

Universidad Nacional Agraria de la Selva
TINGO MARIA

FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Departamento Académico de Ciencias en Tecnología
Alimentaria

"Análisis Toxicológico de la Carne de Gualo
(Leptodactylus pentadactylus) y su Conserva-
ción por Método de Enlatado"

T E S I S

Para Optar el Título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Walter Espinoza Alonzo

Promoción 1981 – "Nicolás Appert"

TINGO MARIA - PERU

1986



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

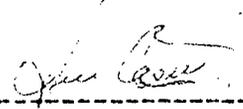
Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público, el día 22 de noviembre de mil novecientos ochentiseis, a horas 07:00 p.m. en el Aula 14, de la Universidad Nacional Agraria - de la Selva - Tingo María, provincia de Leoncio Prado, Dpto. Huánuco; para calificar la tesis presentada por el Bachiller en Ciencias Industrias Alimentarias, Walter ESPINOZA ALONZO, cuyo título es:

"PRUEBA EXPERIMENTAL DE ENLATADO DE CARNE DE GUALO - RANA GIGANTE (Leptodactylus Pentadactylus)".

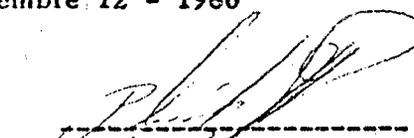
Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las preguntas formuladas, el Jurado de Tesis la declaró APROBADA con el calificativo de BUENO.

Por lo tanto, don WALTER ESPINOZA ALONZO se encuentra apto para recibir el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias por el Consejo Universitario, en concordancia con lo dispuesto por el Art. 22º de la Ley Universitaria Nº 23733.

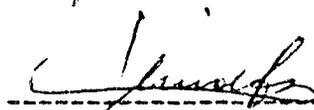
Tingo María, Diciembre 12 - 1986



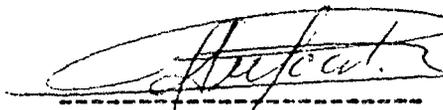
Ingº Jorge Castro Gracey
Vocal



Ingº Pedro Córdova Alva
Presidente



Ingº Guillermo de la Cruz C.
Patrocinador



Ingº Ramón Julca Roldán
Vocal

Con eterna gratitud para mis
padres MAXIMO y MARIA, que -
hicieron de mí un Profesional
al servicio de la Sociedad.

A mi esposa NOEMY por el grán
cariño y amor que nos une, y -
por su constante apoyo en la-
realización del presente estu
dio.

A mis hermanos: HEBERT, EDY,
ITA, EDWAR y ROBERT, por sus
consejos y apoyo para la cul-
minación de mi Profesión.

A mis Hijos IRMA y LUIS ALBERT
O, que por su cariño aprendí
a seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

- Al Ing. GUILLERMO DE LA CRUZ CARRANZA, Profesor Principal de la Facultad de Industrias Alimentarias, Patrocinador del presente trabajo.
- Al Ing. ABILIO DOMINGUEZ BALDOCEDA, Co-Patrocinador del presente trabajo.
- A los Doctores: JESUS VICTOR LIZANO GUTIERREZ Y RUBEN GIL DE LA U.N.M.S.M., Asesores en el estudio toxicológico.
- Al Ing. GUNTER DAZA RENGIFO, por las facilidades brindadas para efectuar el trabajo experimental, en la Planta Piloto de la UNAS. - Tingo María.
- Al Ing. AMERICO VERGARA JULCA. Por su colaboración en los análisis estadísticos.
- Al Sr. ESTEBAN HUAMAN, por su colaboración en los análisis físico-químicos.
- Al personal que labora en la Planta Piloto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por su colaboración en los ensayos de este trabajo.
- A los hermanos: SANTOS Y JOSE LUIS QUISPE COLLAZOS, por su colaboración en la captura de los especímenes en estudio.
- A mis Cuñados: RAFAEL Y JOSE ULICES. Por su apoyo moral y económico.
- A mis Amigos y Colegas, de la Promoción "NICOLAS APPERT", quienes me alentaron y colaboraron desinteresadamente durante mi carrera Profesional.

A todas aquellas personas que de una u otra forma, han hecho po
sible la realización de este trabajo.

INDICE GENERAL

	<u>Págs.</u>
I.- INTRODUCCION.....	20
II.- REVISION DE LITERATURA.....	21
A. Materia prima.....	21
1. Clasificación sistemática.....	21
2. Descripción zoológica.....	21
a. Características de los adultos	22
b. Características de las larvas o renacua- jos.....	22
c. Cariotipo.....	23
d. Origen y distribución.....	23
3. Hábito de las ranas comestibles	23
4. Especies comestibles recomendados.....	24
5. Nombres descritos para los miembros del gru- po de especie de <i>Leptodactylus pentadactylus</i> y el Status taxonómico corriente de cada uno de ellos.....	26
6. Crianza en cautiverio.....	29
7. Estanque y manejo.....	30
a. Estanque.....	30
b. Manejo.....	30
B. Estudio toxicológico.....	31
1. Toxicología.....	31
2. Características de las toxinas de origen ani	

	<u>Págs.</u>
mal.....	32
3. Toxinas de anfibios.....	35
a. Especies de anfibios más tóxicos.....	35
b. Localización de los venenos.....	35
c. Constitución química del veneno de los- anfibios.....	36
d. Resistencia del veneno.....	38
e. Sintomatología.....	39
f. Acumulación del veneno.....	41
g. Tratamiento de envenenamiento por bufo- toxinas.....	42
4. Pruebas toxicológicas.....	43
a. Absorción, destino y excreción.....	44
b. Toxicidad.....	45
1) Toxicidad aguda.....	45
2) Toxicidad sub-aguda.....	46
3) Toxicidad crónica.....	46
C. Conservación de los alimentos por el calor.....	47
1. Penetración del calor.....	47
a. Mecanismos, parámetros y factores que - influyen.....	47
b. Localización de la zona crítica.....	49
c. Determinación de la evolución de la tem	49

	<u>Págs.</u>
peratura en el alimento.....	55
2. Efectos del calor sobre los alimentos.....	56
3. Optimización del proceso de esterilización - cocción - bases científicas.....	58
a. Esterilización-cocción, objetivos.....	58
b. Bases científicas.....	60
1) Definición de objetivos.....	60
4. Cinética de la destrucción térmica de micro- organismos y de la degradación de la calidad: Parámetros.....	62
a. Primera ley.....	65
b. Segunda ley.....	67
III.- MATERIALES Y METODOS.....	69
A. Lugares de ejecución.....	69
B. Materia prima.....	69
C. Materiales y equipos.....	69
1. Materiales.....	69
2. Equipos.....	71
D. Métodos y procedimientos.....	72
1. Ensayos de biocultivo.	72
a. Construcción del estanque é incorporación de gualos.....	72
b. Captura del espécimen y su manipulación.	73

	<u>Págs.</u>
c. Análisis del contenido estomacal.....	73
d. Alimentación natural.....	73
e. Muestras y controles.....	75
2. Estudio toxicológico.....	75
a. Finalidad.....	75
b. Procedimientos.....	75
1) Liberación.....	77
2) Modo de instalación.....	78
3) Dosis.....	83
4) Modo de administración.....	86
5) Pruebas bio y químico toxicológicas realizadas.....	86
(a) Toxicidad aguda.....	86
(b) Toxicidad sub-aguda.....	87
(c) Prueba química toxicológica..	87
3. Procesamiento de la materia prima.....	92
a. Flujograma general de operaciones.....	92
b. Descripción de las operaciones.....	92
1) Materia prima.....	92
2) Eviscerado y pelado.....	92
3) Lavado.....	96
4) Precocinado.....	96
5) Llenado.....	97
6) Adición de solución de cubierta...	97

	<u>Págs.</u>
7) Evacuado.....	97
8) Sellado.....	99
9) Esterilizado.....	99
10) Enfriado.....	99
11) Almacenado.....	99
c. Cálculo del punto de calentamiento más tardío.....	100
d. Cálculo del tiempo de tratamiento término.....	101
E. Métodos analíticos de control.....	102
1. Análisis físico-organoléptico.....	102
a. Materia prima.....	102
b. Producto final.....	103
c. 1) Control de hermeticidad.....	103
2) Medición de vacío.....	103
3) Control de cierre.....	103
4) Control de corrosión.....	104
5) Determinación del pH.....	104
2. Análisis químicos.....	104
a. Composición química proximal de la materia prima.....	104
1) Humedad.....	104
2) Proteína.....	105

