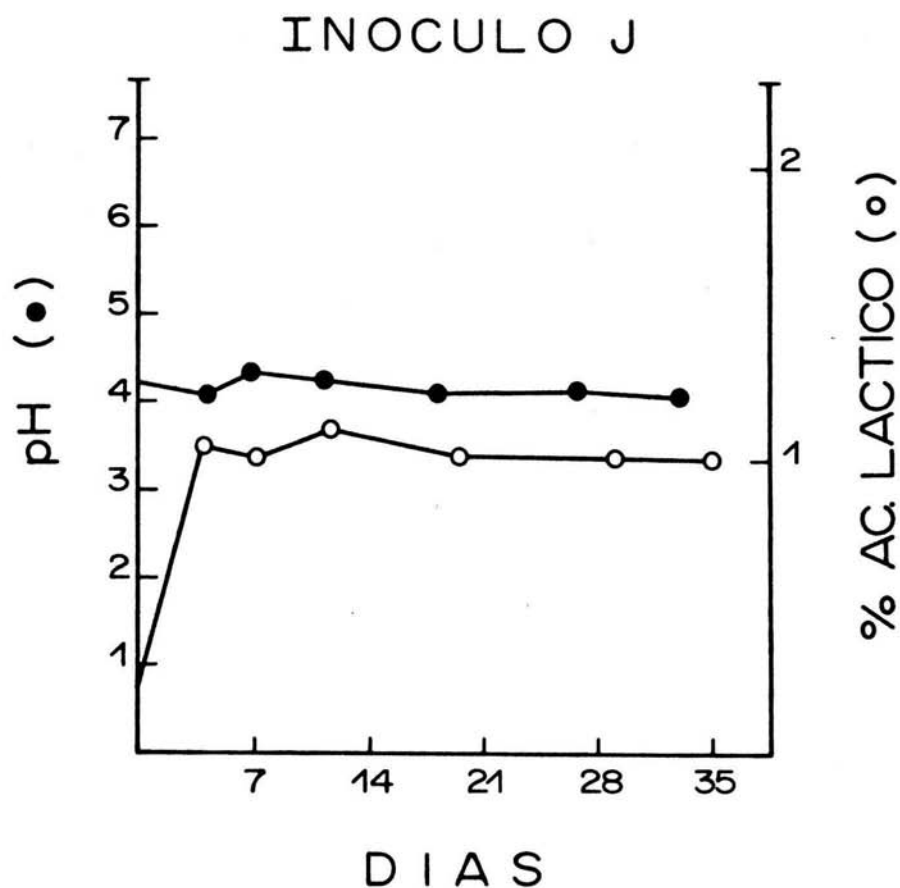


FIGURA 5. Cambios registrados en el pH y porcentaje de ácido láctico del inóculo J durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

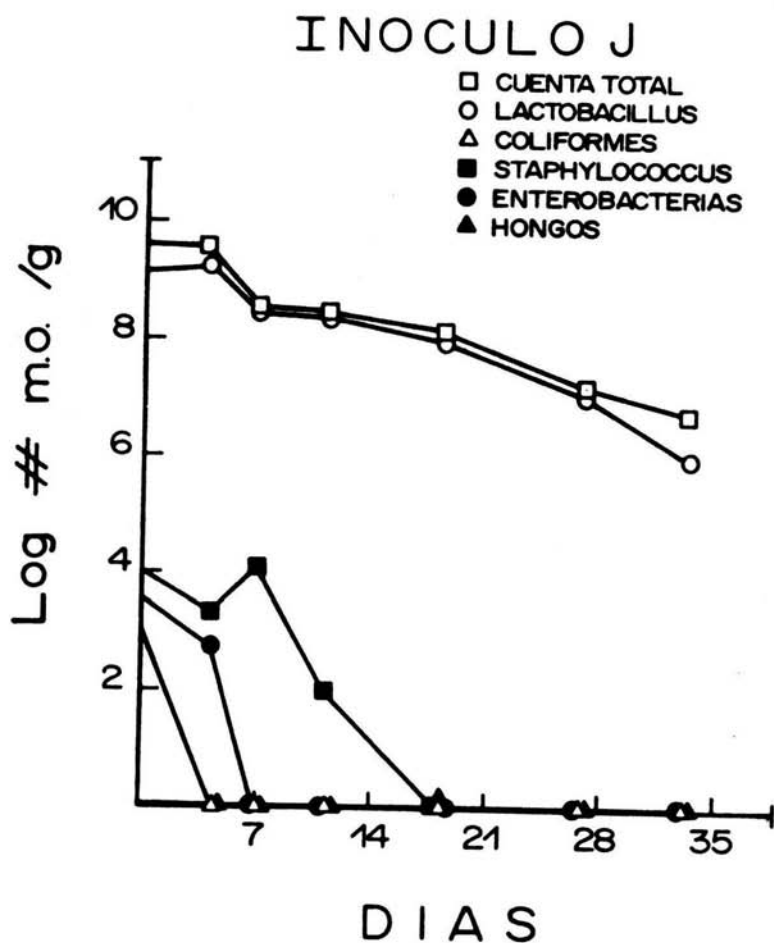


FIGURA 6. Contenido microbiano presente en el camarón del inóculo J durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

