

## PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y ANÁLISIS DE SULFITOS EN CRUSTÁCEOS FRESCOS CONGELADOS

### 1. INTRODUCCIÓN

La melanosis es un proceso que conduce a la formación de melanina, de color negro intenso, en los alimentos. El mecanismo de formación de melanina está bien caracterizado, pudiendo ser de origen enzimático, iniciado por el enzima polifenoloxidasa, y no enzimático, mediante la polimerización de fenoles.

La polifenoloxidasa es un enzima propio de algunos grupos de animales, como los artrópodos, de ahí que su incidencia en los crustáceos sea importante. Su función fisiológica principal es ayudar al endurecimiento de la quitina del caparazón después de la muda, a la vez que proporciona resistencia a las enfermedades, dadas las propiedades antimicrobianas y fungiestáticas de la melanina y los polifenoles.

La intervención directa del enzima polifenoloxidasa causa melanosis en el caparazón de los crustáceos durante el periodo posterior a su captura, afectando gradualmente a su calidad, lo que provoca la depreciación del producto y su rechazo por los consumidores.

La función de los sulfitos consiste en la reducción de las o-quinonas, que son precursores de la melanina, por lo que mantienen el producto con su color natural durante el periodo de distribución comercial (4-5 días).

El producto más habitualmente utilizado es el metabisulfito sódico ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ), que contiene un contenido de  $\text{SO}_2$  mínimo equivalente del 64%. Este producto es un polvo cristalino de color blanco que se aplica en espolvoreo o por inmersión en una disolución acuosa. Dado que el proceso de melanosis comienza una vez que se produce la captura, la aplicación de estos productos antimelanósicos debe realizarse lo antes posible y proceder inmediatamente a su congelación.

Los niveles en la parte comestible, de acuerdo con la definición de la Directiva 95/2/CE, van a depender de la cantidad que se introduzca en el músculo, influyendo varios factores, como el tamaño de las piezas, el estado fisiológico, el pH, la temperatura, etc.

Dadas las características de los crustáceos y la forma de aplicación del producto, los sulfitos se localizan en la parte externa del caparazón de los crustáceos, repartiéndose de una manera más heterogénea en el caso de la aplicación en espolvoreo. En el caso de producto cocido no sucede esto, ya que durante el procesado se lava la superficie.

Por ello, la preparación de la muestra, cuando se trata de un producto congelado no cocido, es un factor que puede influir en el resultado final cuando se determina el contenido de sulfuroso en la parte comestible.

Este hecho ha quedado patente en un estudio<sup>1</sup>, realizado por ANFACO-CECOPESCA, que se presentó en una reunión convocada por la Dirección General de Ordenación Pesquera, y a la que también asistieron representantes de la AESAN, la Dirección General de Salud Pública y Sanidad Exterior, el sector y ANFACO-CECOPESCA. Las conclusiones de este estudio fueron:

*<<En los resultados obtenidos con los modos de preparación en los que la muestra se descongela completamente, se aprecia una ligera migración de sulfitos desde la cáscara al músculo, sobre todo debido a absorción de SO<sub>2</sub> de la carne descongelada en contacto con el exoesqueleto de los crustáceos. No influye el modo de descongelación, y al contrario de lo que se pensaba inicialmente, el agua de descongelación en contacto con las muestras no provoca que se incremente el nivel de SO<sub>2</sub> más que cuando el agua se deja escurrir a través de una rejilla o es absorbida con papel secante.>>*

El Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre aditivos alimentarios establece, en su artículo 5, que está prohibida la comercialización de cualquier alimento en el que esté presente un aditivo alimentario si la utilización del aditivo alimentario no es conforme con el reglamento. En consecuencia, el punto de cumplimiento con la legislación se debe producir en el momento de la puesta en el mercado del alimento, por lo que toda partida de crustáceos que se ponga en el mercado tiene que tener, en ese momento, unos niveles de SO<sub>2</sub> inferiores a los establecidos en el Real Decreto 142/2002.

En lo que respecta al consumidor, el Artículo 6 del Reglamento 1333/2008 establece que un aditivo alimentario podrá incluirse en las listas comunitarias únicamente si cumple, entre otras, la condición de que no plantea, sobre la base de las pruebas científicas disponibles y al nivel de uso propuesto, problemas de seguridad para la salud del consumidor. Esto obliga a realizar una evaluación del riesgo en la que debe tenerse en cuenta cualquier aspecto relevante, como por ejemplo factores de concentración o dilución durante la preparación doméstica del alimento.

## 2. OBJETO

Este protocolo describe el procedimiento recomendado para la preparación de muestras de crustáceos frescos (no cocidos) congelados para la determinación de sulfitos, con el objeto de disponer de muestras representativas y evitar discrepancias en los resultados obtenidos en distintos laboratorios, por lo que se facilita las actuaciones de control oficial.

## 3. ALCANCE

Preparación y homogeneización de muestras de crustáceos frescos congelados para la determinación de sulfitos.

---

<sup>1</sup> "Estudio de la tasa de intercambio de metabisulfito entre caparazón y músculo en el proceso de descongelación de los crustáceos" ANFACO-CECOPESCA. Pendiente de publicación.

## 4. DESCRIPCIÓN

### 4.1. Medios Necesarios:

Equipos y materiales:

- Molino triturador
- Equipo de purificación de agua (agua tipo I y II) "MILLIPORE"
- Tabla, cuchillo y espátulas
- Balanza electrónica
- Homogeneizador de varilla y cuchillas

### 4.2. Almacenamiento:

Las muestras se mantendrán adecuadamente embaladas a temperatura inferior a -18°C hasta el momento de su análisis. El periodo máximo de almacenamiento de las muestras no deberá exceder los 2 meses, excepto si en el procedimiento de ensayo correspondiente se especifica lo contrario.

### 4.3. Preparación de la muestra:

Para obtener resultados representativos y repetitivos es imprescindible que el análisis se ejecute sobre una muestra representativa, para ello se procede a la homogeneización de acuerdo con el siguiente protocolo:

- En el caso de que la muestra se presente envasada para la venta al consumidor final, se deberán seguir las indicaciones que figuren en el etiquetado sobre la manipulación del producto, siempre y cuando se presenten de una manera clara y visible, para la preparación de la muestra antes de su análisis.
- En el caso de que el producto se presente a granel o no existan indicaciones en el etiquetado o no figuren de una manera clara y visible, la muestra se dejará a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C aprox.) el tiempo necesario (como máximo una hora) hasta que puedan ser manipulados, sin dejar que se descongelen totalmente.
- El análisis se realizará sobre las partes comestibles. Para ello, a continuación se procederá a la eliminación de caparazones y otras partes no comestibles del exoesqueleto y tracto digestivo visible. Se excluyen las vísceras de los crustáceos tipo cangrejo y el cefalotórax del resto de los crustáceos. Es importante procurar no tocar con los guantes la carne de los crustáceos, para evitar que la muestra se contamine con restos que puedan estar en el exoesqueleto.
- Después se procede a la homogeneización: La muestra se transfiere a un homogeneizador de cuchillas, donde se tritura hasta obtener un aspecto uniforme.

- Si el tamaño de la muestra es  $\leq 500$  g, se han de procesar todos los ejemplares. En caso contrario, se homogeneiza bien la muestra, y se toman unos 500 g de crustáceos que serán los que se procesen.