REVITECA

Revista en Tecnología y Ciencia Alimentaria

Publicación Anual del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos * Volumen 6- 1997 *

ISSN 1022-0321

REVITECA

Revista en Tecnología y Ciencia Alimentaria

ISSN 1022-0321

Publicación Anual del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos * Volumen 6- 1997 *

DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DEL COCO (*Coco nucifera L.*) RALLADO DESHIDRATADO SEGUN EL PARDEAMIENTO NO-ENZIMATICO

Página 1

Composición química del huevo de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*) y evaluación de su calidad física y microbiológica durante su almacenamiento

Se determinó la composición química de los huevos de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*) y se evaluó su calidad física y microbiológica durante el almacenamiento a 5 °C y 25 °C y a una humedad relativa de 92 %.

Página 10

Percepción y uso de fecha de duración mínima en los alimentos preenvasados

Ciento cincuenta y ocho consumidores y treinta y cuatro técnicos fueron encuestados para evaluar su percepción y su uso de la fecha de duración mínima en los productos preenvasados.

Página 20

Evaluación de la estabilidad del surimi elaborado con FACA sometido a ciclos sucesivos de congelación-descongelación

Se evaluó el efecto de ciclos repetitivos de congelación-descongelación sobre la calidad del surimi elaborado con fauna acompañante del camarón blanco o rosado, a través de la medición de las siguientes propiedades reológicas: fuerza de compresión, fuerza de penetració, deformación, fluido expresible y doblado.

Página 25

Efecto de la luz, el oxígeno, el tiempo de reacción y el pH en el proceso de obtención de nitrosil hemocromo a partir de la sangre de res

El propósito de este trabajo fue definir las condiciones de establización química de la sangre y evaluar el efecto de la luz, el oxígeno, el pH y el tiempo de reacción en el proceso de obtención de nitrosil hemocromo a partir de la sangre del ganado vacuno de la raza Brahman.

Página 33

REVITECA

Revista en Tecnología y Ciencia Alimentaria

Volumen 6 - 1997

ISSN 1022-0321

Revista Anual publicada por el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora del CITA
Gisela Kopper Arguedas

Editor
Ricardo Quirós Castro

Consejo Editorial
M. Sc. Gisela Kopper Arguedas
M. Sc. Ruth De la Asunción Romero
Ana Ruth Bonilla Leiva, Ph. D.
Lic. Vera García Cortes

Diseño de Portada
Ricardo Quirós Castro

Diagramación
Guiselle Cascante Salazar

La responsabilidad de los trabajos firmados es de sus autores y no del CITA, excepto cuando se indique expresamente lo contrario.

La mención de cualquier empresa o procedimiento patentado no supone su aprobación por parte del CITA.

Los artículos incluidos en REVITECA pueden reproducirse libremente siempre y cuando se haga mención expresa de su procedencia y se envíe copia al Consejo Editorial.

Correspondencia por canje y suscripciones Universidad de Costa Rica - Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos REVITECA
San José - Costa Rica
Email: citaucr@cariari.ucr.ac.cr.
Tels. 207-3067 / 207-3031 / 207-3057 / 207-4212 / 207-4701

La presente edición de REVITECA es patrocinada por Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Determinación de la estabiliad del coco (*Cocos nucifera L.*) rallado deshidratado según el pardeamiento no-enzimático **1**

Gisela KOPPER ARGUEDAS

Composición química del huevo de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*) y evaluación de su calidad física y microbiológica durante su almacenamiento **10**

Randall MORA CASTRO
Ana Cecilia CHAVES QUIROS
Carlos H. HERRERA RAMIREZ

Percepción y uso de la fecha de duración mínima en los alimentos preenvasados **20**

Adriana BLANCO METZLER
Carlos PANIAGUA VASQUEZ
Rafael MONGE ROJAS
Leda MUÑOZ GARCIA
Sandra CHAVEZ DELGADO
Rodolfo VEGA CARDONA

Evaluación de la estabilidad del surimi elaborado con FACA sometido a ciclos sucesivos de congelación-descongelación **25**

Ronald MONTIEL MASIS
Sandra CALDERON VILLAPLANA
Carlos H. HERRERA RAMIREZ

Efecto de la luz, el oxígeno, el tiempo de reacción y el pH en el proceso de obtención de nitrosil hemocromo a partir de la sangre de res **33**

Susanne ARTIÑANO HANGEN
Carlos H. HERRERA RAMIREZ

DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DEL COCO (*Cocos nucifera L.*) RALLADO DESHIDRATADO SEGUN EL PARDEAMIENTO NO-ENZIMATICO

Gisela KOPPER-ARGUEDAS (*) y Mark H.- LOVE (**)

ABSTRACT

ASSESSING THE STABILITY OF DEHYDRATED SHREDDED COCONUT (*Cocos nucifera L.*) TO NON-ENZYMATIC BROWNING

Color change, in addition to other reactions, limits the shelf-life of dehydrated, shredded coconut. The stability of dehydrated, shredded coconut was studied by measuring the effects of temperature and moisture content on the rates of non-enzymatic browning. Coconuts from plants of the hybrid cultivar MAYPAN were used.

An accelerated shelf-life study was made on samples at an a_w of 0.3, stored in sealed glass vials at 30, 40 and 50 °C and held under 15 W fluorescent light. Samples were evaluated for color change and headspace volatile composition. The 50 °C study was repeated with product at an a_w of 0,4. Increasing the a_w from 0,3 to 0,4 did not affect the deterioration rates. Zero order rate constants for non-enzymatic browning in dehydrated coconut were enhanced at 50 °C. Energies of activation for color change were 36,4 kcal/mole for the Hunter a-value and 43,2 kcal/mole for the Hunter b-value. The Q_{10}s for 40-50 °C were 6,2 and 8.7 for *a*- and *b*- values, respectively. The Q_{10}s for 30-40 °C were 1,2 and 1,3 for *a*- and *b*-values. Characteristic volatile compounds such as hexanal, heptanol, heptanone and 2-undecanone were present. Low molecular weight volatiles were present in increasing amounts during storage, probably arising from the non-enzymatic browning reactions.

(*) M.Sc. Tecnología de Alimentos. Escuela de Tecnología de Alimentos. UCR

(**) Profesor Asociado. Iowa State University.

RESUMEN

El cambio de color, además de otras reacciones, limita la vida útil del coco rallado deshidratado. Se estudió la estabilidad de coco rallado deshidratado mediante la medición del efecto de la temperatura y el contenido de humedad en el pardeamiento no-enzimático. Se utilizaron cocos de plantas del cultivar híbrido MAYPAN en el estudio de vida útil acelerado en muestras con un a_w de 0,3, almacenadas en frascos de vidrio a 30, 40 y 50 °C bajo luz fluorescente de 15 W. Se evaluó el cambio de color y la composición volátil del espacio de cabeza de las muestras. El estudio a 50 °C se repitió en muestras con un a_w de 0,4. Las constantes de reacción de orden cero para pardeamiento no-enzimático se incrementaron a 50 °C. La energía de activación para el cambio de color en el coco rallado deshidratado fue de 36,4 kcal/mol para el valor -*a* del Hunter y 43,2 kcal/mol para el valor -*b* del Hunter. Los Q_{10}s para el rango de 40-50°C fueron de 6,2 y 8,7 para los valores -*a* y -*b* respectivamente. Los Q_{10}s para el rango de 30-40 °C fueron de 1,2 y 1,3 para los valores -*a* y -*b* respectivamente. Se encontraron presentes en las muestras compuestos volátiles característicos como hexanal, heptanol, heptanona y 2-undecanona. Durante el almacenamiento aparecieron en cantidades crecientes compuestos volátiles de bajo peso molecular, probablemente producto de las reacciones de pardeamiento no-enzimático.

INTRODUCCION

El coco (*Cocos nucifera L.*) es una de las nueces de mayor utilización en el mundo. Asia ha dominado la producción mundial de coco, siendo Filipinas, Sri Lanka, Indonesia, India y Tailandia los mayores suplidores de coco deshidratado (Pineda, 1993).

En la década de los 70's se fomentó en Costa Rica la investigación respectiva con miras a incentivar la producción local. Se introdujeron nuevos cultivares, se fomentó la producción y se brindó asistencia técnica. De esta manera, Costa Rica actualmente exporta coco fresco y deshidratado principalmente a USA, Inglaterra y Holanda. Si bien las exportaciones aumentaron, la mayoría de la producción es para consumo local en la fabricación de jabones y cosméticos y como producto deshidratado para productos de confitería, pastelería y lácteos (Pineda, 1993). Actualmente la producción de coco en el país ha disminuido por diversas razones, especialmente la ausencia de asistencia técnica en su industrialización (SEPSA, 1997).

El bajo contenido de humedad del coco deshidratado le confiere una gran barrera al deterioro microbiológico. Sin embargo, la alta concentración de solutos como lípidos, azúcares y proteínas propicia el deterioro químico por diversas reacciones. Los principales factores que pueden afectar la estabilidad durante el almacenamiento del coco deshidratado son la rancidez de los lípidos y el pardeamiento no-enzimático.

El pardeamiento no-enzimático involucra el fenómeno de la caramelización y la interacción de las proteinas o aminas con los carbohidratos. Esta última corresponde a la reacción de Maillard y es responsable de cambios durante el almacenamiento de muchos productos alimenticios que afectan sus propiedades físicas, funcionales, sensoriales y nutricionales. Otra reacción conocida como la degradación de Strecker involucra la interacción de compuesto a dicarbonilos y a amino ácidos en la producción de una serie de productos volátiles como aldehidos y piracinas que contribuyen con aromas y sabores, agradables en algunos casos y desagradables en otros cuando aparecen durante el almacenamiento (Whistler y Daniel, 1985). El control tanto de la reacción de Maillard como la degradación de Strecker es importante no solo por su contribución adversa al sabor y olor sino también por la posible toxicidad de algunos de los productos (Jagerstad *et al.*, 1983; Barnes *et al.*, 1983). Las reacciones de pardeamiento no-enzimático han sido evaluadas como limitantes de la vida útil de muchos productos deshidratados (Labuza, 1980; Labuza y Saltmarch, 1981; Ringe y Love, 1988; Driscoll, 1995) pero no se han reportado datos sobre su efecto en coco deshidratado.

El objetivo del presente estudio es evaluar la reacción de pardeamiento no-enzimático como un factor de deterioro limitante en la vida útil del coco deshidratado, con el fin de contribuir a mejorar la calidad del que actualmente se produce e incrementar su estabilidad durante el almacenamiento y distribución.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron cocos de la variedad híbrida MAYPAN (Enano Malasino Dorado X Alto de Jamaica) cosechados en 1996-1997 en la provincia Atlántica de Limón , Costa Rica.

Los cocos recién cosechados fueron pelados manualmente, lavados y escurridos. Se rallaron en un rallador de disco con apertura de 3,16 mm (The Hobart MFG Co., Tray, OH). Las ralladuras se secaron en un secador de bandejas (The National Drying Machinery Co., Philadelphia, PA) en capas de 2,5 cm a 60 °C hasta un contenido de humedad final de 1,5 % aproximadamente. Se empacó en bolsas de plástico laminado para su posterior estudio. Un lote de coco rallado deshidratado se

roció con agua y se dejó equilibrar en bolsas de polietileno hasta un valor de a_w de 0,3. Se tomaron muestras de 20 g de coco y se colocaron en frascos de vidrio de 100 ml sellados con septos de hule con cubierta de Teflon y sello de aluminio con el centro removible (Supelco Inc., Bellefonte, PA) y se almacenaron en cámaras de temperatura controlada a 30, 40 y 50 °C bajo luz fluorescente de 15 W. Diez puntos de muestreo por triplicado se obtuvieron para cada temperatura de almacenamiento. El muestreo se realizó cada dos días a 50 °C, cada cuatro días a 40 °C y cada ocho días a 30 °C. El estudio a 50 °C se repitió con muestras de coco equilibradas a un a_w de 0,4 aproximadamente. Las muestras se analizaron según el contenido de compuestos volátiles en su espacio de cabeza por cromatografía de gases y el cambio en color se monitoreó en un espectrocolorímetro Hunter LabScan (Hunter Assosiates Laboratory, Inc., Reston, VA). El análisis de los compuestos volátiles fue realizado en un cromatógrafo de gases Varian 3700 (Varian Co., Palo Alto, CA) equipado con un detector de llama y un integrador Hewlett-Packard 3390A (Hewlett Packard Co., Avondale, PA). Se utilizó una columna capilar DB-5 (0,25 mm i.d.X 30m) de silica (1,0 mm grosor) (J&W Scientific, Folsom, CA). Las temperaturas del inyector y del detector se fijaron a 130 °C y 230 °C respectivamente. Se utilizó un programa de temperatura de 50 °C a 220 °C, 10 °C/min con dos minutos sostenidos al inicio a 50 °C. El flujo de la columna fue de 1 mL/min y el flujo total (columna más el nitrógeno como gas portador) fue de 30 mL/min. El flujo del hidrógeno y el aire fue de 30 y 300 mL/min respectivamente. La sensibilidad del detector se fijó en $1X10^{-12}$ amp/s. Se inyectó la muestra con una jeringa hermética de 2,5 mL siguiendo el método de trampa fría con nitrógeno líquido para análisis estático del espacio de cabeza descrito por Wilson *et al.* (1992). Cada análisis del espacio de cabeza se realizó por triplicado, extrayéndose una muestra de cada uno de las tres frascos. Después de cada inyección, la jeringa se limpió en un limpiador de jeringas (Hamilton Co., Reno, NV.). Para la detección de octanol y otros volátiles, se utilizaron estándares analíticos (Aldrich, Milwaukee, WI) para establecer los tiempos de retención de cada estandar bajo estas condiciones cromatográficas.

El cambio en color se monitoreó en un espectrocolorímetro Hunter LabScan (Hunter Assosiates Laboratory, Inc., Reston, VA) configurado con un ángulo de campo de 10° y una abertura de 25 mm. Antes de cada medición, el intrumento se calibró con un azulejo estandar blanco y otro negro para el 100 y 0 en la escala L respectivamente. Para nivelar la superficie de la muestra, colocada en frascos Petri de vidrio con tapa, antes de la lectura se rotó 90° y se dejó caer 10 veces de una distancia de 1 cm.

Los parámetros cinéticos (energía de activación, constantes de reacción k y Q_{10}) se calcularon a partir del análisis de regresión lineal basado en un modelo de orden cero, donde las pendientes de las líneas de regresión (por duplicado) corresponden al valor k. La energía de activación Ea se calculó de la ecuación de Arrhenius:

$$k = k_o e^{-Ea/RT}$$

donde k= constante de reacción, ko = factor de frecuencia, Ea = energía de activación (cal/mol), R= constante de los gases ideales y T = temperatura de reacción (°K). El Q_{10} se calculó de la siguiente ecuación:

$$\log Q_{10} = \frac{2.2\ Ea}{T\ (T+10)}$$

Donde Ea = energía de activación en cal/mol y
T = temperatura en °K

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio para analizar los efectos del tiempo, la temperatura y la actividad de agua en el pardeamiento no-enzimático del coco rallado deshidratado. El análisis de regresión lineal fue realizado con el sistema SAS (1990) y la diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre las pendientes se determinó mediante la prueba t-Student.

RESULTADOS Y DISCUSION

El coco rallado deshidratado mostró un cambio significativo en el color durante el almacenamiento a diferentes condiciones. Su composición incluye los sustratos necesarios para las reacciones de pardeamiento no-enzimático tales como proteínas y sustancias reductoras como glucosa y fructosa, así como aldehidos y cetonas productos de las oxidaciones de los lípidos durante el almacenamiento (Labuza, 1993; Hidalgo y Zamora, 1993).

A 30 y 40°C el efecto de la temperatura no fue diferente ($p \leq 0,05$). A 50 °C la reacción de oscurecimiento se incrementó significativamente ($p \leq 0,05$), el producto cambió de su color blanco característico a tonos amarillos y rojos (Figuras 1 y 2). Estos cambios visuales se representan efectivamente por el incremento en el valor -*a* (rojo) y -*b* (amarillo) detectados en el colorímetro Hunter Lab. El valor L no cambió significativamente ($p \leq 0,05$) con la temperatura, el a_w y el tiempo durante el almacenamiento.