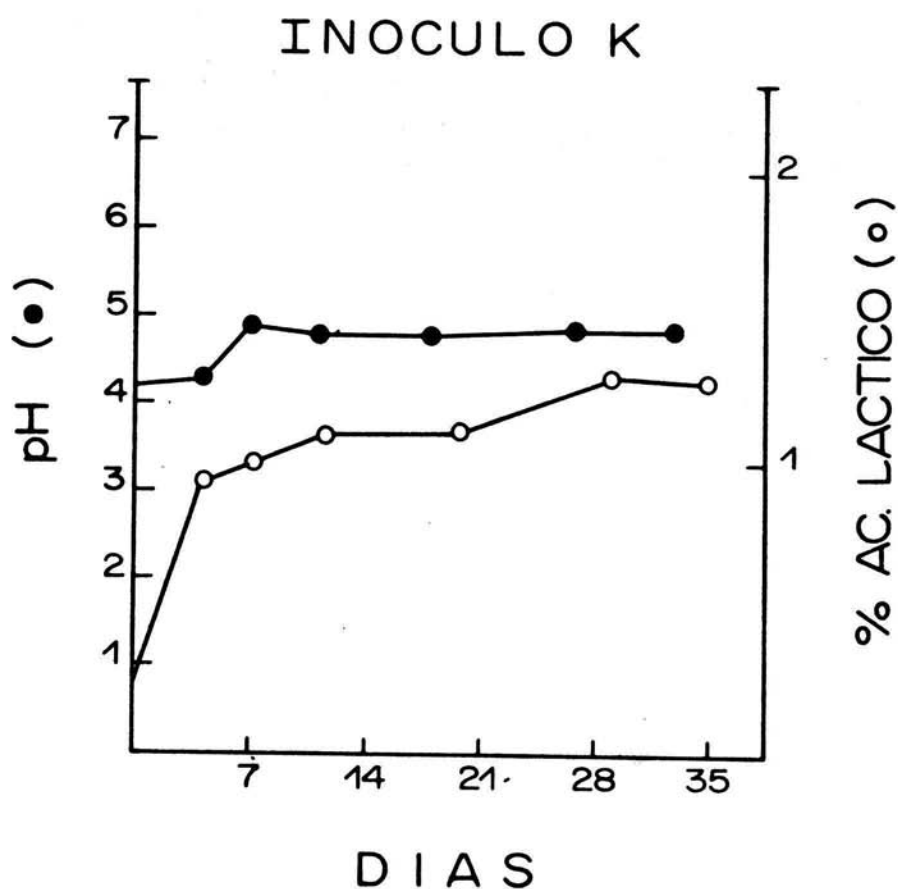


FIGURA 7. Cambios registrados en el pH y porcentaje de ácido láctico del inóculo K durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

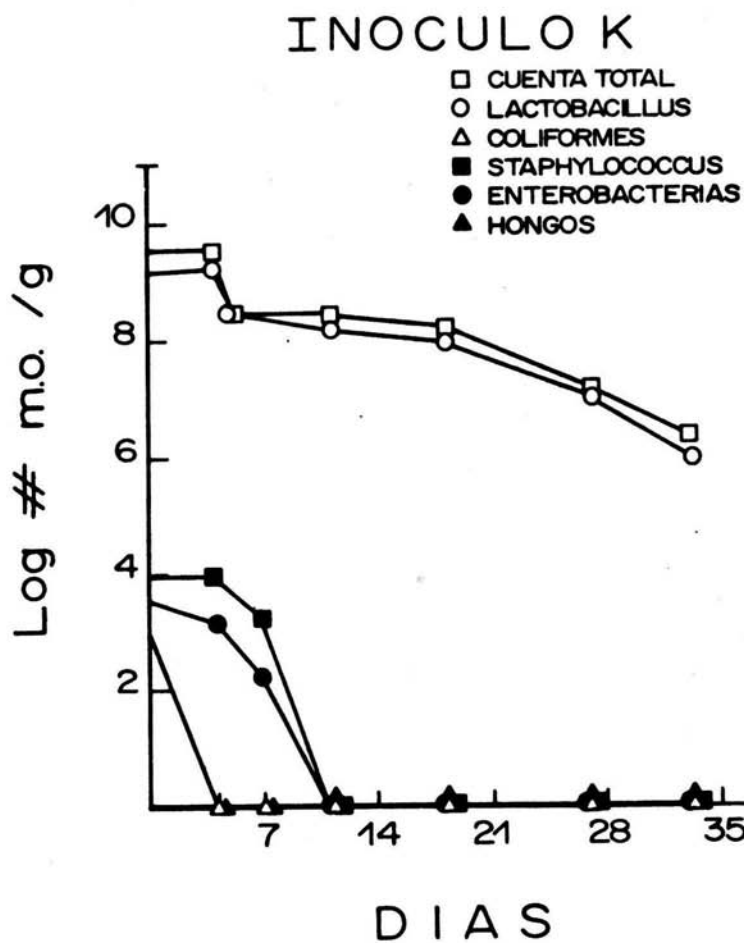


FIGURA 8. Contenido microbiano presente en el camarón del inóculo K durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

