

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

EFFECTS OF 4-HEXILRESORCINOL AND SODIUM METABISULFITE ON MELANOSIS IN FRESH SHRIMPS (*Penaeus vannamei*).

EFFECTOS DEL 4-HEXILRESORCINOL Y METABISULFITO DE SODIO SOBRE LA MELANOSIS EN CAMARONES FRESCOS (*Penaeus vannamei*).

Authors/Autores: Bermúdez-Medranda A. E., Panta-Vélez R.P

ID: e465

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.06.01.16>

Received/Fecha de recepción: January 27th 2018.

Accepted /Fecha de aceptación: June 08th 2018.

Availableonline/Fecha de publicación: March 22st 2019.



Please cite this article as/Citra como: Authors/Autores: Authors/Autores Bermúdez-Medranda A. E., Panta-Vélez R.P. (2019) EFFECTS OF 4-HEXILRESORCINOL AND SODIUM METABISULFITE ON MELANOSIS IN FRESH SHRIMPS (*Penaeus vannamei*). Revista Bio Ciencias 6(1) e456 doi <https://doi.org/15741/revbio.06.01.16>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

**EFFECTS OF 4-HEXILRESORCINOL AND SODIUM METABISULFITE ON
MELANOSIS IN FRESH SHRIMPS (*Penaeus vannamei*)**

**EFFECTOS DEL 4-HEXILRESORCINOL Y METABISULFITO DE SODIO SOBRE
LA MELANOSIS EN CAMARONES FRESCOS (*Penaeus vannamei*)**

Bermúdez-Medranda, Alexandra Elizabeth¹; Panta-Vélez, Rodolfo Patricio²

Escuela en Acuicultura y Pesquerías, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Técnica de Manabí, Ciudadela Universitaria, Bahía de Caráquez,
Manabí, Ecuador. Correo electrónico¹: abermudez@utm.edu.ec.

1 número ORCID 0000-0002-5451-3990

2 ORCID 0000-0003-2969-0765

RESUMEN

Ecuador constituye a nivel mundial una fuente importante de alimentación del crustáceo *Penaeus vannamei*, generando recursos económicos para el país. Los camarones tras su muerte a traviesan por un proceso de ennegrecimiento afectando su valor comercial, siendo la causa de mayor rechazo del producto en el mercado internacional la melanosis en el camarón, la cual es un cambio de color de la superficie causado por formación enzimática de compuestos precursores los cuales pueden polimerizarse espontáneamente y/o reaccionar con componentes celulares para formar pigmentos insolubles. Un método utilizado para evitar la melanosis es la adición de preservantes en el manejo post cosecha del camarón. El objetivo del presente estudio fue evaluar concentraciones de metabisulfito de sodio a 4 y 6% y 4-hexilresorcinol a 2 y 2.5%, como inhibidores de la melanosis. Se determinó los niveles residuales obtenidos de los tratamientos, por medio del método de Monier Williams modificado para metabisulfito de sodio y la técnica de Nakazato et al. (2005) (HPLC-UV) para determinación residual de 4-Hexilresorcinol. Los resultados obtenidos mostraron que los dos preservantes cumplen con los niveles residuales permitidos en la legislación europea. Asimismo, los factores organolépticos de olor, color y sabor para el análisis sensorial y las características

microbiológicas: no revelaron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos probados. La determinación del porcentaje de camarones afectados con melanosis en la prueba de resistencia de los camarones crudos por 6 horas en exposición ambiental, indican diferencias significativas entre el control y los preservantes evaluados ($p < 0,0001$). La acción antimelanosica se verificó en los tratamientos con 4-hexilresorcinol, aditivo considerado GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro), el cual resultó tan eficaz como el metabisulfito de sodio.

Palabras claves: melanización, camarón.