	<u>Págs.</u>
3) Grasa total.....	105
4) Ceniza.....	105
5) Carbohidratos.....	105
b. Producto final.....	105
3. Análisis microbiológico.....	106
a. Determinaciones llevadas a cabo.....	106
b. Medios de cultivo.....	106
c. Procedimiento.....	106
1) Muestreo y examen externo preliminar.	106
2) Pre-incubación de las conservas.....	107
3) Control de esterilidad.....	107
4) Numeración de esporas viables.....	109
5) Numeración de esporas Clostridium - sulfito reductores.....	109
6) Numeración de Staphylococcus aureos..	109
4. Control estadístico.....	109
a. Prueba preferencial del producto termina do.....	109
b. Prueba de aceptabilidad final	110
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.....	113
A. De la materia prima.....	113
B. Métodos y procedimientos.....	113
1. Ensayos de biocultivo.....	113
a. Construcción del estanque é incorpora --	

	<u>Págs.</u>
ción de gualos.....	114
b. Captura del espécimen y su manipulación	114
c. Análisis del contenido estomacal.....	114
d. Alimentación natural.....	115
e. Muestreos y controles.....	115
2. Del estudio toxicológico.....	117
a. Toxicidad aguda.....	117
b. Toxicidad sub-aguda.....	117
c. Prueba química-toxicológica.....	121
3. Del procesamiento.....	121
a. Diagrama del procesamiento definitivo y el balance de materia.....	121
1) Eviscerado y despellejado.....	124
2) Corte de ancas, brazuelo y elimina- ción de costillas y columna vertebral	124
3) Precocinado.....	124
4) Llenado.....	127
5) Evacuado, sellado, esterilizado, en friado y almacenaje.....	127
b. Determinación del punto de calentamien- to más tardío (p.m.f.f.).....	127
c. Cálculo del tiempo de tratamiento térmi- co.....	128

	<u>Págs.</u>
d. Rendimiento de la materia prima.....	142
C. De los métodos analíticos de control.....	145
1. Del análisis físico-organoléptico del gualo	145
a. Materia prima.....	145
b. Producto terminado.....	146
1) Control de hermeticidad.!.....	146
2) Medición de vacío.....	146
3) Control de cierre.....	146
4) Control de corrosión.....	147
5) Determinación del pH	147
2. Análisis químico.....	149
a. Composición química proximal.....	149
3. Análisis microbiológico.....	151
4. De la evaluación organoléptica de preferen- cia.....	152
V.- CONCLUSIONES.....	155
VI.- RECOMENDACIONES.....	157
VII.- RESUMEN.....	158
VIII.- BIBLIOGRAFIA.....	160
IX.- ANEXOS.....	165

INDICE DE CUADROS

	<u>Págs.</u>
CUADRO N° 1. Status taxonómico del género <i>Leptodactylus</i> ..	27
CUADRO N° 2. Liberación de posibles toxinas por el método de Stas Otto modificado para la extracción e investigación de toxinas.....	79
CUADRO N° 3. Liberación de posibles toxinas por el método de principios inmediatos por acción de disolventes selectivos adaptados para cromatografía	80
CUADRO N° 4. Tratamiento realizado durante el estudio toxicológico (Toxicidad aguda), en ratones de la Serie B.	84
CUADRO N° 5. Tratamiento realizado durante el estudio -- toxicológico (toxicidad sub-aguda) en gastos de la serie A.....	85
CUADRO N° 6. Preparación de solventes y reveladores para la cromatografía de capa fina.....	90
CUADRO N° 7. Condiciones de procesamiento y formulación de la solución de cubierta de las pruebas -- preliminares para el enlatado de la conserva	98
CUADRO N° 8. Tabla de calificación usada por los panelistas en el análisis organoléptico.....	112
CUADRO N° 9. Resultado de los pesos del control periódico del gualo.....	116

	<u>Págs.</u>
CUADRO N° 10. Evaluación toxicológica de órganos de <u>ra</u> tones alimentados con posibles toxinas - liberadas de la carne, piel, parte dorsal, cabeza y producto procesado del gualo...	118
CUADRO N° 11. Resultado de la separación de glucósidos cardiacos por medio de la cromatografía- de capa fina.....	120
CUADRO N° 12. Determinación del tiempo óptimo de pre - cocción de carne de gualo.....	125
CUADRO N° 13. Parámetros de procesamiento de la prueba final para el enlatado de carne de gualo	126
CUADRO N° 14. Datos correspondientes al tiempo y <u>tempe</u> ratura de calentamiento del autoclave...	130
CUADRO N° 15. Datos correspondientes al cálculo del -- punto de calentamiento más tardío, ubica dos a: 1 4, 1 2, 3 4 de la lata N° 307- x 113.....	131
CUADRO N° 16. Datos de penetración de calor obtenidos- por el termorregistrador en el enlatado- de carne de gualo a 14 de altura a par - tir de la base de la lata.....	133
CUADRO N° 17. Datos de penetración de calor obtenidos- por el termorregistrador en el enlatado-	

	<u>Págs.</u>
de carne de gualo a 12 de altura a partir de la base de la lata	134
CUADRO N° 18. Datos de penetración de calor obtenidos - por el termorregistrador en el enlatado - de carne de gualo a 34 de altura a partir de la base de la lata.....	135
CUADRO N° 19. Cálculo del tiempo de tratamiento térmico para la carne de gualo en latas N° 12 por el método matemático Ball (a 14 de altura a partir de la base.....	139
CUADRO N° 20. Cálculo del tiempo de tratamiento térmico para la carne de gualo en latas N° 1/2 por el método matemático de Stumbo (a 1/2 de altura a partir de la base.....	140
CUADRO N° 21. Parámetros de esterilización comercial para la carne de gualo procesada en latas - N° 1/2 por el método matemático de Ball y Stumbo.....	141
CUADRO N° 22. Resultado del rendimiento del gualo.....	143
CUADRO N° 23. Balance de materia en base a 100 Kg. de - materia prima (peso promedio de 5 gualos)	144
CUADRO N° 24. Características física-organolépticas del gualo.....	145

	<u>Págs.</u>
CUADRO N° 25. Controles físicos en latas del producto terminado del gualo.....	148
CUADRO N° 26. Control de cierres en latas N° 1/2 = 307 x 113 de producto terminado de carne de gualo	148
CUADRO N° 27. Composición química proximal de la materia-prima y producto procesado del gualo.....	150
CUADRO N° 28. Análisis microbiológico de la conserva de gualo en latas N° 307 X 113	151
CUADRO N° 29. Análisis de variancia y prueba de significación de Duncan de la evaluación organoléptica del enlatado de carne de gualo, para determinar la diferencia respecto al aspecto, gusto y textura del músculo.....	153
CUADRO N° 30. Análisis de variancia y prueba de significación de Duncan de la evaluación organoléptica del enlatado de carne de gualo para determinar la diferencia respecto al aspecto y gusto de la solución de cubierta.....	154
CUADRO N° 31. Designación, uso y capacidad de los envases	170
CUADRO N° 32. Resultado de la evaluación organoléptica de preferencia de la conserva de carne de gualo, respecto al músculo (método de Scoring)....	173
CUADRO N° 33. Resultado de la evaluación organoléptica, de	

	<u>Págs.</u>
preferencia respecto al líquido de gobierno de la conserva de la carne de gualo, (método de Scoring).....	174
CUADRO N° 34. Resultado de la evaluación organoléptica de preferencia, respecto a la solución de cubierta de la conserva de carne de gualo (método de Scoring).....	175
CUADRO N° 35. Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto al aspecto del músculo.....	176
CUADRO N° 36. Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto al gualo del músculo.....	177
CUADRO N° 37. Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto a la textura del músculo.....	178
CUADRO N° 38. Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto al aspecto de la solución de cubierta.....	178
CUADRO N° 39. Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto al gusto de la solución de cubierta.....	179

INDICE DE FIGURAS

	<u>Págs.</u>
FIGURA 1. Curva de penetración de calor.....	50
FIGURA 2. Dimensiones y plano isométrico del Estanque de crianza del gualo.....	74
FIGURA 3. Cromatografía de capa fina para la determinación de glucósidos cardiotónicos y alcaloides de las posibles muestras tóxicas extraídas de las series "A" y "B" de carne de gualo.....	91
FIGURA 4. Flujograma general de bloques para el enlatado de carne de gualo.....	93
FIGURA 5. Disposición de los huesos de la pierna de la rana toro (<i>Rana catesbiana</i>).....	94
FIGURA 6. Disposición de los huesos del brazo de la rana toro (<i>Rana catesbiana</i>).....	95
FIGURA 7. Diagrama de procesamiento en bloques para el enlatado de carne de gualo en pasta de tomate....	122
FIGURA 8. Diagrama de balance de materia en el procesamiento de la carne de gualo en pasta de tomate....	123
FIGURA 9. Curva de penetración de calor a 1/4, 1/2 y 3/4 de altura a partir de la base.....	132
FIGURA 10. Curva de penetración de calor a la carne de gualo, lata A (1/4 de altura a partir de la base..	136
FIGURA 11. Curva de penetración de calor a la carne de gualo, lata B (1/2 de altura a partir de la base).	137

	<u>Págs.</u>
FIGURA 12. Curva de penetración de calor a la carne de gua lo, lata C (3/4 de altura a partir de la base).	138
FIGURA 13. Cromatografía de capa fina de glucósidos cardia cos (1 Ug C.U.) sobre capa de silicagel G-60...	169
FIGURA 14. Curva de destrucción térmica para esporas	171
FIGURA 15. Relación fh/U y g. m. z; m más g = 180°.....	172

I.- INTRODUCCION

El "gualo" (Leptodactylus pentadactylus) es un animal apreciado en la Selva Amazónica, especialmente por los pobladores rurales del Valle de Pachitea y los Departamentos de Loreto y San Martín.