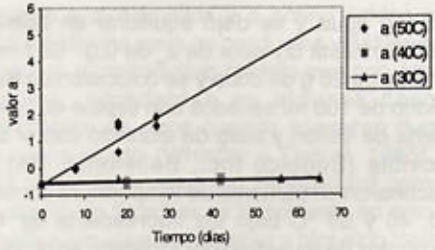


Figura 1. Cambio de color (valor *a*-) durante el almacenamiento del coco rallado deshidratado con un a_w = 0,3 bajo temperaturas de 30, 40 y 50 °C

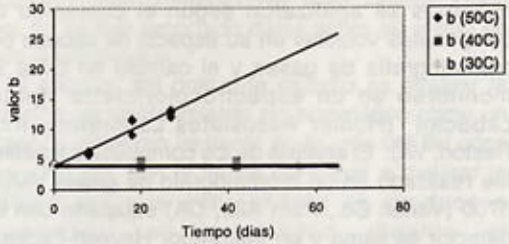


Figura 2. Cambio de color (valor *b*-) durante el almacenamiento del coco rallado deshidratado con un a_w = 0,3 bajo temperaturas de 30, 40 y 50 °C

Se obtuvieron reacciones de orden cero para describir el desarrollo del oscurecimiento en el coco deshidratado. Este orden también ha sido reportado para otros alimentos (Labuza y Saltmarch, 1978; Ringe y Love, 1988; Rupusas y Driscoll, 1995; Waletzko y Labuza, 1976).

El efecto del incremento en la actividad de agua (de 0,3 a 0,4) en la reacción de pardeamiento no fue significativa ($p \leq 0,05$). Aunque la correlación entre el oscurecimiento y el contenido de humedad ha sido reportada en varios estudios (Mizrahi *et al.*, 1970; Ringe y Love, 1988; Labuza y Saltmarch,

1981), no fue este el caso del coco en el rango de a_w evaluado.

El efecto de la temperatura en el cambio de color se observa claramente al comparar los valores de las constantes de reacción a las diferentes temperaturas estudiadas, donde los valores a 50 °C son hasta 3 veces mayores que las correspondientes a 40 y 30 °C (Cuadros 1 y 2). El efecto de la temperatura en las constantes de reacción a 30 y 40 °C no son diferentes ($p \leq 0,05$) pero si es diferente ($p \leq 0,05$) entre 40 y 50 °C.

Cuadro 1. Constantes de reacción (k) del pardeamiento no-enzimático (valor *a*-) en coco rallado deshidratado almacenado a diferentes temperaturas y a_w

Temperatura (°C)	k	Error estandar	R^2
50 (a_w=0,4)[y]	0,107	4,47 X 10^{-3}	0,996
50 (a_w=0.3)[y]	0,092	1,06 X 10^{-2}	0,974
40 (a_w=0.3)[x]	0,003	6,19 X 10^{-4}	0,966
30 (a_w=0.3)[x]	0,002	1,31 X 10^{-3}	0,551

[y x] letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$)

Cuadro 2. Constantes de reacción (k) del pardeamiento no-enzimático (valor *b*-) en coco rallado deshidratado almacenado a diferentes temperaturas y a_w

Temperatura (°C)	k	Error estandar	R^2
50 (a_w=0,4)[y]	0,360	1,24 X 10^{-1}	0,898
50 (a_w=0,3)[y]	0,335	3,46 X 10^{-2}	0,980
40 (a_w=0,3)[x]	0,003	1,9 X 10^{-5}	1,000
30 (a_w=0,3)[x]	0,004	5,4 X 10^{-3}	0,184

[y x] letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa ($P \leq 0,05$)

Se presentan las gráficas de Arrhenius correspondientes al desarrollo del color pardo (valores *a*- y *b*-) en las Figuras 3 y 4. Las desviaciones que aparecen en las relaciones de Arrhenius se pueden deber a variaciones en el mecanismo de reacción o como resultado de la heterogenicidad del sistema, un ajuste perfecto raramente se encuentra en datos biológicos (Waletzko y Labuza, 1976).

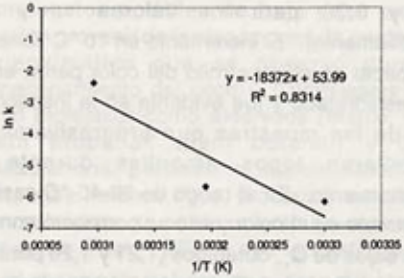


Figura 3. Gráfica de Arrhenius del pardeamiento no-enzimático (valor *a*-) em coco rallado deshidratado almacenado a 30, 40 y 50 °C

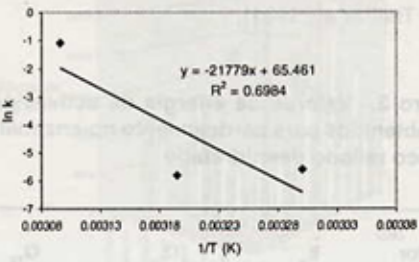


Figura 4. Gráfica de Arrhenius del pardeamiento no-enzimático (valor *b*-) en coco rallado deshidratado almacenado a 30, 40 y 50 °C

La energía de activación obtenida (36,4 kcal/mol para el valor a- y 43,2 kcal/mol para el valor *b*-) cae en el rango (10-47 kcal/mol) reportado para las reacciones de pardeamiento por varios autores (Labuza y Saltmarch, 1978; Resnik y Chirife, 1979; Thai et al, 1991; Hidalgo y Zamora, 1993; Marquez y Anon, 1986; Steet y Tong, 1996).

Los valores de Q_{10} obtenidos difieren según el rango de temperatura (Cuadro 3). Los valores superiores se encontraron en el rango de 40-50 °C (6,14 y 8,73 para los valores *a*- y *b*- respectivamente). El incremento en 10 °C tiene un alto impacto en el desarrollo del color pardo en el coco deshidratado y fue evidente en la inspección visual de las muestras que progresivamente desarrollaron tonos amarillos durante el almacenamiento. En el rango de 30-40 °C casi no hubo cambio en el color y ello se corroboró con los valores bajos de Q_{10} obtenidos (1,21 y 1,26 para los valores *a*- y *b*- respectivamente). Los valores de Q_{10} reportados para el pardeamiento no-enzimático en alimentos caen en el rango de 1-8 pero el rango de temperatura no es especificado usualmente (Labuza y Saltmarch, 1981; Rupusas y Driscoll, 1995; Thai *et al.*, 1991).

Cuadro 3. Valores de energía de activación y Q10 obtenidos para pardeamiento no-enzimático en coco rallado deshidratado

Valor	E_a (kcal/mol)	Q_{10} (30-40 °C)	Q_{10} (40-50°C)
a-	36,40	1,21	6,19
b-	43,25	1,26	8,73

Las reacciones de deterioro observadas durante el almacenamiento de coco incluye pardeamiento no-enzimático, hidrólisis y oxidación de lípidos. Todas estas reacciones son responsables por una amplia variedad de compuestos volátiles que determinan los aromas rancios en alimentos (Love, 1996; Hamilton, 1994; Fors, 1983).

El análisis del perfil cromatográfico de los volátiles durante el estudio de almacenamiento se realizó de muestras almacenadas a diferentes tiempos y temperaturas. Hexanal y 2-undecanona fueron los compuestos que claramente siguieron un patrón durante el almacenamiento (Figura 5). El hexanal es producto de la oxidación del linoleato (Love, 1996; Nawar, 1996) y la metil cetona se puede formar principalmente de reacciones hidrolíticas (Hamilton, 1994). La presencia de 2-undecanona en coco rancio es atribuida al deterioro por hongos en el producto (Halton y Kinderlerer, 1991); sin embargo, la baja actividad de agua del coco en estudio (0,3 y 0,4) no permite el crecimiento de hongos, por lo tanto la producción de 2-undecanona se puede deber a la actividad hidrolítica de las lipasas. En la Figura 6 se observa el aumento en la producción de 2-undecanona durante el almacenamiento a 50 °C. También se ha considerado que las reacciones hidrolíticas, incluyendo lipólisis, proveen ácidos oleico y linoleico libres que pueden oxidarse rápidamente (Hamilton, 1984).

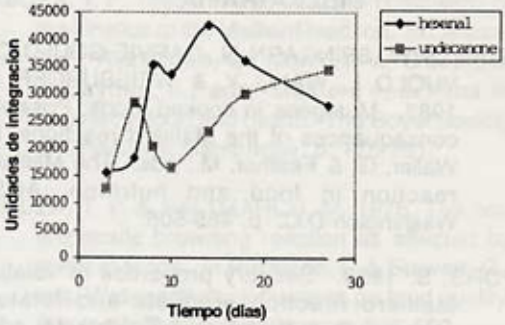


Figura 5. Presencia de hexanal y 2-undecanona en el espacio de cabeza del coco rallado deshidratado almacenado a 50 °C

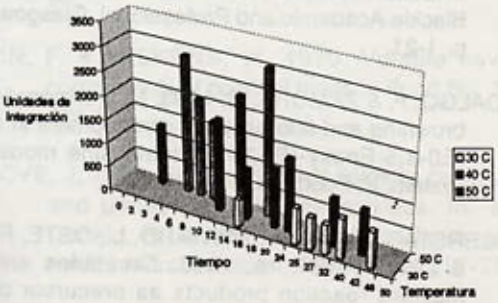


Figura 6. Presencia de 2-undecanona en el espacio de cabeza de coco rallado deshidratado durante el el alamacenamiento a 30, 40 y 50 °C a_w = 0,3)

Algunos de los volátiles presentes en el coco y desarrollados durante el almacenamiento (Figura 7) pueden ser producto del rompimiento de los hidroperóxidos de ácido oleico y linoleico (Nawar, 1996).

Adicionalmente a estos compuestos, una amplia variedad de compuestos volátiles de bajo peso molecular fueron apareciendo durante el almacenamiento y llegaron a constituir la mayoría del área. Se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,05$) en la concentración de volátiles de bajo peso molecular en el espacio-cabeza del coco después de 12 días de almacenamiento a 50 °C (Figura 6). y después de 32 días a 40 °C. No se encontró diferencia en la concentración de volátiles durante el almacenamiento a 30 °C. Estos compuestos volátiles de bajo peso molecular pueden provenir de las reacciones de pardeamiento no-enzimático que se observó durante el almacenamiento del coco. Compuestos de bajo peso molecular como aldehidos (etanal, butanal, metil propanal, metil butanal) y cetonas (butadienona, pentadiona, hidroxi-hexanotriona) son, entre muchos otros, productos reportados de las reacciones de pardeamiento no-enzimático en alimentos (Fors, 1983) y podrían estar presentes en el espacio de cabeza en el caso del coco.

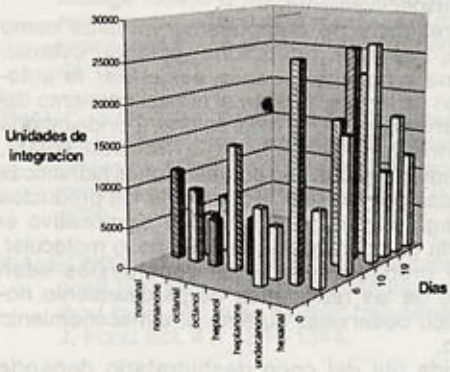


Figura 7. Compuestos volátiles en el espacio de cabeza de coco rallado deshidratado almacenado a 50 °C

CONCLUSIONES

El estudio de almacenamiento del coco rallado deshidratado con diferentes contenidos de humedad bajo diferentes temperaturas reveló que el pardeamiento no-enzimático es una reacción de deterioro importante en este producto.

Durante el almacenamiento a alta temperatura, la producción del pigmento pardo siguió el patrón de una reacción de orden cero. Este orden ha sido reportado también para otros alimentos. A 50 °C la reacción de pardeamiento se vio acelerada significativamente y el coco cambió su característico color blanco a uno de tonos amarillos y rojos. Aunque otros autores han reportado correlaciones positivas entre pardeamiento no-enzimático y el contenido de humedad, en el coco, el efecto no fue significativo en el rango estudiado (a_w= 0,3 a 0,4).

La energía de activación de la reacción de pardeamiento en coco fue de 36,4 kcal/mol para el valor *a*- y 43,2 kcal/mol para el valor *b*- del Hunter y ambos valores caen en el rango reportado por varios autores para otros alimentos. Los valores de Q_{10} obtenidos varían considerablemente según el rango de temperaturas utilizados en su cálculo. El Q_{10} para el rango de 40-50 °C fue de 6,19 y 8,73 para los valores *a*- y *b*- respectivamente, mientras que el Q_{10} para 30-40 °Cfue de 1,21 y 1,26 para los valores *a*- y *b*- respectivamente.

La presencia de compuestos volátiles como hexanal, heptanol, heptanona, octanol, octanal, nonanona y nonanal pueden evidenciar la auto-oxidación de lípidos durante el almacenamiento del coco deshidratado. Una metil cetona, 2-undecanona fue identificada también en la fracción volátil, probablemente producida por reacciones hidrolíticas catalizadas por lipasas. Además de los productos de la degradación de lípidos, fue significativo el desarrollo de compuestos de bajo peso molecular. Es muy probable que estos compuestos sean producto de las reacciones de pardeamiento no-enzimático observado durante el almacenamiento del coco.

La vida útil del coco deshidratado depende significativamente de la temperatura de almacenamiento, por lo cual se debe dar especial atención a las condiciones de almacenamiento durante la distribución y el mercadeo del mismo.

BIBLIOGRAFIA

BARNES, W., SPINGARN, N., GARVIE-GOULD, C., VUOLO, L., WANG, Y. & WEISBURGER, J. 1983. Mutagens in cooked foods: Possible consequences of the Maillard reactions. In Waller, G. & Feather, M., eds. The Maillard reaction in food and nutrition. ACS, Washington D.C. p. 485-506.

FORS, S. 1983. Sensory properties of volatile Maillard reaction products and related compounds. In Waller, G. & Feather, M., eds. Rancidity in foods. The Maillard reaction in food and nutrition. ACS, Washington D.C. p. 486-286.

HAMILTON, R. J. 1994. The chemistry of rancidity in foods. In Allen, J. C. & Hamilton, R. J., eds. Blackie Academic and Professional, Glasgow. p. 1-21.

HIDALGO, F. & ZAMORA, R. 1993. Non-enzymatic browning and fluorescence development in a (E0-4,5-Epoxy-(E)-2-heptenal/lysine model system. J. Food Sci. 58: 667- 670.

JAGERSTAD, M., REUTERWWARD, L., OSTE, R. & DHALOVIST, A. 1983. Creatinine and Maillard reaction products as precursor of mutagenic compounds formed in fried beef. In Waller, G. & Feather, M., eds. The Maillard reaction in food and nutrition. ACS, Washington D.C. p. 507-519.

KINDERLERER, J. & HATTON, P.V. 1991. The effect of temperature, water activity and sorbic acid on ketone rancidity produced by *Penicillium crustosum* Thom in coconut and palm kernel oils. J. Appl. Bacteriol. 70: 502-506.

LABUZA T. P. 1980. The effect of water activity on reaction kinetics in food deterioration. Food Tech. 34: 36-38.

LABUZA, T. P. 1993. Interpreting the complexity of the kinetics of the Maillard reaction. In Labuza, T. P.; Reineccius, G.; Monnier, V.; O'Brian, J. & Baynes, J., eds. Maillard reactions in chemistry, food and health. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p. 176-181.

LABUZA, T. P. & SALTMARCH, M. 1978. The non enzymatic browning reaction as affected by water in foods. In Rockland, L. & Stewart, G., eds. Water activity: influences on food quality. Academic Press, New York. p. 605-650.

LABUZA, T.P. & SALTMARCH, M. 1981. Kinetics of browning and protein quality loss in whey powders during steady state and non steady state storage conditions. J. Food Sci. 47: 92-96.

LIN, F. & WILKENS, W. 1970. Volatile flavor components of coconut meat. J. Food Sci. 35: 538-539.

LOVE, J. 1996. Contributions of lipids to desirable and undesirable flavors in foods. In Mc Donald, R. & Min, D., ed. Food lipids and health. Marcell Dekker, New York. p 287-314.

MARQUEZ, G. & ANON, M.C. 1986. Influence of reducing sugars and amino acids in the color development of fried potatoes. J. Food Sci . 51: 157-160.