ABSTRACT

Ecuador is an important source of food for the crustacean *Peneus vannamei* worldwide, generating economic resources for the country. The shrimps after their death go through a process of blackening affecting their commercial value, being the cause of greater rejection of the product in the international market the melanosis in the shrimp, which is a change of color of the surface caused by enzymatic formation of compounds precursors which can spontaneously polymerize and / or react with cellular components to form insoluble pigments. A method used to prevent melanosis is the addition of preservatives in the post-harvest management of shrimp. The objective of the present study was to evaluate concentrations of sodium metabisulfite at 4 and 6% and 4-hexylresorcinol at 2 and 2.5%, as inhibitors of melanosis. The residual levels obtained from the treatments were determined by means of the modified Monier Williams method for sodium metabisulfite and the technique of Nakazato et al. (2005) (HPLC-UV) for residual determination of 4-Hexylresorcinol. The results obtained showed that the two preservatives meet the residual levels allowed in European legislation. Likewise, the organoleptic factors of odor, color and flavor for the sensory analysis and the microbiological characteristics: did not reveal significant differences in any of the treatments tested. The determination of the percentage of shrimp affected with melanosis in the test of resistance of raw shrimp for 6 hours in environmental exposure, indicate significant differences between the control and the preservatives

evaluated ($p < 0.0001$). The antimelanosis action was verified in treatments with 4-hexylresorcinol, an additive considered GRAS (Generally Recognized as Safe), which was as effective as sodium metabisulfite.

Keywords: melanization, shrimp.

INTRODUCCION

La gran demanda en el mercado internacional que presenta el camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*) y las crecientes exportaciones de este producto desde el Ecuador, generan una gran entrada de divisas al país y permiten un importante movimiento de dinero a nivel mundial.

Debido a la alta competitividad y las exigencias de los mercados, cada vez se vuelve más riguroso el control de la calidad del producto, rechazando contenedores que no cumplen con especificaciones microbiológicas, químicas o sensoriales. Uno de los indicadores más importantes en este control, por la inmediatez de su evidencia es la presencia de melanosis (Martínez, 2017), la cual constituye un serio problema que ha traído como resultado grandes pérdidas económicas para los productores y a toda la cadena de comercialización, pues genera una depreciación de la calidad del camarón (Loubes *et al.*, 2009). De ahí la gran importancia de lograr un proceso rápido y eficiente antes de la congelación, ya que la melanosis al ser un fenómeno de origen enzimático comienza, generalmente, inmediatamente después de la muerte del animal, aunque en algunos casos ha tenido lugar en especímenes vivos (Ogawa, 1987). Por tales razones el oscurecimiento enzimático es una de las reacciones más importantes que afectan a los crustáceos, por lo que su prevención es muy imprescindible (Marshall *et al.*, 2000).

A fin de evitar el fenómeno melanósico que sufren la mayor parte de los crustáceos de interés comercial, los sulfitos comenzaron a ser utilizados en los años 50 y a partir de ese momento se difundieron ampliamente debido a su efectividad y a su bajo costo. Pero en los últimos años, numerosos trabajos de investigación acerca de sus posibles efectos adversos y casos de alergias en personas asmáticas o sensibles han despertado la preocupación de los consumidores, y a la búsqueda

de tratamientos alternativos en la prevención de la melanosis. Debido a la peligrosidad de los sulfitos para la salud pública, diferentes países han adoptado medidas regulatorias en cuanto al uso y concentración residual de sulfitos en crustáceos (Loubes *et al.*, 2009), considerándose un peligro potencial a la salud humana pues puede provocar náusea, irritación gástrica y vómito en el ser humano debido a la destrucción de la tiamina y en individuos susceptibles provoca reacciones alérgicas en cantidades pequeñas (Hidalgo, 2011; Díaz, 2011).

Actualmente el camarón *P. vannamei* cultivado en Ecuador se comercializa tratado con metabisulfito de sodio, antioxidante de probada eficacia, pero con el tiempo la tasa residual de metabisulfito en los tejidos disminuye y cuando se vuelve insuficiente, los mecanismos de melanosis inician nuevamente (Llerena, 2011), por lo cual el sector exportador muestra su preocupación de cumplir con requisitos de calidad del producto y de la concentración residual máxima de sulfitos en la parte comestible. Otra desventaja es el impacto perjudicial del metabisulfito de sodio sobre el ambiente, analizando la calidad del agua en los canales de abasto de camaroneras, manifiesta el efecto nocivo en el ambiente camaronero, apreciado por el deterioro del agua en el crecimiento de fitoplancton, concentración de oxígeno disuelto, transparencia, entre otras (Ibarra, 2012).

