

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

ESTUDIO SOBRE EL GRADO DE CONSERVACION
DE LOS PESCADOS

Tesis presentada para optar al grado de
Dr. en Bioquímica y Farmacia

por

JOSE ARMANDO I. PALADINO

1943

Trabajo realizado en el Instituto de
Investigaciones de esta Facultad

Padrino de Tesis

Profesor Dr. Carlos A. Sagastume

A la memoria de mi tía Elvira

A mis padres

A mis hermanos

Señor Decano

Señores Consejeros

Señores profesores

Dando cumplimiento a las disposiciones reglamentarias, presento a vuestra consideración el siguiente trabajo de Tesis de Doctorado en Bioquímica y Farmacia, titulado "ESTUDIO SOBRE EL GRADO DE CONSERVACION DE LOS PESCADOS".-

Quiero dejar constancia de mi sincero agradecimiento al Padrino de Tesis, Profesor Dr. Carlos A. Sagastume, por los amables consejos y sugerencias, que constituyeron el mejor estímulo para la realización del presente trabajo.-

Igualmente agradezco a los Doctores Carmen Inda, Raúl Nico y Jorge Gazcón, la ayuda que me prestaron en todo momento.-

Julio de 1943

S U M A R I O

- I Pescados: Composición química.-
- II El pescado en la alimentación.-
- III Caracteres de los pescados frescos.-
- IV Cambios que experimentan los peces después de su muerte.-
- V Métodos utilizados para reconocer el grado de conservación.-
- VI Parte experimental.-
- VII Estudio crítico de los resultados.-
- VIII Conclusiones.-
- IX Bibliografía.-

*

INTRODUCCION

Por sugestión de la División de Piscicultura del Ministerio de Agricultura de la Nación, hemos realizado el presente trabajo que constituye uno de la serie que se viene desarrollando, como consecuencia de los convenios de colaboración establecidos entre los distintos Ministerios de la Nación y nuestra Facultad, por iniciativa del Decano, Profesor Dr. Carlos A. Sagastume.-

El presente trabajo constituye, en esencia, un estudio crítico de los métodos más ventajosos para diagnosticar el estado de conservación de los pescados.-

Durante mucho tiempo el citado diagnóstico se practicaba exclusivamente por la observación de los caracteres organolépticos, pero su insuficiencia para comprobar la comestibilidad de los pescados exige el empleo de otras pruebas y es últimamente, en épocas más recientes, que aparece la tendencia a la observación científica del problema.-

El pescado fresco y sano, constituye un excelente alimento, en cambio el pescado descompuesto es un verdadero peligro para el consumidor y puede ser origen de disturbios fisiológicos más o menos graves y desgraciadamente irreparables en muchas oportunidades.-

La vigilancia sanitaria de los productos de pesca debe evitar estos inconvenientes y si el consumo del pescado no ha llegado a la difusión que merece debe atribuirse en parte, a la desconfianza del público, que temiendo no encontrar en el mercado, pescado en buen estado, prefiere alimentarse con otros productos.-

CAPITULO I

PESCADOS: COMPOSICION QUIMICA

El pescado contiene en general los mismos principios inmediatos y sales que los vertebrados superiores, pero se diferencia de ellos en que contiene más colágeno y menos extractivos.-

La composición química varía con las especies y según los mares, ríos o lagunas de donde provienen.-

Entre nosotros, recién en los últimos años se han realizado estudios relacionados con la composición química de nuestras especies.-

Lavenir en 1928, citado por Lahille¹, fué el primero en efectuar tales estudios, luego Escudero y colaboradores² en 1937, Callegaro³ en 1942 y últimamente Cabral y Kopatschek⁴, llevaron a cabo la determinación de los principales componentes químicos, de las especies de pescados comestibles procedentes de aguas argentinas.-

Transcribimos a continuación los valores promedios de los análisis practicados por diversos autores:

NOMBRE	AGUA %	PROTIDOS %	GRASAS %	CENIZAS %	ANALISTA
ANCHOA (pomatomus saltatrix)	76.39	21.53	0.39	1.20	Escudero y colab.
	70.12	19.94	8.14	1.50	Cabral-Kopatschek*
BESUGO (Sparus pagrus)	77.42	19.7	1.23	1.53	Lavenir
	78.13	19.63	0.29	1.24	Escudero y colab.
	75.30	20.50	1.98	1.72	Cabral-Kopatschek
CAGAVINO (Stromateus maculatus)	73.33	14.94	0.08	1.27	Lavenir
	71.56	13.69	12.96	1.40	Cabral-Kopatschek

* Estos autores han realizado el estudio de 56 especies de las cuales transcribimos los valores promedios de algunas de ellas.-

NOMBRE	AGUA %	PROTIDOS %	GRASAS %	CENIZAS %	ANALISTA
BROTOLA	84.02	14.65	1.02	1.09	Lavenir
(Urophycis brasiliensis)	80.27	17.82	0.56	1.16	Escudero y colab.
	79.35	17.36	1.26	1.45	Cabral-Kopatschek
CORVINA	79.16	18.19	1.19	1	Lavenir
(Micropogon opercularis)	77.29	20.49	0.54	1.15	Escudero y colab.
	79.62	16.17	0.92	1.46	Callegaro
	79.07	17.04	2.26	1.36	Cabral-Kopatschek
LISA	72.28	17.89	7.80	0.96	Escudero
(Mugil bra- siliensis)	73.53	21.01	3.70	1.30	Cabral-Kopatschek
MERLUZA	80.59	17.39	0.79	1.20	Lavenir
(Merluccius hubbsi)	79.86	18.15	0.46	1.15	Escudero y colab.
	80.75	14.99	0.99	1.33	Callegaro
	79.88	16.77	1.60	1.25	Cabral-Kopatschek
PESCADILLA	81.38	16.62	0.25	1.10	Escudero
(Cynoscion striatus)	80.	16.07	0.88	1.37	Callegaro
	77.05	18.60	2.83	1.27	Cabral-Kopatschek
PESCADILLA REAL	77.26	15.74	5.06	1.23	Cabral-Kopatschek
(Macrodon ancylodon)					
SARGO	77.25	16.70	3.45	1.53	Lavenir
(Diplodus argenteus)	74.92	19.44	3.42	1.43	Cabral-Kopatschek

Se debe tener en cuenta que la composición, es variable no sólo con la especie sino también con el período del año, dentro de la misma especie; así durante la época del desove, se originan notables cambios en la composición de la carne de pescado, perdiendo ésta la mayor parte de su grasa y tornándose más acuosa.-

Clark y Almy⁵ estudiaron la variación en la composición química de diversos pescados, durante diferentes estaciones y observaron que cuando aumenta el contenido en grasa, el contenido en agua disminuye, permaneciendo las proteínas prácticamente iguales.-

En consecuencia, la pérdida o ganancia de grasa está compensada por una correspondiente ganancia o pérdida de agua más que de proteínas.-

* * * * *

* * * * *

*

CAPITULO II

EL PESCADO EN LA ALIMENTACION

La carne de pescado se consume en todos los países de la tierra y existen algunos pueblos, tales como los groenlandeses y esquimales, que se alimentan casi exclusivamente de ellos.-

En nuestro país, a pesar de la gran extensión de costas bañadas por el Atlántico y el río de la Plata, y la gran riqueza de especies de peces, su consumo puede considerarse escaso y su industrialización en estado incipiente.-

Nuestra fauna marina y fluvial es abundantísima en especies de consumo; las que sobreabundan en los mercados de las grandes ciudades del país son: el pejerrey, la pescadilla, la merluza y la corvina.-

El pescado constituye un alimento sano, digestivo, apetitoso y nutritivo, que día a día adquiere una mayor importancia. De acuerdo con Filton, citado por Echeverría⁶, considerado como plástico, azoado y mineral, posee cualitativa y cuantitativamente, los caracteres químicos exigibles a los artículos de gran consumo.-

Charpenak, Balachowa y Gourieva⁷, que compararon el tenor en aminoácidos de las proteínas de pescado y de buey, señalan que las proteínas de los primeros poseen como mínimo el mismo valor nutritivo que las de buey, y encierran sobre todo más cistina y metionina que las proteínas de este último.-

El valor nutritivo del pescado depende de la especie, de la alimentación, del origen y de otras circunstancias. Se sabe que es inmediatamente antes del desove, que los pescados adquieren su máximo tenor en grasa y fósforo, y poseen su más alta calidad, el mejor sabor y la mayor delicadeza de las carnes. En general, los más apreciados son los que contienen mayor cantidad de grasa.-

En definitiva podemos decir, que el valor nutritivo del pescado es elevado y se aproxima al de las demás carnes de carnicería.-

* * * * *

* * * * *

*

CAPITULO III

CARACTERES DE LOS PESCADOS FRESCOS

Condición primera y esencial para que el pescado constituya un alimento sano, es su absoluta frescura.-

Su carne se conserva muy poco tiempo y entra en putrefacción muy rápidamente. Por esta razón, debe consumirse inmediatamente después de la muerte o de lo contrario preservarlo de la descomposición acondicionándolo entre hielo.-

La especie juega un papel muy importante, se citan como muy resistentes a la putrefacción, la corvina blanca y la merluza, y como de muy fácil y rápida putrefacción, el sábalo, pescadilla, brótola, sardina, anchoíta.-

La temperatura y el estado atmosférico, así como también ciertos procedimientos empleados para su conservación y transporte, son igualmente capaces de concurrir y contribuir a su rápida descomposición.-

El conocimiento de los caracteres organolépticos del pescado fresco es indispensable y esencial en la inspección sanitaria.-

Aspecto general:

El pescado fresco tiene un aspecto brillante, conserva su coloración normal, sus tintes fuertes y vivos y los reflejos metálicos o irisados.-

Estos caracteres, particularmente delicados, son los primeros en alterarse cuando el pescado comienza a perder su frescura. Las escamas, adherentes, se desprenden con dificultad.-

Consistencia:

Tiene carnes firmes, consistentes y elásticas, opone resistencia a la presión, desapareciendo de ella rápidamente, la señal que se hace al comprimirla con el dedo.-

Colocado el pescado sobre la palma de la mano, apenas ha de arquearse ligeramente. Recién capturado, se presenta flexible, pero esta flexibilidad desaparece en breve tiempo, para dar lugar a la rigidez cadavérica, que se inicia después de algunos minutos o después de algunas horas, según la calidad y el tamaño del pescado.-

Cuando los pescados son sacrificados, la rigidez cadavérica se establece casi instantáneamente y dura más tiempo. Schlic⁸, sostiene que la duración prolongada de la rigidez es el signo de una conservación más larga de su estado de frescura y en todas las circunstancias para asegurarse de la buena calidad del pescado habrá que tener muy en cuenta la rigidez cadavérica.-

Aspecto ventral:

La porción ventral en los no eviscerados no ha de estar abultada. La abertura anal bien cerrada.-

Aletas:

Húmedas, intactas, bien adheridas y resistentes a la tracción. La aleta caudal extendida y rígida.-

Ojos:

Claros y transparentes, brillantes, vivaces y llenando completamente la órbita. La córnea debe ser convexa y el iris amarillo oro, por excepción rojo. Los ojos pueden ser dañados más o menos por traumatismos, saltados y hundidos y hasta empañados. Generalmente el hielo determina opacidad.-

Branquias:

De color rojo más o menos intenso, pero siempre brillantes, sin mucosidades, ligeramente humedecidas, olor fresco.-

Todos estos signos tienen un valor relativo, puesto que la forma de pesca y luego su transporte, los destruye y modifica.-

Olor:

Inmediatamente después de la captura, el pescado casi no

tiene olor, pero a las dos o tres horas toma un olor acentuado particular de cada especie, el que en muchos casos hace recordar el de las plantas marinas, o el mar, pero en todos los casos, si el pescado no está alterado nunca es desagradable.-

Algunos autores consideran este caracter como el principal para determinar la putrefacción del pescado, así Reay⁹, sostiene que el olfato permite obtener resultados prácticamente tan buenos como la numeración de gérmenes y la valoración de las bases volátiles.-

Sin embargo el olor no es siempre característico.-

Cavidad abdominal y vísceras:

Al abrir la cavidad abdominal, el intestino y las demás vísceras se presentan nítidas y brillantes, las costillas adherentes y formando cuerpo con la pared.-

Músculos:

Aparecen firmes, de color homogéneo, blanco o ligeramente rosado; a veces la coloración es rojiza como en el salmón o amarillenta como en el atún.-

Pièttre¹⁰ afirma que los caracteres señalados anteriormente, no tienen todos el mismo valor; hay algunos tan importantes por sí solos, que bastan para dar la certidumbre del estado sanitario del pescado y agrega: "todo pescado que no emane olor sospechoso, y presente uno de los caracteres siguientes: ojos brillantes y salientes, branquias frescas y rosadas, carnes firmes y cuerpo rígido, es un pescado fresco".-

Se han propuesto numerosas soluciones para prolongar su conservación, manteniéndolo en su estado natural, con el objeto de detener la alteración hasta el momento del consumo.-

De acuerdo con Monvoisin¹¹, no hay más que un sólo medio práctico y perfecto de conservar el pescado: es la aplicación lo más rápida posible del frío a fin de inmovilizar los agentes productores de la alteración.-

El enrobado con hielo natural o artificial es el procedimiento más conocido y comúnmente empleado, es simple y mantiene el pescado a una temperatura vecina a 0°C. que es suficiente para retardar la pululación bacterica; aunque las investigaciones efectuadas por Lumley, Pique y Ready, citados por Steward¹², demuestran que el período durante el cual pueden ser conservados frescos es muy limitado, ya que no puede ser prolongado más de 12 días después de la captura.-

Clark y Almy¹³ analizaron el pescado eviscerado y helado, almacenado durante largo y corto período de tiempo, observando cambios pequeñísimos después de 27 meses de conservación.-

La evisceración y la extirpación de las branquias, retardan la putrefacción, pues eliminan una de las causas de infección bacteriana de las carnes; además reduce de acuerdo con Eakins¹⁴ el peso de un pescado de 15 a 20%, lo que representa una importante ventaja. La decapitación evita gastos de transporte inútiles. Ambas prácticas son recomendadas por numerosos autores. Esta operación deberá hacerse prolijamente y podría cambiar las costumbres de los compradores que gustan adquirir el pescado entero con ojos y branquias.-

En muchos casos estas prácticas son sospechosas, puesto que pueden tener por objeto hacer desaparecer los signos más evidentes de la alteración.-

Stansby y Lemon¹⁵ han comprobado que la caballa eviscerada puede conservarse en hielo triturado durante 7-10 días, mientras que la no eviscerada se conserva sólo 4 días en buenas condiciones.-

En cambio los filets, de acuerdo con Fiedler¹⁶ y Fitzgerald y Conway¹⁷, son más fácilmente infectados que el pescado entero o el eviscerado, estando expuestos no sólo a la invasión de bacterias, sino también a alteraciones de otro tipo provocadas por las enzimas e independiente de las bacterias.-

Después de la evisceración se hace indispensable un enjuagado completo de la cavidad visceral, para tratar de eliminar lo mejor posible las bacterias externas aportadas, que encuentran allí un medio propicio para su desarrollo e invaden rápidamente los tejidos vecinos.-

Como el hielo, sólo detiene la proliferación sin destruir las bacterias, Salmón y Le Gall¹⁸ aconsejan efectuar el lavado mecánico del pescado previamente eviscerado, con agua de mar ozonizada, seguido de un enrobado del pescado en hielo estéril.-

Las determinaciones bacteriológicas efectuadas por estos autores demuestran que el número de gérmenes, en la carne y piel de los pescados lavados, es inferior que en los que no han sido sometidos a este tratamiento.-

* * * * *

* * * * *

*

CAPITULO IV

CAMBIOS QUE EXPERIMENTAN LOS PECES DESPUES DE SU MUERTE

Los pescados tanto frescos como conservados sufren alteraciones que perjudican su calidad, llegando en muchas ocasiones a hacer peligroso su consumo. Estas alteraciones pueden ser debidas:

1º) A procesos posteriores a la muerte.-

2º) A procesos patológicos (pescados enfermos).-

Las que nos interesan son las alteraciones posteriores a la muerte y dentro de ellas la putrefacción es la más común. Desarrolla rá- pidamente determinando modificaciones profundas en las cualidades a- limenticias.-

Los fenómenos de alteración y descomposición de la carne de pescado se deben sea a fenómenos autolíticos provocados por las enzimas celulares, sea a reacciones producidas por las bacterias presentes en la carne del pescado.-

Estos hechos han sido muy discutidos; Schoenberg¹⁹ no ha podido comprobar en sus investigaciones una verdadera descomposición autolí- tica en los músculos de pescado y sostiene que la descomposición más importante deriva de la actividad microbiana. En cambio Riddel, Brock- lesby y Pugsley²⁰ observan que la desnaturalización de las proteínas está íntimamente ligada a la autólisis y el efecto de la actividad bacteriana vendría simplemente a superponerse a estos procesos funda- mentales.-

De acuerdo con Fiedler²¹ la descomposición del pescado puede cla- sificarse en tres tipos generales que son:

1º) Descomposición enzimática, por acción de las diastasas siem- pre presentes en el organismo viviente, y que realizan la demolición

de los componentes más complejos en sustancias más simples.-

2º) La alteración u oxidación del aceite.-

3º) La descomposición bacteriana.-

Es sabido que una de las indicaciones de la acción de las enzimas en el pescado, inmediatamente después de la muerte, es un aumento en la formación del ácido láctico, por disociación del glucógeno. El ácido láctico alcanza un contenido máximo en el músculo durante la rigidez cadavérica, en un período que varía de 24 a 36 horas y luego disminuye gradualmente hasta desaparecer por completo.-

Se produce además, de acuerdo con Hjorth-Hansen²², la escisión de las fosfocreatinas en creatinina y fosfatos minerales y la separación del calcio y magnesio de sus compuestos orgánicos insolubles.-

Sobreviene luego la hidrólisis de las proteínas y la oxidación de los aminoácidos cuando la descomposición se encuentra más avanzada.-

La formación de trimetilamina se produciría sobre todo durante los primeros estados de descomposición, según la opinión de la mayoría de los autores, y a partir del óxido de trimetilamina, descubierto en los pescados por Poller y Lineweh²³ en 1926. De acuerdo con Watson²⁴ ciertos anaerobios facultativos del grupo de los achromobacter, serían los encargados de reducir el óxido de trimetilamina a trimetilamina.-

Linzell, Pfeiffer y Zippel²⁵ no han hallado nunca trimetilamina en los músculos de pescado fresco.-

La rápida escisión del aceite ha sido comprobada por Brocklesby²⁶ en el salmón, que en breve tiempo presenta valores ácidos elevados.-

El conocimiento de los procesos de descomposición de los pescados permite obtener nociones más exactas sobre su frescura.-

Es difícil dar una definición certera de la fermentación pútrida,

que es un fenómeno complejo y variadamente influenciado. Consiste en una sucesión de transformaciones variables con la temperatura, humedad, presión, naturaleza de las sustancias y de los medios que operan estas transformaciones. En este proceso entran en juego, por una parte las proteínas, hidratos de carbono y grasas y por otra parte actúan los microorganismos, que atacan estas sustancias y las descomponen progresivamente en moléculas cada vez más simples. Como productos finales de estas transformaciones se obtienen de acuerdo con Gotschlich, citado por Edelman²⁷, los siguientes:

1º) Gases: CO_2 ; CH_4 ; N_2 ; H_2 ; NH_3 ; H_2S .-

2º) Ácidos grasos: fórmico, acético, butírico, valeriánico, palmítico.-

3º) Ácidos grasos oxi y polibásicos: láctico, succínico, oxálico,-

4º) Otras sustancias: aminas, amidas, aminoácidos, ácidos aromáticos, indol, escatol, peptonas, ptomaínas y toxinas.-

La putrefacción del pescado comienza a menudo superficialmente y se dirige hacia el interior: es centrípeta, porque los músculos son atacados desde el exterior más que por vía intestinal.-

Distintos investigadores como Hunter²⁸⁻²⁹⁻³⁰, en 1920-22, Fellers³¹ en 1926 y Wood y Ferguson³² más recientemente en 1940, se han ocupado de la bacteriología de los pescados desde el momento de su captura. Sostienen que la carne de los pescados recién capturados es estéril, pero existen muchos microorganismos en la boca, agallas y materia viscosa del pescado vivo, que son las más importantes fuentes de infección.-

Estas bacterias que son las formas naturales que habitan en el agua y pasan de las agallas a los tejidos vecinos, provocan la des-

composición.-

Por su parte Wundram y Schoenberg³³ sostienen que el proceso de la putrefacción comienza en las agallas y principalmente en el intestino y en los pescados de agua dulce a menudo en los riñones.-

El desarrollo microbiano es favorecido de acuerdo con Schoenberg³⁴, por la reacción alcalina que presentan las carnes de pescado, al cabo de poco tiempo después de la muerte.-

Los gérmenes causantes de la putrefacción en los pescados, son generalmente anaerobios, se encuentran también gérmenes aerobios: estafilococos, colibacilos, proteus, achrobacter, bacilos cromógenos y fluorescentes, etc. Estos gérmenes de acuerdo con Bedford³⁵, pueden desarrollarse en un gran intervalo de temperatura; en ciertos casos desde -5°C a poco menos de 37°C., su actividad máxima se obtiene entre 20° y 27°C.-

La investigación y apreciación de las alteraciones putrefactivas en los pescados, resultan un tanto delicadas por diversas razones, entre las que se citan: la extrema variedad de las especies, las diferencias de colores, de firmeza, textura del revestimiento cutáneo y de la carne, olores particulares de cada tipo y sobre todo los procedimientos de pesca, embalaje, elementos de transporte y por último, condiciones de conservación.-

Los caracteres para diagnosticar la putrefacción varían en las diferentes fases del proceso y se caracterizan por cambios en la consistencia, en la coloración y principalmente en el olor de los pescados.-

Aspecto general:

Toma un aspecto empañado, su superficie se cubre de una capa grasosa y pegajosa que está unida al desenvolvimiento de numerosas colonias microbianas que desarrollan en la superficie, sobre todo el cuerpo y particularmente sobre la cabeza y a nivel de las

branquias.-

Consistencia:

La rigidez cadavérica comienza por desaparecer; tomado en la mano, el pescado alterado es flexible. Sostenido por la mitad se dobla, encorva. La carne es blanda, sin elasticidad. Los dedos dejan su impresión tan pronto como se lo comprime.-

Aspecto de la región ventral:

Generalmente el ano se presenta dilatado; las paredes abdominales poco resistentes, blandas, frágiles. A veces se observa el vientre inflado a causa de los gases que se producen.-

Coloración:

El pescado en vías de putrefacción empieza por perder su brillo, los reflejos metálicos; su coloración se atenúa para esfumarse progresivamente.-

Ojos:

La córnea se presenta opaca, llegando en ocasiones a un completo enturbiamiento. Poco a poco, los ojos se hunden en las órbitas y no las llenan por completo; todo el globo ocular tiene una sola coloración.-

Piel:

Empañada, escamas blandas sin adherencia. Separación fácil de las espinas con la carne, sin separar importantes fragmentos.-

Olor:

Para Piettre (loc.cit.), constituye el elemento más característico del diagnóstico. Varía según las especies, naturaleza y grado de descomposición. Al principio es ácido, después amoniacal y por último pútrido y repugnante.-

Estas modificaciones del olor, según Fiebirger³⁶ se exageran notablemente en la prueba de la cocción.-

Para muchos autores, el fuerte olor a podrido que se nota en los pescados, es debido al aumento en la concentración de trimetilamina.-

Excepto el olor, ninguno de los caracteres tiene valor absoluto, ya que pueden tener su origen en causas diversas.-

* * * * *

* * * * *

*

CAPITULO V
METODOS UTILIZADOS PARA RECONOCER
EL
GRADO DE CONSERVACION

De una manera general, es muy difícil determinar la alteración incipiente en los pescados.-

Todos los caracteres y observaciones anotadas, no pueden en muchos casos advertirnos de la alteración cuando recién se inicia, ya que no son inmutables; para un pescado fresco o alterado pueden sufrir fluctuaciones que dependen de diversas causas. Ciertos caracteres son susceptibles de modificarse antes que haya una verdadera alteración de la carne.-

La evaluación del estado de frescura del pescado sobre la base de un examen organoléptico, está sometida al factor personal y no presenta las garantías de objetividad deseables; esta insuficiencia exige el empleo de otras pruebas de carácter científico.-

Los métodos utilizados para estimar el grado de conservación de los pescados, pueden dividirse en: biológicos, físicos, físico-químicos y químicos.-

METODOS BIOLOGICOS

Como sabemos, las acciones bacterianas juegan un papel importante en la descomposición de la carne de pescado; se puede entonces mediante el recuento bacteriano, expresar el estado de alteración. Hay dos formas clásicas de proceder a la numeración microbiana: por cultivo y por el examen microscópico.-

Numeración bacteriana por cultivo:

Si bien la esterilidad del

músculo se ha discutido mucho, sólo se encuentran casi siempre, un nú-

mero nulo o muy reducido de microorganismos en los tejidos inmediatamente después de sacrificado el animal. Hintersatz³⁷, afirma que la carne de peces está exenta de gérmenes; después de la muerte los microbios encuentran múltiples vías para insinuarse profundamente y propagarse en la masa muscular.-

La numeración de bacterias se efectúa en las partes musculares y se practica por las técnicas corrientes, empleando placas de agar nutritivo común o según Penso³⁸, medios especiales de Plehn o de Pergola.-

En la preparación de la emulsión se puede seguir el método de Weinzirl y Newton³⁹ ó el que describimos en la parte experimental.-

El examen de los resultados de las investigaciones efectuadas por Hunter (loc.cit.29 y 30) y Fellers (loc.cit.) en el salmón, muestran que en general, el número de gérmenes aumenta en forma más o menos regular durante los días subsiguientes a la captura, en cuyo momento la carne es estéril. Para Fellers existe una excelente relación entre el número de bacterias y el estado de conservación del animal.-

De acuerdo con Griffiths⁴⁰, el aumento del número de bacterias en la carne, es aproximadamente paralelo a la disminución de su calidad; 1.000.000 de bacterias por gramo, indicaría para este autor la alteración del pescado; en cambio Hjorth-Hansen (loc.cit.) indica que un pescado magro conteniendo más de 25.000 bacterias por gramo, debe ser rechazado como nocivo en la alimentación del hombre.-

Como vemos, existe una gran discrepancia entre los distintos autores respecto de la fijación del número de bacterias para considerar al pescado en mal estado.-

Numeración al microscopio:

Se trabaja sobre el jugo exprimido de un trozo de carne separado asépticamente y adicionado o no de agua estéril; se hace un extendido sobre una superficie conocida de un porta-

objeto, se fija, desengrasa y colorea con azul de metileno o tionina, o por el método de Gram. El uso de cámaras especiales facilita el recuento. Este método tiene la ventaja sobre el anterior de dar un resultado rápido.-

Otros métodos biológicos:

En 1916 Tillmans y Mildner⁴¹, luego Strohecker⁴² en 1920 y más tarde Tillmans, Strohecker y Schütze⁴³ encuentran tres pruebas de valor para mostrar los primeros estados de descomposición; son: el consumo de oxígeno, la prueba de la reducción del nitrato y la reducción del azul de metileno. Están basadas en el número y actividad de los microorganismos aerobios comúnmente presentes en las carnes y en gran parte responsables de la putrefacción.-

Consumo de oxígeno: Se valora el oxígeno remanente, por el método de Winkler, en un extracto acuoso de carne, después de varios períodos de incubación a 37°C.-

Reducción del nitrato: La carne se incuba a 37°C con una solución de nitrato de potasio valorada, el ácido nítrico remanente es titulado después de filtrar la suspensión, por el método colorimétrico de la difenilamina.-

Reducción del azul de metileno: La carne es incubada a 45°C con un ml de solución de azul de metileno en un frasco tapado lleno con agua a 40°C.-

Tillmans y Otto⁴⁴ aplicaron estas reacciones a la carne de pescado y luego Arbenz⁴⁵ ha utilizado la reacción del consumo de oxígeno y la reducción del azul de metileno, con resultados satisfactorios en algunas especies de pescados.-

METODOS FISICOS

Tauti, Hirose y Wada, citados por Boury y Schwinte⁴⁶, basándose en la consistencia y elasticidad de la carne de pescado, han buscado dar

medidas precisas mediante la ayuda de pequeños dinamómetros especialmente adaptados.-

Diferentes autores señalaron el siguiente hecho: que el pescado comienza a presentar una fluorescencia marcada con luz ultravioleta filtrada, cuando comienza a alterarse. Los fenómenos de luminiscencia, serían imputables a la acción de ciertas especies de bacterias que se propagan sobre el pescado y se extienden en colonias; así Schoenberg y Deblic⁴⁷, han aislado nueve colonias de bacterias fluorescentes que juegan un importante papel en la putrefacción.-

Van de Velde⁴⁸ hace actuar rayos ultravioletas sobre una dispersión acetónica, obtenida tratando los pescados por la acetona y filtrando. Si el pescado es fresco, la coloración obtenida es azul y pasa al verde a medida que la alteración progresa.-

MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS

En los últimos años, ha habido una tendencia a la aplicación de los métodos físico-químicos, para dictaminar sobre el estado de comestibilidad de las carnes en general. Así se ha utilizado el pH, el potencial de óxido reducción, la conductibilidad eléctrica, viscosidad, tensión superficial y presión osmótica.-

Benson⁴⁹ en 1928, determinó electrométricamente el pH de los músculos de pescado, comprobando una reacción alcalina en los músculos de merluzas en reposo, que gradualmente pasa a la acidez.-

En 1931, Hintersatz (loc.cit.) aplicó la determinación colorimétrica de la concentración de los iones hidrógeno, a los extractos acuosos de carne de pescado, para determinar el principio de la descomposición; demuestra que las carnes de pescado inmediatamente después de la muerte presentan reacción débilmente ácida o neutra, que pasa a la acidez durante la rigidez cadavérica, para descender luego rápidamente hasta alcanzar la reacción alcalina.-

Poluektoff⁵⁰, trabajando sobre extractos acuosos de músculos de pescado, ha tratado de establecer cifras de pH y sostiene que los músculos de pescado fresco se caracterizan por pH 6.6 a 6.8, el principio de la alteración se señala con 6.9 y la alteración con 6.9 a 7.2 y más.-

En 1942 Charnley y Goard⁵¹, determinaron el pH utilizando un aparato con electrodo de vidrio.-

Riddel, Brocklesby y Pugsley, (loc.cit.) comprobaron un aumento en la conductibilidad y modificaciones en el potencial de óxido reducción, a medida que progresa la alteración en los músculos de pescado.-

Vasslow⁵² ha aplicado la viscosidad para determinar el grado de frescura de la carne, empleando para ello el viscosímetro de Oswald. La técnica la describimos en la parte experimental.-

Stansby y Lemon⁵³, verificaron que la capacidad reguladora de una suspensión acuosa de carne de pescado, decrece cuando se producen los primeros cambios en la carne y han ideado un método electrométrico, para determinar la relativa frescura del pescado. Consiste la prueba en titular electrométricamente, primero la suspensión de pescado a pH 6 y luego a pH 4.3, anotando el descenso en la capacidad amortiguadora. La técnica es la siguiente: 5 g de músculo de pescado son suspendidos en agua; se mide el número de ml de HCl 0.0165 n requeridos para llevar el pH de la suspensión a 5.97 y se toman como medida de los cambios secundarios en los tejidos de pescado, mientras que el número adicional de ml de ácido, para llevar el pH a 4.28 se toma como medida de los cambios primarios que se producen en la muestra. Los resultados se comparan con valores tipos llevados sobre un diagrama hecho para el caso.-

MÉTODOS QUÍMICOS

La obtención de un método satisfactorio para descubrir los primeros estados de descomposición de los pescados, ha recibido la atención de los químicos, quienes durante muchos años se han preocupado en descubrir un método práctico y eficaz. El valor de un método tal, depende de varias condiciones:

1º) Que los productos de descomposición sean determinados por la prueba, antes que la putrefacción pueda ser reconocida por el examen organoléptico:-

2º) Que pueda ser aplicado indistintamente a todas las especies o por lo menos a un gran número de ellas.-

3º) Que sea práctico y de rápida ejecución.-

Se ha tratado así de poner en evidencia o evaluar sustancias definidas, cuya sola presencia fuera un índice certero de alteración o cuya proporción permita valorar el estado de descomposición.-

Acido láctico:

Es un compuesto definitivo y sus cantidades pueden ser determinadas exactamente. De acuerdo con Fiedler⁵⁴⁻⁵⁵ se ha establecido que hay una relación entre el contenido de ácido láctico y la relativa frescura del pescado. Luego las cantidades presentes en los diferentes estados, pueden ser usadas como índice del progreso o estado de descomposición.-

Determinación de las principales formas del nitrógeno:

Sabemos que la degradación del pesado complejo molecular de los protidos, se produce por la ruptura de las ligaduras de los polipeptidos, la que prosiguiendo provoca escisiones cada vez mayores, para llegar a las últimas cadenas que en su forma más simple constituyen los aminoácidos. Estas escisiones van acompañadas de la producción de amoníaco. Luego, las principales formas del nitrógeno cuya tasa es suscep-

tible de aumentar durante la descomposición son: el nitrógeno total soluble, el nitrógeno no precipitable por los reactivos de las proteínas, el nitrógeno de los aminoácidos y el nitrógeno básico volátil.-

Casi todas las determinaciones de los aminoácidos utilizadas por los diferentes investigadores, se apoyan en los dos métodos clásicos, ya sea el de Van Slyke o el de Sorensen.-

Okuda⁵⁶ en 1912, hizo determinaciones de aminoácidos por el método de Sorensen en pescados frescos, encontrando cantidades muy débiles. Todavía hoy día, no se sabe a partir de qué proporción puede considerarse el pescado descompuesto.-

De acuerdo con Frodevaux⁵⁷, el método al formol de Sorensen da mejores resultados que el de Van Slyke, aplicado para determinar el grado de proteolisis de los productos naturales.-