MIZRAHI, S., LABUZA, T.P. & KAREL, M. 1970. Computer-aided predictions of extent of browning in dehydrated cabbage. J. Food Sci. 35:799-803.

NAWAR, W. 1996. Lipids. In Fennema, O., ed. Food Chemistry. 3 ed. Marcel Dekker, New York. p. 225-314.

PINEDA, M. 1993. Desarrollo de un producto deshidratado a partir de coco. Tesis Lic. en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica, Escuela de Tecnología de Alimentos. San José.

RESNIK, S. & CHIRIFE, J. 1979. Effect of moisture content and temperature on some aspects of nonenzymatic browning in dehydrated apple. J. Food Sci. 44: 601-605.

RINGE, M.L. & LOVE, M.H. 1988. Kinetics of protein quality change in an extruded cowpea-corn flour blend under varied steady-state storage conditions. J. Food Sci. 53: 584-588.

RUPUSAS, R.S. & DRISCOLL, R. H. 1995. Kinetics of non-enzymatic browning in onion slices during isothermal heating. J. Food Eng. 24: 417-429.

SAS INSTITUTE. 1990. SAS User's Guide: statistics. SAS Institute, Cary, N.C.

SEPSA. 1997. Secretaria Ejecutiva de Planificacion Sectorial Agropecuaria. Boletin Estadistico Numero 8. Ministerio de Agricultura: San Jose, Costa Rica. p. 6-7.

STEET, J. & TONG, C. 1996. Quantification of color change resulting from pheophytinization and nonenzymatic browning reactions in thermally processed green peas. J. Agric. Food Chem. 44: 1531-1537.

THAI, C., KONG, M. & SUN, P. 1991. Water activity and temperature effects on nonenzymic browning of amino acids in dried squid and simulated model system. J. Food Sci. 56:665-670.

WALETZKO, P. & LABUZA, T.P. 1976. Accelerated shelf life testing of an intermediate moisture food in air and in an oxygen free atmosphere. J. Food Sci. 41: 1338-1344.

WHISTLER, R. L. & DANIEL, J. 1985. Carbohydrates. In Fennema, O., ed. Food Chemistry. Marcel Dekker, New York. p. 69-137.

COMPOSICION QUIMICA DEL HUEVO DE TORTUGA LORA (*Lepidochelys olivacea*) Y EVALUACION DE SU CALIDAD FISICA Y MICROBIOLOGICA DURANTE SU ALMACENAMIENTO

Randall MORA-CASTRO (*), Ana Cecilia CHAVES-QUIROS (**) y Carlos H. HERRERA-RAMIREZ (***)

ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITION OF SEA TURTLE EGGS (*Lepidochelys olivacea*) AND EVALUATION OF THEIR PHYSICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY DURING STORAGE

Chemical composition and physical and microbiological quality were determined on sea turtle eggs (*Lepidochelys olivacea*) stored at 5 °C and 25 °C, and 92 % RH.

Turtle eggs had an average weight of 27,9 g, 58,0 % yolk, 38,0 % white and 4,0 % shell. The shell was composed of 37,0 % water, 28,2 % protein and 36,0 % ash. The major component in egg white was water (97,9 %) with a very low proportion of the other components (1,27 % protein, 0,24 % carbohydrates and 0,59 % ash). Yolk chemical composition was: 77,2 % water, 9,80 % protein, 9,60 % lipids, 1,95 % carbohydrates, 1,45 % ash and 0,32 % cholesterol.

Yolk lipids were composed of 32,9 % saturated fatty acids (30,0 % even-numbered and 2,9 % odd-numbered carbon fatty acids), 44,9 % monounsaturated and 13,8 % polyunsaturated fatty acids. The P/S (polyunsaturated/saturated) ratio and the atherogenic index (AI) (12:0 + 4 · 14:0 + 16:0 / monounsaturated + polyunsaturated) of the yolk lipids were 0,42 and 1,01 respectively.

At 25 °C, turtle eggs showed a rapid increase in total bacterial count (TC), reaching a value higher than $1 \cdot 10^6$ CFU/g, the 18th day of storage. At 5 °C, total count was lower than $1 \cdot 10^6$ CFU/g, until the 56th day of storage. No *Salmonella* were found during egg storage.

Turtle eggs did not show significant changes in their weight during storage at 5 °C or 25 °C. Significant changes were found in yolk index (YI) and egg white viscosity during storage at both temperatures; however quality loss was faster at 25 °C. During the study, egg white and yolk showed an increase in pH, similar to what occurs in chicken eggs.

(*) Licenciado en Tecnología de Alimentos. Escuela de Tecnología de Alimentos. UCR.

(**) Licenciada en Biología

(***) M.Sc. Química de Alimentos. Escula de Química. UCR.

RESUMEN

Se determinó la composición química de los huevos de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea)* y se evaluó su calidad física y microbiológica durante el almacenamiento a 5 °C y 25 °C y a una humedad relativa de 92 %.

Se encontró que los huevos de tortuga lora tienen una masa promedio de 27,9 g y están constituidos por un 58,0 % de yema, un 38,0 % de clara y un 4,0 % de cáscara. La cáscara contiene un 37,0 % de humedad, un 28,2 % de proteína y un 36,0 % de materia mineral. En la clara el componente mayoritario es el agua (97,9 %) y una baja proporción de los constituyentes (1,27 % de proteína, 0,24 % de carbohidratos y 0,59 % de materia mineral). La yema está compuesta por un 77,2 % de agua, 9,80 % de proteína, 9,60 % de lípidos, 1,95 % de carbohidratos, 1,45 % de cenizas y un contenido de colesterol de 0,32 %.

La fracción lipídica de la yema de los huevos de tortuga está constituida por un 32,9 % de ácidos grasos saturados, de los cuales un 30,0 % tienen número par de átomos de carbono y un 2,9 % número impar, característicos de los productos de origen marino. La proporción de ácidos grasos monoinsaturados fue de 44,9 % y un 13,8 % de ácidos grasos poliinsaturados, entre los cuales destacan los ácidos 20:5 y 22:5.

Utilizando la composición de los ácidos grasos se determinó la relación P/S (ácidos grasos poliinsaturados / ácidos grasos saturados) e índice de aterogenicidad (IA) (12:0 + 4 · 14:0 + 16:0 / ácidos grasos monoinsaturados + ácidos grasos poliinsaturados) en los huevos de tortuga, obteniéndose valores de 0,42 y 1,01 respectivamente.

Durante el estudio de almacenamiento a 25 °C, los huevos experimentaron un incremento en el recuento total (RT) de bacterias que superó el valor de $1 \cdot 10^6$ UFC/g el día 18 del estudio. A 5 °C, el RT se mantuvo inferior a $1 \cdot 10^6$ UFC/g, hasta el día 56

de almacenamiento. Los huevos no presentaron crecimiento de *Salmonella* durante el estudio.
La masa de los huevos de tortuga no varió significativamente con la temperatura y tiempo de almacenamiento. El índice de yema y la viscosidad de la clara disminuyeron significativamente a través del tiempo, siendo mayor la pérdida de calidad a 25 °C. El pH de la clara y de la yema de los huevos presentaron un incremento significativo con el tiempo y la temperatura de almacenamiento; muy similar al experimentado por los huevos de gallina.

INTRODUCCION

Los huevos han sido utilizados como alimento por el hombre desde tiempos muy antiguos. Contienen valiosos nutrientes en forma concentrada y fácilmente absorbible (Belitz y Grosch, 1988). Los huevos de tortuga marina tienen buena aceptación entre los consumidores costarricenses; su consumo principal se da en forma de "boca" en bares y restaurantes, lo cual no ocurre con los huevos de aves. Por lo tanto hay grandes posibilidades de expandir el mercado de los mismos (Cordero, 1992).

Costa Rica es el único país en el mundo que cuenta con un proyecto de extracción y comercialización legal de huevos de tortuga marina, mediante el Decreto Ejecutivo No. 15403-MAG, del 10 de abril de 1984. Dicho proyecto apoya economicamente a más de 370 personas de la comunidad de Ostional, Guanacaste. La Asociación de Desarrollo Integral de Ostional (ADIO) establecida el 24 de noviembre de 1984, ha manifestado su deseo de lograr un manejo óptimo y sustentable del recurso (Cháves, 1993 a, b). En un estudio de comercialización de los huevos de tortuga realizado por Cordero (1992), se detectaron algunas debilidades en el proyecto; tales como: no existe información científica y técnica sobre las cualidades sensoriales del huevo de tortuga y sus potenciales usos alternativos; el tratamiento y manipulación del huevo de tortuga es ineficiente, lo cual ha provocado una pérdida del producto y de uniformidad en su calidad y además una forma inadecuada de transporte que daña hasta el 50 % de los huevos.

Según se desprende del mismo estudio, el consumo total de huevos de tortuga en Costa Rica en 1991 (basándose sólo en ventas facturadas) fue de 2 663 750 unidades. Por lo anteriormente expuesto y tomando en cuenta la escasa información nutricional sobre huevos de tortuga; una caracterización química de los mismos resulta de gran importancia para el proyecto de Ostional, al igual que el conocimiento del comportamiento físico y microbiológico durante el almacenamieto de los mismos, bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y METODOS

Recolección y manejo de la muestra

La composición química de los huevos de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*) fue determinada en una muestra compuesta de 50 huevos (5 huevos de 10 diferentes tortugas), muestreados en la arribada de julio, 1995. Los huevos se almacenaron con hielo y se transportaron hasta San José. La evaluación de la calidad de los huevos se realizó con una muestra de 600 huevos de tortuga (arribada de agosto, 1995), recolectados del camión que realiza el transporte de los mismos, de Ostional, Guanacaste a San José. El tiempo transcurrido desde que los huevos se recolectaron en Ostional, hasta que llegaron a San José fue de 2 días. Los huevos se separaron en partes iguales y se almacenaron, con la misma arena con que venían empacados desde Ostional, en desecadores conteniendo sulfato de potasio para mantener una humedad relativa del 92 % en ambos tratamientos. Uno de los desecadores se almacenó a 25 °C (tratamiento A) y el otro a 5 °C (tratamiento B) (Chirife y Resnik, 1987).

Composición química de los huevos de tortuga lora

Se separó la cáscara, clara y yema de cada uno de los huevos, se midió su masa en forma individual y se calculó la relación porcentual (%, m/m) de cada uno de esos componentes. Las cáscaras, claras y yemas de los huevos de tortuga fueron almacenados en forma separada a -10 °C para la realización de los análisis químicos por triplicado.

Se determinó el contenido de proteínas, lípidos, humedad y minerales según los métodos descritos por Hart y Johnstone(1984). El contenido de carbohidratos se obtuvo por la diferencia.

Se determinó la composición de los ácidos grasos de los lípidos de la yema por cromatografía de gases, bajo las condiciones detalladas en el Cuadro 1. Las muestras de lípidos fueron transesterificadas utilizando hidróxido de tetrametil amonio al 25 % (m/v) en metanol, según el procedimiento descrito por Metcalfe y Wang (1981).

Se identificaron los diversos ácidos grasos utilizando patrones de la compañía Matreya Inc., conteniendo mezclas de ácidos grasos saturados (Qualmix M 1135 y Qualmix S 1094) e insaturados (PUFA-1 1093 y PUFA-2 1081). Para la cuantificación se utilizó la técnica de estándar interno, utilizando un patrón de ácido decanoico. Haciendo uso de la composición de los ácidos grasos, se determinó la relación P/S y el índice de aterogenicidad de los huevos de tortuga (Acuña, 1995). La extracción y determinación del colesterol de la yema del huevo de tortuga lora fue realizada según los métodos descritos por Bohac, *et al.* (1988) y Schosinsky (1991).

Cuadro 1. Condiciones de operación de cromatógrafo de gases para el análisis d ácidos grasos en los lípidos de la yema de huev de la tortuga lora

Parámetro	Especificación
Cromatógrafo	Gas chromatograph Autosystem Perkin Elmer Model 9000
Procesador	PE Nelson Modelo 1022
Columna capilar	Supelcowax 10 largo 30 m diámetro 0,25 µm espesor 0,25 µm
Detector	Ionización de llama
Temperatura del detector	260 °C
Temperatura del inyector	220 °C
Temperatura de la columna	inicial: 180 °C; 0' final: 240 °C; 15' gradiente: 2 °C/min

Evaluación de la calidad física y microbiológi de los huevos de tortuga lora

Las muestras de huevos almacenadas a 5 °C 25 °C se evaluaron físicamente utilizando cor parámetros la pérdida de masa (g) de los huev el pH de la clara y de la yema, la viscosidad (cP) la clara (viscosímetro Brookfield, modelo DV- usando el "spindle" 1, a 100 rpm, a una temperatu de 24 °C), y el índice de yema (Herrera, 199 Quiñones, 1972) y microbiológicamente por me del recuento total aerobio. Los análisis para amb tratamientos, se realizaron simultaneamente d veces por semana, hasta que el número microorganismos, en el tratamiento A, superó recuento de 1 · 10^6 UFC/g. En muestras sometic a ambos tratamientos se realizaron anális microbiológicos de coliformes fecales y presenci ausencia de *Salmonella*, al inicio y al final del estu (Vanderzant y Splittstoesser, 1992).

Cuadro 4. Tiempos de retención y concentración de los ácidos grasos detectados en la porción lípidica de la yema de huevo de tortuga lora

Acido graso	Nombre común	Tiempo de retención (min)	Concentración (%, m/m)
12:0	Láurico	7,08	0,44
13:0		8,30	0,07
14:0	Mirístico	9,91	10,5
14:1	Miristoleico	10,7	0,45
14:2		10,9	0,21
15:0		11,9	1,05
15:1		13,0	0,11
16:0	Palmítico	14,3	12,6
16:1	Palmitoleico	15,0	9,35
16:2		16,0	0,12
17:0	Margárico	17,8	1,60
18:0	Esteárico	20,1	3,99
18:1(ω-9)	Oleico	20,9	24,1
18:1(ω-11)	Oleico	21,1	4,99
18:2	Linoleico	22,4	0,87
18:3	Linolénico	24,3	0,49
20:1		27,7	1,19
20:2		29,4	0,24
20:3		31,4	3,87
22:0	Behénico	32,9	0,37
22:1	Erúcico	33,8	1,75
20:5		35,0	0,20
22:4		41,3	1,46
22:5		42,6	5,39

Utilizando la composición de los ácidos grasos en el huevo de tortuga, se determinó la relación P/S (ácidos grasos poliinsaturados / ácidos grasos saturados), la cual permite evaluar parcialmente el potencial aterogénico de un alimento. Se obtuvo un valor de 0,42, igual al reportado para los lípidos del huevo de gallina (Cuadro 5). No obstante, según lo investigado por Acuña (1995), la razón P/S es un indicador incompleto del riesgo para desarrollar la arteriosclerosis, por lo que el índice de aterogenicidad (IA) resulta más conveniente, ya que considera la relación entre los ácidos grasos hipercolesterolémicos (12:0, 14:0 y 16:0) y los ácidos grasos con acción protectora (monoinsaturados y poliinsaturados). Considerando lo anterior, se calculó el IA en los lípidos de la yema del huevo de tortuga y se comparó con el del huevo de gallina, lo que permite afirmar que el huevo de tortuga es 1,5 veces más aterogénico que el huevo de gallina. Esta diferencia se debe a la alta concentración de ácido mirístico (14:0) en el huevo de tortuga, ya que su capacidad hipercolesterolémica es cuatro veces mayor que los otros ácidos grasos saturados (12:0 y 16:0) (Acuña, 1995). En el mismo estudio, la carne de res presentó un IA de 0,93, valor cercano al del huevo de tortuga; sin embargo el queso tiene un IA de 3,42, lo cual refleja una capacidad aterogénica más pronunciada que el huevo de tortuga lora (Cuadro 5).