Por todo lo expuesto, en las dos últimas décadas los estudios se han enfocado en la búsqueda de otras alternativas para la sustitución del metabisulfito de sodio, siendo el 4-hexilresorcinol el posible sustituto, ya que su uso está permitido por las autoridades sanitarias de EE. UU, Canadá, Australia y algunos países de Latinoamérica, ya que ha sido usado en la industria cosmetológica y farmacéutica (Martínez *et al.*, 2007).

El objetivo de este trabajo fue comparar en el músculo del camarón las concentraciones residuales de los preservantes metabisulfitos de sodio y 4-hexilresorcinol en camarones de *P. vannamei*, a su vez conocer si permiten mantener la calidad del producto durante su comercialización, inhibiendo la melanosis y que no presenten riesgos para la salud del consumidor.

MATERIAL Y METODOS

Área de estudio

Los camarones *P. vannamei* enteros fueron tratados con metabisulfito de sodio (MBS) en una camaronera ubicada en Cojimíes, Pedernales, Manabí, Ecuador. Los análisis residuales de MBS se efectuaron en el laboratorio de una empresa exportadora de camarón localizada en Coaque, Pedernales, Manabí, Ecuador, entre octubre del 2013 y enero del 2014.

En el experimento se utilizó un diseño aleatorio con cuatro tratamientos y seis repeticiones. Los tratamientos determinados fueron: testigo (T1); inmersión del camarón fresco en solución de 4-hexilresorcinol al 2% (T2); inmersión del camarón fresco en solución de 4-hexilresorcinol al 2.5% (T3); inmersión del camarón fresco en solución de metabisulfito de sodio al 4% (T4) e inmersión del camarón fresco en solución de metabisulfito de sodio al 6% (T5). Todos los tratamientos tuvieron una duración de 15 minutos.

El muestreo se efectuó con camarones de un tamaño comercial de 12 g en cada una de las repeticiones. La cantidad en kilogramos de animales utilizados en las diferentes inmersiones fue de 4.5 kg correspondiente con el protocolo de cosecha de la empresa exportadora, en el caso del metabisulfito de sodio. Para 4-Hexilresorcinol la dosificación del químico se realizó acorde a la recomendación del fabricante del insumo.

La medición del residual de metabisulfito de sodio se calculó utilizando el método Monier Williams modificado (AOAC 18Th 990.28) y para el 4-Hexilresorcinol la técnica de Nakazato *et al.* (2005) (HPLC-UV).

Método de cosecha de camarón

En la zona Norte de Manabí, el camarón es cosechado con una bolsa que se recoge mientras se drena el estanque. Este proceso se realiza con mucho cuidado para prevenir daños en el animal o acumulación excesiva de fango y suciedad

mezclados con el camarón. La bolsa se vacía en cestas, tinas o bins limpios aproximadamente cada 15 o 20 minutos. Dependiendo de la cantidad a cosechar, las unidades del almacenamiento temporal (gavetas), deben pesar no más de 35 a 45 libras para permitir una manipulación razonable. El camarón debe ser tratado desde la camaronera para prevenir el desarrollo de la melanosis para lo cual se debe aplicar metabisulfito de sodio.

Método de aplicación de 4-Hexilresorcinol al 2% en camaronera.

4.5 litros de agua fueron colocados en una tina de 50 litros de capacidad, agregándose posteriormente 4.5 Kg de hielo y 180 mL de 4-hexilresorcinol, donde se sumergió el camarón vivo para la respectiva absorción del preservante.

Método de aplicación de 4-Hexilresorcinol al 2.5% en camaronera.

En una tina de 50 litros, se colocó 4.5 litros de agua, 4.5 Kg de hielo y 225 mL de 4-hexilresorcinol, seguidamente se sumergió el crustáceo vivo.

Método de Aplicación de Metabisulfito de Sodio (Solución al 4%) en Camaronera.

Para la aplicación del metabisulfito de sodio (solución al 4%), 15.36 litros de agua fueron colocados en una tina de 50 litros. Posteriormente se agregó 3.84 Kg de hielo, la solución se agitó manteniendo siempre la temperatura del agua de la tina entre 5 - 12 °C.

Se colocó aproximadamente 1 litro de agua a temperatura ambiente en un recipiente y se disolvió en la misma 800 gramos de Metabisulfito de sodio. Una vez que está bien disuelto el Metabisulfito, la solución obtenida debe tener un pH entre 4.1 – 4.2, Esta disolución se añadió a la tina anteriormente preparada, donde se mantiene una temperatura de 5°C.