Labranca y Pistelli⁵⁸, consideran sólo aplicable la determinación de los aminoácidos, por el método al formol; comprobando que existe una proporcionalidad directa entre el aumento de los aminoácidos y el progreso de la putrefacción en la carne de pescado.-

Riffar⁵⁹, utilizó el método colorimétrico basado en la reacción de la ninhydrina, para investigar la relación existente entre la descomposición de los alimentos y el aumento en el nitrógeno de los aminoácidos.-

Luttge y Mertz⁶⁰ determinan los aminoácidos en una extracción alcohólica de carne, por medio de la solución alcohólica de ninhydrina o por el isocianato de alfa naftilo.-

En 1940, Bradley y Bayley⁶¹, han aplicado la reacción de la tirosina para medir la descomposición autolítica y bacteriana en los tejidos de pescados; el filtrado de una maceración acuosa de carne de pescado, se precipita con tricloroacético. Sobre el reactivo de tirosina y solución de Na_2CO_3 se agrega el filtrado desproteínizado, se lleva a volumen y después de una hora de reposo, se compara al colo-

rímetro con una solución tipo de tirosina tratada en igual forma. Los tejidos frescos normales dan una reacción muy débil de tirosina.-

De acuerdo con la opinión de la mayoría de los investigadores, las determinaciones del nitrógeno amoniacal, conjuntamente con el de otras sustancias básicas volátiles, aportan los mejores métodos químicos para determinar la descomposición.-

Todos los métodos tratan la sustancia con un álcali débil, volatilizan el amoníaco liberado y recojen en ácido, titulando el exceso de ácido por retorno.-

Eber en 1897, citado por Issoglio⁶², ideó su simple experiencia para reconocer si la carne está alterada, técnica que describimos en la parte experimental. Está basada en la formación de cloruro de amonio, que se revela por la aparición de una nube blanca, azulada o grisacea. Numerosos son los autores que aún la siguen recomendando y muchos son también los que la han rechazado definitivamente.-

Mayor seguridad se tiene determinando el NH_3 cuantitativamente.-

Pennington y Greenlee⁶³, demuestran que el método de destilación por aereación de Folin con MgO , resulta inadecuado; pues aún después de horas de destilación, pequeñas cantidades de nitrógeno amoniacal continúan siendo arrastradas de la suspensión acuosa de carne.-

Clark y Almy⁶⁴ determinan las bases volátiles por la modificación de Steel-Gies⁶⁵ del método de aereación de Folin⁶⁶.-

Steel-Gies, sugiere el empleo de NaOH y NaCl , en lugar de Na_2CO_3 , lo que es recomendable en análisis de pescado, por estar presentes los fosfatos y Mg en gran cantidad.-

Hinard⁶⁷ señala que la determinación de la relación: nitrógeno amoniacal sobre nitrógeno total disuelto permitiría dar indicaciones útiles sobre el estado del pescado, en el momento de ponerlo en conserva.-

Para evitar el ataque de las moléculas proteicas, Frodevaux⁶⁸⁻⁶⁹

sugiere el empleo de un método basado en liberar el nitrógeno amoniacal y arrastrarlo en presencia de un álcali, pero manteniendo el medio donde se produce la reacción, en un estado de concentración constante, a fin de obtener una acción hidrolizante igualmente constante, del reactivo liberador del nitrógeno amoniacal sobre la molécula azoada. Para esto hace escurrir, gota a gota, agua destilada dentro del balón de reacción, a la misma velocidad que el líquido que se condensa. Emplea Li_2CO_3 para liberar el NH_3 , ya indicado por Leclère⁷⁰, que había comprobado también, que la acción hidrolizante de esta sal sobre las materias albuminoideas y los aminoácidos, es un poco más débil que la de los alcalino-térreos; en cambio sobre las sales de amonio, su acción es enérgica y el NH_3 es rápida y cuantitativamente liberado.-

En 1924 Tillmans y Otto, (loc.cit.) proceden a titular el NH_3 en una maceración acuosa filtrada de carne de pescado, destilando al vacío sin agregado de álcalis.-

Muchlinsky⁷¹ aplica un nuevo método para valorar el NH_3 en la carne y pescado descompuesto, basado en arrastrar a baja temperatura, 68-76°C, el nitrógeno amoniacal libre con CCl_4 , previamente librado de su acidez por mantenimiento sobre CaCO_3 . El destilado se recoge sobre HCl 0,01 n.-

Okolov⁷² determina el NH_3 y la trimetilamina separadamente, sobre el filtrado de la maceración de carne de arenques. Destila en las condiciones ordinarias en presencia de MgO y alcohol. En uno de los destilados titula el nitrógeno volátil total por retorno y luego el nitrógeno amoniacal sólo por el método al formol. Sobre otro destilado, evalúa la trimetilamina destruyendo previamente el nitrógeno amoniacal y el de las aminas primarias y secundarias, por medio del HNO_2 naciente. La trimetilamina remanente, se destila de nuevo en presencia de NaOH al 30%, recogiendo sobre ácido 0.1 n.-

Boury y Schwinte (loc.cit.) en 1935 determinaron sobre maceraciones acuosas de numerosas especies de pescados, las diferentes formas del nitrógeno: soluble, no precipitable por el tricloroacético, titulable al formol y el básico volátil amoniacal y aminado por destilación al vacío en presencia de Li_2CO_3 . Según estos autores, la alteración se caracteriza esencialmente por la producción de compuestos azoados volátiles.-

Lucke y Geidel⁷³ destilan directamente la carne de pescado disgregada con agua, en presencia de MgO . Evitan la espuma por agregado de alcohol octílico. El destilado recogido sobre H_2SO_4 0,1 n se titula por retorno.-

Beatty y Gibbons⁷⁴ determinan la trimetilamina en el músculo de bacalao por un método basado en el de Conway y Byrne⁷⁵. Fijan el NH_3 por agregado de aldehído fórmico al jugo muscular, se adiciona rápidamente solución saturada de K_2CO_3 , se tapa y se mezcla el contenido. Se incuba a 36°C , 2 horas. El exceso de ácido se valora por retorno, usando álcali de igual título y una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno como indicador. 4 a 6 mg de trimetilamina coinciden con la aparición del olor.-

Shewan⁷⁶ utiliza el método de destilación con borato, tomando las aminas secundarias y terciarias como índice de descomposición.-

De acuerdo con Tarr⁷⁷, el solo contenido de trimetilamina puede ser un criterio satisfactorio para determinar el grado de contaminación del músculo de pescados de mar.-

Eiichi Tanikawa⁷⁸, que ha realizado diversas experiencias sistemáticas sobre distintas especies de pescado, llega a la conclusión que el método de valoración de las bases volátiles es el mejor para juzgar los tejidos frescos y la carne refrigerada.-

Observa que la cantidad de bases producidas se eleva bruscamente con la rápida proliferación de las bacterias. El punto de aumento

brusco de las bases volátiles corresponde a 30 mg % que vendría a ser un índice del comienzo de la descomposición.-

Hol'mov⁷⁹, sostiene que al comienzo de la descomposición del bacalao, las bases volátiles constan de una mezcla de NH_3 y trimetilamina, esta última siempre ausente en el pescado fresco. Las determina por destilación con MgO , recogiendo sobre ácido sulfúrico 0,1 n. La trimetilamina la titula por tratamiento previo de la mezcla de NH_3 y trimetilamina con formol, usando como indicador partes iguales de azul de bromotimol y rojo de fenol.-

Glassman y Rochwarger⁸⁰ aplican el método de la permutita de Folin⁸¹, para determinar el NH_3 de una maceración filtrada de carne de pescado. El NH_3 liberado se titula luego colorimétricamente con el reactivo de Nessler.-

Firsov⁸² en 1937, utiliza el reactivo de Nessler para caracterizar los productos a base de carne y pescado. Hace actuar el reactivo sobre el extracto sulfúrico de carne o pescado y compara la coloración con una escala colorimétrica constituida por solución de bicromato.-

Acido sulfhídrico:

De acuerdo con Rettger⁸³ el H_2S es una de las primeras sustancias que se liberan de la molécula proteica durante la putrefacción. Junto a él tenemos probablemente otros cuerpos sulfhídricos.-

La investigación de estas sustancias ha sido recomendada para caracterizar la descomposición del pescado. Eber, citado por Allens⁸⁴, aplicó su investigación en 1897, para determinar las carnes enfermas. Trabajó en un medio sulfúrico utilizando tiras de papel embebidas en acetato de plomo como reactivo.-

Almy⁸⁵ en 1917, empleó un nuevo método para determinar el H_2S , basado en la reacción de Lanth de formación del azul de metileno. Por

una corriente de CO_2 separa el H_2S del material en suspensión acuosa acidificada y lo absorbe en una solución diluida de acetato de zinc. Allí se provoca la formación del azul de metileno por interacción entre el H_2S , la paraaminodimetilanilina, HCl y FeCl_3 como oxidante. Se compara la coloración producida con solución tipo.-

Scala⁸⁶ recomienda destilar una maceración de carne acidificada, recogiendo el destilado en un tubo conteniendo reactivo de Ganassini. En presencia de H_2S se obtiene coloración violeta o azul según la cantidad.-

De acuerdo con Pavlov⁸⁷, tanto la carne como el pescado, desprenden H_2S por calentamiento, obteniéndose reacción positiva aún cuando los productos crudos estén exentos de H_2S .-

En 1939, Diemar, Strohecker y Keller⁸⁸ determinan los compuestos volátiles del azufre en la carne de pescado, liberándolos por medio de una solución alcalina diluida. Luego, previa acidificación destilan y recogen sobre una solución conteniendo dimetilparafenilendiamina y FeCl_3 . La coloración del azul de metileno es luego comparada.-

Budacjan⁸⁹, para determinar el H_2S , lo libera mediante una corriente de CO_2 y lo fija sobre un papel embebido en solución alcalina de acetato de plomo.-

Indol:

Su formación en los músculos de pescado, es debida a la actividad de microorganismos indológenos.-

La caracterización del indol y escatol fué preconizada en 1922 por Clough⁹⁰ y luego por Clough, Shostrom y Clark⁹¹, que comprobaron su ausencia en la carne de pescado recién capturado. Clough observa que existe una correlación entre el olor, el número de bacterias y el tenor de indol. La ausencia de indol, no puede ser tomada como que no existe descomposición, pues muchas bacterias que atacan la carne de pescado no son indológenas.-

Fellers y Clough⁹² consideran que la reacción de Ehrlich, es la que da mejor resultado para investigar el indol.-

En 1938 Stenberg, ROkhlina y Schillinger⁹³, practican una variante del método de Fellers y Clough (loc.cit.); separan el indol de la carne de pescado por arrastre con vapor de agua, extraen con eter, e-vaporan el solvente a baja presión y corriente de aire y determinan colorimétricamente el indol en el agua, por medio de la reacción de Ehrlich. Reemplazan la escala indólica de referencia, por una escala permanente constituida por soluciones de amaranto o nitrato de cobalto.-

Acidos grasos volátiles:

Hillig y Clark⁹⁴, encontraron que los pescados envasados preparados a partir de material fresco, contienen normalmente pequeñas cantidades de ácidos grasos volátiles, la mayor parte de los cuales son fórmico y acético. Cuando la putrefacción comienza, la cantidad de estos ácidos aumenta y al mismo tiempo hacen su aparición los miembros superiores de la serie, que van aumentando a medida que la alteración progresa.-

Para determinarlos emplean el método de Dyer⁹⁵, que consiste en una destilación al vapor, manteniendo constante el volumen de la solución que contiene los ácidos.-

Otras sustancias volátiles:

Scala y Bonamartini⁹⁶ avaluaron las sustancias reductoras volátiles. Hacen actuar los productos de destilación de un caldo de carne, sobre una solución de I_2 0.01n y titulan el exceso de I_2 con solución de tiosulfato.-

Strohecker, Vaubel y Kirshberg⁹⁷, destilan por arrastre de vapor, la carne picada mezclada con una cantidad de solución dializada de hierro. El destilado lo tratan con una determinada cantidad de solución de $KMnO_4$ 0.1 n y luego de ebullición, titulan el exceso con áci-

do oxálico. De acuerdo con Egorova⁹⁸, la oxidabilidad del destilado aumenta rápidamente con la putrefacción del pescado.-

Ultimamente, Holaday⁹⁹, sostiene que la determinación de alcohol en el destilado de pescados en lata, puede ser útil como índice de pu trefacción. El pescado bueno contiene pequeñas cantidades de alcohol, que aumenta considerablemente cuando progresa la descomposición.-

Alteración de los lípidos:

Los cuerpos grasos sufren alteraciones después de la muerte del animal. Se producen fenómenos de hidrolisis, acción de los microorganismos y sobre todo oxidación de las grasas. La rancidez oxidativa es el tipo mas común.-

Puede determinarse la acidez y el grado de rancidez del aceite. Fiedler¹⁰⁰ lo extrae agitando la carne de pescado con eter y Na_2SO_4 , proceso que elimina la descomposición del aceite, con que usualmente se tropieza en los métodos ordinarios de extracción.-

Otros métodos:

Katrandjief¹⁰¹, basado en los trabajos de Andrejewsky, ha estudiado el empleo de ciertas reacciones bioquímicas, tendientes a demostrar el grado de alteración de las carnes. Entre las pruebas estudiadas tenemos la absorción de I_2 , cuya técnica describimos en la parte experimental.-

Katrandjief¹⁰² sostiene que los protidos contenidos en los tejidos musculares, fijan I_2 con una afinidad tanto mayor cuanto más avanzado está el proceso putrefactivo, llegando a la conclusión que la absorción de I_2 , está en razón directa de la alteración.-

Además Katrandjief, ha ensayado otras reacciones tendientes a revelar en las maceraciones filtradas de carne, la presencia de: protidos precipitables, cloruros, sales de calcio y sulfatos.-

Mendonça Machado¹⁰³ y Poluektoff, (loc. cit.) ensayaron en los pescados los métodos de Andrejewsky, con resultados poco satisfacto-

rios.-

Walkiewicz¹⁰⁴, preconiza el uso de una reacción sencilla que practica con maceraciones acuosas filtradas de carne, a las cuales agrega soluciones de bicloruro de mercurio al 1% y el mismo reactivo acidificado con ácido acético, técnica que describimos en la parte experimental.-

* * * * *

* * * * *

*

CAPITULO VI

PARTE EXPERIMENTAL

Trabajamos sobre las siguientes especies:*

Anchoa : Pomatomus saltatrix (L)

Corvina : Micropogon opercularis (Q.G.)

Besugo colorado : Sparus pagrus L

Merluza : Merluccius hubbsi. Marini

Pescadilla : Cynoscion striatus (Cuv.)

Pescadilla real : Sagenichthys ancyllodon (Bl.Schn.)

Pejerrey(M.del Plata) : Austromenidia argentinensis (C.V.)

Procedían de Mar del Plata y fueron adquiridas en el mercado de La Plata, en el preciso instante de su llegada.-

Excepto la merluza, que proviene de la pesca de altura, eran todas especies capturadas el día antes de su arribo, habiendo comprobado siempre, el buen estado de conservación de los ejemplares adquiridos.

Tratamiento de las muestras:

Los pescados se lavan bajo débil corriente de agua destilada frotando suavemente con los dedos; secan con papel de filtro y luego se evisceran. Se lava la cavidad visceral con fino chorro de agua destilada y después se seca con papel de filtro.-

Los pescados así preparados, se guardan en recipientes de metal enlozado, cuyas paredes laterales presentan una serie de orificios. La parte superior se cubre con un cristal, colocando el todo en heladera eléctrica, mantenida a una temperatura comprendida entre 8 y 12°C.

* Los nombres científicos han sido contraloreados por el Dr Raúl Ringuelet, Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Zoología General del Doct. en Ciencias Naturales de la Univ. Nac. de La Plata, a quien le quedamos reconocido.