Cuadro 5. Razón P/S e índice de aterogenicidad de los huevos de tortuga en comparación con otros productos alimenticios*

Alimento	P/S	IA
Huevo de tortuga	0,42	1,01
Huevo de gallina*	0,43	0,66
Queso*	0,03	3,42
Cerdo*	0,32	0,55
Res*	0,05	0,93
Pollo*	0,59	0,50

*Acuña, 1995

Evaluación de la calidad física y microbiológica del huevo de tortuga lora

El recuento total de bacterias se usó como control microbiológico de la calidad de los huevos en ambos tratamientos; estableciéndose un valor máximo permisible de $1 \cdot 10^6$ UFC/g (Gesche y Schuler, 1979). Según se observa en el Cuadro 6, para el día 18 el recuento total de bacterias ya superaba el valor establecido para el tratamiento A, mientras que en el tratamiento B el recuento se mantuvo estable. Se determinó una diferencia significativa ($p<0,001$) marcada en las tendencias de ambos tratamientos a través del tiempo, lo cual se manifiesta en las pendientes obtenidas al realizar una regresión en el tiempo, en el modo semilogarítmico (ambas pendientes son significativamente diferentes; $p<0,001$). Lo anterior es lo esperado, ya que una temperatura de 25 °C resulta favorable al crecimiento de microorganismos mesófilos con respecto a la de 5 °C, ya que cuanto más baja sea la temperatura, más lenta será la multiplicación de estos microorganismos (Frazier y Westhoff, 1993). El crecimiento logarítmico ocurre a partir del día 11, por lo cual se recomienda el consumo de huevos de tortuga almacenados a temperatura ambiente, durante los 10 primeros días después de su recolección. Los análisis de *Salmonella* realizados a huevos en ambos tratamientos resultaron negativos, indicando ausencia de la bacteria tanto al inicio como al final del estudio.

Cuadro 6. Recuento total aerobio (UFC/g) de huevo de tortuga lora almacenados a 5 °C y a 25 °C a través del tiempo

Tiempo (días)	*RT (UFC/g)* 5 °C	25 °C
0	$1,2 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$
4	$3,1 \cdot 10^4$	$4,5 \cdot 10^4$
7	$4,4 \cdot 10^4$	$8,0 \cdot 10^4$
11	$5,8 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^5$
14	$7,0 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^6$
18	$1,7 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^6$
Pendiente*	$0,13_a$	027_b

*Pendiente de una regresión en el tiempo, en el modo semilogarítmico

Los recuentos de coliformes totales efectuados se observan en el Cuadro 7. El día 26 del estudio se realizó un recuento de coliformes totales para el tratamiento A el cual es muy similar al del día 0, lo anterior puede deberse a que los microorganismos han alcanzado la etapa de muerte logarítmica, por lo que los recuentos disminuyen considerablemente. A los huevos del tratamiento B se les hizo análisis 56 días después de iniciado el estudio reflejando un recuento de coliformes de 9600 UFC/g, que resulta bajo aunque se encuentren en condiciones de baja temperatura. De lo anterior puede afirmarse que los huevos mantenidos en refrigeración después de dos meses aún cuentan con buena calidad microbiológica.

Análisis estadístico de los resultados

Con el programa estadístico SAS, se realizó un análisis de varianza para determinar la significancia de los efectos simples (temperatura y tiempo) y su interacción, utilizando como variable dependiente el recuento total de bacterias, la masa del huevo, el índice de yema, el pH de la clara y de la yema y la viscosidad de la clara. En los casos donde la interacción de los efectos temperatura y tiempo fue significativa, se realizó un análisis de regresión para estudiar la tendencia de la(s) variable(s) en el tiempo (Freund, 1984).

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición química del huevo de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*)

La relación porcentual de los componentes del huevo de tortuga lora y la composición química de los mismos se muestra en el Cuadro 2; en forma comparativa con los huevos de gallina (Belitz y Grosch, 1988). La masa individual de los huevos de tortuga lora osciló entre 22,2 y 32,0 g, con un valor promedio de 27,9 g; el cual difiere del valor reportado por Marquéz (1990) para la misma especie, que se encuentra entre 30 y 38 g. Esta diferencia puede deberse a variaciones en el grado de madurez o desarrollo de las tortugas (Congdon y Whitfield, 1985). En los huevos de tortuga la yema representa más de la mitad de su masa, la clara oscila desde una tercera parte hasta valores cercanos a la mitad de la masa del huevo y la cáscara representa una relación porcentual muy reducida respecto a la masa total. Al comparar esta información con los huevos de gallina, se observa que la proporción de clara y yema se encuentra prácticamente invertida respecto a los huevos de tortuga. Además, la cáscara del huevo de gallina representa más del doble que en el de tortuga, lo cual indica una mayor porción comestible (clara y yema) en los últimos.

Cuadro 2. Composición química (%, m/m) de los huevos de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*) y de gallina

Parte del huevo	Cáscara	Clara	Yema	Porción Comestible	Cáscara *	Clara *	Yema *	Porción Comestible
Proporción	4,0	38,0	58,0	96,0	10,3	56,9	32,8	89,7
Humedad	37,0	97,9	77,2	85,5	1,6	87,9	48,7	73,1
Proteína	28,2	1,27	9,80	6,40	3,30	10,6	16,6	13,1
Lípidos	nd	nd	9,60	5,75	nd	0,03	32,6	12,0
Glúcidos	nd	0,24	1,95	1,26	nd	0,90	1,0	0,97
Cenizas	36,0	0,59	1,45	1,07	95,1	0,60	1,10	0,78

* Belitz y Grosch,1988
nd: no detectable

No se encontró en la literatura información respecto a la composición química de los huevos de la tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*). Sin embargo, el contenido de lípidos en los huevos de la tortuga lora es similar al de otros huevos de tortuga, tales como *Rhinoclemys pulcherrima* (Castillo, 1986).

El contenido de humedad en los diversos componentes (cáscara, clara y yema) del huevo de tortuga es mayor que los correspondientes en el huevo de gallina. La mayor diferencia se encuentra en la cáscara, ya que el huevo de tortuga contiene un 37 % de humedad, mientras que en el huevo de gallina solamente un 1,6 %. La cáscara de éstos últimos es quebradiza, mientras que la de los huevos de tortuga es pergaminosa, más suave y resistente (Congdon y Whitfield, 1985). La yema del huevo de tortuga contiene un 28,5 % más de humedad que la de gallina. El contenido de humedad en la clara de ambos huevos difiere aproximadamente en un 10 %. El hecho de que el huevo de tortuga lora contenga más agua en todos sus componentes, podría hacerlo más suceptible al ataque de microorganismos. A pesar que la cáscara de los huevos de tortuga no contiene el mismo sistema de poros que la cáscara del huevo de gallina; si posee

una serie de grietas, agujeros y poros, que le confieren una mayor permeabilidad y por ende una mayor velocidad de descomposición (Acuña, 1984 y 1990; Frazier y Westhoff, 1993).

El contenido proteico (28,2 %) es superior en la cáscara del huevo de tortuga que en la del huevo de gallina en una relación de 8:1. Esta diferencia tan marcada se debe a que la cáscara de los huevos de tortuga tiene una capa de fibras proteicas muy gruesa constituida por colágeno o queratina, que le confieren flexibilidad y resistencia a la misma (Acuña, 1990). La clara del huevo de tortuga tiene un contenido muy bajo de proteinas (1,27 %), lo cual se refleja en la baja capacidad de formación de espuma de las mismas (Fennema, 1993). Se encontró que el contenido de proteína de la yema del huevo de tortuga lora es de 9,8 %, lo cual es aproximadamente la mitad del valor que presentan los huevos de gallina (Cuadro 2). Si se considera, la porción comestible (clara y yema) de ambos huevos, se puede afirmar que el huevo de tortuga lora contiene la mitad de proteínas que los de gallina.

Los carbohidratos están presentes en cantidades muy pequeñas en los huevos de tortuga y se encuentran solamente en la clara (0,24 %) y la yema (1,95 %).

El contenido mineral en la cáscara de los huevos de tortuga (36,0 %) es 2,5 veces menor que la cáscara del huevo de gallina, lo cual se compensa con un alto contenido de humedad y de proteínas. La clara y la yema de ambos tipos de huevo contienen aproximadamente la misma cantidad de minerales. Considerando, solamente la parte comestible de los huevos, los de tortuga contienen 1,5 veces más minerales que los de gallina.

La yema del huevo de tortuga contiene un 9,6 % de lípidos, un tercio de los lípidos contenidos en la yema del huevo de gallina. En la cáscara y la clara no se detectó la presencia de estos componentes.

El contenido de colesterol total de la grasa de la yema de los huevos de tortuga lora y de la gallina se detalla en el Cuadro 3. El contenido de colesterol en los lípidos, en la yema y en la porción comestible (clara y yema) del huevo de gallina es considerablemente mayor que los valores encontrados en el huevo de tortuga, lo cual determina en estos últimos un menor riesgo de formación de ateromas en los vasos sanguíneos y de otras enfermedades relacionadas.

Cuadro 3. Contenido de colesterol (%, m/m) en el huevo de tortura lora y de gallina

Porción del huevo	*Colesterol total del huevo* tortuga	gallina*
Lípidos de yema	3,33	6,0
Yema	0,32	1,96
Parte comestible	0,31	0,72

*Belitz y Crosch, 1988

Con la técnica de cromatografía de gases, se determinó la composición de ácidos grasos en los lípidos de la yema del huevo de tortuga. Se logró la identificación y cuantificación de 24 diferentes ácidos grasos (Cuadro 4). Un 93,3 % de la muestra correspondió a ácidos grasos y el resto a otras clases de lípidos. Un 32,9 % de los ácidos grasos identificados son saturados y dentro de ellos un 2,9 % tienen número impar de carbonos, los cuales son típicos de los lípidos de origen marino (Stansby, 1990). El 30,0 % restante corresponde a ácidos grasos con número par de átomos de carbono, entre los que destaca, por su capacidad aterogénica, el ácido mirístico (14:0). Los ácidos grasos insaturados se encuentran en una proporción del 58,7 %: monoinsaturados (44,9 %) y poliinsaturados (13,8 %). Entre ellos se encuentran los ácidos linoleico (18:2) y linolénico (18:3), ambos ácidos grasos esenciales. Se identificaron también los ácidos grasos 20:5 y 22:5, característicos de los lípidos de origen marino (longitud de la cadena hidrocarbonada mayor, alto grado de insaturación y de la familia de ácidos grasos ω-3) (Jiménez, 1989; Herrera y Jiménez, 1992).

Cuadro 7. Recuento de coliformes totales (UFC/g) en los huevos de tortuga lora almacenados a 5 °C y 25 °C

Coliformes totales (UFC/g)	
25 °C (día del análisis)	5 °C (día del análisis)
$1,3 \cdot 10^3$ (0 días)	$1,3 \cdot 10^3$ (0 días)
$1,6 \cdot 10^3$ (26 días)	$9,6 \cdot 10^3$ (56 días)

La pérdida de masa de los huevos de tortuga durante su almacenamiento no fue significativa ($p>0,05$) con la temperatura, ni con el tiempo de almacenamiento; es decir no existió variación en el peso de los huevos entre los dos tratamientos, ni durante la realización del estudio. Lo anterior se debe a que los huevos fueron almacenados a una humedad relativa alta, por lo que no manifestaron una pérdida significativa en su contenido de humedad.

El análisis de varianza para el índice de yema (IY) mostró que la temperatura y el tiempo de almacenamiento fueron factores de variación significativa para ambos tratamientos ($p< 0,05$). Los valores de IY son mayores en los huevos de tortuga almacenados a 5 °C que a 25 °C (Cuadro 8) y en ambos casos se presenta una disminución significativa del IY, durante el tiempo de almacenamiento. Un análisis de regresión lineal de estos resultados, permitió obtener una pendiente de -0,28 en la reducción del índice de yema de los huevos de tortuga almacenados a 25 °C, lo cual indica que la yema de estos huevos, se aplana en una forma más acelerada que a 5 °C, al aumentar el tiempo de almacenamiento. Este aplanamiento se debe al debilitamiento de la membrana vitelina que rodea la yema, por acción de enzimas proteolíticas segregadas por diversos microorganismos (Quiñones, 1972; Marion y Woodroof, 1968). Lo anterior es consistente con lo expresado por Belitz y Grosch (1988) con respecto a huevos de gallina, al indicar que la yema se aplana durante el almacenamiento y que la pérdida en la calidad de los huevos durante su almacenamiento es directamente proporcional a la temperatura.

Cuadro 8. Variación en el índice de yema de huevos de tortuga lora almacenadas a 5 °C y 25 °C

Tiempo (días)	*Indice de yema* 5 °C	25 °C
0	24,55	24,55
4	23,99	20,91
7	24,65	21,11
11	23,72	20,36
14	24,14	20,80
18	24,40	17,87

El pH de la clara presentó una variación significativa (Cuadro 9) por influencia de la temperatura y también del tiempo ($p<0,05$). Realizando un análisis de regresión (pH *vs* tiempo) se obtuvo una pendiente de 0,07, para los huevos almacenados a 5 °C. Este comportamiento es similar al presentado por los huevos de gallina, ya que existe una tendencia al aumento del pH de la clara durante su almacenamiento, a cualquier temperatura. A 25 °C el pH de las claras presentó un incremento en la primera semana, pero posteriormente decreció hasta los valores iniciales,

debido posiblemente a la generación de un ambiente anaerobio en el desecador donde se almacenaron los huevos, lo cual provocó el desarrollo de algunas bacterias productoras de ácidos y por ende disminución de los valores de pH. El pH de la clara de huevo de tortuga, presentó un incremento moderado durante su almacenamiento, similar al que se presenta en huevos de gallina, aunque estos últimos alcanzan valores más altos. El valor más alto obtenido en los huevos de tortuga correspondió a 8,20, mientras que la literatura reporta en huevos de gallina valores de hasta 9,40. El incremento en el pH se debe a la difusión del dióxido de carbono disuelto a través de la cáscara (Belitz y Grosch, 1988).

El pH de la yema del huevo presentó una variación significativa con la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Cuadro 9). La variación del pH de la yema con respecto al tiempo es creciente y alcanza valores que no superan un pH de 7,0. Esta pequeña variación en el pH coincide con la experimentada por la yema del huevo de gallina (Fennema, 1993), que resulta ser mucho menor al de las claras.

Cuadro 9. Variación en el pH de las claras y de las yemas de los huevos de tortuga lora almacenados a 5 °C y a 25 °C

Tiempo (días)	*pH clara*		*pH yema*	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
0	7,10	7,10	6,12	6,12
4	7,10	7,20	6,14	6,20
7	8,05	7,69	6,50	6,37
11	8,09	7,47	6,73	6,59
14	8,14	7,18	6,70	6,58
18	8,20	7,10	6,78	6,60

Cuadro 10. Variación en la viscosidad (cP) de las claras de los huevos de tortuga lora almacenados a 5 °C y a 25 °C

Tiempo (días)	*Viscosidad (cP)*	
	5 °C	25 °C
0	2,76	2,76
4	2,67	1,93
7	2,56	1,80
11	2,20	1,76
14	2,10	1,67
18	2,10	1,10

BIBLIOGRAFIA

ACUÑA, M. 1995. Estudio del potencial aterogénico y el contenido de colesterol en productos grasos de consumo popular en Costa Rica. Tesis Lic. en Química, Universidad de Costa Rica. Escuela de Química. San José.

ACUÑA, R. 1990. Morfología de la cáscara de los huevos de la tortuga baula por medio del microscopio electrónico de barrido. Rev. Biol. Univ. Oviedo. 8: 25-28.

BELITZ, H & GROSCH, W. 1988. Química de los alimentos. Acribia, Zaragoza.

BOHAC, C.; RHEE, K. & CROSS, H. 1988. Assessment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats. J. Food Sci. 53 (6): 1642-1644.

CASTILLO, V. 1986. Factores ecológicos y de mercado de la reproducción de *Rhinochemmys pulcherrima* y *Kinosternon scorpioides* en Costa Rica. Tesis Lic. en Biología. Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología. San José.

CHAVES, A. 1993a. Tortugas marinas de Costa Rica. Programa de Tortugas Marinas. Universidad de Costa Rica. San José.

CHAVES, A. 1993b. Manejo y conservación de las poblaciones de la tortuga marina "lora" *(Lepidochelys olivacea)* en el Refugio Nacional de Vida Silvestre de Ostional. Santa Cruz, Guanacaste. Programa de Tortugas Marinas. Universidad de Costa Rica. San José.

CHIRIFE, J. & RESNIK, S. 1987. Propuesta de valores de actividad de agua de ciertas soluciones para ser usadas en el marco del proyecto CYTED-D, sobre alimentos de humedad intermedia. Programa de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Información Técnica No.1.