El camarón cosechado fue sumergido por 15 minutos en la tina preparada anteriormente, considerando que esta inmersión controlada sea de un minuto por

cada gramo del peso promedio de los camarones cosechados (SLA 2011), una vez culminado el tiempo estipulado, el operador procedió a sacar el camarón con una gaveta calada (con agujeros) y luego fueron colocados en gavetas cónicas (cerradas) adicionándole hielo en el fondo y en la parte superior para mantener el camarón a una temperatura de 6 ± 2 °C, para su transporte y arribo a la planta procesadora.

Método de Aplicación de Metabisulfito de Sodio (Solución al 6%) en Camaronera.

En una tina de 50 litros se colocó 15.04 litros de agua, 3.76 Kg de hielo y 1200 gramos de metabisulfito de sodio (solución 6%), donde posteriormente se sumergieron los camarones a fin de que absorban el preservante.

Determinación de Sulfito Residual en Producto Fresco usando la técnica de Monier Williams Modificada.

Fundamento

Se basa en la digestión de la muestra por acción del ácido clorhídrico concentrado y calor, obteniéndose por destilación los sulfitos que se recogen en peróxido al 3% neutro. La valoración se realizó con una disolución de Hidróxido de sodio conteniendo una cantidad de sustancia 0,01 mol/L.

Preparación de Muestra para Análisis en Planta Procesadora

Se tomó la muestra de crustáceo al momento que llegó a la planta y se preparó el camarón, eliminado la cabeza o cefalotórax y la cáscara, teniendo cuidado de dejar el hepatopáncreas, se homogenizó y se pesó 30 gramos en un vidrio de reloj.

Digestión de la Muestra

La muestra ya pesada se colocó en un balón Kjeldahl de 500 ml, se adicionó 150 mL de agua destilada y 10 mL de ácido clorhídrico concentrado Q.P., al 37%, y se llevó a ebullición moderada por un lapso de 20 minutos.

Preparación de la Disolución Colectora en las fiolas de Recuperación.

En una fiola de 250 mL se diluyó 10 mL de peróxido de hidrógeno al 30% en 90 mL de agua destilada para obtener una solución fresca de peróxido al 3%. A esta solución se le agregó 3 gotas de rojo de metilo y se neutralizó con una disolución de hidróxido de sodio conteniendo una cantidad de sustancia 0.01 mol/L, la disolución dio cambio de color rosado a color amarillo pajizo. La fiola con la disolución ya neutralizada se colocó en la parte final del equipo de destilación para recoger el condensado de vapor de la muestra.

La presencia de sulfitos en la muestra se diferenció por el viraje de color nuevamente a rosado, posterior a los 20 minutos de ebullición, se retira la fiola y proceder a la titulación con la solución de hidróxido de sodio 0.01N, aplicar la fórmula para obtener los resultados.

Método de Cálculo de los Resultados

$$ppm SO_2 = \frac{32,03 \times 0,01 \times 1000 \times (\text{Consumo} - \text{Blanco})}{\text{Peso Muestra (g)}}$$

Dónde:

Constante de Sodio: 32,03 miliequivalentes de la masa mol SC.

0,01: Normalidad del NaOH

1000: factor de conversión de miliequivalentes a micro equivalentes

Consumo: de cantidad de sustancia de NaOH 0,01 mg/L titulante.

Constante de Blanco: consumo de NaOH 0,01N por blanco de reactivos.

Peso: en gramos de la muestra de camarón que fue introducida dentro del Balón.

ppm SO₂: expresión de los resultados en mg/L.

Evaluación de la Melanosis

Un aspecto importante de calidad a ser evaluado en los camarones es el grado de melanosis, el cual resulta en el oscurecimiento del exoesqueleto debido a la formación de pigmentos (melaninas), disminuyendo su atractivo y por ende su valor comercial (Luzuriaga *et al.*, 1997). Para evaluar la melanosis se dejó en reposo 30 unidades de producto crudo a temperatura ambiente durante 6 horas, valorándose hora a hora, cada uno de los tratamientos con los dos preservantes. La determinación se realizó en porcentajes de unidades de muestras afectadas. La cantidad de camarones en reposo y el tiempo estimado, se basa en experiencias obtenidas de otras empacadoras y de clientes del mercado francés.