Con estos pescados realizamos ensayos sistemáticos, que se iniciaron en el momento de su llegada al laboratorio, prosiguiéndolos cada 24 horas, hasta la aparición de los signos evidentes de la descomposición. Se tomó como carácter más saliente la aparición del olor desagradable.-

Preparación de las muestras:

Para la preparación de las muestras se tomaron trozos de distintas partes de un animal o de varios ejemplares de una misma partida, según los casos, para tener una muestra media.-

Cada trozo fué despojado de sus escamas, piel, espinas, aponeurosis, nervios, etc., trabajando sólo sobre el tejido muscular, finamente dividido y homogeneizado.-

Con las muestras así preparadas, se realizaron los distintos ensayos de carácter físico y químico.-

ENSAYOS PRACTICADOS

I.- Métodos biológicos:

- a) Numeración bacterica por cultivo.-
- b) Prueba de la reducción del azul de metileno.-

II.- Métodos físico-químicos:

- a) Viscosidad.-
- b) Determinación del pH.-

III.- Métodos químicos:

- a) Reacción de Eber (amoníaco).-
- b) Investigación del ácido sulfhídrico.-
- c) Reacción de Walkiewicz.-
- d) Pruebas efectuadas sobre la maceración acuosa de carne de pescado:
 - 1) Absorción de iodo.-

- 2) Prueba de las globulinas.-
- 3) Investigación de sulfatos.-
- 4) Investigación de calcio.-
- 5) Reacción del Biuret (peptonas).-
- 6) Investigación del amoníaco (Reactivo de Nessler).-
- e) Determinación de aminoácidos.-
- f) Determinación de bases volátiles totales.-

I.- Métodos biológicos

- a) Numeración bacterica por cultivo.-

Sabemos que la alteración de la carne de pescado está siempre ligada a un desarrollo bacterico; por lo tanto se puede, mediante el recuento microbiano, expresar la descomposición del mismo. Se puede practicar esto en dos formas:

- 1) Numeración bacterica por cultivo.-
- 2) Numeración bacterica al microscopio.-

Hemos efectuado la primera determinación sobre un pequeño número de ejemplares, siguiendo día a día la marcha de la alteración.-

Adoptamos la siguiente técnica:

Separación aséptica de pequeños trozos de carne de la parte dorsal y ventral, con ayuda de un cuchillo esterilizado e introducción de los mismos en un vaso tarado y flameado. Se pesan los trozos de carne y se adiciona un volumen conveniente de solución esterilizada de cloruro de sodio al 8.5% (doble volumen del peso de la carne).-

Se dilacera convenientemente la carne y se mezcla la maceración con ayuda de una varilla flameada. Con pipeta graduada esterilizada se separa una cantidad determinada de líquido, (1 ml por ej.) con el que se efectúan las diluciones convenientes en solución esterilizada

de cloruro de sodio al 8.5% (1/10 , 1/100 y 1/1000 por ej.). Hay que operar rápidamente para evitar en lo posible la contaminación.-

Se siembra luego en gelosa nutritiva¹⁰⁵ por las técnicas comunes¹⁰⁶, siguiendo distintas diluciones.-

Se incuban las placas en estufa a 37°C y se observan a las 24 horas o a las 48 horas como máximo, calculando los resultados para 1 gramo de carne.-

Practicamos los ensayos con merluza y pescadilla y en la mayoría de los casos, hemos comprobado un aumento progresivo en el número de gérmenes a medida que el grado de frescura disminuye; no obstante lo cual, lo hemos abandonado porque además de carecer de rapidez, el método acusaba resultados inconstantes.-

El número de gérmenes oscila entre los 12.000, cuando el pescado está en buen estado, a más de 1.000.000 por gramo, cuando ya está en franca descomposición, pero no hemos podido determinar límites precisos.-

b) Prueba de la reducción del azul de metileno⁴³

Efectuamos esta

prueba sobre varias especies:

En un frasco de 60 c.c. se colocan 5 g de carne bien dividida, 1 ml de solución de azul de metileno y se llena completamente con agua calentada a 40°C. Se tapa y se incuba a 45°C. La solución de azul de metileno se prepara con 5 ml de solución alcohólica saturada del colorante, diluida con 195 ml de agua.-

De acuerdo con Tillmans y Otto (loc. cit.), la decoloración en menos de 1 hora indica descomposición de la carne,-

Por los resultados obtenidos en nuestras experiencias parece que este ensayo no es susceptible de aplicarse a las carnes de pescado, pues la reacción fué siempre negativa aún con pescados putre-

factos...-

II.-Métodos físico-químicos

a) Viscosidad.-

Esta prueba, preconizada por Vasslow (loc.cit.), la ensayamos en los pescados con resultados poco satisfactorios.-

30 g de la muestra se colocan en un Erlenmeyer de 350-400 cm³ de capacidad y se agregan 90 ml de agua destilada. Se tapa con un algodón y se lleva durante 10 min a un baño maría hirviente, de modo que flote. Se retira luego y se filtra por capa de algodón.-

Se deja enfriar y se determina la viscosidad del líquido¹⁰⁷ a 25°C, colocando el viscosímetro en un baño de agua mantenido constantemente a esa temperatura, ya que la variación de la misma influye sobre el valor de la viscosidad. Se usan de 10 a 15 ml de líquido, según la capacidad del viscosímetro.-

Practicamos los ensayos con carne de merluza y pescadilla, obteniendo los siguientes resultados:

PESCADILLA

Muestra N°	Días	Caracteres	Viscosidad
1	1º	Normales	1.262
	2º	"	1.291
	3º	Olor	1.291
2	1º	Normales	1.262
	2º	"	1.262
	3º	Olor	1.282
3	1º	Normales	1.206
	2º	"	1.206
	3º	Olor	1.271
4	1º	Normales	1.203
	2º	"	1.286
	3º	Olor	1.291

PESCADILLA

38

Muestra N°	Días	Caracteres	Viscosidad
5	1º	Normales	1.271
	2º	"	1.281
	3º	Olor	1.276
6	1º	Normales	1.271
	2º	"	1.281
	3º	Olor	1.291
7	1º	Normales	1.271
	2º	"	1.262
	3º	Olor	1.286
8	1º	Normales	1.271
	2º	"	1.281
	3º	Olor	1.271

MERLUZA

Muestra N°	Días	Caracteres	Viscosidad
1	1º	Normales	1.174
	2º	"	1.176
	3º	Olor	1.184
2	1º	Normales	1.203
	2º	"	1.196
	3º	Olor	1.203
3	1º	Normales	1.281
	2º	"	1.281
	3º	Olor	1.291
4	1º	Normales	1.203
	2º	"	1.203
	3º	Olor	1.194

Como vemos, los valores obtenidos con pescados frescos caen a veces dentro del límite de los descompuestos.-

Por lo tanto, la determinación de la viscosidad no es recomendable, ya que carece de toda eficiencia.-

b) Determinación del pH.-

El pH se determinó por vía potenciométrica utilizando un aparato con electrodo de vidrio.-

Trabajamos directamente sobre la carne de pescado picada, colocada en la cubeta de vidrio del aparato y también sobre una papilla hecha con 5 g de carne y 3 ml de agua destilada.-

Para ambas técnicas, los resultados obtenidos fueron análogos.-

Consignamos a continuación algunos resultados:

PEJERREY

Muestra N°	Días	Caracteres	pH	Muestra N°	Días	Caracteres	pH
1	1º	Normales	5.98	5	1º	Normales	6.70
	2º	"	5.98		2º	"	6.72
	3º	Olor	6.38		3º	Olor	6.75
2	1º	Normales	6.71	6	1º	Normales	6.20
	2º	"	6.70		2º	"	6.15
	3º	Olor	6.75		3º	Olor	6.58
3	1º	Normales	5.85	7	1º	Normales	6.80
	2º	"	6.00		2º	"	6.63
	3º	Olor	6.40		3º	Olor	6.90
4	1º	Normales	6.80	8	1º	Normales	6.90
	2º	"	6.69		2º	"	6.75
	3º	Olor	6.80		3º	Olor	6.80

MERLUZA

Muestra N°	Días	Caracteres	pH	Muestra N°	Días	Caracteres	pH
1	1º	Normales	6.73	4	1º	Normales	6.32
	2º	"	6.75		2º	"	6.40
	3º	Olor	6.80		3º	Olor	7.08
2	1º	Normales	6.71	5	1º	Normales	6.80
	2º	"	6.62		2º	Olor	7.05
	3º	Olor	6.66		3º	Olor int.	7.50
3	1º	Normales	6.89	6	1º	Normales	6.80
	2º	"	6.90		2º	Olor	7.08
	3º	Olor	7.03		3º	Olor int.	7.61

Muestra N°	Días	Caracteres	pH	Muestra N°	Días	Caracteres	pH
1	1º	Normales	6.45	6	1º	Normales	6.30
	2º	"	6.55		2º	"	6.39
	3º	Olor	7.62		3º	Olor	6.54
2	1º	Normales	6.30	7	1º	Normales	6.40
	2º	"	6.40		2º	"	6.30
	3º	Olor	6.59		3º	Olor	6.50
3	1º	Normales	6.35	8	1º	Normales	6.30
	2º	"	6.35		2º	"	6.40
	3º	Olor	6.53		3º	Olor	6.42
	4º	Olor int.	7.00		4º	Olor int.	7.05
4	1º	Normales	6.33	9	1º	Normales	6.40
	2º	"	6.42		2º	"	6.39
	3º	Olor	6.40		3º	Olor	6.52
	4º	Olor int.	7.04		4º	Olor int.	7.00
5	1º	Normales	6.47	10	1º	Normales	6.29
	2º	"	6.60		2º	"	6.33
	3º	Olor	7.49		3º	Olor	6.59

Analizando los resultados, observamos que el pH aumenta a medida que la alteración progresa, pero no es posible establecer límites de pH entre el pescado fresco y el alterado. Muchas veces se obtienen cifras con el pescado alterado, que caen dentro de los límites del pescado fresco y vice-versa.-

Si bien es cierto que el pH es una determinación rápida capaz de dar indicaciones útiles, no tiene valor absoluto; luego, la sola medida del pH no es suficiente para determinar la descomposición precoz del pescado.-

III.-Métodos químicos

a) Reacción de Eber¹⁰⁸.-

En un tubo de 8 cm de largo y 2 cm de diámetro, se introducen 2 a 3 ml de reactivo de Eber, cuya composición es la siguiente:

Acido clorhídrico	1 parte
Eter etílico	1 "
Alcohol de 95°	3 "

De un alambre terminado en gancho, cuyo otro extremo queda fijo a un tapón, se coloca un trocito de carne en forma que al ser introducido en el tubo, quede suspendido sin tomar contacto con el líquido (a 1 cm de éste) y sin tocar las paredes.-

La reacción se pone en evidencia por la aparición de vapores persistentes, blancos, grisáceos o azulados, según el grado de putrefacción más o menos avanzado.-

Obtuvimos reacción positiva en todos los casos; ya sea con pescados frescos o en aquellos con visible grado de alteración.-

Por lo tanto, podemos concluir que tal reacción en los pescados no debiera aplicarse, ya que resulta inadecuada y falta de toda precisión. Además, su positividad no es siempre índice de un verdadero proceso de descomposición.-

b) Investigación del ácido sulfhídrico.-

Se efectuó su investigación en varias formas:

1) A temperatura ambiente: se coloca la carne de pescado picada en un tubo de 8 cm de largo por 2 cm de diámetro y se suspende dentro del mismo la tira de papel reactivo humedecida con una gota de agua destilada, tapando el tubo con un algodón o corcho.-

Los resultados obtenidos fueron siempre negativos.-

(El papel reactivo se prepara sumergiendo láminas de papel de filtro en una solución de acetato de plomo al 10%, eliminando el exceso de líquido por ligera presión entre dos papeles de filtro. Se dejan secar y luego se cortan tiras de 4 a 5 cm de largo por 4 a 5 mm de ancho).-

2) Se trabajó de acuerdo con la técnica descrita por Bertolini¹⁰⁹, en la siguiente forma: En un tubo o Erlenmeyer, se colocan una cantidad determinada de carne de pescado e igual cantidad de solución de ácido sulfúrico al 10%. Se lleva a un baño maría a 60°C durante 1 hora, suspendiendo en el interior del tubo o Erlenmeyer la tira de papel reactivo humedecida, en la misma forma que en la prueba anterior.-

Sólo se obtuvo una reacción débilmente positiva, en los casos en que el pescado estaba ya visiblemente descompuesto.-

3) Se efectuó por último la investigación del ácido sulfhídrico a una temperatura elevada. La técnica adoptada es como sigue⁵²: 30 g de carne de pescado triturada se introducen en un Erlenmeyer, se agregan 90 ml de agua destilada y se lleva a un baño maría hirviente durante 10 minutos. Se suspende en la boca del frasco una tira embebida en acetato de plomo y se tapa con un algodón.-

En todos los casos se obtuvo reacción positiva. Pero, si bien dicha reacción acusa una mayor o menor intensidad, ésta no sigue una escala ascendente a medida que progresa la alteración, pues a veces se originan coloraciones más intensas cuando los ejemplares se hallan en buen estado que cuando ya están descompuestos.-

Además, la comparación con una escala tipo para hacer la determinación cuantitativa no satisface.-

De todas estas pruebas podemos deducir que la investigación del ácido sulfhídrico en las carnes de pescado, no puede ser un índice que determine su descomposición incipiente.-

e) Reacción de Walkiewicz

Walkiewicz (loc.cit.), tratando de encontrar un método fácil y simple para revelar los primeros estados de la putrefacción de la carne, consideró la aplicación de las sales de metales pesados. El mejor resultado se obtuvo con la solución acuosa de bicloruro de mercurio al 1% y el sublimado a la misma concentración pero acidificado con ácido acético glacial al 0.05%.—

Trabajó sobre carne de buey, cerdo y caballo; nosotros tratamos de aplicarlo a la carne de pescado con resultados negativos.—

Reactivos:

Solución de $Hg.Cl_2$ en agua destilada al 1%.

Solución de $Hg.Cl_2$ en agua destilada al 1% acidificada con ácido acético glacial al 0.05%.—

Preparación de la muestra: 5 gramos de carne de pescado picada, se colocan en Erlenmeyer con un volumen diez veces mayor de agua destilada. Se deja a la temperatura del laboratorio durante 30 min agitando fuertemente y después se filtra.—

En un tubo de ensayo, de diámetro pequeño para facilitar la observación; 8 mm de diámetro por 120 mm de largo; se colocan 3 ó 4 ml de solución de sublimado y en otro tubo igual, la misma cantidad del sublimado acidificado. Después, se vierte lentamente a lo largo de las paredes del tubo 2 ó 3 gotas del extracto de carne de pescado y se examina sobre fondo oscuro. La reacción se considera positiva, cuando se forma una pequeña nubo gris violácea, que aparece después de algunos segundos en la superficie del líquido y cae al fondo del tubo ó bien se disipa al agitar. Si el líquido permanece límpido, la reacción se considera negativa.

Walkiewicz, destaca que la nube aparece en los dos tubos cuando el pH se eleva a más de 6.2, cosa que nosotros hemos comprobado con

los extractos de carne de pescado, que por otra parte nos han dado siempre resultado positivo.-

Por lo tanto, esta reacción resulta inaplicable a los pescados.-

d) Pruebas efectuadas sobre la maceración acuosa de carne de pescado:

Preparación del extracto acuoso: de acuerdo con Katrandjiev¹¹⁰ se prepara con 5 g de carne de pescado picada que se macera 30 min en 50 ml de agua destilada con agitación repetida y se filtra por papel.-

1) Absorción de iodo:

Hemos seguido la técnica preconizada por Katrandjiev (loc.cit.).

Reactivos:

Solución iodo iodurada:

Iodo. 1 g.

Ioduro de potasio 2 g.

Agua destilada. .600 g.

Solución de azul de metileno al 1%, que debe ser diluida en el momento de usarla en la siguiente proporción:

Solución de azul de metileno al 1%. . . . 1 parte.

Agua destilada. 9 partes.

Hay que evitar el uso de azul de metileno oxidado ya que no cambiaría el color de la reacción.-

Se usa un sistema de tubos de ensayo de 120 mm por 8 mm.-

Marcha de la Reacción:

Se disponen 5 tubos y en cada uno de ellos se colocan 4 ml de agua destilada y las siguientes cantidades

de solución iodo iodurada: 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 ml, se agita; el líquido toma un color amarillo cada vez más intenso. Se introduce luego en cada tubo 0.10 ml de solución diluída de azul de metileno y se agita para evitar la formación de precipitado. El color de los tubos cambia y se torna más oscuro: amarillo pardusco.-

Se agrega luego a cada tubo 1 ml del extracto de pescado a examinar y se agita.-

En el caso de carne normal en el primer tubo se obtiene una coloración azul, debida a la absorción total del iodo y la consiguiente liberación del azul de metileno. -

En el segundo tubo la absorción de iodo no es total y la solución toma un tinte verde que se vuelve azul al cabo de 15 - 20 min.