CONGDON, J. & WHITFIELD, J. 1985. Egg components and reproductive characteristics of turtles: relationships to body size. Herpetologica 41 (2):194-205.

CORDERO, M. 1992. Estudio de comercialización del huevo de tortuga lora *Lepidochelys olivacea*. Consultoría realizada para la Asociación de Desarrollo Integral de Ostional. Santa Cruz, Guanacaste.

FENNEMA, O. 1993. Química de los alimentos. 2 ed. Acribia, Zaragoza.

FRAZIER, W.C. & WESTHOFF, D.C. 1993. Microbiología de los alimentos. 4ta Edición, Acribia. Zaragoza, España. p 341-358.

FREUND, J.E. 1984. Modern elementary statistics, 6 ed. Prentice Hall, New Jersey.

GESCHE, E & SCHULER, A. 1979. Flora bacteriana de huevos frescos y almacenados por cuatro semanas. Aliment. 4 (3): 11-13.

HART, F.L. & JOHNSTONEL, H. 1984. Análisis moderno de los alimentos. Acribia, Zaragoza.

HERRERA, C. 1995. Manual de laboratorio de Química de Alimentos. Universidad de Costa Rica, Escuela de Química. San José.

HERRERA, C. & JIMÉNEZ, R. 1992. Evaluación de aceites en diferentes peces del Golfo de Nicoya, Costa Rica. Ing. Cienc. Quim. 14 (1): 13-22.

JIMENEZ, R. A. 1989. Evaluación cuantitativa de los aceites y grasas de diferentes especies de de pescado del Golfo de Nicoya, Costa Rica. Tesis Lic. en Biología Marina. Universidad Nacional, Escuela de Biología. Heredia.

MARION, J. E. & WOODROOF, J. G. 1968. Lipid changes in shell egg composition during storage. Food Tech., 22 (3): 85-87.

MARQUEZ, R. 1990. Sea turtles of the world. FAO species catalogue. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Washington D.C.

METCALFE, L.D. & WANG, C.N. 1981. Rapid preparation of fatty acid methyl esters using organic base catalized transesterification. J. Cromatographic Sci. 19: 530-535.

QUIÑONES, S. 1972. Evaluación de la calidad del huevo fresco. Tec. de Aliment., 7 (6): 262-270.

SCHOSINSKY, K. 1991. Manual de técnicas de laboratorio en Química Clínica. 9 ed. Cátedra de Química Clínica. Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología.

STANSBY, M.E., ed. 1990. Fish oils in nutrition. AVI, New York.

VANDERZANT, C. & SPLITTSTOESSER, D. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. American Public Health Association, Washington D.C.

PERCEPCION Y USO DE LA FECHA DE DURACION MINIMA EN LOS ALIMENTOS PREENVASADOS

Adriana BLANCO-METZLER (*), Carlos PANIAGUA-VASQUEZ (**), Rafael MONGE-ROJAS (***), Leda MUÑOZ-GARCIA (****), Sandra CHAVEZ-DELGADO (*****), Rodolfo VEGA-CARDONA (******)

ABSTRACT

PERCEPTION AND USE OF DATE MARKING ON PRE-PACKED FOODS

Understanding, demand, need, use, and possible reasons for non-compliance of date marking on pre-packed foods were evaluated with consumers and technical personnel. Sample included 158 consumers (supermarket shoppers) and 34 technicians. Eighty-four percent of the consumers understood the meaning of the different types of date marking , and 90% read this date in the products. The principal function attributed to this information was the protection of their health, and as a warranty of product quality. Ninety-two percent of the technicians knew the legal requirement for the open dating and 66% agreed that all pre-packed foods should include it. They indicated that the main reason for non-compliance was the additional cost this represented to the food industry. The usefulness of this information for both, consumers and technical personnel of regulatory institutions, was corroborated. Additionally, the need for more information on food labels to protect the consumer, and of more training for technicians, was noted.

(*) Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA)
(**) Ministerio de Economía, Industria y Comercio
(***) Ministerio de Salud/ INCIENSA
(****) Caja Costarricense del Seguro Social
(*****) Universidad de Costa Rica
(******) Compañía Numar en representación de la Cámara Costarricense de la Industria Alimentaria (CACIA)

RESUMEN

Ciento cincuenta y ocho consumidores y treinta y cuatro técnicos fueron encuestados para evaluar su percepción y uso de la fecha de duración mínima en los productos preenvasados. Un 84% de los consumidores comprende el significado de las frases relacionadas con el marcado de la fecha y un 90% indica revisar la misma antes de adquirir el producto. La protección de la salud y la garantía de la calidad del producto son las principales utilidades evidenciadas por los consumidores. Un 92% de los técnicos conocen la exigencia de esta fecha y el 66% indicaron la necesidad de su inclusión en los productos preenvasados. Para éstos la principal razón del incumplimiento del marcado es el costo adicional que representa su estimación.

INTRODUCCION

Desde 1989 en Costa Rica el empaque de los alimentos preenvasados (alimentos previamente empacados, envueltos o embalados listos para ofrecerlos como tales al consumidor o para fines de hotelería) debe exponer una fecha que indique su vida útil, vida de anaquel o de estante. El marcado de esta fecha es importante tanto para el consumidor como para el fabricante, pues garantiza un nivel aceptable en la calidad del producto al momento de su compra y consumo, minimizando la incidencia de reclamos al fabricante (Anzueto, 1991).

El establecimiento del marcado de la fecha de duración mínima (FDM) en productos alimenticios ha sido un proceso lento y controversial en Costa Rica. Para junio de 1989 se publicó en La Gaceta # 124 la Norma General de Etiquetado de los

Alimentos Preenvasados (Decreto # 19042-MEIC), donde se establecía como información obligatoria en todos los alimentos preenvasados el marcado de tal fecha. No obstante algunos productos como frutas y hortalizas frescas sin procesar, vinos, bebidas alcohólicas con más de 10% de alcohol por volumen, productos de pastelería y panadería que se consumen en el lapso de 24 horas, vinagre y sal de calidad alimentaria quedaban exentos de la regulación. A partir de la entrada en vigencia de este decreto se otorgó a los industriales nacionales 6 meses para su cumplimiento. Para las mercancías importadas que llevaran declaraciones en idioma extranjero se estableció un transitorio (Decreto #19042-MEIC) en el cual se les brindó un plazo de 4 meses para colocar una etiqueta adhesiva con las especificaciones del producto en español. Sin embargo para estos alimentos no se contempló la obligatoriedad de la FDM, creando desigualdad de trato en el mercado nacional. Este transitorio se convirtió en un artículo de la Norma General de Etiquetado de los Alimentos Preenvasados (La Gaceta # 229 del 4 de diciembre de 1989, Norma # 19331-MEIC). Con el fin de facilitar la lectura y el uso de la Norma de Etiquetado y para rectificar la desigualdad de trato, en enero de 1995 se publicó el Decreto # 23870 MEIC de la Norma General de Etiquetado de Alimentos Preenvasados. Para una homologación completa de esta misma norma con la del Codex Alimentarius, se publicó recientemente el Decreto # 26012 MEIC con el nombre RTCR 100: 1997 Etiquetado de los Alimentos Preenvasados.

En el transcurso de junio de 1989 a julio de 1993, los industriales nacionales y los importadores de alimentos presentaron ante la Sala Constitucional de la Corte Suprema de Justicia de Costa Rica, tres recursos de amparo y dos acciones de inconstitucionalidad a la norma. Esta última, promovida por la Cámara Costarricense de la Industria Alimentaria. La acción de inconstitucionalidad fue acogida, pero no se anuló el acto, es decir se siguió aplicando la norma. Sin embargo en noviembre de 1996 la Sala Constitucional se pronunció anulando por inconstitucionalidad el Decreto # 19331-MEIC, pero para esta fecha la norma en cuestión había sido sustituida por el Decreto # 23870-MEIC donde se anulaban los vicios de insconstitucionalidad.

Un estudio realizado en 1994 (Víquez , 1996), mostró que en el 60% de los productos alimenticios preenvasados nacionales e importados, el marcado de la FDM no se indicaba en el empaque. Tres años más tarde, dicha situación mejoró sustancialmente en el grupo de los cereales preenvasados, ya que sólamente un 2% de los mismos no incluian el fechado de la vida útil (Chan, 1997).

Motivados por la importancia del cumplimiento del marcado de esta fecha en los productos preenvasados y las controversias en este asunto, la Comisión Técnica Consultiva del Valor Nutritivo de los Alimentos (CTCVNA) compuesta por los autores del presente artículo, se propuso realizar un estudio piloto con el objetivo de evaluar las percepciones en los consumidores de la fecha de vencimiento, así como de los técnicos del área de alimentación y salud.

MATERIALES Y METODOS

Se encuestó un total de 158 consumidores y 34 técnicos especializados, ubicados en zonas urbanas del gran área metropolitana. Las variables incluidas en el estudio se limitaron únicamente a las indicadas posteriormente debido a que la CTCVNA necesitaba, de una manera práctica y rápida contar con una respuesta a la necesidad de recomendar a los entes estatales si todos o algunos de los alimentos preenvasados debían, aunque fuera transitoriamente, indicar la fecha recomendada para su consumo. Los encuestadores fueron seis de los miembros de la Comisión, quienes entrevistaron alrededor de 26 consumidores cada uno.

Los consumidores fueron seleccionados aleatoriamente, visitaban cuatro supermercados

ubicados en áreas urbanas del gran área metropolitana (GAM). Los supermercados fueron elegidos al azar entre el total de los supermercados existentes en el GAM. También se encuestó a personal de dos instituciones (una pública y otra privada), donde se tomó en cuenta personal de diferentes categorías. Se anotó la edad, sexo y ocupación de los consumidores y se les preguntó si conocían el significado de las frases "fecha de duración mínima" o "fecha de vencimiento"; la necesidad de que los alimentos preenvasados incluyan esta información y su utilidad. Por último, se les preguntó si leían las etiquetas de los alimentos, con el fin de constatar que la respuesta a las preguntas anteriores se relacionaban con su lectura.

Los 34 técnicos especializados fueron ubicados en el sector académico, estatal y privado. De cada uno se obtuvo información sobre el conocimiento de la exigencia de la FDM, razones para el incumplimiento de la Norma General de Etiquetado de Alimentos Preenvasados, la categoría del alimento que deberían indicarlo y la necesidad de un ente para la determinación de dicha fecha.

RESULTADOS

Un 70% de los consumidores encuestados fueron mujeres, 33% eran amas de casa, 17% profesionales, 15% asistentes (secretarias, demostradoras, etc), 10% comerciantes y 9% estudiantes. El 16% restante no indicó la ocupación. El 33% de los consumidores tenía una edad comprendida entre los 18 y 29 años, 37% de 30 a 39 años, 15% de 40 a 49 años y 15% mayor de 50 años.

El 90% de los consumidores dijo conocer el significado de las frases relacionadas con el marcado de la fecha. De éstos el 84% confirmó que conocía el significado correcto pues indicaron que antes de esa fecha se puede consumir, y que hasta la fecha indicada se garantiza la calidad del producto. El 13% mencionó que después de la fecha indicada en el producto su consumo representaba un riesgo para la salud, lo cual se consideró como una respuesta incorrecta. El 3% restante de los consumidores decían no conocer su significado.

El 86% de los encuestados indicó leer las etiquetas, la mayor parte (92%) de los consumidores respondió que era necesario y útil que se expusiera la FDM en los alimentos preenvasados. Las principales razones fueron para la protección de la salud (60%), como garantía de calidad del producto (20%) y para evitar intoxicaciones (18%) (Figura 1).

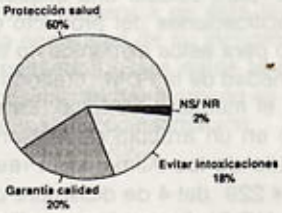


Figura 1. Utilidad del marcado de la fecha en los alimentos preenvasados según el consumidor

De los técnicos encuestados el 70% (24 personas) regresó el formulario completo manteniéndose la distribución final propuesta por sector: estatal 38%, académico 33%, privado 25% y organismos no gubernamentales 4%.

El 92% de los técnicos externó su conocimiento sobre la exigencia del marcado de la fecha en los alimentos preenvasados y el 66% indicó que se debería especificar en todos los alimentos preenvasados. Otros alimentos como los perecibles y los importados no fueron considerados como prioritarios para la aplicación de esta norma (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tipo de alimento preenvasado en que se debe marcar la fecha según técnicos especializados

TIPO DE ALIMENTO PREENVASADO	n	%
Todos	19	66
Nacionales	2	7
Importados	2	7
Perecederos	2	7
No perecederos	1	3
Frescos	1	3
No responde	2	7
Total	29	100

Las principales razones expuestas por los técnicos, que justifican el marcado de esta fecha fue el costo adicional para el empresario. Otras razones fueron el desconocimiento de la norma, y la falta de control estatal (Figura 2). El comerciante, importador, industrial, consumidor y el inspector de alimentos fueron identificados como usuarios importantes del marcado de la FDM (Cuadro 2).

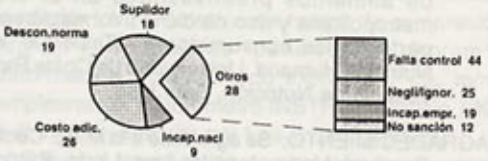


Figura 2. Razones de incumplimiento de la norma NCR 100: 1994 según técnicos especializados (%)

Cuadro 2. Usuario del marcado de la fecha identificado por los técnicos especializados

USUARIO	SI	N/R*
Consumidor	96	4
Importador	83	17
Industrial	83	17
Inspector	96	4
Comerciante	92	8
Exportador	4	96

*NR: no responde

Para la fecha en que se realizó el estudio el 88% indicaron la necesidad de contar con una entidad que brindara el servicio de determinación de la vida útil en alimentos preenvasados, idenficándose al Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica (25%), así como al Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA) y al Ministerio de Salud (ambos con 20%), como las instituciones que deberían brindar el servicio. Adicionalmente, los técnicos especializados sugirieron la necesidad de educar al consumidor en aspectos de etiquetado de alimentos como una medida de protección.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En una sociedad cada día más compleja los alimentos preenvasados representan una alternativa de alimentación muy práctica y rápida. Por tal razón, la indicación de la fecha de caducidad de los mismos es de trascendental importancia, pues ésta le garantiza al consumidor que el producto que compra mantiene las características originales. No obstante el desinterés por la lectura de las etiquetas que presenta el 14% de los consumidores, el 92% señala

la necesidad de indicar la FDM. Al respecto, Aguilar, en 1991 demostró que el 50% (n=1005 hogares) de los consumidores leían las etiquetas. Un porcentaje mayor (86%) se evidencia en este estudio, lo cual refleja el claro interés del consumidor costarricense por la lectura de las etiquetas. Las razones para esto son varias, aunque en este estudio resaltan la protección de la salud y la garantía de calidad del producto.

En este sentido cabe destacar que cerca del 18% de los consumidores, percibe que el consumo de los alimentos antes de la FDM permite evitar intoxicaciones. Este concepto aunque indica la preocupación del consumidor por cuidar su salud, está errado, pues en el caso de algunos de los alimentos preenvasados, tales como los enlatados y los perecederos, sobrepasada esta fecha, el primer deterioro ocurre por pérdida de las característica físico-químicas, y en última instancia por acción de microorganismos no patógenos (Cliver, 1990).

Por otro lado, existe claro concenso entre los técnicos especializados sobre la importancia de indicar la FDM, situación que se sugiere sea generalizada para todos los productos preenvasados. Esto parece ser una posición lógica si se desea una equidad de oportunidades en el mercado nacional, pues el costo de la determinación de la vida útil para establecer tal fecha es alto y se refleja en el costo final del producto.

Tal y como se demuestra, ambos grupos encuestados señalan la necesidad de que se debe indicar esta fecha en los alimentos preenvasados, y que no deben haber excepciones, tal y como en algunas oportunidades se han querido hacer en nuestro país. Debido a que estos resultados reflejan de alguna manera la opinión de los consumidores de áreas urbanas, sería interesante conocer si, en las zonas rurales, se utiliza y se considera importante el marcado de la FDM en los alimentos.