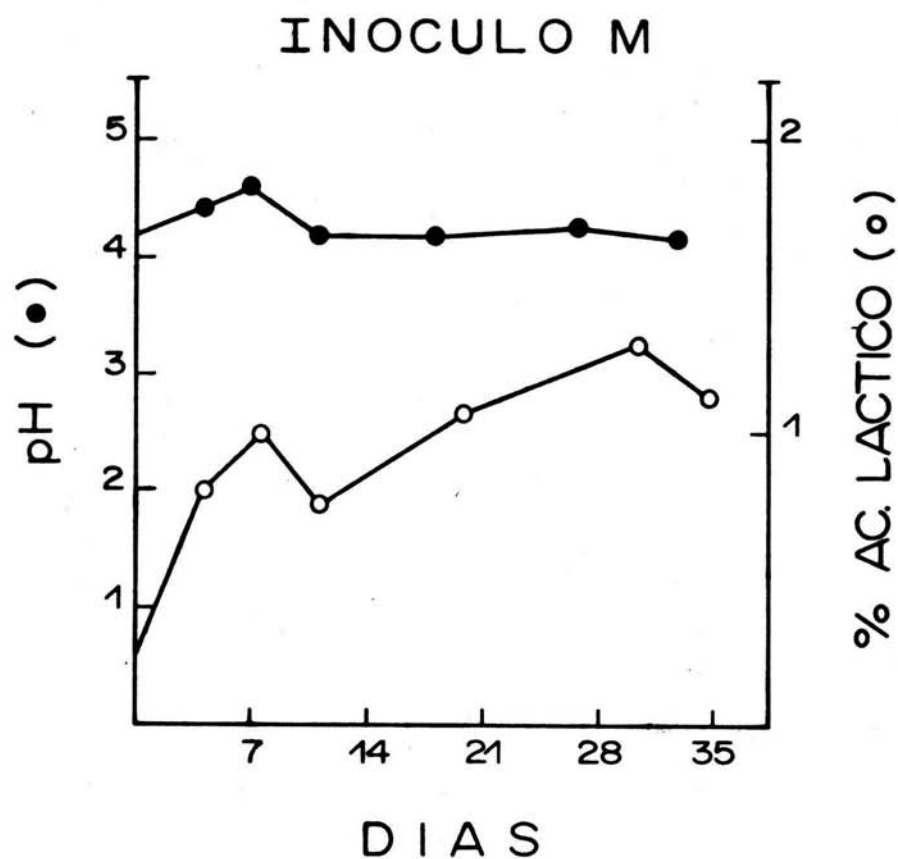


FIGURA 9. Cambios registrados en el pH y porcentaje de ácido láctico del inóculo M durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

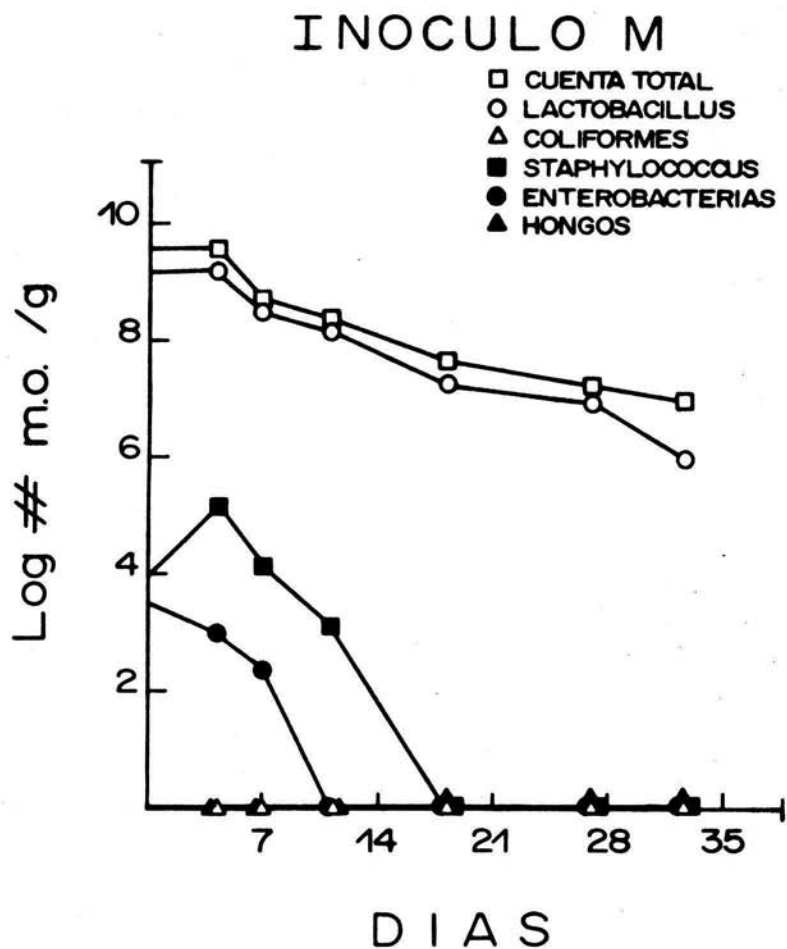


FIGURA 10. Contenido microbiano presente en el camarón del inóculo M durante 32 días de fermentación a temperatura ambiente.

así como la importancia de tener una adecuada actividad del agua en la formulación del inóculo.

Los microorganismos más difíciles de eliminar fueron en primer orden los estafilococos y las enterobacterias, ya que -- los primeros se eliminaron hasta los 11 días de la fermentación en los inóculos J, fig. 6; K, fig. 8, mientras que en los inóculos E, fig. 2; H, fig. 4 y M, fig. 10 se realizó a los 18 días de la fermentación; por otra parte a los 11 días de la fermentación se eliminaron las enterobacterias en los inóculos H, K y M, mientras que en los inóculos E y J se eliminaron totalmente a los 7 días. Este retraso en la eliminación de los estafilococos, mencionado anteriormente, se debió posiblemente a que la concentración de éstos era mayor -- que el resto de los demás microorganismos contaminantes, además como demuestran los resultados al igual que las enterobacterias necesitaron un mayor porcentaje de ácido láctico -- presente en el ensilaje, ya que como se sabe estos microorganismos soportan más esta acidez a concentraciones bajas.

Estudios realizados por Abde-Bar (1), Bartholomew y Blumer -- (2, 3), Daeschel (10) y Pulusani (13) han demostrado que las bacterias ácido lácticas tienen la cualidad de eliminar, ya sea en un cultivo mixto o en algunos alimentos conservados -- por fermentación ácido láctica, a Staphylococcus aureus, coliformes, enterobacterias y pseudomonas. Lo anterior apoya -- nuestros resultados obtenidos con los inóculos seleccionados (E, H, J, K y M) sobre la eliminación total de los estafilococos, enterobacterias y coliformes presentes en el camarón.

Con lo que respecta a las características organolépticas, en todos los inóculos probados se mantuvieron en perfectas condiciones, aunque al determinar el olor de las muestras al -- principio tenían un olor a leche agria, pero con un enjuague

con agua se mantenían inodoros, como lo muestran los cuadros 5, 7, 9, 11 y 13.

Experimento No. 3

Comparación del camarón conservado por fermentación con el conservado por congelación.

En los cuadros 14 y 15 se muestran las características generales y organolépticas evaluadas para los camarones almacenados durante 42 días de congelación.