El tercero, cuarto y quinto tubo toman coloración pardusca cada vez más intensa.-

Según el autor, toda absorción de iodo mayor poniendo rápidamente en evidencia en los dos primeros tubos el color del indicador utilizado, indica la presencia de una alteración de las muestras; si la alteración es más pronunciada, aparecerá rápidamente el color del indicador en el tercero y cuarto tubo.-

Hemos efectuado la reacción con varias especies y a través de más de cuarenta muestras analizadas, pudimos comprobar que muchas veces la absorción de iodo no está en razón directa con la alteración, como lo manifiesta Katranjiev, pues hemos obtenido absorción mayor cuando el pescado está fresco, que cuando ya está visiblemente alterado.-

Además, la absorción de iodo varía de una especie a otra y en algunas se obtiene inmediatamente la liberación del colorante en los primeros tubos. Por otra parte, los resultados son variables y a veces poco claros.-

Por lo tanto, esta reacción no puede ser tomada en cuenta para dictaminar acerca del posible estado de alteración de la carne de pescado.-

Consignamos a continuación algunos de los resultados obtenidos:

PESCADILLA

Muestra N°	Tubo	1º Día	2º Día	3º Día
1	1	A	A	A
	2	A	A	A *
	3	A 15 min	A 10 min	A 10 min
	4	A 25 min	A 20 min	A 15 min
	5	V	V	V
2	1	A	A	A
	2	A 5 min	A	A *
	3	A 10 min	A 15 min	A 10 min
	4	A 25 min	A 20 min	A 20 min
	5	V	V	V
3	1	A	A	A
	2	A	A	A *
	3	A 15 min	A 15 min	A 10 min
	4	A 25 min	A 20 min	A 15 min
	5	V	V	A 30 min
4	1	A	A	A
	2	A 5 min	A 5 min	A *
	3	A 25 min	A 10 min	A 15 min
	4	V	A 25 min	A 25 min
	5	P	V	P

CORVINA

Muestra N°	Tubo	1º Día	2º Día	3º Día	4º Día
1	1	A	A	A *	
	2	A 10 min	A 10 min	A 20 min	
	3	V	V	V	
	4	P	P	P	
	5	P	P	P	
2	1	A	A	A	A *
	2	A 10 min	A 5 min	A 5 min	A 10 min
	3	V	V	A 15 min	A 10 min
	4	P	P	P	V
	5	P	P	P	V
3	1	A	A	A	A *
	2	A 5 min	A 5 min	A 5 min	A 5 min
	3	V	V	A 15 min	A 5 min
	4	P	P	P	V
	5	P	P	P	P
4	1	A	A	A	A *
	2	A 10 min	A 5 min	A 5 min	A 10 min
	3	V	V	A 15 min	A 10 min
	4	P	P	P	V
	5	P	P	P	P
5	1	A	A	A *	
	2	A 5 min	A 5 min	A	
	3	A 20 min	A 30 min	A 30 min	
	4	V	V	V	
	5	P	P	P	

MERLUZA

Muestra N°	Tubo	1º Día	2º Día	3º Día
1	1	A	A	A *
	2	A 5 min	A	A
	3	A 15 min	A 15 min	A 15 min
	4	V	A 25 min	V
	5	P	V	P
2	1	A	A	A *
	2	A	A 5 min	A 5 min
	3	A 20 min	A 5 min	V
	4	A 20 min	V	P
	5	P	V	P
3	1	A	A	A *
	2	A 5 min	A 10 min	A 15 min
	3	A 15 min	V	P
	4	V	P	P
	5	P	P	P
4	1	A	A	A *
	2	A	A 5 min	A 5 min
	3	A 20 min	A 15 min	V
	4	A 25 min	V	P
	5	P	V	P
5	1	A	A	A *
	2	A 5 min	A	A
	3	A 15 min	A 15 min	A 15 min
	4	V	A 25 min	V
	5	P	A 25 min	P

PEJERREY

Muestra N°	Tubo	1º Día	2º Día	3º Día
1	1	A	A	A *
	2	A 5 min	A	A
	3	A 10 min	A 10 min	A 5 min
	4	A 20 min	A 25 min	A 25 min
	5	A 25 min	V	P
2	1	A	A	A *
	2	A	A	A
	3	A 5 min	A	A 5 min
	4	A 5 min	A 5 min	A 5 min
	5	A 10 min	A 10 min	A 15 min
3	1	A	A	A *
	2	A 5 min	A	A
	3	A 10 min	A 10 min	A 5 min
	4	V	A 20 min	A 20 min
	5	V	A 25 min	A 25 min
4	1	A	A	A *
	2	A	A	A
	3	A 5 min	A	A
	4	A 5 min	A 5 min	A 5 min
	5	A 10 min	A 10 min	A 10 min

Referencias: A indica coloración azul. Cuando no se especifica el tiempo significa que la coloración azul aparece inmediatamente.-

V indica coloración verde. P indica coloración parda.-

* indica que la muestra se halla alterada.-

2) Prueba de las globulinas¹¹⁰

Técnica:

2 ml del extracto acuoso se introducen en un tubo de ensayo conteniendo dos ml de agua destilada, se agregan 5 gotas de ácido acético al 1% y se calienta a ebullición.-

Mientras el extracto de carne normal, afirma el autor, permanece límpido, el extracto de carne alterada dá generalmente un precipitado más o menos abundante.-

Con los pescados hemos obtenido siempre resultados positivos, aún con aquellos en buen estado de conservación.-

Por lo tanto, no puede considerarse como buena tampoco esta reacción.-

3) Investigación de sulfatos¹¹⁰

Se utiliza solución de Ba Cl₂ al 10% , que se agrega al extracto acuoso.-

4) Investigación de calcio¹¹⁰

En un tubo de ensayo se colocan 2 ml de agua destilada, 2 ml del extracto de carne, 5 gotas de ácido acético puro y 5 gotas de solución saturada de oxalato de amonio.-

En estas dos últimas reacciones se obtuvieron siempre resultados negativos.-

5) Reacción del Biuret¹¹¹

Se efectúa sobre un extracto de carne de pescado al 10% en agua destilada.-

Esta reacción descubre el pasaje a la solución, de peptonas o de polipeptidos provenientes de la desintegración bacteriana de las

proteínas.-

Se toman unos 2 ml de reactivo de Biuret a los que se agregan 5 a 10 gotas del filtrado.-

Si la carne está en buen estado, no se produce ninguna reacción. El color obtenido es azul. Pero si está descompuesta la reacción es positiva: el líquido se colorea en rosa violáceo.-

En los pescados obtuvimos reacción positiva, recién cuando su estado de descomposición era muy avanzado.-

Por lo tanto, no puede aplicarse para apreciar la descomposición incipiente.-

6) Investigación del amoníaco:¹¹¹

En un tubo se vierten 2 ó 3 ml de reactivo de Nessler y se agregan 10 gotas del filtrado.-

La reacción positiva es acusada por un precipitado o enturbiamiento amarillo o rojo, revelador del amoníaco.-

Obtuvimos en todos los casos reacción negativa, es decir, una coloración amarilla con un ligero tinte verdoso, aún tratándose de pescados alterados.-

En términos generales, podemos concluir que las pruebas preconizadas por Andrejewsky carecen de todo valor aplicadas a los pescados.

e) Determinación de aminoácidos:

Preparación de la maceración: 20 g de carne picada, se colocan en un frasco graduado y se añaden 75 ml de agua destilada calentada a 60°C y 10 ml de alcohol de 95°. Se agita por espacio de 1 hora y se lleva luego a un baño maría a 60°C durante 30 min agitando a intervalos.

Sacado del baño, se agregan dos gramos de Ba Cl₂ para precipitar los fosfatos y sulfatos presentes; se añade solución de agua de bari-
ta al 30% hasta alcalinizar, añadiendo luego un exceso de 2 a 3 ml.

Se lleva a volumen de 150 ml con agua destilada agregando algunos ml de alcohol si llegara a formarse espuma.-

Se agita repetidas veces durante 30 min ,para eliminar el amoníaco.y se filtra por papel.No se puede pasar corriente de aire por la excesiva espuma que se forma.-

Sobre 10 ó 20 ml de líquido se determinan los aminoácidos por el método de Sorensen, siguiendo la técnica de Goiffon¹¹².-

Fórmula de los reactivos empleados en la titulación:

- 1º) Solución acuosa de fenolsulfoneftaleína al 0.05% .-
- 2º) Solución alcohólica de orange IV o de heliantina.-
- 3º) Solución de HCl 0.1 n aproximada.-
- 4º) Solución de NaOH 0.1 n .-
- 5º) Formol al 40% en peso.-
- 6º) Borato de sodio.-

Técnica de evaluación:

Se toman dos probetas graduadas de 100 cm³ de iguales dimensiones.En una de ellas se coloca 0.6 ml de solución de fenolsulfoneftaleína y solución de HCl 0.1 n hasta completar 25 ml.Se obtiene una coloración amarilla.-

En la otra probeta se colocan 25 ml de agua destilada y gota a gota solución de orange IV o heliantina hasta obtener un tinte de la misma intensidad que en la primera.-

Obtenido esto, se agrega 0.3 ml de solución de fenolsulfoneftaleína y algunos cristales de borato de sodio; se agita.Esta coloración corresponde a un pH 7.35.-

Se derrama entonces el líquido de la primera probeta y se colocan en ella 10 ml de líquido a investigar, 0.9 de sulfoneftaleína y desde bureta, se deja caer gota a gota agitando solución de HCl 0.1 n alternativamente con agua destilada hervida, hasta alcanzar el mismo tinte y volumen de la probeta testigo.-

La probeta testigo se lleva a un volumen de 40 - 50 ml con agua destilada. A la otra se le añaden 5 ml de formol al 40 % diluido al medio y neutralizado exactamente en presencia de fenolsulfoneftaleína; se le añade después gota a gota desde bureta, solución de NaOH 0.1 n y agua alternativamente hasta alcanzar con un volumen igual la misma coloración del testigo.

Los ml de NaOH 0.1 n gastados, multiplicados por 15 y por 1.4 nos dá los miligramos de nitrógeno correspondientes a los aminoácidos de 20 g de carne. Se expresan los resultados por 100 g de carne.-

El método de Sorensen da una medida global de los aminoácidos, además las sales amoniacaes son tituladas también, lo mismo que ciertos cuerpos aminados pertenecientes al grupo de los polipeptidos.-

Los resultados son igualmente significativos, ya que tratamos de seguir comparativamente la marcha progresiva de la alteración de la carne.-

A medida que la alteración progresa, el aumento del nitrógeno titulable al formol varía mucho de una especie a otra y dentro de la misma especie se notan variaciones individuales, ya que se obtienen valores de nitrógeno titulable al formol, iguales para una muestra en buen estado y un pescado en incipiente putrefacción. Aún más, se han llegado a obtener valores más pequeños para el pescado putrefacto que aquel relativamente fresco.-

Los resultados los consignamos mas adelante.-

e) Determinación de las bases volátiles totales :

La valoración

del nitrógeno básico volátil se efectúa sobre una maceración de carne de pescado, siguiendo en líneas generales la técnica descrita por Bou ry y Schwinte (loc.cit.) . En lugar de utilizar el aparato por ellos descrito adoptamos un dispositivo, que a nuestro juicio, ofrece mayo-

res^{Seguridades} y nos permite reducir el tiempo de destilación de 75 a 45 min.-

Destacamos también que hemos trabajado con un peso de carne 10 veces menor, lo que comporta una gran economía de reactivos.-

Preparación de la maceración:

20 g de carne bien picada se colocan en un frasco graduado de paredes resistentes y se adiciona agua hasta completar 100 cm³. Se agregan perlas de vidrio para facilitar la dilaceración y se agita continuamente por espacio de una hora. Luego se sumerge el frasco en un baño maría a 50° C durante 30 min, agitando a intervalos. Se filtra por papel.-

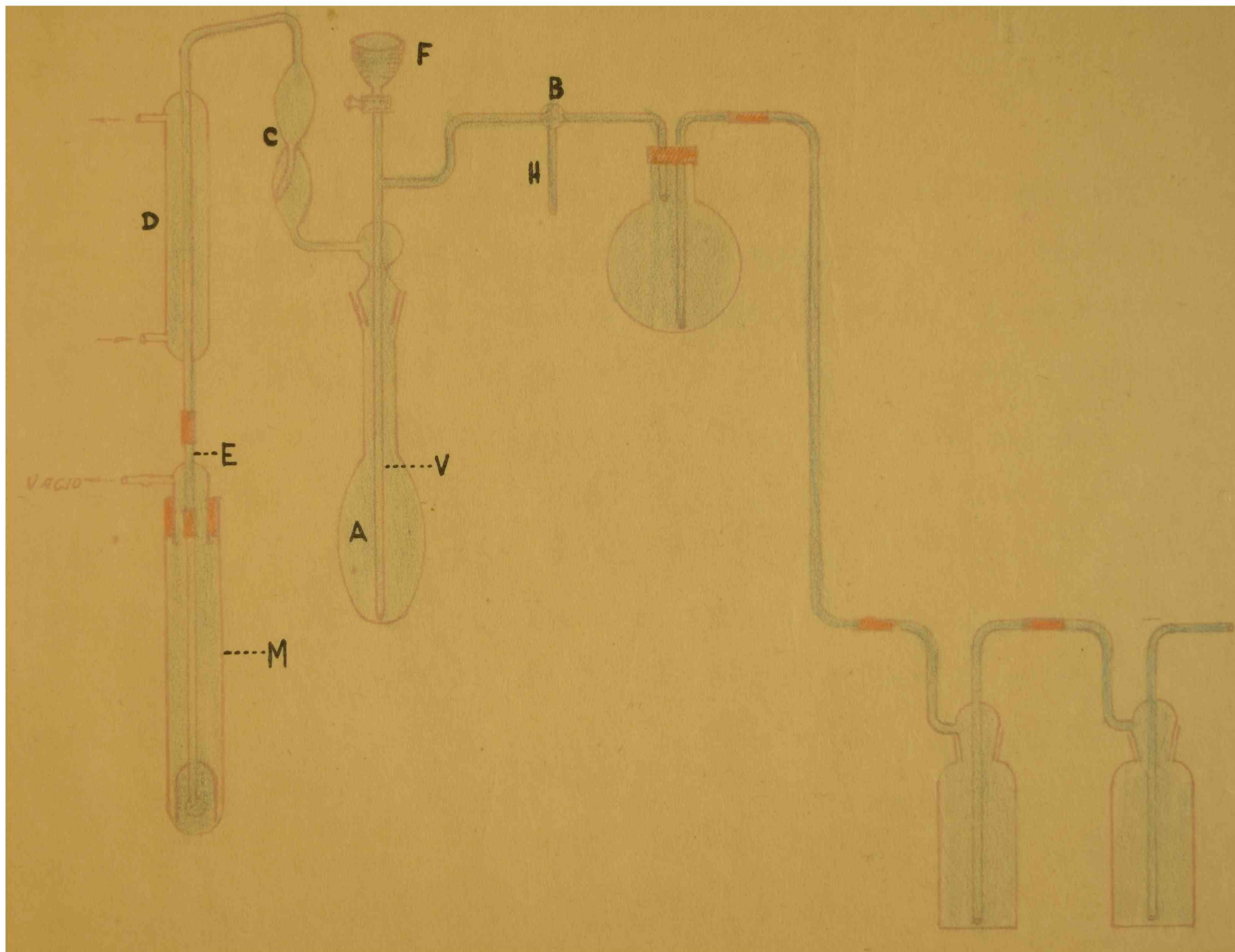
A veces la filtración por papel se hace imposible, sobre todo cuando se trabaja con ciertas especies (merluza, pejerrey, pescadilla), entonces conviene filtrar por algodón varias veces hasta obtener un líquido lo más límpido posible.-

Se toman exactamente 50 ml del filtrado, se agregan 5 g de NaCl, para facilitar la desproteínización y evitar la posible precipitación del NH₃ como fosfato amónico magnésico¹¹³, y 8 ml de solución al 25 % de ácido tricloroacético. Se agita y se deja reposar 30 min. Se filtra por papel y con 50 ml de este líquido se efectúa la destilación al vacío.-

Descripción del dispositivo:

Para efectuar la destilación de las bases volátiles, hemos utilizado un dispositivo del tipo Parnas y Heller¹¹⁴, modificado por Nico¹¹⁵, que adaptamos para realizar la destilación al vacío, en lugar de efectuarla por arrastre de vapor.-

Consta de un balón A de tipo Kjeldahl, de 250 cm³ de capacidad, al cual va adaptado todo el resto del dispositivo con cierre esmerilado perfecto. Hasta casi el fondo del citado balón, llega un tubo de vidrio V, que lleva unido a su parte superior una ampolla dilatada F con su correspondiente llave. y hacia la derecha se prolonga por un



tubo de vidrio con una llave Pyrex B de triple vía. A continuación va un equipo lavador, constituido por un balón conteniendo NaOH concentrado, para retener el CO_2 atmosférico y dos frascos colocados en serie conteniendo H_2SO_4 concentrado, para retener el NH_3 que podría existir en el ambiente del laboratorio.-

La llave de tres vías, permite comunicar el balón con el exterior, a través de los lavadores, cuando se quiere restablecer la presión en el interior del aparato y también directamente, por medio del tubo H dirigido hacia abajo, por el cual se realiza el lavado del aparato, como veremos más adelante.-

Hacia la izquierda, el tubo V se encuentra unido por otro tubo de vidrio ligeramente inclinado, a un dispositivo a dos bolas C en posición perpendicular, de las cuales la inferior es del tipo Hopkins, pero con la particularidad que el tubo interior curvado, está prolongado en la parte inferior hasta casi tocar la pared interna de dicha bola, para evitar la retención de partículas del líquido destilado. A continuación posee un refrigerante D, de 25 cm de longitud, a cuyo final se adapta por intermedio de una unión de goma, un tubo E de vidrio de construcción especial, de 25 cm de largo, siendo en su parte superior doble, con un tubo lateral, al que se conecta la bomba de vacío y su parte inferior termina en forma de burbujeador de Folin¹¹⁶, con una serie de agujeros de menos de 1 mm de diámetro. Este tubo va colocado dentro de otro tubo M, de unos 20 cm de largo por 3 cm de diámetro, obturado por un tapón de goma perforado, para dar paso al tubo "camisa" del burbujeador.