Aunque la muestra para este estudio fue pequeña y la información no se analizó por nivel socioeconómico, los datos reflejan una clara tendencia de la percepción del consumidor y el técnico especializado en torno al marcado de la fecha. Será necesario realizar estudios de mayor magnitud para confirmar y actualizar nuestros resultados, y para conocer con más detalle la opinión de los costarricenses sobre este asunto.

Se considera indispensable educar a los especialistas y al público en general, en las exigencias del etiquetado de alimentos, por el hecho aquí demostrado que algunos de los profesionales y de los consumidores mostraron desconocimiento de la existencia de la normativa.

BIBLIOGRAFIA

AGUILAR, F. 1981. Imagen de los productos y los industriales nacionales. Encuesta nacional a 1005 hogares. Universidad de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos. San José.

ANZUETO, C.R. 1991 . Vida útil de alimentos procesados. CINDE, San José.

CHAN,Y. 1997 Evaluación del etiquetado nutricional en los cereales comercializados en el Automercado. San José. Comunicación personal.

CLIVER, D. 1990. Foodborne diseases. Academic Press, New York.

COSTA RICA. MINISTERIO DE ECONOMÍA, INDUSTRIA Y COMERCIO. 1995. Norma general de etiquetado de los alimentos preenvasados. Decreto # 23870-MEIC. La Gaceta, San José. Enero 4.

VIQUEZ RAMIREZ, N. 1996. Diagnóstico de la información nutricional presente en la etiqueta de alimentos preenvasados en el área metropolitana y uso de dicha información por parte de los consumidores. Tesis Lic. en Nutrición Humana. Universidad de Costa Rica, Escuela de Nutrición. San José.

AGRADECIMIENTO: Se agradece a la M.Sc. Cecilia Gamboa, Licda. Jennifer Lee, Licda. Patricia Sedó, Licda. Ana Cecilia Segreda y Licda. María Isabel Piedra por su colaboración en la revisión técnica del presente manuscrito. De la misma manera, a la Licda. Clara Jorquera por la participación en el estudio.

cámara de congelación a -20 °C hasta el momento de su utilización. Las muestras fueron clasificadas de acuerdo con su talla, escogiéndose los peces con una longitud intermedia entre 15 y 25 cm, o los de mayor tamaño pero sin valor comercial, los cuales fueron utilizados para la elaboración del surimi.

Elaboración y almacenamiento del surimi y elaboración de los geles de surimi

Para la elaboración del surimi se utilizó la metodología recomendada por Lee (1992a). Muestras cuadruplicadas de 1 kg de surimi fueron empacadas en bolsas de polietileno de alta densidad y se almacenaron a -20 °C. De éstas, se tomó una muestra de cada uno de los tipos de surimi y se elaboraron geles siguiendo la metodología propuesta por Lee (1992a). Las muestras restantes permanecieron en congelación por un período de seis días, al cabo del cual fueron descongeladas por un día a una temperatura de 5 °C y recongeladas a -20 °C antes de tomar otra muestra de cada uno de los tipos de surimi. Después de tres semanas las muestras se habían sometido a 0, 1, 2 y 3 ciclos de congelación-descongelación respectivamente.

Evaluación de la calidad de los geles de surimi

La calidad de los geles de surimi fue determinada mediante los parámetros de fuerza de compresión (kg/cm²), fuerza de penetración (kg/cm²), deformación (cm) y fluido expresible (%, m/m) empleando el texturómetro INSTRON modelo 1000 y el método descrito por Lee y Chung (1989).

Para las pruebas de compresión las muestras fueron comprimidas a un 90% utilizando una cabeza de compresión de 5,0 cm de diámetro. La deformación de los geles de surimi fue medida en el punto de quiebra durante el ensayo de compresión. La prueba de penetración se realizó utilizando una cabeza cilíndrica plana con un diámetro de 5 mm. El fluido expresible se determinó como la relación de masa del fluido perdido a masa de la muestra, durante la prueba de compresión. Para cada una de las mediciones se realizaron 10 repeticiones a una velocidad de 50 mm/min para la probeta y a 50 mm/min para la impresora; a temperatura ambiente (19-23 °C). Todas las muestras fueron analizadas utilizando la prueba de doblado descrita por Herrera (1988).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (programa estadístico SPSS/PC y The Statistical Package for IBM PC versión 4,0), para determinar si existían diferencias significativas ($P<0,05$) en las propiedades reológicas del surimi, respecto a los ciclos de congelación-descongelación y al tipo de camarón de donde provino la FACA. Los resultados de la prueba de doblado se analizaron mediante la prueba de independencia chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto del tipo de FACA sobre la calidad del surimi

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas (95% de confianza) en las propiedades reológicas del surimi elaborado con FACA del camarón blanco y del camarón rosado. Los geles de surimi de la FACA de camarón blanco presentaron mejor calidad (mayor fuerza de compresión, penetración y deformación) que el

surimi elaborado a partir de la fauna acompañante del camarón rosado. En estudios previos, realizados por Kim *et al.* (1986) se indica que los mecanismos para la formación de los geles de surimi varían de especie a especie y por consiguiente se presenta una variación en las propiedades reológicas de cada gel formado.

CUADRO 1. Comparación de las propiedades reológicas de los geles de surimi elaborados con FACA procedente de dos tipos de camarón

Propiedad reológica	*Surimi de FACA* camarón blanco*	camarón rosado*
Compresión	2,915	1,710
Penetración	0,061	0,046
Deformación	1,007	0,911
Fluido expresible	0,534	0,578
Doblado	Poco elástico a inelástico	Inelástico

*Promedio de 10 muestras

La fuerza de compresión representa la cohesividad e integridad de una estructura tridimensional formada por interacciones tipo puente de hidrógeno entre las moléculas de las proteínas miofibrilares (Areche, 1987; Suzuki, 1987). Los geles de surimi elaborados con FACA del camarón blanco presentaron una mayor fuerza de compresión, lo cual refleja una mayor funcionalidad de parte de sus proteínas.

La fuerza de penetración fue el parámetro utilizado para evaluar la variación en el grado de firmeza y rigidez del surimi durante su almacenamiento en congelación, a causa del fenómeno de sinéresis, el cual causa una gran resistencia a la penetración pero no a la compresión (Lee, 1992c).

Respecto a la deformación, se determinó un valor mayor para el gel de surimi elaborado con fauna acompañante del camarón blanco. Este resultado concuerda con lo esperado, ya que los geles de surimi que presentan mayores fuerzas de compresión y penetración son los más deformables.

El fluido expresible mide en forma directa la capacidad de retención de agua de los geles de surimi. No se encontraron diferencias significativas en esta propiedad para cada uno de los tipos de FACA utilizada. Ambos tipos de surimi presentan una estructura reticular de sus proteínas miofibrilares capaz de ligar agua en igual proporción.

La prueba de doblado es utilizada para evaluar la elasticidad de los geles de surimi, (combinación de suavidad, dureza y flexibilidad). Se relaciona con la desnaturalización proteica, ya que la solubilidad de las proteínas disminuye con la desnaturalización y por ende disminuye su elasticidad (Areche, 1987). El surimi elaborado con FACA del camarón blanco presentó una estructura más elástica. El otro tipo de surimi presentó una textura frágil o quebradiza. Es importante destacar la correlación de estas variables: una estructura reticular ordenada y cohesiva permite obtener un gel con gran firmeza, alta capacidad de retención de agua y valores bajos del fluido expresible.

El efecto del tipo de camarón capturado sobre las propiedades reológicas del surimi elaborado con su FACA puede explicarse por la profundidad del arrastre camaronero, la diversidad de las especies y la estabilidad del tejido muscular de las misma. La profundidad de captura del camarón blanco es menor que la del camarón rosado, por consiguiente al ser el hábitat diferente para cada tipo de camarón,

EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DEL SURIMI ELABORADO CON FACA SOMETIDO A CICLOS SUCESIVOS DE CONGELACION-DESCONGELACION

Ronald MONTIEL-MASIS (*), *Sandra CALDERON-VILLAPLANA* (**) *y Carlos H. HERRERA-RAMIREZ* (***)

ABSTRACT

STABILITY OF SHRIMP BY-CATCH SURIMI TO SUCCESSIVE FREEZING AND THAWING CYCLES

The quality of surimi made with pink and white shrimp by catch was evaluated utilizing a freeze-thaw stability test. Compression force, penetration force, deformation, expressible water and folding test of surimi gels were the physical parameters used to evaluate differences in surimi quality.

The quality of both surimis decreased significantly ($P \leq 0,05$) after each freeze-thaw cycle as indicated by differences in compression force, penetration force, and deformation. Also significant differences ($P \leq 0,05$) were found, for these parameters, between both kinds of surimi.

There was a strong correlation between folding test and the other physical parameters used to determine surimi quality; therefore, this test could be used as a quick and accurate method for the evaluation of surimi.

Even though there were differences between the two types of surimi evaluated, these should not determine their use in the elaboration of fish derivate products; 92% of surimi gel samples had a slightly fragile texture, adequate for the elaboration of composite-molded products or as a partial substitute for meat in sausages.

(*) Licenciado en Tecnología de Alimentos. Industrias Buenos Aires. San José.
(**) Licenciada en Tecnología de Alimentos. Laboratorio de Análisis Sensorial. CITA-UCR
(***) M. Sc. Química y Tecnología de Alimentos. Investigador Principal del Proyecto "Aprovechamiento Integral de la Fauna Acompañante del Camarón en Costa Rica". Escuela de Química - UCR.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de ciclos repetidos de congelación - descongelación sobre la calidad del surimi elaborado con fauna acompañante del camarón blanco o rosado, a través de la medición de las siguientes propiedades reológicas: fuerza de compresión, fuerza de penetración, deformación, fluido expresible y doblado.

Se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas (95% de confianza) después de cada ciclo de congelación-descongelación para la fuerza de compresión, fuerza de penetración y deformación. Además, se encontraron diferencias para estos parámetros de acuerdo con el origen de la fauna acompañante, ya sea del camarón blanco o rosado.

La prueba de doblado mostró una dependencia significativa con respecto a los ciclos de congelación-descongelación y una correlación con las propiedades reológicas; por lo que este ensayo podría utilizarse como una prueba rápida y precisa para evaluar la calidad de surimi.

A pesar de las diferencias entre los dos tipos de surimi elaborados, se concluye que estas no son determinantes en la utilización de los mismos como materia prima para la elaboración de productos derivados de pescado. Lo anterior debido a que en el 92% de los casos, los geles de surimi, independientemente de su origen, presentaron una textura apta para la elaboración de embutidos parcialmente sustituidos por pastas de pescado y de productos preformados.

INTRODUCCION

Los estudios realizados sobre la fauna acompañante del camarón indican que su aprovechamiento en la elaboración de productos para consumo humano son una buena alternativa para ofrecer a la población una gran gama de alimentos derivados del pescado, los cuales poseen un alto contenido proteico, una gran digestibilidad y a la vez tienen un precio accesible (Allsoop, 1983)

La variabilidad de la composición de la fauna acompañante del camarón ha conducido a que se hagan estudios muy particulares para cada país. En el caso de Costa Rica se están realizando los primeros esfuerzos dirigidos hacia el aprovechamiento de la fauna acompañante del camarón en productos destinados al consumo humano, a través del proyecto "Aprovechamiento Integral de la Fauna Acompañante del Camarón en Costa Rica" que inició en 1992. Uno de los objetivos del mismo es lograr el incremento de la ingesta per cápita de proteínas de alta calidad, a un bajo costo, evitándose así que grandes volúmenes de estos recursos sean desechados en el mar anualmente (Campos *et al.*, 1984).

El surimi es una pasta de pescado que se utiliza como materia prima para la elaboración de productos derivados del pescado. La materia prima ha sido básicamente especies de pescado con un bajo valor comercial. También se ha estudiado la posibilidad de utilizar mezclas de especies que por su tamaño son difíciles de manipular y que por otro lado no tendrían ninguna utilización; tal es el caso de la fauna acompañante del camarón, conocida como FACA. A causa de la exigencia del consumidor respecto a la calidad uniforme de los productos, se han desarrollado métodos para establecer la calidad del surimi así como sus propiedades funcionales. Con base en esto se han establecido diversos usos para las distintas calidades del surimi (Lee, 1992c).

Los principales factores que afectan la calidad del surimi son la frescura de la materia prima, la época y el tipo de captura. El primer factor es el único que puede ser controlado por parte de los barcos camaroneros; ya que ésta decrece con el tiempo y con las condiciones de almacenamiento (Lee, 1992b). La evaluación de la estabilidad del surimi a ciclos repetidos de congelación - descongelación indica si existen variaciones en sus propiedades funcionales así como en la calidad de sus derivados durante su almacenamiento en congelación. Es importante tomar en cuenta este factor debido a que muchos de los productos elaborados a partir del surimi se mantienen en congelación y pueden sufrir abusos durante su manipulación y almacenamiento lo cual podría provocar alteraciones en sus características organolépticas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los ciclos repetidos de congelación y descongelación sobre las propiedades reológicas del surimi elaborado a partir de la fauna acompañante del camarón blanco y del rosado.

MATERIALES Y METODOS

Recolección y manejo de la materia prima

La materia prima utilizada correspondió a la fauna acompañante procedente de la captura de camarón blanco (dos viajes de pesca) y de camarón rosado (cuatro viajes) en diferentes localidades del litoral Pacífico, en barcos de la flota camaronera comercial, por medio de redes de arrastre. En cada viaje se muestrearon doce lances y en cada uno de ellos se tomó una muestra aleatoria de FACA de 10-15 kg.

Las muestras fueron mantenidas en la cámara fría del barco desde el momento de la captura hasta su desembarque y trasladadas en frío a la planta piloto del CITA, donde fueron almacenadas en la

es de esperar que la composición de la FACA para cada caso se vea modificada, Slavin (1983) y Allsoop (1983) indican que el tamaño y la composición de la FACA varían considerablemente entre regiones y entre capturas, especialmente donde las corrientes estacionales o los flujos estuarinos ocasionan cambios en la temperatura, o donde la fauna asociada es diversa. Al respecto, Campos *et al.* (1984) consideran que se deben realizar estudios biológicos detallados para la identificación de áreas y épocas utilizadas para la reproducción, y el desarrollo de peces jóvenes; lo que podría utilizarse como un indicador de las características de la FACA que se extraería de una zona dada en determinada época y por consiguiente de las características del surimi resultante de ésta. Esto es especialmente importante ya que durante las épocas de reproducción la composición del tejido muscular de los peces se ve modificado, obteniéndose así un surimi con propiedades físicas diferentes a las de épocas no reproductivas (Suzuki, 1987; Lee, 1992b). De acuerdo con los resultados, la estabilidad del tejido muscular de un pez parece ser función de la profundidad; a mayor profundidad se presentan temperaturas menores y presiones más elevadas, por lo tanto se espera obtener una mayor estabilidad para el tejido muscular de la FACA proveniente del camarón blanco, ya que ésta se ve sometida a cambios menos drásticos de presión y temperatura durante su captura.

Para Lee (1992a) las propiedades reológicas de los geles de surimi indican la posible utilización de las pastas de pescado como materia prima para el desarrollo de productos. Por ejemplo, valores altos en la fuerza de compresión y deformación son indicadores de geles de surimi altamente elásticos. Las variaciones que se manifiestan en los geles de surimi en la fuerza de compresión y deformación, modifican la elasticidad y textura de los geles; permitiendo obtener geles elásticos, frágiles y quebradizos, masudos, hulosos y/o gomosos. En los geles de surimi de FACA de camarón blanco, el análisis de las fuerzas de compresión y deformación mostró que el 83% de las muestras presentan características que permiten clasificarlos como productos frágiles o de baja elasticidad y un 8% como productos elásticos. Un comportamiento similar muestra el surimi elaborado con FACA de camarón rosado. Sus fuerzas de compresión y deformación permiten ubicar un 100% de los geles de surimi en la categoría de productos frágiles. Asimismo, la prueba de doblado de los geles de surimi elaborados con FACA de camarón blanco y rosado permite concluir que los geles son productos ligeramente elásticos (los geles se quebraron gradualmente al ser doblados a la mitad) y frágiles o quebradizos (se quebraron en pedazos después de doblarlos por la mitad). El resultado obtenido con la prueba de doblado coincide plenamente con la clasificación propuesta por Lee (1992a), por lo tanto es válido utilizar solamente la prueba de doblado como un indicador de la textura del surimi.