Esta especie en nuestro país solamente ha sido estudiado su aspecto biológico, pero nó lo relativo a su aplicación industrial y su crianza en cautiverio; se tiene datos que actualmente se produce 500 toneladas anuales de carne de otro tipo de rana; la rana tora (Rana catesbyana) solamente en el Brasil y aparte del aprovechamiento de la carne, se utiliza también la piel, hígado, tripas y resto de carcasa para hacer cartera y zapatos de lujo, paté, hilos de cirugía y cola.

Como este animal es abundante en la Selva y de buena reproducción, se lo ha estudiado para utilizar su carne para el consumo humano, con el fin de obtener una fuente más de proteína natural para el poblador rural.

El trabajo de investigación se planteó con los siguientes objetivos:

- Conocer si la carne es apta para el consumo humano.
- Establecer los parámetros óptimos para el enlatado de la carne.
- Establecer la calidad del producto obtenido y su estabilidad en el almacenamiento.

II.- REVISION DE LITERATURA

A.- MATERIA PRIMA.-

1.- Clasificación sistemática:

Clasificación taxonómica del gualo, (Leptodactylus pentadactylus).

Reyno	:	Animal
Phylum	:	Chordata
Subphylum	:	Anphibia
Orden	:	Anura
Suborden	:	Procoela
Familia	:	Leptodactylidae
Género	:	<u>Leptodactylus</u>
Especie	:	<u>pentadactylus</u>
Nombre científico	:	<u>Leptodactylus pentadactylus</u>
Nombre común	:	"Rana gualo" ó "Hualo"

FUENTE: MACEDO, R. H. Taxonomía del Museo de Historia Natural "Javier Prado" de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2.- Descripción zoológica:

El gualo (Leptodactylus pentadactylus), es un individuo que tiene un distintivo par de pliegues dorso laterales, ésta especie es un animal grande y largo - (un adulto mide en promedio 25 cm. tomados desde la -

punta de la nariz a la cloaca)., los machos poseen un solo pulgar. Los Leptodactylus pentadactylus tienen semejanza a los Leptodactylus fallax, Leptodactylus labyrinthicus y Leptodactylus knudseni, diferenciándose de estos últimos en que no tienen un pliegue sobre el tímpano hacia un lado del cuerpo de color oscuro.- Heyer (19).

a. Características de los adultos.-

Tienen dorso uniforme, moteado y liso; labio uniforme con tres franjas oscuras, la superficie posterior del muslo es uniforme con manchas moteadas; los especímenes machos de Centro América tienen un pulgar por mano, raramente un segundo débilmente desarrollado sobre la tibia y las superficies distales del tarso, la piel es lisa o con muchos tubérculos de color blanco o negro. Heyer, (19).

Las hembras miden en términos medio desde la punta de la nariz a la cloaca 18 cm., y los machos de 25 cm. a 30 cm. Heyer, (19).

b. Características de las larvas o renacuajos.-

El diámetro del ojo es de 7 al 13 % al de la longitud total del cuerpo; la circunferencia de la boca es del 15 al 22 % de la longitud total --

del cuerpo, y posee una hilera de dientes que ocupa cerca de la tercera parte del dorso alveolar, con 45 a 67 dientecillos. La longitud máxima representativa del renacuajo es de 5 cm. Heyer y Diment, (18).

c. Cariotipo.-

Diploide número 22; 2 pares mediana, 6 pares submedianas; 3 pares sub-terminales, Heyer y Diment, (18).

d. Origen y distribución.-

Los leptodactylus constituyen una familia de ranas antiguas, más que los verdaderos sapos o familia de los bufónidos. El género Leptodactylus pentadactylus es originaria de Panamá, y se encuentra distribuída desde Centro América hasta Sud-América-Cochran, (9).

3.- Hábito de las ranas comestibles.-

Todas las ranas comestibles tienen predilección -- por las zonas pantanosas de aguas someras muy sombreadas, donde la vegetación circundante invade las márgenes del agua, pues les sirve de actitud engañosa para capturar al vuelo sus presas que lo deglutan de inmediato. El fenómeno de territorialidad está muy marcada en ellos, pues el macho considera como exclusivamente -

suyo una zona determinada, y no conciente que trasponga sus límites otro congénere de su sexo; les causa placer mantenerse por largos períodos de tiempo flotando en el agua; cuando salen a tierra para tomar el sol y cazar insectos, se desplazan a pequeños saltos; en cambio cuando se ven perseguidos huyen a rítmicos y grandes brincos que hacen difícil capturarlos. Si los machos están cantando, a la menor señal de peligro se callan y tratan de sumergirse en el agua para alcanzar el fondo del estanque y disimularse. Rubín (37).

4.- Especies comestibles recomendadas.-

Cocharán (9), al hablar del género Letodactylus afirma que las ranas de éste tamaño son muy apreciadas, debido al excelente sabor de la carne de sus largas extremidades posteriores, y constituye un sabroso bocado para cualquiera que pueda atraparlos, incluido los seres humanos.

Asímismo Rubín (37), al hablar de las ranas comestibles en general, indica que a los dos años de nacida, alcanza el tamaño adecuado para ser enviada a los mercados, y sus órganos reproductores adquieren la madurez necesaria para su reproducción y son los siguientes:

- a. Callythrocephalella guavi, rana gigante chilena.
- b. Leptodactylus ocellatus, yuí sudamericana, Argentina, Uruguay.
- c. Rana viridis, especie tradicionalmente comestible y predilecta del paladar europeo.
- d. Rana temporaria, rana Rusa o roja, tradicionalmente solicitada en Europa y Asia.
- e. Rana catesbyana, rana mugidora o toro de norteamérica y México, considerado como el mejor para la crianza en semilibertad o ranario.
- f. Rana pipens, rana tigre o leopardo, Centro Americana.
- g. Leptodactylus melanonotus, Sudamericano.
- h. Leptodactylus labiales, especie también Sudamericana.

A todo esto, Macedo (26), añade que existen cuatro especies en el Perú y Bolivia a saber:

- a. Batrachophrynus macrostomus.
- b. Batrachophrynus brachydactylus.
- c. Batrachophrynus microphthalmus, y
- d. Batrachophrynus brevipalmatus.

Por su parte Rodríguez (34), nos dice que de todos los citados, los más apreciados en la alimentación en el Perú son: La rana de Junín: Batrachop -

hrynus macrostomus e igualmente el Telmatobius culeus del Titicaca, aunque este último no es explotado como alimento por los habitantes de la cuenca, pese a ser comestibles.

- 5.- Nombres descritos para los miembros del grupo de especie de Leptodactylus pentadactylus, y el Status taxonómico corriente de cada uno de ellos.-

A continuación se presenta el Cuadro N° 1, en -- donde se indica la descripción del nombre de las especies, hasta hoy conocidas del género Leptodactylus.

CUADRO N° 1.- Status taxonómico del género Leptodactylus.

<u>DESCRIPCION DEL NOMBRE</u>	<u>STATUS CORRIENTE</u>
<u>Leptodactylus</u> bufjo, Anderson 1,911.	L. labyrinthicus
<u>Rana coriacea</u> , Spix 1,924	L. pentadactylus
<u>Leptodactylus dominicensis</u> , Muller 1,923.	L. fallax
<u>Leptodactylus fallax</u> , Muller 1,923.	L. fallax
<u>Leptodactylus flavopictus</u> , Lutz 1,926.	L. flavopictus.
<u>Rana gigas</u> , Spix 1,824.	L. pentadactylus
<u>Leptodactylus goliath</u> Jiménez de la Espada 1,875	L. pentadactylus
<u>Leptadactylus hilodes</u> , Teinhardt anda Lutken 1,862.	L. wagneri.
<u>Leptodactylus knudseni</u> , Heyer 1,972.	L. knuseni
<u>Rana labyrinthica</u> , Spix 1,824	L. labyrinthique
<u>Leptodactylus laticeps</u> , Boulenger 1,918.	L. laticeps
<u>Leptodactylus macroblepharus</u>	L. pentadactylus

Miranda - Ribeiro 1,926.