Evaluación de las características organolépticas

El análisis organoléptico fue realizado en producto fresco de manera inmediata a la llegada del producto a la planta. La ficha de evaluación se presentó codificada de manera aleatoria con un número de tres dígitos.

Para este análisis los camarones fueron cocidos en agua a temperatura de ebullición de 3 a 4 minutos, en ollas individuales, renovando el agua entre cada muestra. Finalizada la cocción, las muestras se sometieron a un rápido enfriamiento por inmersión en agua potable. El descabezado y pelado fue realizado de forma manual. Los 5 tratamientos fueron evaluados por un panel de diez jueces en cada una de las repeticiones, utilizándose en la ficha de evaluación una escala hedónica con 9 parámetros a escoger por parte de los jueces.

Se comparó los cuatro tratamientos en características de olor, color y sabor contra el blanco (producto sin tratamiento), a fin de evaluar si ocurren cambios en el producto, debido a la aplicación de los preservantes

Características Microbiológicas del Producto

Las muestras de camarón tratado con los dos preservantes fueron analizadas de acuerdo con la metodología BAM CAP.3 para aerobios totales y coliformes fecales BAM 2002 CAP.4 LIT. A-F, respectivamente en un laboratorio externo.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los análisis fueron almacenados y procesados en hojas de cálculo Excel e Infostat como herramienta para el análisis. Los resultados fueron presentados como el promedio \pm desviación estándar. En todos los casos se realizó una prueba de Kolmogorov–Smirnov para comprobar la normalidad y la prueba Levene para la homogeneidad de varianza previo al ANOVA de una vía y prueba Tukey. Para los datos no paramétricos el test de Kruskal–Wallis fue utilizado. Las diferencias significativas se calcularon en $p < 0,05$.

RESULTADOS

Evaluación de los residuales de los preservantes metabisulfito de sodio y 4 hexilresorcinol

Los resultados obtenidos en las muestras de concentración residual en el musculo del camarón, comparando el metabisulfito de sodio y el 4-hexilresorcinol reflejaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p = 0,0001$). En la tabla 1, se aprecian las concentraciones residuales promedios de ambos preservantes, obteniendo la menor concentración en el 4-Hexilresorcinol al 2,5 % (T3) con $1,04 \pm 1,25$ mg/Kg y la mayor concentración en el Metabisulfito de sodio al 4 % (T4) con $75,44 \pm 17,39$ mg/Kg.

Table1. Residual concentration of sodium metabisulfite and 4-hexilresorcinol in the shrimp muscle in the different treatments evaluated.

Tabla 1. Concentración residual de metabisulfito de sodio y 4-hexilresorcinol en el musculo del camarón en los diferentes tratamientos evaluados.

Treatments	Concentración Residual (mg/Kg) ($\bar{x} \pm DS$)
Control (T1)	0,00±0,00 a
4-Hexilresorcinol al 2 % (T2)	1,36±2,69 a
4-Hexilresorcinol al 2,5 % (T3)	1,04±1,25 a
Sodium Metabisulfite al 4 % (T4)	75,44±17,39 b
Sodium Metabisulfite al 6 % (T5)	74,50±18,17 b

*Stockings with different letters significantly for $p < 0,05$

Evaluación de las características organolépticas y microbiológicas

La estimación de las variables organolépticas se efectuó con el fin de establecer si los antimelanósicos modifican las características sensoriales de las muestras cocidas del crustáceo. Tras la evaluación de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, se determina que no existe diferencias significativas en los tratamientos en los diferentes parámetros evaluados ($p > 0,05$) (Tabla 2), observándose en el sabor, una media total de $5,95 \pm 2,00$ (me gusta poco). En el olor presento un promedio general de $6,42 \pm 2,03$ y en el color presento una media total de $5,46 \pm 2,03$ (no me gusta ni me disgusta)

Tabla 2. Análisis de las características organolépticas y microbiológicas del camarón en los diferentes tratamientos evaluados.

Table 2. Analysis of the organoleptic and microbiological characteristics of the shrimp in the different treatments evaluated.