El balón A va sumergido en un baño de agua.-

Como vemos, el aparato posee una sola unión de goma, que se encuentra después del refrigerante, lo que excluye el posible error derivado del ataque de la goma, que puede alterar los resultados.-

Entre el tubo receptor y la bomba de vacío se intercala un sis

tema protector ,compuesto por un Kitasato de un litro de capacidad, que durante la operación se rodea de mezcla frigorífica y que va unido a dos torres conteniendo CaCl_2 , dispuestas en serie.-

Funcionamiento del aparato y técnica de la destilación:

En el tubo M se coloca H_2SO_4 0.1 n; la cantidad varía con el estado del pescado a analizar: 2 ml si la muestra es aparentemente fresca y 4 ml si ella está alterada.

Si la cantidad de ácido empleada no alcanza a cubrir los orificios superiores del capuchón del burbujeador, se agrega cantidad suficiente de agua destilada hervida y se adapta luego al resto del aparato.

Se vierten por la ampolla F 50 ml del líquido a destilar y 1 gramo de CO_3Li_2 , que se hace caer al fondo del balón con ayuda de 10 ml de agua destilada. Esta última ha servido previamente para lavar el recipiente que contenía el líquido a destilar y se agrega por pequeñas porciones con el objeto de enjuagar cuidadosamente la ampolla F.-

Cerramos la llave de la ampolla y con una vuelta de la llave B aislamos completamente el interior del aparato del medio exterior.

Se establece una circulación de agua fría en el refrigerante D y se eleva la temperatura del baño maría hasta 39 - 41° C, procurando mantenerla constante durante toda la operación.

El tubo M va convenientemente refrigerado por una mezcla de hielo y sal, que se renueva durante la marcha de la operación, de modo de asegurar un buen enfriamiento. La salmuera producida en el recipiente que contiene la mezcla frigorífica se evacua por sifón.-

Alcanzada en el baño maría la temperatura indicada, se hace el vacío en el aparato y cuando la presión es suficientemente reducida, comienza a desprenderse el vapor en el balón A, con producción de una es

puma muy fina que a veces alcanza a subir hasta el cuello del balón. Este inconveniente se subsana suspendiendo rápidamente el vacío por breves segundos.

Se destila durante 45 minutos.-

Terminada la destilación, se suspende el vacío y se abre muy suavemente la llave B, dejando entrar aire que previamente pasa por los lavadores. El burbujeo debe ser muy lento al principio, debido al gran vacío que existe dentro del aparato (1 burbuja por segundo), de lo contrario se corre el riesgo de malograr la operación por el salto violento que experimenta el líquido dentro del tubo M.-

Titulación del nitrógeno básico volátil:

Igualada la presión, lo que se consigue alrededor de los 15 min, se desprende el tubo de fijación del resto del aparato, sin sacar el burbujeador ni el líquido de su interior.

Como consecuencia del fuerte vacío producido, el tapón del tubo M se adhiere fuertemente y se corre el riesgo de romper el burbujeador al destaparlo, por lo que conviene cortar a éste por debajo de la "camisa" y unirlo al resto por una goma, con lo que se consigue una unión menos rígida y se subsana el inconveniente arriba apuntado.

Se sumerge el tubo M en un baño maría, el cual se calienta progresivamente hasta alcanzar la temperatura de ebullición. Se agregan 3 gotas de solución alcohólica de rojo de metilo al 0.1 %, previamente sensibilizado, y se titula en caliente para evitar la acción del CO_2 del aire, que molestaría para apreciar el justo viraje del indicador.-

El tubo burbujeador sirve para agitar, lo que hace sumamente cómoda la titulación.-

Se titula con solución de NaOH 0.02 n, empleando una microbureta graduada al centésimo, adaptada a un frasco parafinado interiormente y aislado del exterior, que contiene el Na OH titulado y contralorado

periódicamente.-

Cálculo de los resultados:

Restamos la cantidad de álcali utilizada para neutralizar el líquido, de la cantidad de ácido agregado en el tubo M y la diferencia multiplicada por 0.00028, nos dá la cantidad de nitrógeno básico volátil contenido en 50 ml de destilado, a la cual hay que restarle el ensayo en blanco.

Se refieren los datos a 100 g de carne.-

Nota:

Al expresar los datos por 100 g de carne, no se ha considerado la pérdida de humedad que experimenta la muestra al estar estacionada en la heladera, para su conservación, después de haber comprobado que esa pérdida es tan pequeña que no puede afectar los resultados.-

Lavado del aparato:

Una vez que se ha retirado el tubo con el burbujeador, adaptamos con una unión de goma un tubo de vidrio sumergido en un gran vaso con agua.

Se une el tubo de aspiración de la trompa de agua con el tubo H y con una vuelta de la llave B, comunicamos el exterior con el balón A y aspiramos por la trompa el agua de dicho vaso varias veces. También agregamos agua por la ampolla F dejando llenar y abriendo después la llave la dejamos caer al interior del aparato.-

Se repite la operación varias veces con agua destilada, con lo que en pocos minutos, se tiene el aparato muy bien lavado y sin necesidad de desarmarlo lo que resulta mucho más cómodo.

El aparato queda así listo para una nueva destilación, evidente ventaja práctica, pues favorece el trabajo en serie y lo hace más rápido.-

SEGURIDAD DEL DISPOSITIVO

Se efectuaron recuperaciones de NH_3 , usando solución de sulfato de amonio de concentración conocida:

$$10 \text{ ml} = 0.002 \text{ g de N}$$

Se destilaron 10 ml de la solución de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$, adicionados de los mismos reactivos utilizados en la destilación efectuada con la maceración de pescado.-

Primeramente se destiló durante 75 minutos y los resultados, después de descontar el ensayo en blanco, fueron los siguientes:

- 1) 0.0019936
- 2) 0.0019987
- 3) 0.0019908
- 4) 0.0019964
- 5) 0.0019985

Promedio: 0.0019956

Error promedio: 0.22%

Se trató de acortar el tiempo de destilación, observándose que cuando destilan alrededor de 35 ml de un total de 60 ml, ya han pasado la totalidad de las sustancias básicas volátiles; dicha operación requiere unos 45 min, siendo la temperatura de destilación: $39^\circ - 41^\circ\text{C}$.-

Efectuamos recuperaciones con la solución tipo de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$, destilando 45 min, tiempo que se adoptó definitivamente para realizar todos los ensayos.-

Recuperaciones efectuadas con 10 ml de la solución tipo:

- 1) 0.0020126
- 2) 0.0020070
- 3) 0.0019958
- 4) 0.0020014

5)	0.0020042
6)	0.0019892
7)	0.0019980
8)	0.0019747
9)	0.0019615
10)	0.0020147
11)	0.0019678
12)	0.0020140

Promedio: 0.0019967

Error promedio: 0.165%

El arrastre simple por aire no se mostró tan eficaz, obteniéndose siempre datos bajos al determinar el amoníaco de una cantidad conocida de sulfato de amonio.-

Se destilaron durante 75 min 10 ml de la solución tipo de sulfato de amonio con una activa corriente de aire, utilizando una trompa de agua:

1)	0.0014778
2)	0.0015534
3)	0.0014862
4)	0.0015590
5)	0.0015077

Promedio: 0.0015168

Error promedio: 24.2%

Durante la destilación al vacío, como consecuencia de la reducida presión que existe dentro del aparato y de la gran tensión de vapor del líquido contenido en M, se produce una pequeña evaporación del mismo, que se condensa en el kitasato vecino.-

Para verificar si al mismo tiempo no se producían pérdidas de sustancias básicas, hemos realizado pruebas simultáneamente, con dos tubos burbujeadores adosados uno a continuación del otro.-

Se efectuaron ensayos en blanco y con líquidos provenientes de maceraciones de pescado, comprobándose que no había pérdidas de sustancias básicas, ya que las pequeñísimas cantidades encontradas en el líquido ácido del segundo tubo, caen dentro del límite de los errores experimentales.-

Nota: De todos los reactivos se efectuaron periódicamente determinaciones en blanco y éstas se sustrajeron del correspondiente dato llamado.-

* * * * *

* * * * *

*

PESCADILLA

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
1	1º	Normales	33.715	12.192
	2º	"	37.875	13.639
	3º	Escaso olor	42.75	29.768
	4º	Olor intenso	55.90	71.694
2	1º	Normales	32.92	13.372
	2º	"	33.64	14.268
	3º	Olor	43.025	29.164
	4º	Olor intenso		48.80
3	1º	Normales	33.415	14.268
	2º	"	33.975	14.940
	3º	Olor	43.237	29.276
	4º	Olor intenso		49.448
4	1º	Normales	33.85	13.85
	2º	"	37.550	14.59
	3º	Olor	42	28.92
5	1º	Normales	32.945	12.492
	2º	"	33.620	13.260
	3º	Escaso olor	37.955	15.376
	4º	Olor intenso	47.328	51.844
6	1º	Normales	33.18	11.538
	2º	"	37.38	12.790
	3º	Olor	42.	27.132

PESCADILLA

Muestra N°	Día	Caracteres	N tituable al formol mg %	N básico volátil mg %
7	1º	Normales	32.34	10.830
	2º	"	34.34	11.35
	3º	Débil olor	39.37	20.748
	4º	Olor intenso	49.54	52.079
8	1º	Normales	33.250	13.036
	2º	"	33.745	13.602
	3º	Débil olor	37.99	15.724
	4º	Olor intenso	48.95	51.900
9	1º	Normales	32.34	10.886
	2º	"	34.12	11.589
	3º	Olor	39.90	20.636
	4º	Olor intenso	48.78	51.993
10	1º	Normales	33.29	11.838
	2º	"	37.59	12.80
	3º	Olor	43.085	26.959
Promedio	1º		33.124	12.430
	2º		35.383	13.282
	3º		41.131	24.370
	4º		50.099	53.965

PEJERREY

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
1	1º	Normales	52.50	15.323
	2º	"	57.75	15.640
	3º	Olor	56.95	33.770
2	1º	Normales	66.97	13.904
	2º	"	71.25	14.854
	3º	Olor intenso	73.75	32.446
3	1º	Normales	51.97	14.438
	2º	"	55.12	15.380
	3º	Olor	55.12	33.640
4	1º	Normales	60.37	12.587
	2º	"	70.87	13.659
	3º	Olor	70.25	32.185
5	1º	Normales	63.00	13.060
	2º	"	71.92	13.983
	3º	Olor	69.95	32.699
6	1º	Normales	42.05	13.075
	2º	"	45.67	13.626
	3º	Olor	42	33.445
7	1º	Normales	66.15	14.529
	2º	"	70.35	15.068
	3º	Olor	72.5	35.960

PEJERREY

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
8	1º	Normales	63.15	12.841
	2º	"	70.06	13.819
	3º	Olor	68.25	31.845
9	1º	Normales	42,75	12.937
	2º	"	45.97	13.376
	3º	Olor	41.42	31.555
Promedio	1º		56.54	13.632
	2º		62.10	14.367
	3º		61.13	33.060

CORVINA

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
1	1º	Normales	44.10	12.640
	2º	"	47.25	13.251
	3º	Olor	59.25	21.999
2	1º	Normales	36.50	9.029
	2º	"	36.75	10.154
	3º	"	48.30	16.378
	4º	Olor intenso	59.05	38.535
3	1º	Normales	45.05	11.980
	2º	"	45.15	11.140
	3º	"	54.90	15.850
	4º	Olor intenso	59.00	33.967
4	1º	Normales	44.05	12.474
	2º	"	47.25	13.178
	3º	Olor	59.26	21.112
5	1º	Normales	37.75	9.297
	2º	"	38.05	10.327
	3º	"	49.35	16.077
	4º	Olor intenso	58.50	39.235
6	1º	Normales	47.25	12.017
	2º	"	47.27	12.037
	3º	"	57.00	16.159
	4º	Olor intenso	60.05	35.744

CORVINA

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
7	1º	Normales	51.45	9.192
	2º	"	55.65	11.790
	3º	"	61.95	16.490
	4º	Olor intenso	60.90	40.957
8	1º	Normales	53.50	12.240
	2º	"	57.75	13.690
	3º	"	57.75	13.702
	4º	Olor	63.00	23.052
9	1º	Normales	52.50	9.795
	2º	"	56.17	11.279
	3º	"	63.00	15.972
	4º	Olor intenso	63.50	37.655
PROMEDIO	1º		45.79	10.962
	2º		47.91	11.871
	3º		56.75	17.082
	4º		60.57	35.592

MERLUZA

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
1	1º	Normales	23.62	8.877
	2º	"	23.67	9.104
	3º	Olor	29.07	20.977
2	1º	Normales	20.88	11.853
	2º	"	23.10	12.374
	3º	Olor	36.67	30.759
3	1º	Normales	21.72	9.007
	2º	"	23.10	9.265
	3º	Olor	29.12	21.992
4	1º	Normales	20.	9.716
	2º	"	24.15	10.073
	3º	Olor	24.29	21.997
5	1º	Normales	25.2	10.198
	2º	"	26.25	11.549
	3º	Olor	26.25	25.789
6	1º	Normales	22.05	9.205
	2º	"	26.25	10.263
	3º	Olor	24.26	21.274
7	1º	Normales	24.15	9.971
	2º	"	26.25	11.038
	3º	Olor	26.25	26.832

MERLUZA

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
8	1º	Normales	21.98	11.653
	2º	"	24.64	12.185
	3º	Olor	27.79	29.589
9	1º	Sospechosos	26.068	20.563
	2º	Olor	30.8	29.848
	3º	Olor intenso	35.28	73.718
10	1º	Sospechosos	28.65	19.839
	2º	Olor	29.92	30.912
	3º	Olor intenso	36.09	<u>69.798</u>
Promedio de las ocho primeras muestras	1º		22.45	10.060
	2º		24.67	10.731
	3º		26.71	24.901

Nota:

Las muestras N° 9 y 10 se adquirieron estando ya evisceradas.-

ANCHOA

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
1	1º	Normales	49.35	14.986
	2º	"	52.50	15.492
	3º	"	57.75	17.328
	4º	Olor	62.50	25.550
2	1º	Normales	52.50	15.042
	2º	"	53.55	15.593
	3º	"	59.85	17.680
	4º	Olor	63.00	21.570
3	1º	Normales	52.50	14.875
	2º	"	57.75	15.785
	3º	Olor	63.00	23.093
4	1º	Normales	46.20	13.869
	2º	"	48.30	13.594
	3º	"	52.70	13.966
	4º	Olor	60.50	20.554
5	1º	Normales	45.50	13.154
	2º	"	46.20	13.689
	3º	"	52.50	14.745
	4º	Olor	58.90	22.573
Promedio	1º		49.21	14.385
	2º		51.66	14.830
	3º		57.16	17.362
	4º		61.22	22.562

BESUGO COLORADO

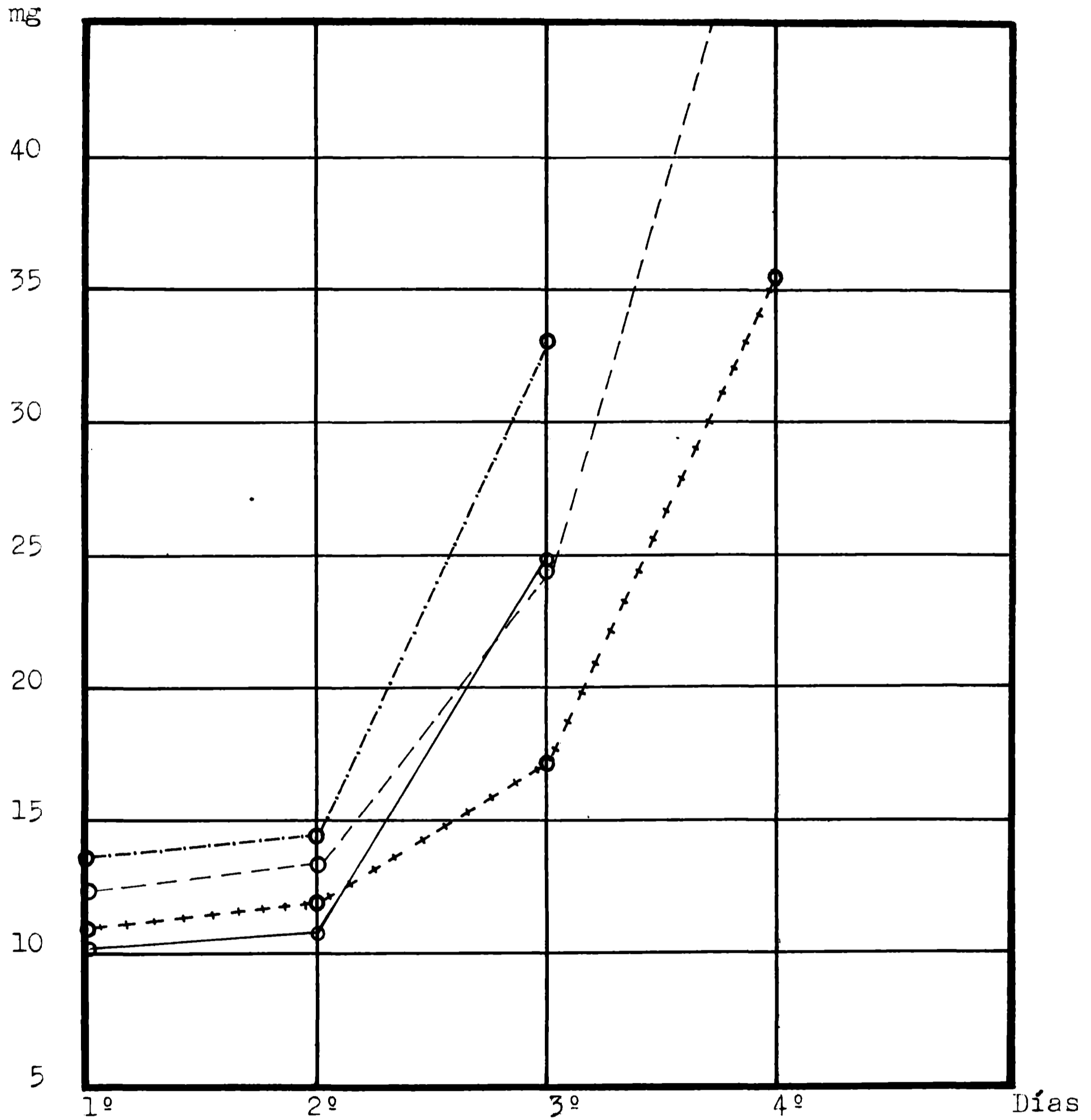
Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg. %	N básico volátil mg %
1	1º	Normales	58.75	18.123
	2º	"	60.90	20.332
	3º	Olor	63.00	29.524
2	1º	Normales	57.75	16.432
	2º	"	57.75	16.672
	3º	Olor	63.00	24.325
3	1º	Normales	63.00	17.052
	2º	"	63.00	17.250
	3º	"	66.15	18.935
	4º	Olor	68.75	30.257
4	1º	Normales	66.15	19.098
	2º	"	57.75	20.072
	3º	Olor	64.05	23.904
5	1º	Normales	65.10	17.734
	2º	Normales	57.75	18.953
	3º	Olor	58.80	23.548
Promedio	1º		62.15	17.688
	2º		59.43	18.655
	3º		63.00	24.047
	4º		68.75	30.257