En los cuadros 16 y 17 se muestran las diferencias organolépticas obtenidas entre los camarones conservados por fermentación y por congelación.

En las figuras 11 y 12 se muestran los resultados obtenidos en este experimento y en las figuras 13 y 14 se muestran éstos comparados con los obtenidos en la fermentación.

Las gráficas de acidez en % de ácido láctico y de pH obtenidos de las muestras congeladas (fig. 11), muestran un ligero aumento de estos parámetros después de los 13 días para el pH y 20 días después para la acidez, como consecuencia del inicio tardío de descomposición natural del camarón, debido al método de congelación utilizado.

En el camarón crudo se encontró una cuenta total bacteriana inicial de 1000 m.o./g, con el almacenaje en congelación el contenido total bacteriano se incrementó a partir del 7° día hasta llegar a 3×10^6 m.o./g a los 42 días de almacenamiento (fig. 12). Similares resultados fueron obtenidos por Cobb -- III y Vanderzan (8) al obtener el contenido bacteriano de Penaeus setiferus, en su estudio encontraron que en este --

| Días | pH | Acidez | Cuenta Total | Hongos | Coliformes | Estafilococos | Enterobacterias |
|------|------|--------|-------------------|--------|--------------------|--------------------|---------------------|
| 0 | 7.0 | 0.02 | 1.0×10^3 | 0 | 3.25×10^2 | 5.5×10^2 | 2.850×10^3 |
| 4 | 7.1 | 0.02 | 5.1×10^3 | 0 | 1×10 | 5×10 | 1.3×10^3 |
| 7 | 7.1 | 0.02 | 2×10^5 | 0 | 6×10 | 2.05×10^2 | 5×10^3 |
| 13 | 7.1 | 0.02 | 4×10^5 | 0 | 1.1×10^2 | 7×10 | 1.4×10^3 |
| 20 | 7.1 | 0.03 | 1×10^6 | 0 | 2.5×10^2 | 1.5×10^3 | 5.5×10^4 |
| 30 | 7.2 | 0.03 | 3×10^6 | 0 | 8×10 | 2×10^2 | 1×10^4 |
| 42 | 7.26 | 0.03 | 3×10^6 | 0 | 3×10 | 2×10 | 1×10^3 |

Cuadro 14. Características generales y microbiológicas obtenidas en los camarones almacenados durante 42 días en congelación.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------------------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 13 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |
| 20 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |
| 30 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |
| 42 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |

CUADRO 15. Características organolépticas del camarón almacenado durante 42 días en congelación.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 11 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 18 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 27 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 32 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |

CUADRO 16. Características organolépticas del camarón conservado por fermentación.

| Días | Textura | Olor | Color | Organolépticas | Deducciones |
|------|-------------------|---------|---------------------|----------------|-------------|
| 0 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 4 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 7 | Firme Elástica | Inodoro | Natural | 15 | 100 |
| 13 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |
| 20 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |
| 30 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |
| 42 | Firme Elástica | Inodoro | Ligera Melanosis | 13 | 99 |

CUADRO 17. Características organolépticas del camarón conservado por congelación.

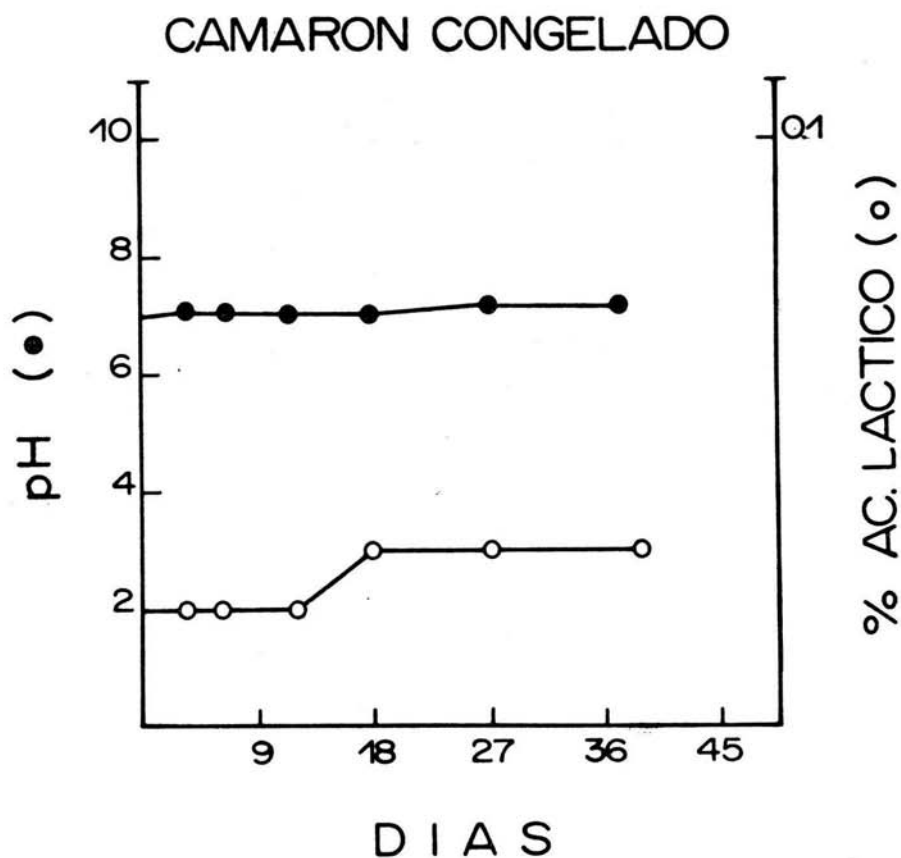


FIGURA 11. Cambios registrados en el pH y porcentaje de ácido láctico presente en el camarón durante 42 días de almacenamiento en congelación a -4°C .