Leptodactylus pachyderma, L. Flavopictus. Miranda - -
Ribeiro 1,926.

Rana pentadactyla, Laurenti, L. pentadactylus.

Leptodactylus pentadactylus, L. pentadactylus. Dengle-
ri. Melin 1,941.

Leptodactylus pentadactylus, L. labyrinthicus maltogro-
ensis, Schmidt and Inger 1,951.

Leptodactylus pentadactylus, L. pentadactylus rubidoides,
Anderson 1,945.

Leptodactylus rhodomystax, L. rhodomystax Boulenger -
1,883.

Cystignathus rhodonotus, L. rhodonotus Gunther 1,868.

Gnathopysa rubido, Cope 1,874, L. rhodonotus .

Leptodactylus rugosus, Nobel L. rugosus 1,923.

Leptodactylus stenodema, L. Stenodema, Jimenes de la Es-
pada 1,875.

Leptodactylus siphax, Boker, L. Siphax mann 1,969.

Leptodactylus stictigularis, L. rhodomystax Nobel 1,923.

Leptodactylus vastus, Lutz, L. labyrinthicus .

Lutz 1,930. L. labyrinthicus.

Leptodactylus vilarsi, Melin , L. Stenodema, 1,941.

Leptodactylus Wuchereri, Jimenez de la Espada, L. labe-
rinthicus, 1,875.

FUENTE: HEYER, W. RONALD. Systematics the frog genus
Leptodactylus - Amphibia: Smithsonian Institu-
tión Pres City of Washington 1,979.

6.- Crianza en cautiverio:

Uno de los mayores esfuerzos para el desarrollo de ranigranjas, se ha realizado en los Estados Unidos de Norteamérica. Las granjas de ranas son simplemente áreas naturales de estanques que poseen alimento, y medios ambientes adecuados a las necesidades de las ranas, en el cual se desarrollan y multiplican; si se "siembra con ranas adultas" se obtendrá mejores resultados; además una línea costera amplia es importante, para incrementar una línea costera y hacerlo tan irregular como sea posible, Rodríguez (34), sugiere que se construya bahías en forma de dedo, la tierra que se obtiene de éstas bahías, puede utilizarse para hacer penínsulas, islas irregulares redondas, etc. Es decir todo lo concerniente a como si estuviera en su hábitad natural.

Bardach (2), afirma que uno de los inconvenientes en la crianza de ranas en los EE. UU. es la alimentación, para evitar así el canibalismo que se podría generar; manifiesta asimismo que los renacuajos al ser herbívoros en el medio natural, aceptan cualquier materia animal o vegetal tierna, se puede proporcionar como alimento suplementario papas hervidas, pedacitos de carne, vísceras de pollo, etc. Pero cuando se pre

sentan los estadios de la metamorfosis y se convierten en ranas adultos, surge el problema por que las ranas se alimentan de animales en movimiento, recomendando - para tal efecto, gasterópodos y plantas acuáticas.

7.- Estanque y Manejo:

a. Estanques.-

La crianza intensiva de especímenes de agua dulce se está incrementando, sobre todo en estanque de dimensiones diversas, éstos compartimientos requieren ciertos cuidados para así obtener el mayor provecho. De acuerdo a Maar (25), algunas pautas para el cuidado de los estanques son:

- 1) Mantener el estanque e instalaciones, en un estado que funcione eficientemente.
- 2) Proporcionar las mejores condiciones en el estanque para el desarrollo de la especie.
- 3) Aumentar la cantidad de alimentos naturales en el estanque.
- 4) Hacer mejor uso de los desperdicios y alimentos artificiales para aumentar la producción de especies dulciacuícolas.

b. Manejo.-

Las normas que van a ser posible un óptimo rendimiento de un estanque, y así obtener el máximo de

producción, están en función de su adecuado manejo. Maar (25), recomienda la mejor y sencilla manera de manejar un estanque, y son:

- 1) Preparar el suelo del fondo.
- 2) Llenar el agua del estanque.
- 3) Utilizar la especie apropiada de peces y en cantidad adecuada.
- 4) Alimentar los peces y mantener fertilizada el agua.
- 5) Hacer la recolección extrayendo los peces.

B.- Estudio Toxicológico.

1.- Toxicología:

La toxicología es el estudio de los venenos, a su vez veneno o tóxico, es una sustancia que por sus propiedades físico-químicas, puede destruir la vida o dañar la salud. Litter (23).

Mucha gente se imagina que todo lo químico puede ser veneno; la naturaleza desmiente esta noción, ya que existen por ejemplo, sustancias tóxicas, como el-arsénico, mercurio o selenio, depositados en muchas -plantas que el ser humano viene ingiriendo en pequeñas cantidades día tras día con el alimento, desde tiempo inmemorial. Se puede matar a cualquier persona si se le dá en cantidad suficiente algo tan inocuo como-

la sal común de cocina. En cambio sustancias francamente venenosas, no harán mal si se lo ingieren en cantidades reducidas; como manifestó un grán científico de la Industria Farmacéutica Paracelso: "Todo es veneno..., la cantidad es lo que cuenta, en otras palabras, es la dosis lo que determina que algo sea o no tóxico. Ciba Geigy (7).

2.- Características de las toxinas de origen animal:

Son sustancias orgánicas muy complejas, que contienen gran variedad de componentes químicos; y son los más complejos venenos conocidos. Los principales componentes son proteínas, muchas de ellas enzimas y grandes polipéptidos tóxicos.

La naturaleza de estas toxinas radica en que los venenos tienen gran variedad de componentes químicos. Buckey y Pergen citados por Casarett (5).

La toxina animal más conocida es tetrodoxín (componente de A aminoperhydroquinazolina), que se encuentra en pequeñas porciones de pescado, donde su extrema toxicidad en cantidades pequeñas produce serios compromisos en el sistema nervioso. A su vez el pez escorpión tiene una toxina protéico compleja letal de peso molecular de 40,000 a 80,000. Los venenos de las serpientes son de tipo enzimático y la fosfolipa-

sa A que es semejante a un compuesto que degrada la -
lecitina, produciendo la lisolecitina que es un agen-
te hemolítico responsable de la destrucción de las cé-
lulas de la serie roja. Casarett (5).

Algunos venenos provenientes de los animales co-
mo la L-Aminooxidasas, convierten los aminoácidos a ce-
toácidos, y de este modo activan los polipéptidos ti-
sulares que promueven la destrucción tisular por in-
troducción del veneno. Otro componente tóxico de ori-
gen animal es la fosfodiesterasa de carácter enzimáti-
co que produce hipotensión y alteración cardiovascu-
lar en la víctima, donde el factor diseminador de Hya-
lurodinasa permite que otros compuestos del veneno pe-
netren y se distribuyen en la misma forma que el vene-
no; las proteasas producen acciones proteolíticas y
hemorrágicas, complicando y agravando la acción de los
otros componentes tóxicos presentes en el veneno. Ca-
sarett (5).

Por otra parte un diverso grupo de peptidos, po-
lipéptidos y aminos, hacen más daño al sistema tisu-
lar de sus víctimas por un efecto directo sobre los -
sistemas enzimáticos y estructuras celulares, y reac-
ciones anafilácticas y complejas interacciones con o-
tros componentes bioquímicos de efecto tóxico. Casa-

rett (5).

Algunos componentes de veneno actúan como anti-coagulantes y bloquean el normal proceso de la coagulación, permitiendo de ese modo la difusión, expansión y diseminación de los componentes químicos del veneno. Casarett (5).

La acción producida por los venenos animales son tan diversos y complejos como sus componentes químicos según Tull 1,977, citado por Casarett (5), esta es la razón para que se les considere a los venenos como complicados, con acciones capaces de producir cambios tóxicos en muchos órganos simultáneamente; por tal motivo los síntomas y signos producidos por instancias clínicas de envenenamiento, puede así complicar o desencadenar dos o más reacciones tóxicas.

Casarett (5), afirma que uno de los más comunes sistemas afectados, es el sistema nervioso. Un componente neorotóxico ha sido encontrado casi en todas las muestras analizadas; sin embargo, la actividad cardiotoxica y hematotóxica están también presentes con frecuencia en los llamados venenos neorotóxicos; asimismo alteraciones en la función del corazón son frecuentes, y tienen una acción tóxica común de venenos; el efecto de los venenos sobre los glóbulos ro -

jos es producir hemolisis como por ejemplo en los casos de mordeduras de serpientes.