PESCADILLA REAL

Muestra N°	Día	Caracteres	N titulable al formol mg %	N básico volátil mg %
1	1º	Normales	21.00	11.281
	2º	Normales	23.10	12.775
	3º	Olor	26.25	21.025
2	1º	Normales	23.10	11.606
	2º	"	23.10	12.645
	3º	Olor	24.15	20.180
3	1º	Normales	21.00	11.866
	2º	"	23.65	12.552
	3º	Olor	26.25	20.986
Promedio	1º		21.70	11.584
	2º		23.28	12.657
	3º		25.55	20.730

NITROGENO BASICO VOLATIL

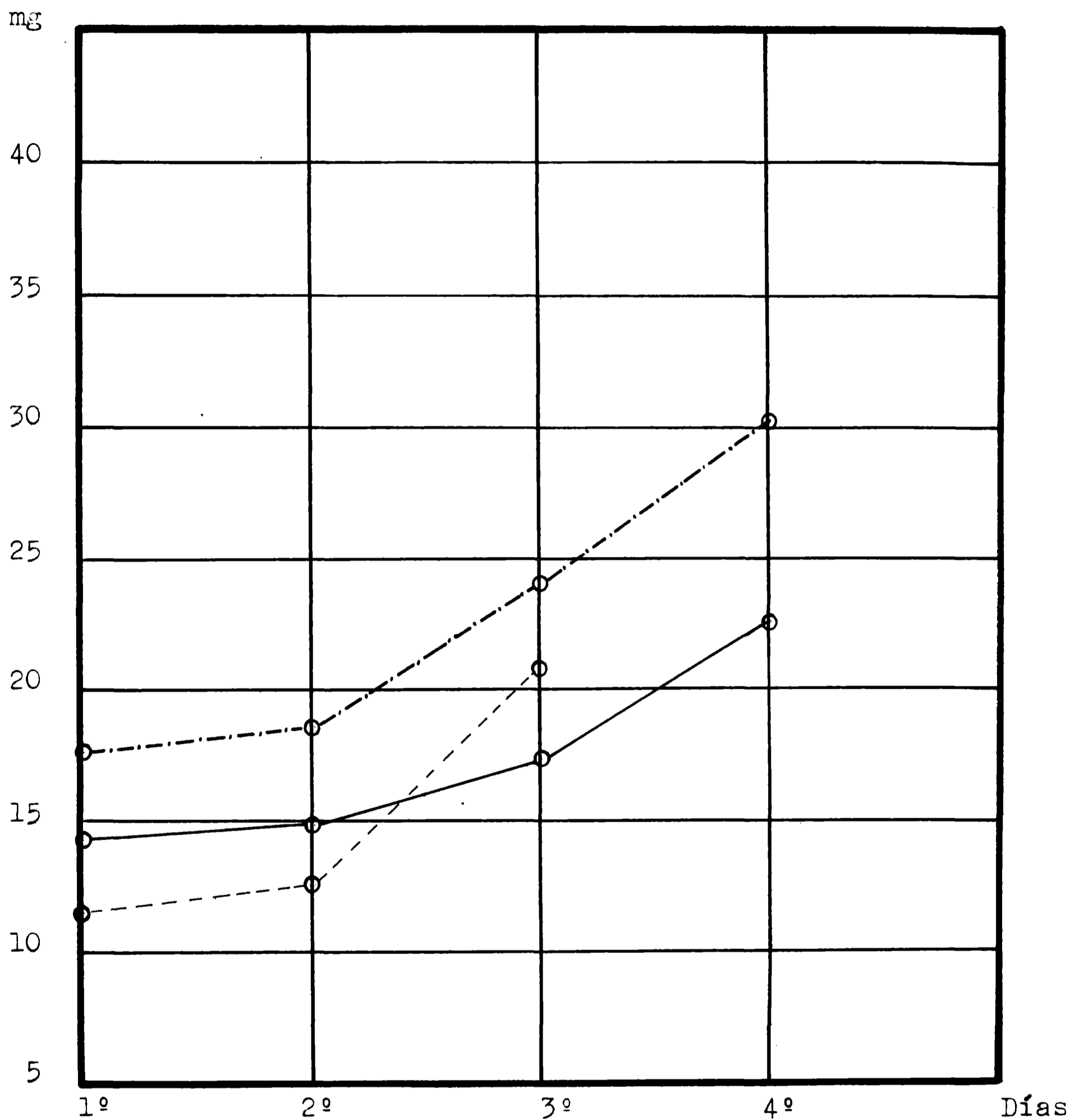
Valores promedios de diversas especies
mg %



----- pescadilla
-.-.-.-.- pejerrey
————— merluza
+ + + + corvina

NITROGENO BASICO VOLATIL

Valores promedios de diversas especies
mg %

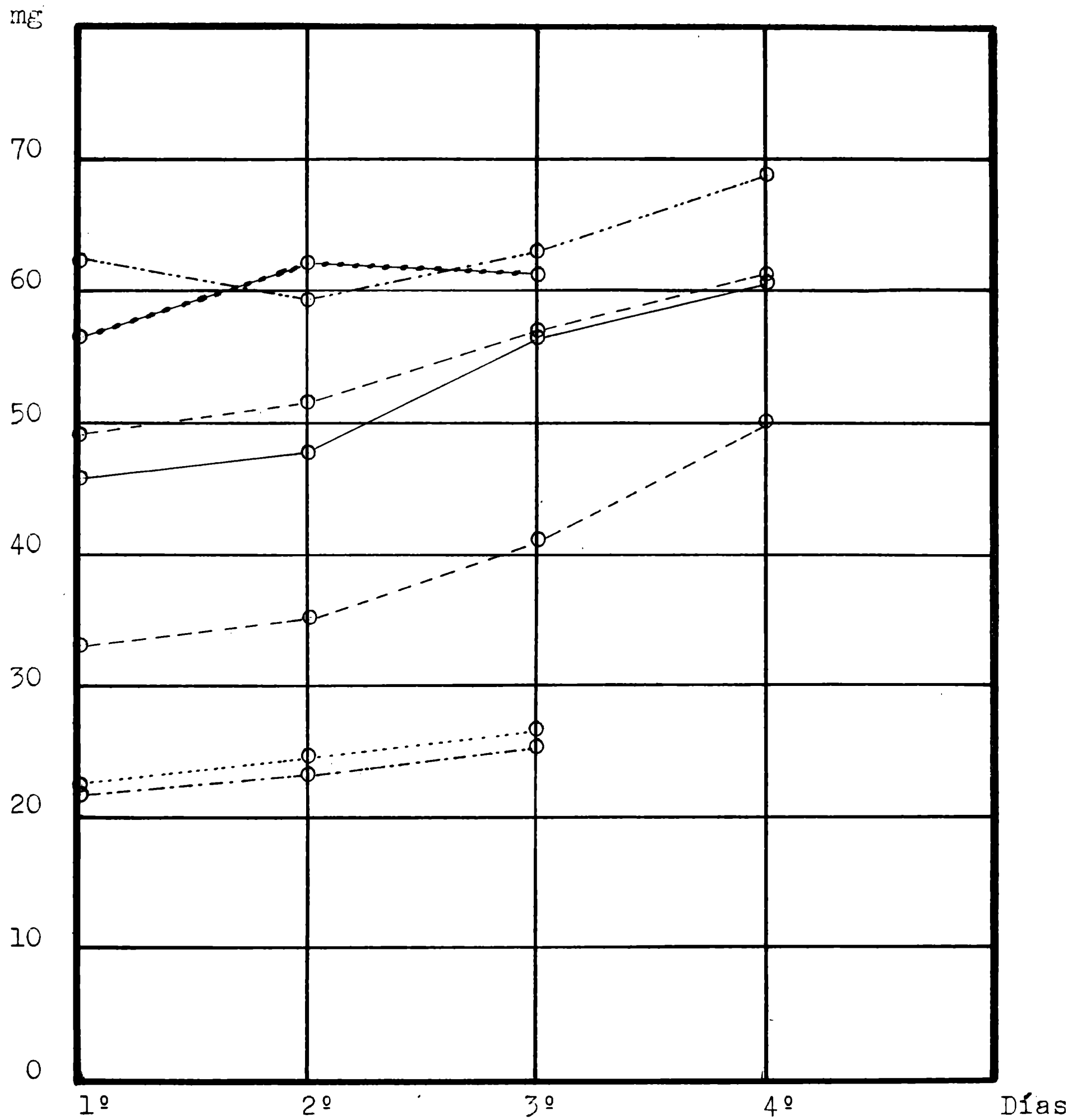


----- pescadilla real
-.-.-.-.- besugo colorado
———— anchoa

NITROGENO TITULABLE AL FORMOL

Valores promedios de diversas especies

mg %



- pescadilla real
- . - . - . besugo colorado
- pescadilla
- pejerrey
- merluza
- corvina
- anchoa

CAPITULO VII

ESTUDIO CRITICO DE LOS RESULTADOS

Resumiremos en este capítulo las consideraciones que hemos ido efectuando anteriormente al final de cada prueba.-

Respecto al recuento de gérmenes, se observa que a medida que el grado de frescura disminuye, su número en general aumenta considerablemente. Pero el método carece de rapidez; además a veces se obtienen resultados inconstantes y dispares cuya interpretación no es muy segura. Por otra parte es muy difícil delimitar cifras entre pescado fresco y descompuesto, como lo demuestran también las opiniones de los distintos investigadores, que aún no se han puesto de acuerdo respecto al número inicial de gérmenes, que indicaría el rechazo del pescado para la alimentación.-

La prueba de la reducción del azul de metileno, en nuestras manos, no ha dado resultado y todo parece indicar que no es susceptible de ser aplicada a las carnes de pescado, ya que los resultados negativos obtenidos con los pescados putrefactos nos autorizan a sostener tal afirmación.-

La determinación de la viscosidad de los extractos no es recomendable. Su eficacia no podría demostrarse, porque los valores obtenidos con los pescados frescos, invaden los límites de los descompuestos y vice-versa.-

El pH, ejecutado directamente sobre la muestra de carne, es capaz de aportar datos e indicaciones útiles, pero su sola determinación carece de valor absoluto para juzgar la descomposición incipiente del pescado. Se observan en general fluctuaciones individuales, que no permiten delimitar valores exactos entre los distintos

estados de conservación en que se halla el pescado. Por eso recomendamos su empleo como complemento de otras pruebas.-

La reacción de Eber nos ha dado resultado positivo en todos los casos, por cuya razón podríamos afirmar que tal reacción en los pescados no debiera ser aplicada, ya que carece de toda precisión y su positividad no es siempre índice de un verdadero proceso de putrefacción.-

La investigación cualitativa del ácido sulfhídrico en las distintas formas como se practica comúnmente, tampoco permite apreciar la calidad del pescado. La determinación cuantitativa por comparación de las tiras de papel reactivo, con una escala tipo no satisface mayormente.-

La reacción de Walkiewicz también se ha mostrado inadecuada para revelar los primeros estados de alteración del pescado: se han obtenido siempre resultados positivos.-

La reacción del biuret sólo permite revelar un estado avanzado de descomposición.-

Las pruebas efectuadas sobre el extracto acuoso, preconizadas por Andrejewsky y Katrandjief, carecen de todo valor aplicadas a los pescados. De acuerdo con los resultados obtenidos en nuestras experiencias, podemos manifestar que la absorción de iodo no está en razón directa con la alteración, como lo manifiesta Katrandjief, pues hemos observado a menudo una absorción mayor en los pescados frescos que en los visiblemente alterados. En algunas especies la liberación del colorante se obtiene casi inmediatamente en los primeros tubos y por otra parte los resultados obtenidos son variables y a veces contradictorios.-

La investigación del amoníaco por medio del reactivo de Nessler, se ha mostrado también inútil para diagnosticar la putrefacción incipiente.-

No obstante que, el método de Sorensen da una medida global de los aminoácidos, sales amoniacales, compuestos salinos de las aminas primarias y secundarias y ciertos cuerpos aminados pertenecientes al grupo de los polipéptidos, como se trata de seguir comparativamente la marcha progresiva de la alteración, los resultados que se obtienen son igualmente significativos.-

La determinación de los aminoácidos y cuerpos afines por la técnica de Goiffon, nos muestra que el nitrógeno titulable al formol varía mucho de una especie a otra y dentro de la misma especie, se notan a veces variaciones individuales considerables.-

Si bien en la mayoría de los casos se observa un aumento progresivo del nitrógeno titulable al formol con la marcha de la alteración, a menudo se han obtenido idénticos resultados para una muestra en buen estado y un pescado con visibles signos de alteración; en otros casos se ha llegado a obtener valores más bajos para muestras de pescados putrefactos que para aquellos relativamente frescos. A veces mostró tendencia a disminuir en la descomposición avanzada.-

La inconstancia que revelan los resultados hace que esta determinación no pueda constituir de un modo absoluto, un índice eficaz que marque el comienzo de la alteración en los pescados. No obstante lo cual, podría suministrar útiles informaciones asociándola con alguna otra determinación.-

La evaluación del tenor en nitrógeno básico volátil total, por destilación al vacío, utilizando carbonato de litio como alcalinizante, es el único ensayo que ofrece a nuestro juicio, una base segura y puede aplicarse en forma satisfactoria para poder determinar el grado de alteración de los pescados.-

La determinación del nitrógeno básico volátil nos da el total, correspondiente al nitrógeno amoniacal y al de las aminas pri

marías, secundarias y terciarias, cuya mayor proporción corresponde a la trimetilamina.-

Los resultados obtenidos se han mostrado uniformes a través de las investigaciones efectuadas con las distintas especies. Se observa un aumento correlativo en el nitrógeno básico volátil, a medida que la descomposición del pescado avanza, coincidiendo el punto brusco de aumento con la aparición del olor desagradable.-

Por otra parte la cantidad inicial de bases volátiles, varía ligeramente en las distintas especies, por lo que es conveniente conocer en cada caso la cantidad que corresponde a cada una en su estado fresco, como índice para poder juzgar su estado de conservación.-

Podría considerarse que alrededor de 20 mg de nitrógeno de bases volátiles totales por 100 g de carne fresca, constituiría la cantidad crítica para considerar a los pescados impropios para la alimentación humana.-

Los ensayos de recuperación de nitrógeno amoniacal con solución tipo, nos permiten afirmar que el dispositivo empleado, ofrece a nuestro juicio, mayores seguridades y exactitud que los otros utilizados para tal fin. Además su manejo fácil y su rápido lavado, permite realizar determinaciones en serie.-

El método utilizado presenta la ventaja de operar con pequeñas cantidades de reactivos, además de haber reducido el tiempo de destilación a 45 minutos.-

* * * * *
 * * * * *
 *

CAPITULO VIII

CONCLUSIONES

1º.- La determinación de las bases volátiles totales, por destilación al vacío, constituye el mejor método para dar indicaciones exactas del estado de conservación del pescado.-

2º.- Alrededor de 20 mg de nitrógeno básico volátil total, constituiría la cantidad crítica para considerar el pescado en estado de sechable.-

3º.- Conviene conocer los valores de las bases volátiles, que corresponden a cada especie en su estado fresco, como índice para poder interpretar con más exactitud los resultados obtenidos.-