Quality parameters	Treatments					P value
	Control (T1)	4-Hexilresorcinol al 2 % (T2)	4-Hexilresorcinol al 2,5 % (T3)	Sodium Metabisulfite al 4 % (T4)	Sodium Metabisulfite al 6 % (T5)	
Flavor	6,05±2,09 a	5,62±2,11 a	6,00±1,92 a	6,39±1,80 a	5,69±2,11 a	0,2653
Odor	6,49±2,05 a	6,11±2,17 a	6,49±1,98 a	6,87±1,85 a	6,15±2,11 a	0,2613
Color	5,57±2,15 a	5,15±2,10 a	5,52±1,89 a	5,89±1,87 a	5,18±2,16 a	0,2560
Aerobic mesophilic (UFC/g)	616,67±466,55 a	1160,00±1570,89 a	291,67±358,13 a	248,33±372,58 a	41428,33±79203,91 a	0,3673

* Equal letters do not show significant differences between treatments ($p > 0,05$)

No existió diferencia significativa en ninguno de los tratamientos ($p = 0,3673$) en el análisis microbiológico para aerobios mesófilos totales, indicando que en los tipos de preservantes y concentración de estos, son efectivos para disminuir la carga bacteriana. A pesar de ello, se observó una menor población inicial en el T4 y T3. Por otra parte, los camarones tratados con metabisulfito de sodio al 6% (T5), presentaron valores ligeramente mayores de CFU de bacterias aerobias mesófilas (Tabla 2). Así mismo hubo ausencia de bacterias en el análisis de coliformes fecales a 45 °C en los diferentes tratamientos evaluados incluyendo el control demostrando una buena calidad de materia prima y manejo del proceso ejecutado.

Evaluación de la melanosis

Existió diferencias significativas entre el control y los preservantes evaluados ($p < 0,05$) (Figura 1) sobre la presencia de melanosis en camarones. Los resultados obtenidos en las concentraciones estudiadas muestran resultados similares de ausencia, indicando que los dos preservantes son efectivos para el control de la melanosis en camarones. La muestra testigo o control (T1), presentó un promedio del $7,27 \pm 4,64\%$ de melanización en los camarones a partir de la quinta hora de exposición en el test de resistencia.

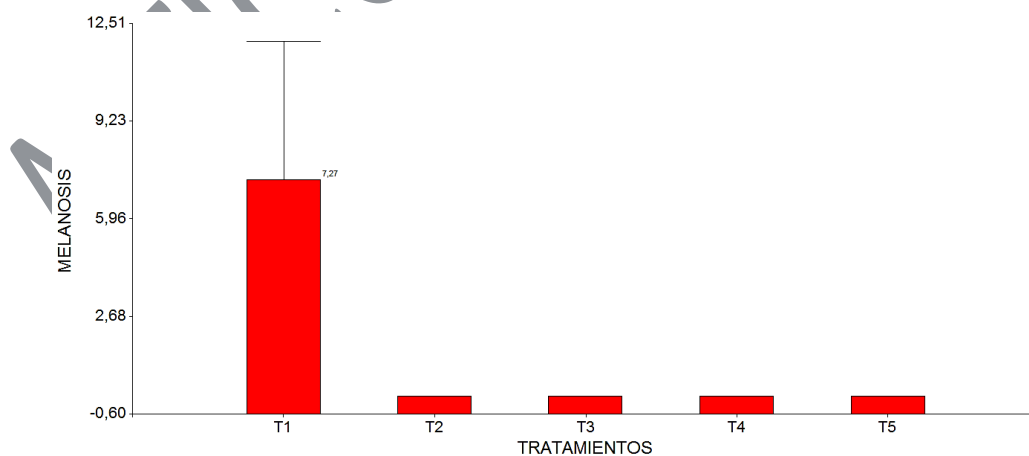


Figure 1. Mean values of melanosis results.

Figura 1. Valores medios de resultados de melanosis.

DISCUSIÓN

En la investigación realizada con los dos tratamientos, tanto en concentración como en tipo de preservante mostraron ser efectivos para evitar el oscurecimiento enzimático o melanosis en camarones de la especie *Penaeus vannamei*, lo cual guarda relación con lo hallado por McEvilly *et al.* (1991), Guandalini *et al.* (1998) y Loubes *et al.* (2009), quienes probaron concentraciones de metabisulfito de sodio y de 4-hexilresorcinol en *Penaeus aztecus*, *Penaeus duorarum*, *Parapenaeus longirostris* y *Pleoticus muelleri*, determinando que son agentes adecuados para evitar la melanización.