3.- Toxinas de Anfibios:

La biología y tratamiento de este grupo de animales son interesantes y únicos. Esta clase de animales puede ser más importante y común causa de venenos ponsoñosos de origen animal. Vanderberg 1,972 citado por Casarett (5), muchas especies de anfibios tienen glándulas secretoras de la piel, que previenen la desecación y controlan el crecimiento de microorganismos sobre la piel y avatir a sus presas.

a. Especies de anfibios más tóxicos.-

Los anfibios más venenosos son los sapos del río colorado (Bufo alvarius), sapos marinos (Bufo marinos), ranas ponsoñosas de América Central (Dendrobates sp.). Casarett (5).

La rana arborícola (Phyllomedusa sp.), y (Dendrobates tintorius), el sapo de la costa del Perú (Bufo spinulosus), la rana de región amazónica (Hyla venulosa) y sapos del Brasil (Bufo paracnesis) y (Bufo crucifer). Vellard (40).

b. Localización de los venenos.-

Los sapos de la especie Bufo, tienen glándulas parótidas (glándulas de la piel), detrás de -

los ojos que secretan el veneno. Casarett (5).

Fonseca (11), afirma que el veneno del sapo es secretado por glándulas que se encuentran diseminadas por la superficie del cuerpo, que aglomerados en determinados puntos, forman nítidas elevaciones, siendo los principales puntos de éstas glándulas los llamados paratoides, situados en el borde dorsal, detrás de la cabeza, constituyendo formaciones muy salientes, existiendo otra menos diferenciada detrás de las patas posteriores a nivel de las tibias.

Vellard (40), manifiesta que las glándulas cutáneas se encuentran diseminadas en toda la región dorsal del animal, o formando agrupaciones más voluminosas en diferentes partes, como las verrugocidades del dorso de muchos batracios, las mismas a su vez se encuentran en la parte ventral.

c. Constitución química del veneno de los anfibios.-

Claus (8), afirma que el examen químico de los venenos del sapo revela que las secreciones cutánea y glandular, poseen sustancias tóxicas llamadas bufotoxinas. El mismo autor confirma que la estructura química de las bufotoxinas, es algo similar a la de las aglicomas de los glicósidos -

cardíacos y las bufotoxinas en efectos tendrían una acción farmacológica semejante.

Casarett (5), añade que el veneno complejo es el llamado glicósido cardíaco en la especie (Bufo marinus), conteniendo los glicósidos de actividad cardíaca, también en los sapos ponsoñosos de América Central.

Vellard (40), dice que el veneno de los sapos no es proteínico, poseen una resistencia considerable a todos los agentes físicos y químicos, y es absorbido muy rápidamente a través de las mucosas, produciendo efectos convulsivos semejantes a la estriquina. El mismo autor añade que el veneno del sapo ha sido fraccionado en varios componentes sin entrar en detalles de química, es suficiente indicar que el veneno de los grandes sapos americanos como el Bufo marinus de la montaña o el Bufo spinulosus, la especie de la costa peruana, contiene tres fracciones principales como:

- Una fracción adrenalínica, constituida por adrenalina o un cuerpo muy vecino.
- Una fracción con efecto digital iniforme o mejor semejante a la estrofantina, con acción -

poderosa al corazón.

- Una acción neurotóxica provocando al principio una violenta excitación nerviosa en los animales con contracturas y convulsiones tónicas, - seguida de parálisis con relajamiento muscular.

A todo ello Fonseca (11), añade que el veneno del sapo difiere profundamente de la ponsoña o fídica y de los artrópodos; porque contiene sustancias de acción farmacológica semejante a la digitalis, como las bufotóxicas, bufaginas y bufotaxinas, dando acción hipertensora, como la bufotenia, butedina y bufotionina, que son poco estudiadas y otras mejor conocidas, como la adrenalina, que existe en una proporción del 2 %, a su vez el colesterol, ergosterol, la vitamina C y un glutati6n han sido determinado en el veneno de los sapos.

d. Resistencia del veneno.-

Vellard (40), afirma que el veneno del sapo no se altera por la putrefacci6n, resiste a la luz, a los rayos ultravioletas, no pierde su toxicidad por ebullici6n ni por esterilizaci6n al autoclave a 120 °C, el veneno seco del Bufo marinus ha resistido durante 6 días a una temperatura per

manente de 160 °C en el horno Pasteur; posee también una resistencia elevada a los agentes químicos, alcalis y ácidos fuertes, dando con los ácidos minerales soluciones coloradas características.

e. Sintomatología.-

Vellard (40), dice que cualquiera que sea la vía de introducción en el organismo, el veneno del sapo muestra la misma actividad con: Período inicial de excitación más o menos largo, acompañado por un corto período de apnea, seguido del aumento considerable de la amplitud y del ritmo respiratorio y cardiaco; vómitos violentos, hipersecreción salival, nasal, bronquial; convulsiones tónicas, espasmos de toda la musculatura lisa, hipertonia muscular permanente y finalmente estado de tetanismo generalizado; donde los movimientos respiratorios se vuelven cada vez más lentos y de menor amplitud hasta la apnea final. La taquicardia inicial simple es reemplazada por una bradicardia enorme, a la cual sucede un período final de arritmia total, llegando con frecuencia a una disociación aurícula-ventricular completa, terminando por la fibrilación ventricular. La muerte-

en los casos agudos es debida a la acción cardiaca del veneno; en los otros casos a las lesiones orgánicas degenerativas, en el riñón, el hígado, el pulmón, el cerebro y la médula.

Cada vía particular de introducción del veneno produce síntomas locales particulares; grandes edemas hemorrágicos después de las inyecciones subcutáneas o intramusculares; isquemia inmediata profunda, seguida de congestión intensa e hipersecreción local con dolor agudo después de las aplicaciones sobre las mucosas; síndrome de secreción fisiológica de la médula, con parálisis flácida. Solo la piel intacta ofrece una fuerte barrera a la penetración del veneno, todas las especies animales son sensibles al veneno del sapo, incluso el propio sapo. Vellard (40).

La dosis mínima mortal del veneno del Bufo marinus por vía venosa es cerca al mg. de veneno seco por Kg. para el perro, la inyección endovenosa de 50 mgs. mató en 5.30 minutos a un caballo de 400 Kg., citado por Vellard (40).

Fonseca (11), dice que la acción del veneno es tremenda en la penetración, solo comparable con la penetración del cianuro, por penetrar a --

las mucosas íntegras bucal, digestiva, ocular o nasal. En los animales muertos por inyección de dosis masiva del veneno, las lesiones anatópatológicas son poco pronunciadas, observándose apenas congestión más o menos intensa de los órganos, principalmente el pulmón, donde pueden ser vistos puntillos hemorrágicos, asimismo en el hígado, base, mucosa gástrica se observa puntillos hemorrágicos.-- Por envenenamiento lento los riñones y las células nerviosas presentan signos de degeneración.

f. Acumulación del veneno.-

Vellard (40), manifiesta que uno de los caracteres más interesantes del veneno del sapo es su eliminación muy lenta, favoreciendo en casos de inyecciones repetidas, con intervalos bastante largos, la observación de accidentes por acumulación.

Una dosis de veneno no mortal permite el restablecimiento completo del animal, pero la inyección posterior de una nueva dosis, igual a la primera desencadena accidentes mucho más graves, idénticos a los provocados por una dosis de veneno igual a la suma de las 2 inyecciones.

Vellard (40), también afirma que por los fenómenos acumulativos se explica en parte la imposi

bilidad de preparar sueros específicos contra el veneno del sapo; explicando por el contrario la posibilidad de producir la muerte por la administración repetida de pequeñas dosis, impidiendo utilizar en la clínica el veneno del sapo, que sin tal inconveniente, sería un poderoso toni-cardíaco.

g. Tratamiento de envenenamientos por bufo toxinas.-

El tratamiento es acertado al remover lo máximo posible las secreciones no absorbentes de la boca, y controlar los signos clínicos, lavando la boca de las víctimas con abundante agua y administrar lo atropina para controlar la salivación; son tratamientos tempranos que pueden ser implementados rápidamente, asimismo los barbitúricos pueden ser agregados y administrados para controlar las convulsiones y el gluconato de calcio, puede ser usado para combatir algunos de los efectos fisiológicos. Knowles 1,968, citado por Casarett (5).

La respiración artificial hacia la respiración mantenida o continua, puede ser usada también para prolongar la vida de los animales expuestos al efecto cardioactivo de estas toxinas, Otaní et al 1,969, citado por Casarett (5).