4º.- El dispositivo adoptado para efectuar la destilación presenta sobre los otros utilizados para tal fin, la ventaja de una mayor exactitud, que asociada a la sencillez de su manejo y presteza en su lavado, hacen que sea recomendable para ejecutar ensayos en serie.-

5º.- La determinación de los aminoácidos junto con las otras sustancias titulables al formol, si bien es capaz de dar útil información, no puede certificar de un modo absoluto los primeros estados de descomposición del pescado.-

6º.- Igual cosa podemos decir del pH.-

7º.- Ciertos métodos tales como la reacción de Eber y las determinaciones cualitativas del ácido sulfhídrico en la forma como se practican comúnmente, resultan inútiles y convendría eliminarlas de la práctica.-

Lo mismo podemos decir respecto a la absorción de iodo y las otras reacciones efectuadas sobre la maceración acuosa de carne de pescado.-

José A. Paladino

CAPITULO IX

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

- ✕ 1. Lahille, Rev. Centro Est. Agr. Vet. Univ. Bs. As., 1928, 21, N°136, pag. 64
- ✓ 2. Escudero, Sagastume y Pezzani, Contribución al estudio de los pescados argentinos. Terceiro Congresso Sul-Americano de Chimica. Río de Janeiro, 1937, VI, 308.-
- ✕ 3. Callegaro, Contribución al estudio de las carnes y aceites de pescados argentinos. Tesis. Univ. Nac. de La Plata, Fac. de Quím y Far, 1942.
- ✕ 4. Cabral y Kopatschek, Determinación de los principales componentes químicos, de las especies de pescados comestibles procedentes de aguas argentinas que se encuentran con más frecuencia en nuestros mercados, Univ. Nac. La Plata, Fac. Med. Vet. 1942.-
 - 5, Clark and Almy, J. Biol. Chem., 1918, 33 pág. 483.-
 6. Echeverría, Carne y leche, 1935, 8(1) N°12, pág. 237.-
 7. Charpenak, Balachowa et Gourieva, Voprossy Pitania, 1937. 6, pág. 34-36 de Chimie et Industrie, 1938, 39 pág. 765.-
 8. Schlic, Kälte Ind., 1934, de Bull. Inst. Intern, froid, 1935 pág. 37
 9. Reay, J. Soc. Chem. Ind., 54; Chemistry and Ind. 1935, 13, pág. 145-48.-
 10. Pieltre, Inspection des viandes et des aliments d'origine carnée, 1921-22, II tomo. París.-
 11. Monvoisin, Rev. Gen. Froid, 1933, 14, N°2 pág. 30-35.-
 12. Stewart, J. Soc. Chem. Ind, 1934, 53 pág. 273 T.-
 13. Clark and Almy, J. Ind. Eng. Chem, 1920, 12 pág. 657.-
 14. Eakins, Military Meat and Dairy Hygiene, 1934.-
 15. Stansby and Lemon, U.S. Fish. Wildlife Service, Research Rept. 1941, 1, pág. 1-46 de Chem. Abstracts, 1942, 36 pág. 2942.-
 16. Fiedler, Fishery Ind. U.S. Admin. Report, 1935, N°24 pág. 87.-
 17. Fitzgerald and Conway, Am. J. Pub. Health, 1937, 27 pág. 1094.-
 18. Salmon et Le Gall, Rev. des Trav. de l'office de Pêches mariti-

mes, 1936, 9, N°33, pag. 57.-

19. Schoenberg, Ber. Tier. Wochschr., 1931, N°5, pag. 65.-

20. Riddel, Brocklesby et Pugsley, Biol. Board. of Can., Progress. Report, N°33, pag. 13 - 17. 1937, de Bull. Inst. Intern. froid, 1938, 19, pag. 43.

21. Fiedler, Fishery Ind. U.S. Admin. Report, 1937, N°32, pag. 187.-

22. Hjorth-Hansen, Tids. Kjemi Bergvescu. 1935, 15, pag. 153, de Chim. et Ind. 1936, 36, pag. 1065.-

23. Poller und Linneweh, Ber. 1926, 59, pag. 1362-65.-

24. Watson, J. Fisheries Research Board. Can. 1939, 4, pag. 252-66, de Chem. Abstracts, 1939, 33, pag. 5440.-

25. Lintzel, Peiffer und Zippel, Biochem. Z. 1939, 301, pag. 29-36, de Biol. Abstracts, 1940, 14, pag. 4637.-

26. Brocklesby, Contrib. Can. Biol. Fisheries, 1933, 7, 507-19, de Chem. Abstracts, 1933, 27, 2832.-

27. Edelman, Text Book of Meat Hygiene. 7th ed. Filadelfia 1939.-

28. Hunter, J. Bac. 1920, 5, pag. 353.-

29. Hunter, J. Bac. 1922, 7, pag. 85.-

30. Hunter, Am. J. Hyg. 1922, 2, pag. 368.-

31. Fellers, Univ. Wash. Publ. in Fisheries, 1926, 1, pag. 157-88.-

32. Wood and Ferguson, Panph. Aust. Counc. Sci. and Ind. Res. 1940, 100, pag. 1-92, de Biol. Abstracts, 1941, 15, pag. 10974.-

33. Wundran y Schoenberg, La Carne, 1931, 4, pag. 38.-

34. Schoenberg, Z. Fleisch. Milchhyg. 1932, pag. 211, de La Carne, 1932, 5, pag. 96.-

35. Bedford, Biol. Board. Can. Progress. Rep. of Pacif. Biol. Stat. 1931, N°11, pag. 14, de Bull. Intern. Renseig. Frigor. 1933, N°3, pag. 523.-

36. Fiebiger, Wien. Tier. Monass. 1925, pag. 369, de Rev. Gén. Méd. Vet. 1926, 35, pag. 32.-

37. Hintersatz, Ber. Tier. Wochschr. 1931, de La Carne, 1931, 4, pag. 347.-

38. Bertolini e Penso, L'inspezione sanitaria degli animali da cor-

tile della salvaggine, delle carni conservati e dei prodotti della pesca, Roma. 1936.-

39. Weinzirl and Newton, Am. J. Pub. Health, 1914, 4, pag. 408-12, de **E. R. S.** 1914, 31, pag. 854.-

40. Griffiths, Food Research, 1937, 2, pag. 121-34, de Chem. Abstracts, 1937, 31, pag. 6752.-

41. Tillmans and Mildner, Z. Nahr. Genussm. 1916, 32, pag. 65-75, de Chem. Abstracts, 1917, 11, pag. 1696.-

42. Strohecker, Chem. Zt. 1920, 44, pag. 744, de Chem. Abstracts, 1921, 15, pag. 2678.-

43. Tillmans, Strohecker and Schütze, Z. Nahr. Genussm. 1921, 42, pag. 65-75, de Chem. Abstracts, 1922, 16, pag. 444.-

44. Tillmans and Otto, Z. Nahr. Genussm. 1924, 47, pag. 25-37, de Chem. Abstracts, 1924, 18, pag. 1862.-

45. Arbenz, Mitt, Lebensm. Hyg. 1925, 16, pag. 84-95, de Chem. Abstracts, 1925, 19, pag. 2988.-

46. Boury et Schwinte, Rev. de Trav. de l'office de Pêches Maritimes, 1935, 8, pag. 282.-

47. Schoenberg und Debclic, Ber, Tier. Wochschr. 1933, 49, pag. 396.-

48. Van de Velde, Natuurmet. Tijdschr. 1937, 19, pag. 41-48, de Chem. et Ind. 1938, 39, pag. 971.-

49. Benson, J. Biol. Chem. 1928, 78, pag. 583-90.-

50. Poluecktoff, Z. Fleisch. Milchhyg. 1933, pag. 121-25, de La Carne, 1933, 6, pag. 89.-

51. Charnley and Goard, Can. J. Research, 1942, 20, Sec. D pag. 20-32.-

52. Vasslow, Z. Fleisch. Milchhyg. 1930, N°17, pag. 357, de La Carne, 1930, 3, pag. 321.-

53. Stansby and Lemon, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 1933, 5, pag. 208-11.-

54. Fiedler, Fishery, Ind. U. S. Admin. Report, 1938, N°37, pag. 202.-

55. Fiedler, Fishery, Ind. U. S. Admin. Report, 1939, N°41, pag. 222.-

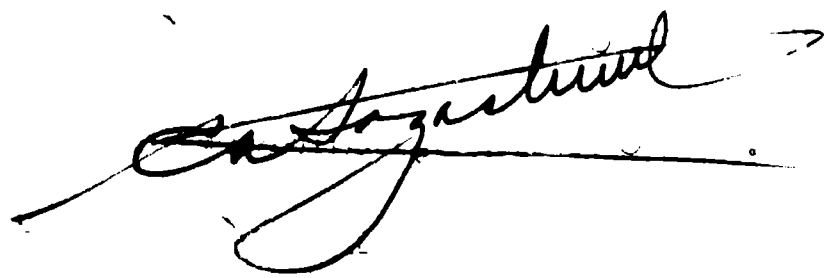
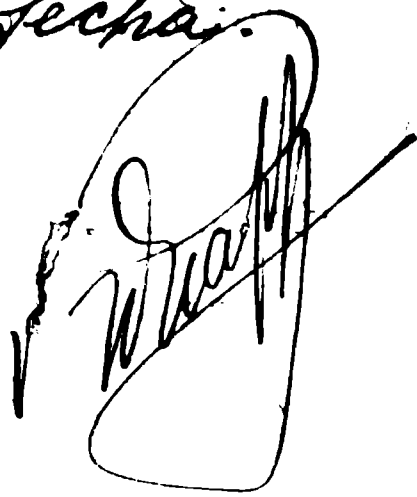
56. Okuda, Intern. Congr. Appl. Chem. 1912, vol. 18, pag. 276.-
57. Froidevaux, Ann. fals. 1925, 18, pag. 83-97 y 151-161.-
58. Labranca e Pistelli, Ann. igiene, 1932, 42, pag. 677-82.-
59. Riffart, Z. Nahr. Genussm. 1922, 44, pag. 225-39, de Chem. Abstracts, 1923, 17, pag. 1284.-
60. Luttge et Mertz, Z. Untersuch. nahr. Genussm. 1924, 48, pag. 451-52, de Chem. et Ind. 1925, 14, pag. 215.-
61. Bradley and Bailey, Food Research, 1940, 5, pag. 487-93.-
62. Issoglio, La Chimica degli Alimenti, 1927, tomo I y II.-
63. Pennington and Greenlee, J. Am. Chem. Soc. 1910, 32, pag. 561.-
64. Clark and Almy, J. Assoc. Official Agri. Chem. 1917, 2, II, pag. 231.-
65. Steel and Gies, J. Biol. Chem. 1908-9, 5, pag. 71.-
66. Folin and Denis, J. Biol. Chem. 1912, 11, pag. 527.-
67. Hinard, Ann. fals. 1922, 15, pag. 72-79.-
68. Froidevaux, Compt. Rend. 1923, 177, pag. 1043.-
69. Froidevaux, Ann. fals. 1924, 17, pag. 72.-
70. Leclère, Compt. Rend. Soc. biol. 1917, 80, pag. 959-62.-
71. Muchlinsky, Z. Fleisch. Milchhyg. 1929, 39, pag. 189-91, de Ann. Chim. Anal. Chim. Appl. 1930, 12, pag. 51.-
72. Okoloff, Z. Untersuch. Lebensm. 1932, 63, pag. 129-54, de Chem. Abstracts, 1932, 26, pag. 5667.-
73. Lücke et Geidel, Z. Untersuch. Lebensm. 1935, 70, pag. 441, de Chim. et Ind. 1936, 36, pag. 815.-
74. Beatty and Gibbons, J. Biol. Board. Can. 1936, 3, pag. 77-91, de Chem. Abstracts, 1937, 31, pag. 3581.-
75. Conway and Byrne, Biochem. J. 1933, 27, pag. 419-29, de Chem. Abstracts, 1933, 27, pag. 3857.-
76. Schewan, Dept. Sci. Ind. Research (Brit.) Rept Food Invest. Board 1938, pag. 79-87, de Chem. Abstracts, 1940, 34, pag. 2944.-
77. Tarr, Nature, 1938, 142, pag. 1078.-

78. Eiichi **Tanikawa**, Bull.Soc.Sci.Hyg.Aliment.1938,26,pag.149-58.-
79. Hol'mov, Voprossy Pitaniya,1939,8,pag.73-80, de Chem.Abstacts, 1941,35,pag.217.-
80. Glassmann et Rochwarger, Z.Untersuch Lebensm,1929,58,pag.585-92, de Ann.fals.1930,23,pag.307.-
81. Folin, J.Biol.Chem.1917,29,pag.329.-
82. Firsov, Voprossy Pitaniya,1937,6,pag.74-78, de Chem.Abstacts, 1938,32,pag,3040.-
83. Rettger, J.Biol.Chem.1906, pag.71.-
84. Allen's, Commercial Organic Analysis Fifth Ed.London.1937,T,IX.
85. Almy, J.Am.Chem.Soc.1925,47,pag.1381.-
86. Scala, Applicazioni di Fisica e Chimica all'igiene.Torino,1926.
87. Pavlov, Voprossy Pitania,1935,4,pag.103-10, de Chem.et Ind.1936, 36,pag.1010.-
88. Diemair, Strohecker und Keller, Z.Anal.Chem.1939,115,pag.385.-
89. Budacjan, Z.Untersuch Lebensm.1932,64,pag,226, de Industria Chimica,1933,8,pag.200.-
90. Clough, Univ.Wash.Thesis,1922,195-272, de Chem.Abstacts,1923, 17,pag.3550.-
91. Clough, Shostrom and Clark, Univ.Wash.Publ.in Fisheries,1925,1, pag.101-8.-
92. Fellers and Clough, J.Bac.1925,10,pag.105-33.-
93. Stenberg, Rokhlina and schillinger, Voprossy Pitania,1938,7,pag. 137-47, de Chem.et Ind.1940,43,pag.338.-
94. Hillig and Clark, J.Assoc.Official Agri.Chem.1938,21,pag.688.-
95. Dyer, J.Biol.Chem.1917,28,pag.445-73.-
96. Scala et Bonamartini, Ann.igiene,1909,pag.113, de Ann.fals.1910, 3,pag.126.-
97. Strohecker, Vaubel und Kirchberg, Z.Anal.Chem.1937,110,pag.1-11.
98. Egorova, Rybnoe Khoz,1939,N°5,pag.23-6, de Chem.Abstacts,1940

99. Holaday, J. Assoc. Official Agri. Chem. 1939, N°2, pag. 418-20.-
100. Fiedler, Fishery Ind. U.S. Admin. Report, 1935, N°24, pag. 83.-
101. Katrandjiev, Compt. rend. soc. biol. 1928, 99, pag. 112.-
102. Katrandjiev, Compt. rend. soc. biol. 1928, 99, pag. 115.-
103. Mendonca Machado, Repos. de Travail, do Lab. de Patol. Veter. 1932, 2, pag. 120-81.-
104. Walkiewicz, Rec. Med. Vet. 1939, 115, pag. 385.-
105. Bonnet et Nevot, Travaux pratiques de Bactériologie. Paris, 1936.
106. Stich, Bacteriología y esterilización. Barcelona. 1923.-
107. Michaelis, Manuel de Techniques de physico-chimie. Paris. 1923.-
108. Smolensky, Traité d'hygiène. Paris. 1904.
109. Bertolini e Cazzella, Ispezione delle Carni. Igiene generale. 1928
110. Katrandjiev, Rev. gén. méd. Vét. 1929, 38, pag. 641-59.-
111. Lafenêtre et Dedieu, Technique systematique de l'inspection des viandes de boucherie. 1936.-
112. Goiffon, Etude Clinique de l'équilibre Acide-Base par l'analyse d'urine. Paris. 1932.-
113. Folín, Manual práctico de Análisis biológicos. 1930.-
114. Parnas und Heller, Biochem. Z. 1924, 152, pag. 1.-
115. Nico, Datos sobre los protidos séricos. Tesis. Univ. Nac. La Plata Fac. Quim. Farm. 1938.-
116. Folín, J. Biol. Chem. 1932, 97, pag. 141.-

La Plata, Octubre 7 de 1943

De acuerdo con lo dispuesto en el Art 88 inciso e) del Reglamento en vigencia, designase a los señores profesores D^{res.} Vicente Colobran, Arturo Solari, Alfredo Sanguinetti, Humberto Giroman Battista, para que con la presidencia del suscripto, constituyan la comisión que deberá estudiar el presente trabajo de tesis, dentro del término de veinte días partir de la fecha.



La Plata, Octubre 28 de 1943

Reunido el Jurado designado para dictaminar sobre la aceptación o rechazo del trabajo de tesis presentado por el ex alumno del Doctorado en Química y Farmacia, don José Armandito Saladino, titulado "Estudio sobre el grado de conservación de los pescados", tema oportunamente aprobado por el Consejo Académico, por unanimidad de votos resuelve aceptarlo.

Acto seguido se procede a discutir la calificación que el trabajo merece, resolviéndose calificarlo con la nota de: 20 por ciento

H. Giroman Battista