Los resultados obtenidos para los valores de residuales de los preservantes orientan que el tratamiento de metabisulfito de sodio al 4% alcanzó valores adecuados y acorde a las regulaciones europeas de máximos permitidos (Tabla 3), por lo que es la alternativa que brinda mayor ventaja económica, tomando en consideración los menores consumos de metabisulfito de sodio en comparación con el tratamiento 5 de metabisulfito de sodio al 6%.

Tabla 3. Directiva 95/2/CE del parlamento europeo y del consejo. Dosis máxima de residual de metabisulfito de sodio en las partes comestibles de camarones frescos.

Table 3. Directive 95/2 / EC of the European Parliament and the council. Maximum residual dose of sodium metabisulfite in the edible parts of fresh shrimp.

Hasta 80 unidades	150 mg/Kg
Entre 80 y 120 unidades	200 mg/Kg
Más de 120 unidades	300 mg/Kg

El uso de 4-hexilresorcinol está permitido en los Estados Unidos, Canadá, Australia y algunos países latinoamericanos (Martínez- Álvarez *et al.*, 2007). En la presente investigación el nivel residual de los preservantes cumplió con el estándar legal de residualidad en el músculo del camarón, establecido por la directiva 2006/52/CE del Parlamento Europeo de 5 de julio de 2006, donde establece que el nivel residual

de 4-hexilresorcinol no debe sobrepasar los 2 mg/kg (Unión Europea 2006), y es considerado un aditivo generalmente seguro (GRAS) porque no deja efectos secundarios provocados por los sulfitos, lo que indica como una alternativa altamente viable y muy conveniente frente al metabisulfito de sodio para inhibir melanosis.

En la presente investigación en los camarones analizados no hubo diferencias significativas al aplicar los preservantes a diferentes concentraciones, en el aspecto organoléptico de color, olor y sabor. Similar situación registró Loubes *et al.* (2009), donde las muestras de langostinos tratadas con 4-hexilresorcinol no revelaron cambios en el sabor, terneza y fibrosidad en comparación al metabisulfito de sodio y si una masa más jugosa cuando el tratamiento aplicado fue de 4-HR al 0,01%. Al no observarse diferencias significativas en este estudio ambos preservantes son la alternativa de uso en prevención de la melanosis en camarones, sin ocasionar cambios organolépticos en el marisco.

En el análisis de aerobios mesófilos presentaron valores más bajos en el tratamiento con metabisulfito de sodio al 4%. Las bacterias coliformes fecales indicaron ausencia en todos los tratamientos. Estos resultados fueron similares a Yokoyama (2007), quien encontró que entre el tratamiento con metabisulfito de sodio y 4-hexilresorcinol no hubo diferencias significativas en el conteo de bacterias aerobias mesófilas, mientras que sí se notó una población inicial más pequeña en los tratamientos con los antimelanosicos, en comparación con el control, igual situación lo menciona Montero (2001), donde indica que los conservantes utilizados en este ensayo tienen cierto efecto antimicrobiano. A su vez Yokoyama (2007) no observó variación en la recuperación de coliformes fecales en todo el desarrollo de su investigación, lo cual no puede ser comparado con el presente estudio debido a que no registro presencia de esta bacteria.

CONCLUSIONES

El uso de 4-hexilresorcinol, aditivo considerado GRAS, resulto tan eficaz como el metabisulfito de sodio para preservar a los camarones de la melanosis durante este estudio. Los tratamientos realizados con 4-hexilresorcinol arrojaron valores promedios de residuales conforme a la reglamentación europea, teniendo la ventaja de que no existen los efectos secundarios provocados por los sulfitos, indicándose como una alternativa altamente viable y conveniente, considerando a la vez que los consumidores apreciarían un producto libre de aditivos alergénicos.

Se recomienda que el sector exportador de la industria procesadora de camarón busque como alternativa el uso del 4-hexilresorcinol, con un cómodo precio que pueda ser accesible a los exportadores, ya que al ser caros limitan su uso en las empresas.