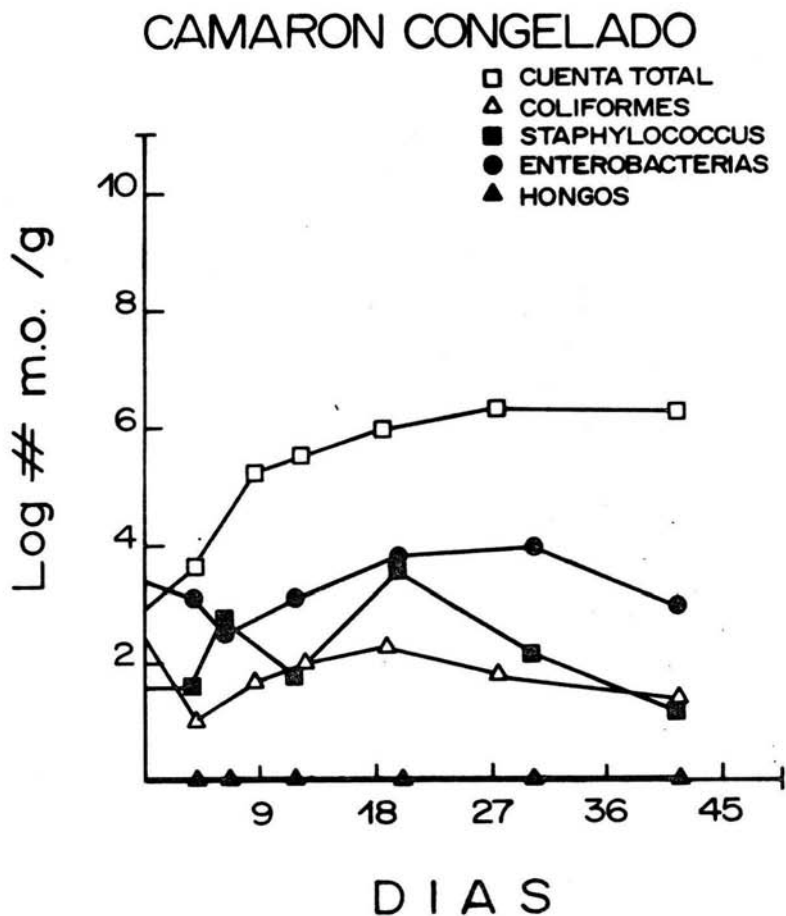


FIGURA 12. Contenido microbiano presente en el camarón durante 42 días de almacenamiento en congelación a -4°C .

CAMARON (fermentado y congelado)

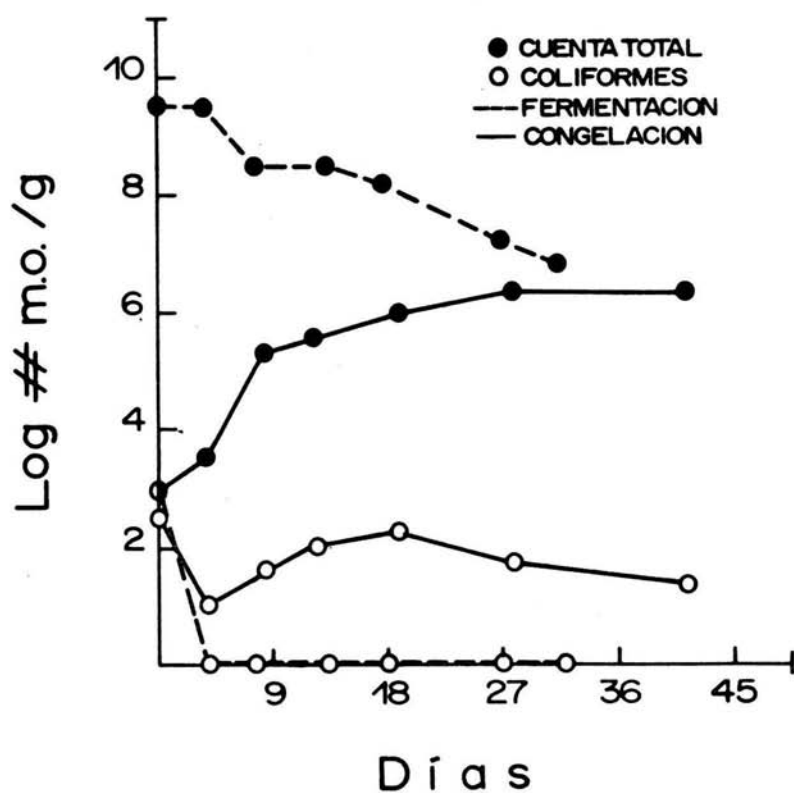


FIGURA 13. Contenido microbiano presente en el camarón fermentado comparado con el contenido microbiano -- presente en el camarón congelado.

CAMARON (fermentado y congelado)