Además los agentes bloqueadores adrenergicos son usados en caso de envenenamiento por sapos; Fenoxibensamina es recomendada para bloquear los receptores alfa adrenergicos y el propanolol es usado para bloquear los receptores B-adrenergicos. - Esta terapia fue muy efectiva en casos experimentales, por que el síndrome cardiaco producida por la bufotoxina es similar a los efectos sinérgicos - de los glicósidos cardíacos y efidrina. El cuida- do de mantenimiento de las funciones vitales con - tribuye a la satisfactoria y rápida recuperación - clínica. Casarett, (5).

4.- Pruebas toxicológicas:

Litter (23), afirma que si en el curso de una investigación se está en presencia de una serie de sus - tancias nuevas, debe hacerse una selección preliminar con el fin de distinguir rápidamente los compuestos ú - tiles de los inútiles.

Casarett (5), manifiesta que trabajar con mues - tras estándar representativa de venenos, es producir con fusión, por las alteraciones que ocurren en especíme - nes biológicas, debido a la edad y sexo de cada indivi - duo, la condición de nutrición y el habiyad en la esta - ción del año en la cual la muestra fue coleccionada. -

A pesar de éstas fluctuaciones dentro de los venenos - un simple phylum en general guarda alguna relación - con las otras; además los venenos liberados por la boca son generalmente usados para los propósitos ofensivos, teniendo gran cantidad de enzimas en actividad y tienden a producir dolor, mientras que las secretadas en otras áreas de su cuerpo son usados como un mecanismo defensivo por tener pocos tipos, pequeñas clases, pequeñas cantidades de enzimas activas que no producen tanto dolor, como los generados por la boca.

a. Absorción, destino y excreción.-

Litter (23), describe como el estudio que aporta los datos para permitir una adecuada administración del medicamento o toxina, dando además una idea sobre la duración de su acción en el organismo; usando para lo cual métodos químicos, físicos, uso de isótopos radioactivos y biológicos, para determinar la droga o toxina en los líquidos y tejidos del organismo.

Por otra parte Ciba Geigy (7), recomienda que para este tipo de investigación, se usa el --Ladme (Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Eliminación), o sea primero liberar las posibles toxinas nuevas, luego poner en práctica-

la absorción para que la sustancia ACTIVA DE LA TOXINA pase al torrente circulatorio, luego por metabolismo distribuirlo en el organismo, por lo que sufre cambios químicos que experimenta y su ulterior eliminación.

b. Toxicidad.-

Se trata de una investigación de importancia, referente a los fenómenos nocivos o adversos que la droga o toxina puede producir, siendo esencial que dicho estudio se realice en diversas especies; en todos los casos debe verificarse la toxicidad aguda, subaguda y crónica. Litter (23).

1) Toxicidad aguda:

Para CIBA GEIGY (7), son los efectos tóxicos de la sustancia activa cuando se administra en una sola y elevada dosis a animales de laboratorio. Litter (23), dice que sirve para determinar la cantidad de la droga o toxina que puede ser peligrosa o directamente mortal cuando se le administra en una o varias veces en 24 horas o menos. La mejor forma de expresar la mortalidad es la dosis letal 50, es decir la cantidad de toxina que mata al 50 % de los animales de laboratorio, a los que -

se administra la misma.

2) Toxicidad subaguda:

CIBA GEIGY (7), afirma que son efectos-tóxicos de la sustancia activa cuando se administra repetidamente a animales de laborato - rio durante un breve período de tiempo, es decir de dos a doce semanas. Al respecto Lit - ter (23), recomienda que la toxicidad sub-a - guda es estudiada generalmente en ratas, ga - tos y perros, a los que se administra la dra - ga, habitualmente por la boca, durante un lap - so de 1 a 2 meses.

3) Toxicidad crónica:

CIBA GEIGY (7), manifiesta que la toxi - cidad crónica se produce cuando se administra repetidamente a animales de laboratorio duran - te varios meses hasta años, la sustancia tóxi - ca.

Litter (23), afirma que se realizan pa - ra investigar las alteraciones funcionales y anatómicas cuando se suministra un fármaco o toxina durante 6 meses a 2 años; al producir - se la muerte o sacrificarlos en diversos perío - dos, se efectuará un cuidadoso estudio patoló

gico macro y microscópico de todos los órganos, especialmente en el hígado, riñón y médula osea, siempre debe incluirse una prueba teratógena y una investigación de acción CAN
CEROGENICA.

C.- Conservación de los alimentos por el calor.

1.- Penetración del calor.-

a. Mecanismos, parámetros y factores que influyen:

La transferencia del calor se define como-- la transmisión de energía desde una región a otra, debido al gradiente térmico que existe entre ambas regiones. Se reconocen tres modos de transferencia de calor, conducción, convección y radiación. Los dos primeros son los principales mecanismos que intervienen en calentamiento de las conservas. Rodrigo (35).

La transmisión por conducción tiene lugar por intercambio de energía cinética entre moléculas, sin desplazamiento de las mismas. Este mecanismo es típico cuando se esterilizan conservas en autoclave, constituidas por alimentos sólidos o muy viscosos; maíz tipo crema, comida para perros, jamón cocido, mermelada, productos vegetales, cárnicos o marinos con salsa espesa, so

pa concentrada. Lorenzo (36).

En el calentamiento por convección, la energía se transporta por una combinación de conducción de energía almacenada y mezclada, debida esta última a la diferencia de densidades que se producen en fluido por el gradiente térmico entre las paredes y las zonas interiores. Presentan este mecanismo las conservas de zumos con pica pulpa o que no tienen tendencia a gelificar, los productos envasados con agua, salmuera o almíbar ligero, caldos o sopas poco viscosos, y leche evaporada. En la práctica, la mayor parte de conservas presenta una participación conjunta de conducción y convección, que puede aproximarse en teoría a uno u otro sistema, según la naturaleza del producto y las condiciones de trabajo en la esterilización. Rodrigo (35).

Representando una gráfica semilogarítmica, la penetración de calor en los alimentos típicamente convectivos, vendría dada por una recta con mucha pendiente y en alimentos conductivos por una recta con un tramo curvo al principio y con menos pendiente, la inversa del pendiente se denomina $f_{h,}$ y se define como el número de minutos nece

sarios para que la curva atravesase un ciclo logarítmico. El grado de curvatura durante el período de ascenso de la temperatura, se cuantifica por el factor de inercia j_h . Ver Fig. N° 1.

La velocidad de penetración del calor en un alimento durante la esterilización depende de los siguientes factores:

- Tamaño y forma del envase.
- Naturaleza del envase.
- Gradiente de temperatura.
- Características y naturaleza del producto.
- Agitación del envase.
- Relación sólido por líquido.

b. Localización de la zona crítica.-

Se dá el nombre de zona crítica en un envase de alimentos a la región donde la probabilidad de supervivencia de microorganismos es mayor. Dado que el efecto de un tratamiento térmico sobre los microorganismos depende tanto de la temperatura como del tiempo, la zona crítica será aquella que haya alcanzado menor valor letal al terminar el tratamiento. Rodrigo (35).

Convencionalmente y de forma simplista, se considera que la zona crítica está en el centro -