Bibliografía

- AOAC. (2000). Método modificado Monier Williams. En Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis 17/2000 (págs. 47, Pag 49-2000 Arlington: William Byrd Press.
- BAM.CAP.3. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 3 Aerobic Plate Count, January 2001 FDA.
- BAM. CAP.4 Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria, September 2002. FDA
- Diario Oficial de la Unión Europea 1995. Directiva 95/2/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. Disponible en http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav11_es.pdf. Fecha de acceso 19 de abril de 2018.
- Díaz, P. (2011). Utilización de metabisulfito de sodio como preservante en las camarónicas. Tesis de grado. Guayaquil, Ecuador: Universidad Agraria del Ecuador.
- Europea, U. (05 de 07 de 2006). DIRECTIVA 2006/52/CE.
- Guandalini, E., Draisci, R., & Macri, A. (1998). Efficacy of 4-hexylresorcinol on Oxidative processes of Mediterranean sea shrimp (*Parapenaeus longirostris*). An alternative to sulphite? *Industrie Alimentarie*, Pinerolo, v. 37, n. 374, p. 1158-1161, oct. 1998. Recuperado el 03 de julio de 2014, de <<http://www.portaldapesquisa.com>.
- Hidalgo, J. (2011). Tratado de Enología. (2ed.). Madrid: Editorial Mundi-prensa.
- Ibarra, A. (2012). Recuperación del metabisulfito sódico en las cosechas del camarón y su efecto nocivo al agua en el medio ambiente costero. *Desarrollo Local Sostenible*. Vo. 5, N.º 14. Disponible en: <http://www.eumed.net/rev/delos/14/>

- Loubes, M., Vidales, S., & Almada, C. (2009). Evaluación sensorial de crustáceos tratados con inhibidores de la melanosis. Argentina: Editorial Académica Española. Disponible en <https://www.researchgate.net/.../318430074>
- Luzuriaga, D.A.; Balaban, M.O.; Yeralan, S. 1997. Analysis of visual quality attributes of white shrimp by machine vision. *Journal of Food Science*, (62) 1: 113- 130.
- Llerena, C. (2011). Evaluación del proceso de Absorción del sulfito de sodio en el músculo del camarón (*L. vannamei*) para el control de la melanosis. Tesis presentada para la obtención del título de Magister en Ciencias Alimentarias. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- Marshall, M. K. (2000). Enzymatic Browning in Fruits, Vegetables and seafoods. Recuperado el 21 de 06 de 2013, de <http://www.fao.org.2000>.
- Martínez - Álvarez, O. L.-C., Montero, P., & Gómez Guillen, M. C. (2007). Spraying of 4 hexylresorcinol based formulations to prevent enzymatic browning in Norway lobsters (*Nephrops norvegicus*) during chilled storage. *Food Chemistry*, Barking., vol 100, pag 147-155.
- Martínez, G. (2017). Evaluación de la inhibición de la melanosis en camarón de cultivo (*Litopenaeus vannamei*) mediante el uso de mezclas antioxidantes de cebolla (*Allium cepa*), piña (*Ananas comosus*) y ácido ascórbico.
- McEvilly, A. I. (1991). Sulphite Alternative Prevents Shrimp Melanosis. *Food Technology*, Vol 45, p 80 - 86.
- Montero, P. L.-C.-M. (2001). The effects of inhibitor and high-pressure treatment to prevent Melanosis and Microbial Growth on Chilled Prawns (*Penaeus japonicus*). *Journal of food science* 1201 -1206.
- Nakazato, Mitsuo., Matsumoto, H., Kasuya, Y., Yasuda, K. Determination of 4-hexylresorcinol residues in Prawn and Crab. December 2005. Vol. 46, nº 6.
- Ogawa, J. Blackspot occurrence in lobsters and shrimp. *Infosh Marketing digests*. (1). January- February. FAO. Malasia. 1987.
- SLA. (2011). El uso del metabisulfito de sodio. *Revista Tilapias y Camarones.*, n 13 Pag, 41.
- Yokoyama, V. (2007). Qualidade do camarão da espécie *Xyphopenaeus Kroyeri* mediante a ação dos agentes antimelanoticos Piracicaba. Tesis, Brasilia.