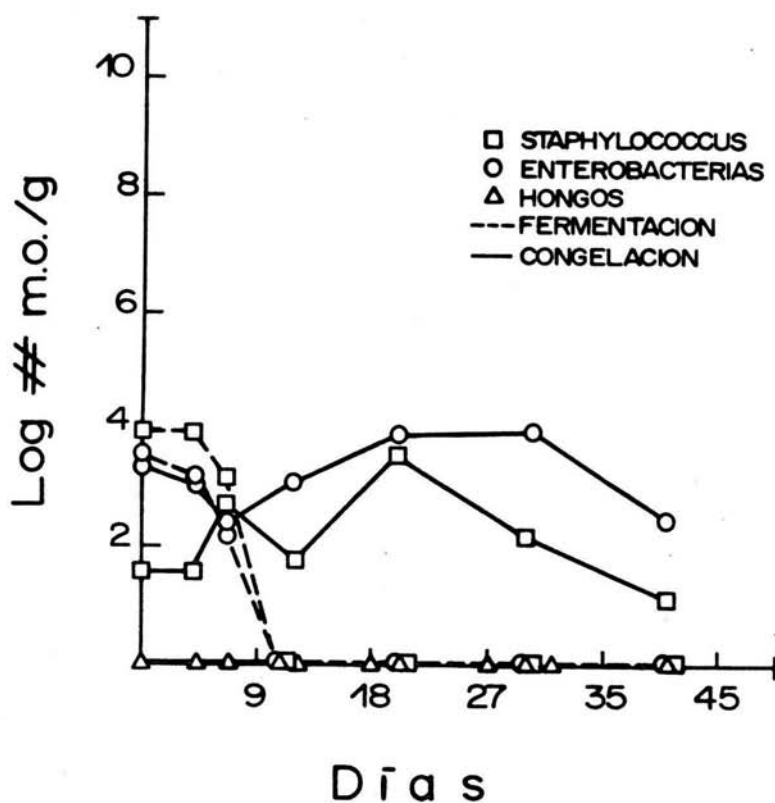


FIGURA 14. Contenido microbiano presente en el camarón fermentado comparado con el contenido microbiano -- presente en el camarón congelado.

camarón había una cuenta total inicial de 2.5×10^2 m.o./g y - que a partir de los 25 a los 37 días de almacenaje en refrigeración se llegaba a 2×10^6 m.o./g con un grado considerable de descomposición.

Con respecto a la reducción aparente en el contenido bacteriano de coliformes, enterobacterias y estafilococos después de los 4 días de almacenaje en congelación, probablemente -- fué causada por la inhabilidad de algunas de estas bacterias para sobrevivir a las bajas temperaturas; sin embargo como - podemos apreciar en la figura 12 también existe una oscila-- ción en disminución y aumento en el contenido de estas bacte^urias durante los respectivos días de almacenaje, ésto se debe posiblemente a que la flora bacteriana presente en los ca^{ma}marones es producto de la microflora característica del agua donde fueron capturados y del procesamiento al cual fueron - sometidos para conservarlos después de su captura, así como de su manipulación durante su transporte hacia los centros - de conservación y consumo, por lo que casi cada camarón trae^rá diferente concentración bacteriana, como lo han comprobado Harrison y Lee (19); Cobb III et al. (9) y Vanderzant et al. (34), al encontrar una concentración bacteriana que va-- rriaba de 3×10^3 a 2×10^5 bacterias/g en los camarones utilizados en sus estudios.

Los resultados obtenidos de las características organolépticas (cuadro 15) demostraron que los camarones retuvieron su calidad perfectamente hasta los 7 días de almacenaje, pero a partir de los 13 días hasta los 42 su calidad seguía siendo aceptable, pero ya mostraban una ligera melanosis en la cáscara como en la carne, lo que demuestra que el método de con^ggelación no es capaz de detener la autólisis natural. Tomando en cuenta todo lo anterior se puede considerar que la con^gservación por fermentación ácido láctica es relativamente me

por que el método por congelación, ya que la primera mantiene las características organolépticas originales por un tiempo mayor y quizás indefinido (cuadro 15 y 16), además de que elimina en una forma total a todas las bacterias causantes de la descomposición del camarón, como se puede observar en la figura 13 y 14, así mismo detiene la autólisis natural de éste.

CONCLUSIONES

Como conclusión fundamental de todo lo anterior tenemos que - la conservación del camarón bajo el proceso de ensilaje con - un inóculo bacteriano mixto de lactobacterias es factible técnica y económicamente.

El camarón se conserva mediante la fermentación ácido láctica con una concentración en el inóculo de leche fermentada de -- 16×10^8 m.o./ml, 1.05 ml de agua y 0.14 g de azúcar por gramo de camarón respectivamente, así como un 0.8% de propionato de sodio como inhibidor de hongos, teniéndose que esta conservación se ve favorecida a temperatura ambiente.

El grado de calidad y características organolépticas del camarón fermentado no se ven afectadas durante el tiempo de conservación, ya que se mantienen como las originales.

Debido a su alto grado de calidad, características organolépticas y bajo costo de conservación del camarón fermentado, en comparación con el camarón congelado, este producto tiene una gran posibilidad de ser aceptado en el mercado y de ser utilizado en la alimentación de monogástricos.

En términos de almacenaje y conservación del camarón, este - trabajo presenta una alternativa ideal para evitar el uso de hielo y refrigeradores tradicionales, así como el uso excesivo de energía empleada para mantener la refrigeración y congelación del producto.

BIBLIOGRAFIA

1. Abdel-Bar, N.; Harris, N.D. and Rill, R.L. (1987)
Purification and propiedades of an antimicrobial substance produced by Lactobacillus bulgaricus. J. Food Sci. (52): 411-415.
2. Bartholomew, D.T. and Blumer, T.N. (1980a)
Inhibition of Staphylococcus by lactic acid bacteria in contry-styl hams. J. Food. Sci. (45):420-425.
3. Bartholomew, D.T. and Blumer, T.N. (1980b).
Effects of lactic acid bacteria on quality of contry-styl hams. J. Food Sci. (45):426-430.
4. Brock, D.T. (1978)
Biología de los microorganismos. Ed. Omega. Barcelona, España 774 p.p.
5. Cann, D.C. (1977)
Bacteriology of shelfish with reference to international trade. Proc. Conf. Handling, procesing and marketing of tropical fish, TPI, London. 377-394.
6. Coallier-Ascah, J. and Idziak, E.S. (1985)
Interaction between Streptococcus lactis and Aspergillus flavus on production of aflatoxina. Appl. Environ. Microbiol. (49):163-167.
7. Cobb, B.F. III (1977)
Biochemistry and physiology of shrimp: effect on use as food. Proc. Conf. Handling, processing and marketing of tropical fish, TPI, London 405-411.