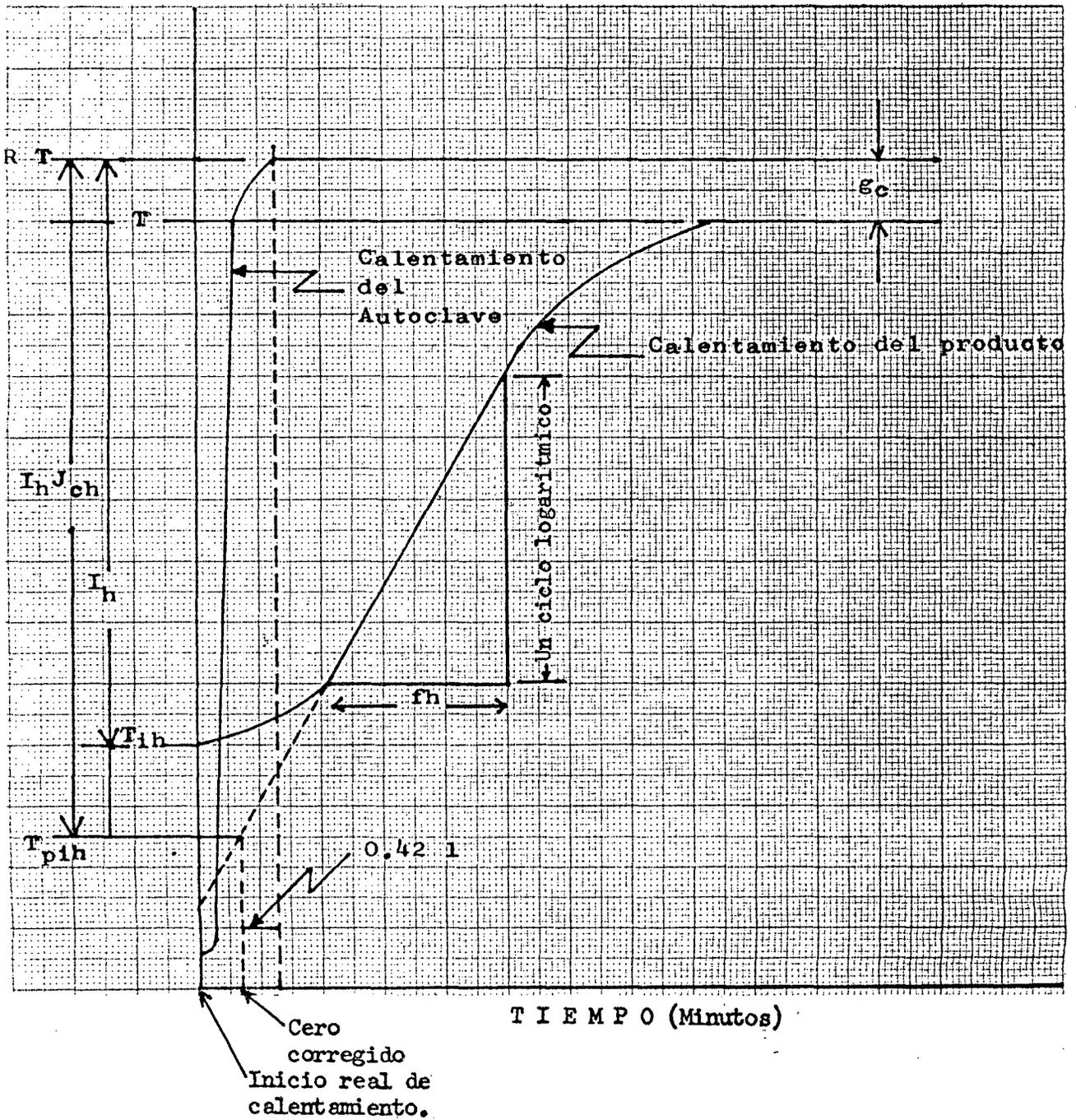


FIGURA N° 1.- Curva de penetración de calor.

FUENTE: GIANNONI E. (1977).

geométrico del envase y así se encuentran a veces recomendaciones prácticas tales como: "Pasteurizar hasta alcanzar 70 ó 95 °C. en el centro del envase". Esta consideración puede ser adecuada siempre que se trate de productos que se calientan y enfrían con bastante rapidez o cuando las temperaturas del proceso son bajas, menor de 100 °C. Rodrigo (35).

En los alimentos en los que predomina el calentamiento por convección, la zona crítica está situada sobre el eje longitudinal del bote, a una distancia de unos 20 mm. del fondo para envases pequeños, y a unos 35 mm. para botes grandes. Rodrigo M. (35).

En productos que se calientan por conducción y de baja conductividad térmica, hay una distribución especial de temperatura al final de la etapa de calentamiento. La superficie del envase se encuentra a la temperatura del medio calefactor, disminuyendo ésta a medida que nos acercamos al centro del envase, que tiene la más baja. Hay pues un gradiente térmico y un flujo calórico que penetra hacia el centro del envase. Rodrigo (35).

En el momento de comenzar el enfriamiento, -

la parte exterior del envase comienza a enfriarse, lo que dá lugar a un flujo de calor hacia afuera del envase desde las zonas intermedias que, a la vez, siguen manteniendo un flujo hacia el centro, más frío que ellas. Esto hace que la temperatura del centro siga aumentando durante un tiempo, aunque haya comenzado la etapa de enfriamiento. Rodrigo (35).

Como consecuencia de esta influencia del enfriamiento, en muchas ocasiones, el centro geométrico totaliza un valor letal más alto que el de las zonas próximas alrededor del mismo. Según Tischer 1,954, citado por Rodrigo M. (35), en algunos productos cárnicos, la zona que alcanza menor valor letal es un anillo toroidal a cierta distancia del centro.

Ball y Olson 1,957, citado por Rodrigo M. (35), indican que el tratamiento térmico debe elegirse basándose en su eficiencia sobre la zona de mayor probabilidad de supervivencia de los gérmenes.

Stumbo 1,965, citado por Giammoni (14), divide el envase en una serie de superficies concéntricas que son el lugar geométrico de los puntos que alcanzan simultáneamente la misma temperatura (su-

perficies iso-J), o el mismo valor letal (superficie iso-F), basándose en éstos cálculos obtienen una zona crítica (para un bote 10), una zona anular situada sobre el plano medio, y cuyo radio es la cuarta parte del radio del envase.

Texeira et. al. 1,969, citado por Rodrigo M. (35), consideran el envase dividido en elementos de volumen que forman capas de anillos concéntricos de sección rectangular. Para ello dividen el radio en 10 partes iguales y la mitad de la altura en otras diez. De esta forma se obtienen 200 elementos de volumen, agrupados en 20 capas o rodajas de 10 anillos cada una.

Obtienen la distribución de temperaturas en cada momento, aplicando de forma iterativa, con ayuda de un ordenador, la ecuación general de conducción de calor en estado no estacionario para un cilindro finito, en cada elemento de volumen, teniendo en cuenta los gradientes existentes para cada incremento de tiempo entre el elemento considerado y los que le rodean. Emplean el método de diferencias finitas. Rodrigo (35).

Mediante otro programa calculan en cada elemento y para cada elemento de volumen, la concen -

tración residual de gérmenes haciendo uso de la ecuación general de velocidad de destrucción. Rodrigo (35).

La combinación de ambos programas permite obtener todos los datos necesarios para conocer la concentración de microorganismos en cada elemento de volumen al final de un supuesto tratamiento -- térmico.

La aplicación de este método confirma los resultados obtenidos por Stumbo respecto a la zona crítica. Rodrigo (35).

Empleando un procedimiento similar de cálculos. Flambert y Delteur 1,972, citado por Rodrigo M. (35), realizan un amplio estudio con el que obtienen la distribución de temperaturas a lo largo del proceso y la concentración de esporas supervivientes, así como la influencia de las dimensiones físicas del envase, concretamente la relación altura diámetro (h/d) en la localización de la zona crítica. Como resumen se puede decir que cuando la relación h/d es baja (menor de 0'3) e igual a 0'95 ó mayor de 1'9, el centro geométrico es la zona crítica. Cuando h/d oscila entre 0.35 y 0.95, la zona crítica está constituida por dos-

zonas situadas sobre el eje vertical y simétricas respecto al plano medio (una por encima y otra por debajo), y para valores entre 0'95 y 1'9, es una zona en forma de anillo a la altura del plano medio.

c. Determinación de la evolución de temperatura en el alimento.-

La evaluación de la temperatura interna de un alimento a lo largo del proceso térmico se puede seguir de forma experimental, o se puede estimar teóricamente. La determinación experimental permite el cálculo individual de baremos de esterilización con relativa facilidad, y con gran exactitud. En algunos casos, a partir de unas pocas experiencias y aplicando sistemas adecuados de cálculo de baremos, también se pueden estimar los baremos que corresponderían a un mismo producto y técnica de proceso, cuando la temperatura del autoclave o la inicial del producto sean distintas a las fijadas, y cuando los formatos, tamaños o tipos de envase son diferentes. Rodrigo M. (35).

En muchos casos la media experimental de temperaturas resulta difícil por la naturaleza del esterilizador (Autoclaves continuos giratorios con

válvulas de entrada, esterilizadores por llama), o por la distribución poco uniforme de temperaturas en el alimento (productos que transmiten el calor por conducción). En estos casos es necesario calcular teóricamente la distribución y evolución de las temperaturas en el interior del alimento a lo largo del proceso, y con estos datos estimar rápidamente los baremos de esterilización que corresponderían. La confirmación experimental de los baremos estimados es mucho más sencilla. Rodrigo (35).

2.- Efectos del calor, sobre los alimentos:

Cuando un alimento envasado es sometido al efecto del calor, sufre una serie de transformaciones, que en esencia son: Inactivación o destrucción de enzimas y microorganismos, variación de los factores de calidad organoléptica y alteración de sus componentes nutritivos. Michiels 1,974. Citado por Rodrigo M. (35). - Conviene señalar que, incluso con las técnicas y equipos más modernos de esterilización, no siempre se alcanza simultáneamente los objetivos anteriormente descritos; por ejemplo, con la esterilización alta-corto a veces no se logra la inactivación enzimática más ligada al tiempo que a la temperatura de tratamiento. Igualmente, a veces se esteriliza un producto pero no -

está cocido, por lo que es preciso prolongar el tratamiento para alcanzar la cocción adecuada del alimento y en otros casos ocurre lo contrario, es decir, que hay que -- prolongar el tratamiento del producto ya cocido para asegurar la esterilización. Rodrigo (35).