Efecto de los ciclos de congelación-descongelación sobre las propiedades reológicas del surimi

Los cambios en las propiedades reológicas de los geles de surimi elaborado con FACA del camarón blanco y rosado, presentan diferencias altamente significativas entre ellos, como resultado del efecto de los ciclos de congelación-descongelación a que fueron sometidos (Cuadros 2 y 3).

En general, las fuerzas de compresión y de penetración y la deformación, presentaron una disminución en los ciclos 0, 1 y 2. La disminución de la fuerza de compresión se debe básicamente a que el almacenamiento en congelación reduce la capacidad de formación del gel por la desnaturalización y agregación de las proteínas miofibrilares (Mac Donald *et al.*, 1992), obteniéndose después de cada ciclo de congelación-descongelación geles de surimi con menor resistencia a ser comprimidos.

CUADRO 2. Propiedades reológicas determinadas a los geles de surimi elaborados con fauna acompañante del camarón blanco para diferentes ciclos de congelación/descongelación

Propiedad reológica	*Ciclos de congelación-descongelación**			
	0	1	2	3
Compresión	3,300	2,727	2,063	3,637
Penetración	0,068	0,059	0,005	0,068
Deformación	1,094	0,944	0,919	1,081
Fluido expresible	0,576	0,484	0,561	0,515
Ensayo de doblado	B	C	C	C

*Promedio de 10 muestras

CUADRO 3. Propiedades reológicas determinadas a los geles de surimi elaborados con fauna acompañante del camarón rosado para diferentes ciclos de congelación /descongelación

Propiedad reológica	*Ciclos de congelación-descongelación**			
	0	1	2	3
Compresión	1,500	1,955	1,682	1,773
Penetración	0,043	0,049	0,047	0,046
Deformación	0,905	0,970	0,895	0,910
Fluido expresible	0,625	0,494	0,550	0,535
Ensayo de doblado	C	C	C	C

*Promedio de 10 muestras

Igual comportamiento muestra la fuerza de penetración, lo cual se explica por la correlación existente entre esta variable y la fuerza de compresión (Lee y Chung, 1989). Para el gel de surimi elaborado con fauna del camarón blanco, se obtuvo una correlación lineal de estas variables de 0,821 y para el rosado de 0,790 lo cual indica que en promedio, en el 80% de los casos la variabilidad de estos parámetros es explicada por el modelo propuesto.

Los resultados reflejan una disminución de la deformación del gel conforme disminuye la fuerza de compresión y penetración; por ejemplo en el caso del surimi elaborado con FACA del camarón blanco, los coeficientes de correlación entre ellas son bajos, obteniéndose respectivamente valores de 0,4998 y

0,4458, se observó un comportamiento similar con la FACA del camarón rosado.

Para el surimi elaborado con FACA del camarón rosado se obtuvo una correlación de -0,611 entre el fluido expresible y la compresión, lo cual ha sido reportado de la misma manera por Lee y Chung (1989). Esta correlación inversa entre el fluido expresible y la fuerza de compresión, no fue encontrada en los geles de surimi elaborados con FACA del camarón blanco.

Aplicación industrial del surimi elaborado con FACA

De acuerdo con sus características, ambos tipos de surimi pueden ser utilizados en el desarrollo de alimentos derivados de pescado tales como embutidos y productos cárnicos parcialmente sustituidos por proteínas de pescado (salchichas, salami, etc.) así como productos congelados (hamburguesas de pescado y gran variedad de productos empanizados). Sin embargo, las propiedades reológicas que presentaron ambos tipos de surimi, constituyen un factor limitante para su aprovechamiento en el nivel industrial, ya que no podría utilizarse en la formulación de productos análogos, tales como la imitación de carne de camarón y de cangrejo, los cuales requieren de un surimi de alta elasticidad.

BIBLIOGRAFIA

ALLSOOP, W. H. L. 1983. Utilización de la pesca acompañante del arrastre camaronero: desarrollo futuro. In Pesca acompañante del camarón ... un regalo del mar: Informe de una consulta técnica sobre la utilización de la pesca acompañante del camarón. Georgetown, Guyana, 27-30 octubre 1981. CIID, Ottawa. p. 32-40.

ARECHE, N. 1987. Tecnología de procesamiento de pastas de pescado. Curso de procesamiento y control de calidad de productos pesqueros. MAG/CINDE, San José.

CAMPOS, J. A.; BURGOS, B. & GAMBOA, C. 1984. Effect of shrimp trawling on the commercial ichthyofauna of the Gulf of Nicoya, Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 32(2): 203-207.

HERRERA, C. H. 1988. Efecto del nivel de humedad sobre la estabilidad de pastas de pescado de la merluza roja (*Urophycis chuss)* durante su almacenamiento en congelación. Ing. Cienc. Quim. 12(3-4): 52-56.

KIM, B. Y.; HAMANN, D. D.; LANIER, T. C. & WU, M. C. 1986. Effects of freeze-thaw abuse on the viscosity and gel-forming properties of surimi from two species. J. Food Sci. 51(4): 951-956.

LEE, C. M. & CHUNG, K. H. 1989. Analysis of surimi gel properties by compression and penetration tests. J. Text. Stud. 20: 363-377.

LEE, C. M. 1992a. Universidad de Costa Rica, CITA. San José. Comunicación personal.

LEE, C M. 1992b. Factors affecting physical properties of fish protein gel. In: Advances in sea food biochemistry: composition and quality. Lancaster. Technomic. p. 43-67.

LEE, C M. 1992c. Technology and quality evaluation of surimi and surimi-based products. Universidad de Costa Rica, CITA. San José.

MAC DONALD, B. A.; LELIEVRE, J. & WILSON, N. D. C. 1992. Effect of frozen storage on the gel-forming properties of hoki (*Macruronus novaezelandiae*). J. Food Sci. 57(1): 69-71.

SLAVIN, J. W. 1983. Utilización de la pesca acompañante del camarón. In Pesca acompañante del camarón... un regalo del mar: Informe de una consulta técnica sobre la utilización de la pesca acompañante del camarón. Georgetown, Guyana, 27-30 octubre 1981. CIID, Ottawa. p. 23-31.

SUZUKI, T. 1987. Tecnología de las proteínas de pescado y krill. Acribia, Zaragoza.

EFECTO DE LA LUZ, EL OXIGENO, EL TIEMPO DE REACCION Y EL pH EN EL PROCESO DE OBTENCION DE NITROSIL HEMOCROMO A PARTIR DE LA SANGRE DE RES

Susanne ARTIÑANO-HANGEN (*) *y Carlos H. HERRERA-RAMIREZ* (**)

ABSTRACT

EFFECT OF LIGHT, OXYGEN, REACTION TIME AND pH IN THE SYNTHESIS OF NITROSYLFERROHEMOCHROME FROM BOVINE BLOOD

The purpose of this research was to establish the conditions for chemical stabilization of bovine blood and to evaluate the effect of light, oxygen, pH and reaction time in the synthesis of nitrosylferrohemochrome from Brahman bovine blood.

A solution of sodium citrate (0,5%; w/v) and sodium chloride (0,9%; w/v) in a ratio of 9:1 (blood:solution) was suitable to collect and stabilize blood. Average content of hemoglobin and red cells in bovine blood was 13 ± 1 g/dL and 34 ± 2% (w/w) respectively.

The experimental design was a factorial arrangement of 2x2x2x2x5, with four independent variables: light (presence/absence), oxygen (presence/absence), pH (5,0/6,0) and reaction time (15/30 min); in two levels, with five replications for the dependent variable: yield of mononitrosylferrochrome.

Because of the excess of reducing agent (ascorbic acid), the yield of the process is not affected significantly by light or oxygen; however it is affected by pH and reaction time. Reducing pH from 6,0 to 5,0 and reaction time from 30 min to 15 min, increased the process yield significantly. Around pH 5,0 mioglobin and hemoglobin were able to react with nitrite faster than at other pH values. Moreover, mononitrosylferrochrome was insoluble in water at pH 5,0, facilitating its extraction.

Best conditions for the synthesis of mononitrosylferrochrome were pH 5,0, 15 min reaction time, in the presence of light and oxygen.

(*) Licenciada en Tecnología de Alimentos. Escuela de Tecnología de Alimentos. UCR.

(**) M. Sc. Química de Alimentos. Escuela de Química. UCR.

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue definir las condiciones de estabilización química de la sangre y evaluar el efecto de la luz, el oxígeno, el pH y el tiempo de reacción en el proceso de obtención de nitrosil hemocromo a partir de la sangre del ganado vacuno de la raza Brahman.

Se encontró que el uso de una disolución anticoagulante de citrato de sodio (0,5%; m/v) y cloruro de sodio (0,9%; m/v) en proporción 9:1 (sangre:anticoagulante) es apropiada para la recolección y estabilización de la sangre de res. El contenido promedio de hemoglobina y glóbulos rojos en la sangre de res fue de de 13 ± 1 g/dL y 34 ± 2% (m/m) respectivamente.

El diseño experimental consistió en un arreglo factorial de 2x2x2x2x5 con cuatro variables independientes: luz (presencia o ausencia), oxígeno (presencia o ausencia), pH (5,0 ó 6,0) y tiempo de reacción (15 ó 30 min), en dos niveles con cinco repeticiones para la variable dependiente: rendimiento de reacción.

La luz y el oxígeno no tienen un efecto significativo (nivel de significancia del 1%) en el rendimiento del proceso; debido al exceso de agente reductor en el medio de reacción. El cambio de pH de 5,0 a 6,0 disminuye significativamente el rendimiento de la reacción, ya que a un pH cercano a 5,0, la mioglobina reacciona más rápido con el nitrito y además el mononitrosilhemocromo se insolubiliza en agua, facilitando su extracción. La cantidad de mononitrosilhemocromo obtenida a un tiempo de reacción de 15 min, es significativamente mayor que la obtenida a tiempos de reacción mayores.

Se concluye que de las condiciones de reacción analizadas, las mejores por rendimiento y comodidad son: pH 5,0, un tiempo de reacción de 15 min, en presencia de luz y de oxígeno.

INTRODUCCION

Actualmente en Costa Rica, la principal aplicación de la sangre obtenida como subproducto en la matanza de la res es la obtención de harina para consumo animal (Miranda, 1996). Como tal, tiene un bajo valor nutricional debido al prolongado tratamiento térmico al que se la somete para evitar la transmisión de enfermedades. Algunos mataderos no procesan la sangre sino que la desechan, causando graves problemas de contaminación. Es por lo tanto importante investigar otras alternativas de aplicación de este subproducto de la matanza. Una reciente alternativa de utilización de la sangre de res, propuesta por Shahidi y Pegg (1991b), es la producción de nitrosil hemocromo, un pigmento para embutidos, obtenido a partir de la hemoglobina. Dicho pigmento es responsable del color rosado característico de las carnes curadas con nitritos (Badui, 1990).

El volumen de sangre de grado alimenticio producido en nuestro país anualmente puede estimarse tomando como referencia la matanza total de reses para consumo local y exportación durante el año de 1994, la cual alcanzó los 174 672 millones de kg peso en pie (Pérez, 1995). Sabiendo que el volumen sanguíneo promedio del ganado vacuno es de 63 mL/kg (Dalton y Fisher, 1961 citado por Schalm *et al.*, 1981) y considerando como sangre de grado alimenticio el 50% del total de la sangre obtenida como subproducto (Piske, 1982); se obtiene un volumen anual de sangre utilizable con fines alimenticios de 5 502 m^3.

Al emplear la sangre para sintetizar nitrosil hemocromo, se contribuye a disminuir los problemas de contaminación provocados por su desecho y se aumentaría su valor agregado respecto al obtenido actualmente. Por otra parte, la adición del nitrosil hemocromo a los productos cárnicos evitaría el uso de los nitratos y nitritos (Shahidi y Pegg, 1991a, b; O'Boyle *et al.*, 1992; Sweet, 1975), compuestos capaces de reaccionar con aminas presentes en la carne, para producir nitrosaminas (Hotchkiss y Cassens, 1987; Badui, 1990; Yúfera, 1979), reconocidas como agentes carcinogénicos y mutagénicos en animales de laboratorio (Bailey y Williams, 1993). Al agregar el nitrosil hemocromo (sólido, disuelto o emulsificado en una matriz lipídica) se evitaría la adición de sangre líquida (como se hace en la actualidad) a los embutidos elaborados con pastas de pollo y de pescado; la cual se considera un foco potencial de contaminación (Miranda, 1996; Rust, 1975; Mielnik y Slinde, 1983). Además, al agregar el pigmento ya formado a la emulsión, se podría observar y controlar el color del producto antes de su cocción.

Existen diversos factores que pueden afectar el rendimiento del proceso de obtención del nitrosil hemocromo bajo las condiciones descritas por Shahidi y Pegg (1991b) tales como, el pH del medio, la presencia o ausencia de luz y oxígeno y el tiempo de reacción. Debido a que en nuestro país no existen precedentes en la obtención y utilización del nitrosil hemocromo, un primer paso es estudiar los factores que influyen en la síntesis del pigmento. Por lo tanto, en esta investigación se evaluó el efecto de los factores antes mencionados en el rendimiento del proceso de obtención del nitrosil hemocromo a partir de sangre de res, descrito por Shahidi y Pegg (1991b).

MATERIALES Y METODOS

Recolección y tratamiento de la sangre

La recolección de sangre se llevó a cabo por quintuplicado en el matadero de El Arreo, S.A. en San Antonio de Belén, Heredia, Costa Rica, durante los meses de setiembre y noviembre de 1996. Se recolectaron tres muestras de 2 L de sangre de res de la raza Brahman (cada muestra fue de una res diferente) y se estabilizaron con una disolución de citrato de sodio (0,5 %; m/v) y de cloruro de sodio (0,9 %; m/v), en proporción 9:1 (sangre: anticoagulante) (Cháves, 1996). Las muestras de sangre se tomaron directamente de la yugular (después del degollamiento del animal), en recipientes pásticos individuales, previamente lavados con agua caliente y enjuagados con la disolución anticoagulante. Las muestras se almacenaron en neveras con hielo (mientras se esperaba la inspección veterinaria de las vísceras; Robinson, 1996). Se mezclaron y homogenizaron las tres muestras y se almacenaron a 4 °C, por no más de 24 h (Caldironi y Ockerman, 1982).

Determinación del contenido de hemoglobina

Se tomaron cinco muestras de 10,0 mL de la mezcla de sangre, para la determinación de hemoglobina, según el método descrito por Sáenz *et al.* (1987).

Se calculó el promedio del contenido de hemoglobina, su respectiva desviación estándar y sus límites de confianza para un nivel de significancia del 1 % (González, 1996).

Separación de la sangre

Se pesaron 16 muestras de sangre (aproximadamente 35 mL en cada tubo) en tubos secos de 50 mL para ultracentrífuga. Los glóbulos rojos se separaron del plasma por centrifugación por 10 min a 7000 rpm a 4 °C, en una ultracentrífuga Beckman L7-35, con rotor 28 (Caldironi y Ockerman, 1982). Se decantó el plasma. Se pesó cada tubo para calcular el porcentaje masa en masa de glóbulos rojos. Se calculó el promedio del contenido de glóbulos rojos (%; m/m), su desviación estándar y sus límites de confianza para un nivel de significancia del 1 % (González, 1996).

Obtención del nitrosilhemocromo

Se realizaron diferentes ensayos bajo las condiciones descritas en el Cuadro 1. Los ensayos realizados en ausencia de oxígeno se llevaron a cabo bajo corriente de nitrógeno y aquellos en ausencia de luz, en equipo recubierto con papel de aluminio. El resto del proceso fue igual al descrito por Shahidi y Pegg (1991b).