8. Cobb, B.F. III; Vanderzant, C. and Thompson, C. Jr. (1973)
Chemical characteristics bacterial counts, and potential Shelf-life of shrimp from locations on the Northwestern Gulf of Mexico. J. Milk Food Technol. 36(No. 9):463-468.
9. Cobb, B.F. III; Vanderzant, C. and et al. (1976)
Effect of ice storage on microbiological and chemical changes in shrimp and melting ice in a model system. J. Food Sci. (41):29-34.
10. Daeschel, M. (1989)
Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for: Uses as food preservation. Food Technol. 43(No. 1):164-167.
11. Dirección general de informática, estadística y documentación de pesca. (1986)
Análisis de la actividad pesquera.
12. Dirección general de informática, estadística y documentación de pesca (1986)
Anuario estadístico de pesca.
13. Dubois, G. et al. (1979)
Inhibition of bacterial isolated from ground meat by - - Streptococcaceae and Lactobacillae. J. Food Sci. (44): 1649-1652.
14. Fatiman, R. et al. (1988)
Shelf-life of shrimp (Penaeus merquiensis) stored in ice (0°C) and partially frozen (-3°C). J. Sci. Food Agric. (42):235-247.

15. Fleming, H.P. and Mc. Feeters, R.F. (1981)
Use microbial cultures: vegetables products. Food. - - -
Technol. (35):84-88.
16. Flick, G.J. and Lovell, R.T. (1972)
Post-mortem biochemical changes in the muscle of gulf
shrimp, Penaeus aztecus. J. Food Sci. (37):609-611.
17. Gibbs, P.A. (1987)
Novel uses for lactic acid fermentation in food preserva
tion. J. Appl. Bacteriol. (Suppl) 51s-58s.
18. Grau, F.H. (1980)
Inhibition of the anaerobic growth of Brochothix thermo-
phacta by lactic acid. Appl. Environ. Microbiol. (40):
433-436.
19. Harrison, J.M. and Lee, J.J. (1969)
Microbial evaluation of pacific shrimp processing. Appl.
Microbiology 18(No. 2):188-192.
20. Hesseltine, D.W. (1979)
Some important fermented food of Mid. Asia the Middle --
East and Africa. J. Am. Oil. Chemist's Soc. (56):367-373
21. Horwitz, W. (1975)
Official methods of analysis of the association on - -
official analytical chemists. 12ed. Association of - -
Official Analytical. Washington, D.C. 1094 p.p.
22. Kung, L. Jr. et al. (1984)
Effects of liquid inoculs, dry inoculs, glucose, or - -
ammonia on fermentation and proteolysis of alfalfa - -
hyloge. J. Dairy Sci. 64 (Suppl. 1):114.

23. Ocean Garden Products (1988).
Panorama mundial de la pesquería del camarón.
24. Olivares, M.A. (1988).
Conservación de pescado por fermentación ácido láctica.
(Tesis de licenciatura).
25. Ortíz, Z. et al. (1984)
Dry and liquid inoculants for alfalfa, whole plant corn
and sorghum grains silages. J. of Animal Sci 59 (Suppl)
290.
26. Pulusani, B.R.; Rao, D.R. and Sunki, G.R. (1979).
Antimicrobial activity of lactic cultures: partial purifi-
cation and characterization of antimicrobial compous - -
produced by Streptococcus thermophilus. J. Food Sci. (44):
576-578.
27. SCFI y SPFI (1982)
NOM-FF-42. Para productos alimenticios no industrializa-
dos para uso humano. Crustáceos comestibles frescos refri-
gerados. Especificaciones.
28. SCFI (1977)
NOM-F-286. Preparación y dilución de muestras de alimen-
tos para análisis microbiológico.
29. SCFI (1977).
NOM-F-235. Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias.
30. SCFI (1977)
Cuenta de organismos coliformes.

31. Seal, D.R. (1986).
Bacterial inoculants as silages additives. J. Appl. - -
Bacteriol. (Suppl) 9s-26s.
32. Secretaría de Pesca (1988).
Manual de control de calidad para el camarón.
33. Sundhangul, M.; Daengsubha, W. and Suyanandana, P. (1975).
Thailans traditional fermented food products: A brief
description. Thai. J. Agr. Sci. (8):205-219.
34. Vanderzan, C.; Cobb, B.F. and Thompson, C. A. Jr. (1973).
Microbial flora, characteristics and shelf-life of four
species of pond-reared shrimp. J. Milk Food Technol.
36(No. 9):443-446.
35. Wray, C. and McLaren, I. (1987).
A note on the effect of the lactoperoxidase system on
Salmonellas in vivo and in vitro. J. Appl. Bacteriol.
(62):115-118.

ANEXOS

ANEXO 1

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

| Medio de cultivo | Tipo de microorganismo |
|---|---------------------------|
| Agar de bilis y rojo violeta (Bioxon) | Cuenta de coliformes |
| Agar eosina y azul de metileno (Bioxon) | Cuenta de enterobacterias |
| Agar dextrosa sabouraud (Bioxon) | Cuenta de hongos |
| Agar tripticaseína soya (Difco) | Cuenta total bacteriana |
| Agar Lee | Cuenta de lactobacterias |

Para preparar un litro de cada uno de los medios anteriormente mencionados se pesan las siguientes cantidades:

| | |
|--------------------------------|--------|
| - Agar de bilis y rojo violeta | 41.5 g |
| - Agar eosina azul de metileno | 36.0 g |
| - Agar dextrosa sabouraud | 65.0 g |
| - Agar tripticaseína soya | 21.0 g |
| - Agar Lee | 50.0 g |

Aforar a un litro con agua destilada, se agita para homogenizar la mezcla y se calienta hasta ebullición para lograr una completa disolución. Se esteriliza a 121°C, 15 lb de presión por 15 minutos, se enfrían a 45-43°C antes de usarlos.

ANEXO 2

EVALUACION SENSORIAL (27, 32)

- Características organolépticas:

Son aquellas que pueden ser apreciadas por los sentidos y que nos pueden indicar el estado de conservación del producto examinado.

Dichas características para fines de esta forma son:

- Olor de la masa muscular
 - Aspecto general
 - Estado de las articulaciones
- Grado de calidad:
- México extra: Este grado lo constituyen crustáceos frescos o muy frescos, refrigerados, en los cuales la suma de los valores asignados a las características organolépticas es de 11 - 15 puntos (ver tabla).
 - México 1: Este grado lo constituyen crustáceos regulares refrigerados, en los cuales la suma de los valores asignados a las características organolépticas es de 6 - 10 puntos (ver tabla).
 - Fuera de clasificación: Este grado lo constituyen aquellos crustáceos en los cuales la suma de los valores asignados a las características organolépticas es de 0 - 5 puntos (ver tabla).

TABLA GENERAL PARA LA CALIFICACION SENSORIAL DE LOS
CRUSTACEOS COMESTIBLES FRESCOS REFRIGERADOS

| Olor de la masa muscular | Puntos |
|---|--------|
| - Marino o inodoro | 5 |
| - Marino ligero o hierba fermentada | 4 |
| - Dulzón, a pescado (TMA) o fruta podrida (ligero) | 3 |
| - Ligero amoniacal*, o fruta podrida | 2 |
| - Fuerte amoniacal, fruta podrida (fuerte), pútrido | 1 |
| Estado de las articulaciones | |
| - Manifiestan ligeros movimientos | 5 |
| - Contraídas y tensas | 4 |
| - Ligera pérdida de su tensión y contracción | 3 |
| - Caén libremente, pendulan | 2 |
| - Se desprenden | 1 |
| Aspecto general | |
| - Brillante, tonalidades propias de la especie | 5 |
| - Aparecen pequeñas manchas oscuras entre las articulaciones, brillante | 4 |
| - Pérdida de brillantez, las manchas aumentan de tamaño | 3 |
| - Opacos y parduzcos | 2 |
| - Tonalidades ocres y oscuras del caparazón | 1 |

* La aparición de olores amoniacales coloca al producto dentro del grado de calidad "Fuera de clasificación", independientemente de obtener alta calificación.

ANEXO 3

GRADO DE CALIDAD DEL PRODUCTO

La determinación del grado de calidad del producto se basa en un sistema de deducción de puntos a partir de la base -- 100, sumando el total de las deducciones aplicadas y restándolo de la base para obtener la calificación final del producto.

CALIFICACION DEL PRODUCTO

| ESTADO FISICO DEL CAMARON | FACTOR | DESCRIPCION Y VARIACION DE CALIDAD | DEDUCCION | |
|---|--|------------------------------------|-----------------------------------|---|
| Congelado | Deshidratacion | Deshidratación hasta 5% | 0 | |
| | | del 5.1 - 15% | 3 | |
| | | del 15.1 - 20% | 6 | |
| | | cada 5% <u>adicio</u> nal o menos | 5 | |
| Descongelado | Manchas negras Unicamente sobre la cáscara o membrana --- suelta | Hasta 5% | 0 | |
| | | cada 5% <u>adicio</u> nal o menos | 1 | |
| | Manchas negras sobre la carne | Ausencia | 0 | |
| | | hasta 3% | 1 | |
| | | de 3.1 a 5% | 2 | |
| | | cada 5% <u>adicio</u> nal o menos | 2 | |
| | Roto, dañado y trozos | Hasta 1% | del 1.1. a 3% | 0 |
| | | | cada 3% <u>adicio</u> nal o menos | 2 |
| | | | 2 | |
| Cabezas y <u>camarones inaceptables</u> | Hasta 1% | Cada 1% <u>adicio</u> nal o menos | 2 | |
| | | | 3 | |

| ESTADO FISICO DEL CAMARON | FACTOR | DESCRIPCION Y VARIACION DE CALIDAD | DEDUCCION |
|------------------------------|--|---|-----------|
| | Material extra ño no nocivo | 1 pieza | 1 |
| | | 2 piezas | 2 |
| | | más de 2 piezas | 4 |
| | | arena | 21 |
| | Uniformidad de tallas | Ligeramente más grande o chico. C/3% o fracción. | 1 |
| | | Muy grande o chi co. C/3% o frac. | 2 |
| | Olor | Característico ligeramente dife rente al caracte rístico | 0 |
| | | moderadamente di ferente al caracte rístico | 6 |
| | | marcadamente di ferente al caracte rístico | 12 |
| | | terístico | 21 |
| | Pelado inadecua do (en rela ción a la forma de presentación) | Hasta 5% | 0 |
| | | del 5.1 a 10% | 2 |
| | | C/5% adicional o menos | 2 |
| | Patatas, cáscara | Hasta 3% | 0 |
| | Cáscara suelta y telsons | C/3% adicional o menos | 2 |
| | Desvenado inadecua do (en rela ción a la forma de presentación) | Hasta 5% | 0 |
| | | del 5.1 a 10% | 2 |
| | | C/5% adicional o menos | 2 |
| Cocido | Consistencia | Firme elástica | 0 |
| | | duro, seco o blando: | |
| ligero | | 2 | |
| moderado | | 4 | |
| | excesivo | 21 | |
| | Olor | Característico o cambios: | |
| | | ligeros | 0 |
| | | Desagradable | 21 |

ANEXO 4

PRUEBA ESTADISTICA (ANOVA DE 2 FACTORES)

TABLA ANOVA

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fc | F tablas |
|---------------------|----------|------|---------|---------|----------|
| Factor A | 1.45 | 1 | 1.45 | 0.60766 | 4.03 |
| Factor B | 180.48 | 12 | 15.04 | 6.30298 | 1.95 |
| Interacción (AxB) | 0.6532 | 12 | 0.05435 | 0.2278 | 1.95 |
| Error | 1.153 | 52 | 0.02217 | | |
| Total | 183.7353 | 77 | 2.38617 | | |

Factor A: Inóculos

Factor B: pH y acidez

Regla de desición:

Ho: A = B

Ha: A \neq B

Se rechaza la Ho si la F de tablas es menor que la F calculada.