Cuadro 1. Diseño factorial de 2x2x2x2x5 con cuatro variables independientes (luz, oxígeno, tiempo de reacción y pH) y una variable dependiente (rendimiento del proceso)

Ensayo	Luz	Oxígeno	Tiempo de reacción		pH	
			15 min	30 min	5,0	6,0
PLPO15-5	+	+	+	-	+	-
PLPO15-6	+	+	+	-	-	+
PLPO30-5	+	+	-	+	+	-
PLPO30-6	+	+	-	+	-	+
ALAO15-5	-	-	+	-	+	-
ALAO15-6	-	-	+	-	-	+
ALAO30-5	-	-	-	+	+	-
ALAO30-6	-	-	-	+	-	+
PLAO15-5	+	-	+	-	+	-
PLAO15-6	+	-	+	-	-	+
PLAO30-5	+	-	-	+	+	-
PLAO30-6	+	-	-	+	-	+
ALPO15-5	-	+	+	-	+	-
ALPO15-6	-	+	+	-	-	+
ALPO30-5	-	+	-	+	+	-
ALPO30-6	-	+	-	+	-	+

Nota: El código se compone de cuatro partes: las primeras dos letras significan presencia (PL) o ausencia (AL) de luz, las siguientes dos letras significan presencia (PO) o ausencia (AO) de oxígeno, el primer par de dígitos se refiere a tiempos de reacción de 15 ó 30 min, y el último dígito simboliza el pH al que se acidificó (5,0 ó 6,0).

Se agregaron 225 mL de una disolución de NaOH 0,2 M con ácido ascórbico en razón molar 10:1 (ácido ascórbico:hemo), a 25 000 g de los glóbulos rojos. Se calentó la mezcla de reacción a 85 °C y se agregó nitrito de sodio en una razón molar de 10:1 (nitrito de sodio: hemo) manteniendo la temperatura y agitación constantes. A tiempos de reacción de 15 min y 30 min, se tomaron muestras duplicadas de 50,00 mL; se enfriaron a temperatura ambiente en un baño de hielo y se acidificaron con ácido cítrico 0,1 M hasta de pH 5,0 ó 6,0. Las muestras se centrifugaron por 10 min a 3 000 rpm, en una centrífuga Sizel C50, se descartó el sobrenadante y se extrajo el pigmento (tres veces, en forma consecutiva) con una disolución de acetona:agua (4:1), con ácido ascórbico como agente reductor disuelto en el agua en una razón molar 10:1 (ácido ascórbico:hemo). Cada muestra se aforó a 250,0 mL con el disolvente indicado. Se midió la absorbancia de cada muestra a 540,0 nm, en un espectrofotómetro Shimadzu UV-160, para determinar la cantidad de nitrosilhemocromo producido. Se calculó dicha cantidad usando el coeficiente de extinción del nitrosilhemocromo (Hornsey, 1956) y los factores de dilución pertinentes. El rendimiento porcentual (m/m) del proceso se determinó al comparar la cantidad de pigmento obtenido con la cantidad de pigmento que teóricamente se debió formar con el total de hemoglobina medida. Se calculó el promedio de los porcentajes de rendimiento del proceso obtenidos para cada combinación de condiciones, su respectiva desviación estándar y sus límites de confianza para un nivel de significancia de 1 % (González, 1996).

Análisis estadístico de los porcentajes de rendimiento

El diseño experimental empleado fue un arreglo factorial de 2x2x2x2x5 con cuatro variables independientes (luz, oxígeno, pH y tiempo de reacción), en dos niveles con cinco repeticiones para una variable dependiente (rendimiento del proceso).

A los rendimientos obtenidos se les hizo un análisis de variancia para observar diferencias significativas (nivel de significancia de 1 %) de la variable dependiente con respecto a las variables independientes. En las interacciones dobles, donde se encontró diferencia significativa (nivel de significancia de 1 %), se calcularon los promedios para una variable independiente según la otra variable para determinar el origen de la significancia (Wong, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSION

Recolección y tratamiento de la sangre

Los diversos ensayos preliminares realizados mostraron que el sistema anticoagulante más eficaz, consiste de una mezcla de 0,5 mL de una disolución 0,5% (m/v) citrato de sodio, 0,9% (m/v) cloruro de sodio y 4,5 mL de sangre. El sistema indicado permitió la obtención de una mayor cantidad de glóbulos rojos durante la centrifugación y una buena separación de los mismos y el plasma. El citrato de sodio forma un complejo con el ión calcio, evitando la activación de diversos factores en el proceso de coagulación de la sangre. La disolución de cloruro de sodio es capaz de disolver o mantener en disolución las proteínas tipo "globulina" (hemoglobina) de la sangre (Cháves, 1996; Guyton, 1986, Caldironi y Ockerman, 1982; De Vuono *et al.*, 1979; Tybor *et al.*, 1975).

Contenido de hemoglobina y hematocrito en la sangre

En el Cuadro 2 se muestra el contenido de hemoglobina (g/dL) en las muestras de sangre de ganado vacuno analizadas. La variabilidad observada es normal, ya que el contenido de hemoglobina depende de diferentes factores, tales como la edad, el sexo, raza y estado fisiológico del animal, la altura y humedad relativa de la zona de crianza y desarrollo y del tipo de alimentación (Brenes, 1996; Schalm *et al.*, 1981). Sin embargo, el contenido de hemoglobina promedio es mayor que el reportado en la literatura, para la raza Brahman (11,1 ± 1,5 g/dL) (Meneses *et al.*, 1991). Esto puede deberse al estricto control de calidad aplicado a los animales que ingresan al matadero El Arreo, SA, el cual garantiza el sacrificio de animales sanos y bien alimentados.

Cuadro 2. Contenido de hemoglobina (g/dL) y de glóbulos rojos (%, m/m) en las diferentes muestras de sangre recolectadas

Muestra	*Contenido de* hemoglobina (g/dL)	glóbulos rojos (%, m/m)
I	13,2	33,1
II	11,7	34,0
III	11,8	31,9
IV	12,6	34,7
V	14,0	37,0
Promedio	13	34
Desviación estándar	1	2
Límite de confianza (1%)	1	2

El contenido de glóbulos rojos (hematocrito) obtenido por la técnica de centrifugación se muestra en el Cuadro 2 y es similar al reportado en la literatura (35,0 ± 3,9 %) para la raza Brahman (Meneses *et al.*,1991). La variabilidad en el hematocrito de la sangre está determinada por los mismos factores responsables de la variación en el contenido de hemoglobina.

Efecto de la luz, el oxígeno, el pH y el tiempo de reacción en el proceso de obtención del nitrosilhemocromo

El espectro de absorción del nitrosilhemocromo se muestra en la Figura 1. Las longitudes de onda de máxima absorción y las de mínima absorción son idénticas a las descritas por Shahidi y Pegg (1991b), comprobando la presencia del compuesto mononitrosilhemocromo.

El rendimiento porcentual (m/m) del proceso de obtención del mononitrosilhemocromo para cada ensayo y sus promedios se muestran en el Cuadro 3. El análisis de variancia (nivel de significancia del 1%) de los resultados mostró que la obtención del mononitrosilhemocromo depende significativamente del pH del medio y del tiempo de reacción. Los rendimientos promedios del proceso en función del pH y del tiempo de reacción se presentan en forma separada en el Cuadro 4. El proceso de obtención del mononitrosilhemocromo es favorecido por un pH de 5,0 en el medio de reacción, ya que los rendimientos obtenidos son significativamente mayores, que los correspondientes a un pH de 6,0, lo cual concuerda con lo obtenido por Reith y Szakaly (1967a) quienes reportan que la reacción entre la mioglobina y el nitrito se lleva a cabo más rápido en un ámbito de pH comprendido entre 5,0 y 5,5. Además, el mononitrosilhemocromo se torna insoluble en agua a un pH cercano a 5,0, ya que sus grupos carboxilo tienen un pKa cercano a 4,9; por lo cual se facilita su extracción y disminuyen las pérdidas del mismo durante la decantación del supernatante (Fessenden y Fessenden, 1983). En el Cuadro 4, se puede observar que a pH 5,0 y con un tiempo de reacción de 15 min, la obtención del mononitrosilhemocromo es significativamente superior que a los 30 min. Sin embargo, a pH 6,0 y a tiempos de reacción de 15 y 30 min, no se observan diferencias significativas entre los rendimientos del proceso.

La presencia o ausencia de oxígeno en el medio de reacción no fue significativa (nivel de significancia del 1%) en el rendimiento de la reacción, debido al exceso de agente reductor (ácido ascórbico) en el medio de reacción. El ácido ascórbico promueve la formación de hemoglobina y nitrosilhemoglobina, reduciendo la formación de metahemoglobina, oxihemoglobina y la oxidación del óxido nítrico a nitrito o nitrato. El nitrosil hemocromo es inestable en ausencia de óxido nítrico y en medios libres de agentes reductores (Jankiewicz *et al.*, 1994), debido a que el átomo de hierro en el nitrosil hemocromo, en su forma reducida (Fe II), tiende a oxidarse rápidamente al estar en contacto con el oxígeno del aire (Killday *et al.*, 1988; Fox, 1966.

Algunas reacciones de oxidación pueden ser catalizadas por la luz (Brown y LeMay, 1987). En este caso la luz cataliza la reacción de oxidación del agente reductor (ácido ascórbico) y como el tiempo de reacción no es lo suficientemente prolongado para que se agote el exceso de éste, no se pudo observar tal efecto (nivel de significancia del 1%). El tiempo de reacción puede afectar el rendimiento del proceso; si es muy corto, la reacción no se lleva a cabo al máximo. Por otro lado si es muy prolongado, el agente reductor se puede agotar permitiendo que el oxígeno del aire oxide el producto.

Cuadro 3. Rendimiento de la reacción (% m/m) de obtención del nitrosil hemocromo

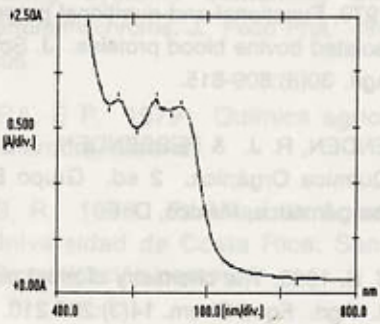
Ensayo	Rendimiento de la reacción (%, m/m) I	II	III	IV	V	Promedio	DE	Límites 1%
PLPO15-5	36	36	44	32	31	36	5	6
PLPO15-6	31	19	20	13	25	22	7	8
PLPO30-5	29	32	36	25	25	29	5	6
PLPO30-6	18	22	22	17	24	21	3	4
ALAO15-5	37	36	25	39	33	34	6	6
ALAO15-6	20	27	16	21	24	22	4	5
ALAO30-5	32	34	38	30	30	33	4	4
ALAO30-6	26	32	30	26	24	28	3	4
PLAO15-5	35	39	39	37	39	38	2	2
PLAO15-6	15	38	19	18	27	23	9	10
PLAO30-5	23	33	37	27	34	31	6	6
PLAO30-6	15	20	22	23	23	21	3	4
ALPO15-5	36	42	40	38	30	37	5	5
ALPO15-6	22	25	21	27	23	24	2	3
ALPO30-5	28	37	40	30	30	33	5	6
ALPO30-6	21	29	27	23	29	26	4	4

Cuadro 4. Rendimientos de la reacción (% m/m) del proceso de obtención del mono-nitrosilhemocromo según pH y tiempo de reacción

pH	*Tiempo de reacción (min)* 15	30
5,0	36%a	31%b
6,0	23%c	24%c

Nota: Subíndices diferentes indican que los datos son significativamente distintos para un nivel de significancia de 1%.

Figura 1. Espectro de absorción del mononitrosilhemocromo



BIBLIOGRAFIA

BADUI, S. 1990. Química de los alimentos. 2 ed. Alhambra, México, D. F.

BAILEY, G.S. & WILLIAMS, D.E. 1993. Potencial mechanisms for food-related carcinogens and anticarcinogens. Food Tech. 47(2): 105-118.

BRENES, J. A. 1996. Clínica veterinaria del Dr. Brenes, Moravia. Comunicación personal.

BROWN, T. L. & LeMAY, H. E. 1987. Química: La ciencia central. 3 ed. Prentice Hall Hispanoamericana, México, D. F.

CALDIRONI, H.A. & OCKERMAN, H.W. 1982. Incorporation of blood proteins into sausage. J. Food Sci. 47(2):405-408.

CHAVES, L. P. 1996. Laboratorios del Dr. Páez. San José. Comunicación personal.

DE VUONO, M.; LAJOLO, F.M. & PEREIRA, N. 1979. Functional and nutritional properties of isolated bovine blood proteins. J. Sci. Food Agri. 30(8):809-815.

FESSENDEN, R. J. & FESSENDEN, J. S. 1983. Química Orgánica. 2 ed. Grupo Editorial Iberoamérica, México, D. F.

FOX, J. B. 1966. The chemistry of meat pigments. J. Agri. Food Chem. 14(3):207-210.

GONZÁLEZ, M. I. 1996. Universidad de C. R., Facultad de Agronomía. San José. Comunicación personal.

GUYTON, A. C. 1986. Tratado de fiasiología médica. 6 ed. Nueva Editorial Interoamericana, México, D. F.

HORNSEY, H. C. 1956. The color of cooked cured pork. I.-Estimation of the nitric oxide-haem pigments. J. Sci. Food Agri. 7:534-540.

HOTCHKISS, J.H. & CASSENS, R.G. 1987. Nitrate, nitrite, and nitroso compounds in foods. Food Tech. 41(4):127-136.

JANKIEWICZ, L.; KWASNY, M.; WASYLIK, K. & GRACZYK, A. 1994. Structure studies on the nitrosyl derivate of heme. J. Food Sci. 59(1): 57-59.

KILLDAY, K. B.; TEMPESTA, M.S.; BAILEY, M. E. & METRAL, C. J. 1988. Structural characterization of nitrosylhemochromogen of cooked cured meat: implications in the meat-curing reaction. J. Agri. Food Chem. 36(5): 909-914.

MENESES, A.; CARMONA, G. & SANCHO, E. 1991. Valores bioquímicos sanguíneos y hemáticos en vacas Brahman con referencia al estado fisiológico y estación en San Carlos, Costa Rica. Cienc. Vet. 13(1):15-20.

MIELNIK, J. & SLINDE, E. 1983. Sausage color measured by integrating sphere reflectance spectrophotometry when whole blood or blood cured by nitrite is added to sausages. J. Food Sci. 48(6): 1723-1725.

MIRANDA, M. 1996. Coopemontecillos. Alajuela. Comunicación personal.

O'BOYLE, A. R.; ALADIN-KASSAM, N.; RUBIN, L. J. & DIOSADY, L. L. 1992. Encapsulated cured-meat pigment and its application in nitrite-free ham. J. Food Sci. 57(4):807-812.

PEREZ, E. 1995. Hatos, plantas y mercados. La economía de la carne bovina en Costa Rica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), San José.

PISKE, D. 1982. Aproveitamento de sangue de abate para alimentaçao humana. I. Uma revisao. Bol. ITAL 19(3):253-308.

REITH, J.F. & SZAKALY, M. 1967. Formation and stability of nitric oxide myoglobin. II. Studies on meat. J. Food Sci. 32(2): 194-196.

ROBINSON, R. 1996. El Arreo. Heredia. Comunicación personal.

RUST, R. E. 1975. Sausage and processed meats manufacturing. AMI Center for Continuing Education, EEUU.

SAENZ, G. F.; BARRANTES, A. & CHAVES, M. 1987. Hematología analítica. 2 ed. Universidad de Costa Rica, San José.

SCHALM. O. W.; JAIN, N.C. & CARROLL, E. J. 1981. Hematología veterinaria. 3 ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.

SHAHIDI, F. & PEGG, R.B. 1991a. Encapsulation of the pre-formed cooked cured-meat pigment. J. Food Sci. 56(6):1500-1504.

SHAHIDI, F. & PEGG, R.B. 1991b. Novel synthesis of cooked cured-meat pigment. J. Food Sci. 56(5):1205-1208.

SWEET, C.W. 1975 Additive composition for reduced particle size meats in the curing thereof. U.S. Patent 3,899,600.

TYBOR, P.T.; DILL, C.W. & LANDMANN, W.A. 1975. Fuctional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. J. Food Sci. 40(1): 155-159.

WOOD, D.S.; COLLINS-THOMPSON, D.L.; USBORNE, W.R. & PICARD, B. 1986. An evaluation of antibotulinal activity in nitrite-free curing systems containing dinitrosyl ferrohemochrome. J. Food Prot. 49(9):691-695.

YUFERA, E P. 1979. Química agrícola III. Alhambra, Madrid.

WONG, R. 1996. Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José. Comunicación personal.