El conocimiento de la cinética de estos procesos es fundamental para obtener unas conservas de alta calidad. Se ha propuesto los valores F, E y C, para concretar respectivamente el valor esterilizador del tratamiento térmico (F) el valor de inactivación enzimática (E) y el valor de degradación organoléptica y nutritiva referido a un componente o calidad determinada. Reichert 1,977, citado por Rodrigo M. (35).

Estos tres valores se consideran como parámetros del proceso y se definen como el número de minutos necesarios para destruir un número de microorganismos (F), - producir una inactivación determinada de enzimas (E), o una degradación dada de un factor de calidad (C), a una temperatura de referencia conocida. La valoración conjunta de estos tres parámetros es hoy imprescindible para optimizar los tratamientos térmicos. Rodrigo M. (35).

3.- Optimización del proceso de esterilización-cocción-Bases científicas.-

a. Esterilización-cocción. Objetivos.-

Convencionalmente, el objetivo de la esterilización ha sido conseguir la estabilidad y comestibilidad de un alimento, destruyendo todos los gérmenes patógenos presentes y los que pueden desarrollarse en condiciones normales de transporte y almacenamiento. En consecuencia, pueden quedar en condiciones de supervivencia algunos microorganismos que no alteren el producto ni sean causa de riesgo para el consumidor. Tampoco suele ser objetivo de la esterilización comercial la inactivación de termófilos, por razones de calidad y económicas, salvo cuando se prevean temperaturas de almacenamiento elevadas. Lorenzo (36).

Actualmente hay una serie de exigencias que están implicando un profundo cambio en la industria conservera. El desarrollo de nuevas tendencias alimentarias, la utilización de nuevos sistemas y equipos de esterilización (alta corta, rotatorios continuos con temperaturas variables, envasado aséptico), la creciente demanda de una mejora de calidad de vida (ausencia de aditivos, mayores

exigencias del consumidor en calidad y valor nutritivo), y la creciente necesidad de ahorro energético, son algunos de los factores que obligan a nuevos planteamientos en la industria conservera, fundamentalmente en lo que respecta a las condiciones de esterilización. Morell 1,975, citado por Rodrigo M. (35).

Como consecuencia de estas exigencias, los objetivos actuales de la esterilización comercial -- son más amplios y complejos. Hoy se pretende establecer condiciones de esterilización-cocción, que como base, inactiven los microorganismos patógenos y enzimas, y que mantengan la máxima calidad y valor nutritivo con el mínimo costo. El primer objetivo requiere tratamientos térmicos, lo más intenso posible como medida de seguridad, mientras que la pérdida de valor nutritivo y el costo demandan termo tratamientos suaves. La obtención de una calidad sensorial o cocción adecuada exige condiciones particulares en cada caso, aunque en general, son más interesantes los tratamientos alta-corto. Ante estas divergencias de exigencias hay que establecer un compromiso, o sea, desarrollar unas condiciones óptimas de esterilización-cocción. Rodri

go (35).

b. Bases científicas.-

Para el desarrollo de unas condiciones de esterilización-cocción óptima, hay que resolver los siguientes aspectos:

- Definir los objetivos que se pretenden alcanzar.
- Conocer la cinética de destrucción de los diferentes factores de referencia (microorganismos, enzimas, textura y color).
- Conocer la distribución y evolución de temperaturas en el interior del alimento durante el proceso, esto es, la penetración del calor.
- Aplicar el sistema de cálculo de baremos más adecuado.
- Seleccionar el equipo más adecuado y las condiciones óptimas de esterilización que cumplan con los objetivos establecidos.

1) Definición de Objetivos.-

En cada caso habrá que fijar el factor de reducción de la contaminación (n), que se desea obtener o el porcentaje de inactivación enzimática, o la retención del factor de calidad (N) que se quiere alcanzar.

$$n = \log \frac{N_0}{N_n}$$

N_0 = Contaminación inicial o valor inicial del parámetro que se degrada.

N_n = Contaminación o valor del parámetro al final del tratamiento. Rodrigo (35).

La intensidad del tratamiento térmico será función del factor de reducción (n) que se establezca para cada parámetro. Los valores de n que se aplican para microorganismos son siempre mayores que los de los factores de calidad. Rodrigo et al. (35). Esto es lógico porque en el primer caso se busca la máxima inactividad y en el segundo interese por lo general conservar la mejor calidad o bien alcanzar un determinado grado de cocción pre establecido y definido a ser posible de forma objetiva.

Es importante en el caso de microorganismo, partir de una materia prima con un nivel de contaminación (N_0) mínimo y con una calidad inicial -- (sabor, contenido en vitaminas, textura y color) -- elevada para que el factor n sea lo más bajo posible.

Para la selección de la especie de microorga

nismo más adecuada para el establecimiento de los baremos de esterilización, hay que tener en cuenta lo siguiente:

- Que esté presente o pueda desarrollarse en el alimento.
- Que el microorganismo sea patógeno, o que sus metabolitos sean tóxicos.
- Que sea el más termorresistente.
- Que pueda activarse a temperatura ambiente.

4.- Cinética de la destrucción térmica de microorganismos y de la degradación de la calidad: Parámetros.-

El calor afecta a los alimentos envasados, inactivando los microorganismos y enzimas presentes y alterando el valor nutritivo y la calidad sensorial.

Para cuantificar estos efectos térmicos, es necesario conocer la cinética del proceso y para ellos -- hay que establecer, en principio, lo que se entiende por daño térmico y su cuantificación. Lorenzo (36):

En el caso de factores nutritivos o de calidad, basta aplicar por lo general en el alimento en cuestión, un método objetivo adecuado para cuantificar el daño por efecto térmico, tomando como referencia el valor instrumental obtenido, con el mismo método en la materia prima sin tratar. Conviene recordar que -

la mayor parte de datos bibliográficos referente al efecto térmico sobre los factores de calidad, se han obtenido con soluciones patrones y no con el propio alimento. La mayor parte de científicos especialistas en nutrición y dietética, reconocen esta profunda laguna informativa de valores reales y sus consecuencias en el cálculo de dietas en base a tablas de composición. Rodrigo (35).

En el caso de microorganismos y enzimas, cuando se trata de delimitar un umbral para la inactivación-térmica. La información disponible hasta ahora demuestra que la inactivación depende de muchas condiciones ambientales, y en consecuencia, se confirma de nuevo-que deberá estudiarse y cuantificarse en el mismo alimento que es objeto del cálculo térmico.

Gómez 1,977, citado por Rodrigo M. (35), define la muerte o inactivación bacteriana como el cese en la división celular con la consiguiente ausencia de colonias visibles en placas de un medio nutritivo, y la expresión daño térmico "se usa para describir una-respuesta inducida por el calor y que se manifiesta como una diferencia en el número de colonias que se obtienen en dos o más medios nutritivos de composición diferente". Algunas células podrían reparar el-

daño térmico bajo las condiciones de un medio, pero - continuarían muertas o inactivas en otro. Pellón et. al. 1,981, citado por Rodrigo M. (35), han publicado una interesante revisión bibliográfica sobre el daño térmico y la viabilidad celular en bacterias. El número de trabajos en los que se estudia el daño térmico sobre los diferentes constituyentes de los microorganismos (proteínas, ribosomas, cromosomas, pared celular, membrana exterior y membrana citoplásmica) es elevado, pero los resultados actuales no permiten la identificación de los agentes internos causantes de la muerte térmica.

La influencia de los factores externos (número de microorganismos, pH del medio, contenido en ClNa, aceite, azúcar) sobre la termorresistencia de microorganismos es más conocida. Stumbo 1,965, citado por Giannoni (13).

Hoy se conoce perfectamente el daño térmico en - gran número de especies microbianas y aunque en muchos casos los resultados de los distintos investigadores - no son coincidentes, Ito y Chen 1,978, citado por Rodrigo M. (35), indican que aplicando una técnica de análisis microbiológico uniforme y normalizada, se conseguiría mayores coincidencias.

a. Primera Ley:

En cuanto a la cinética de degradación, se sa be que en el caso de los microorganismos y de algu nos factores de calidad, sigue una ley exponencial de primer orden, similar a la de destrucción de un producto químico. En el caso de factores de cali dad debería hablarse más bien de una respuesta al calor que, en primera aproximación, pue de califi carse de primer orden. Y a este respecto Rodrigo et. al. 1,982; al estudiar la cinética de destruc ción de la textura de alubias blancas durante la - cocción, observaron un comportamiento logarítmico, y deducen un valor de $z = 32 \text{ }^\circ\text{C}$, midiendo la tex tura por cizallamiento en la Instron. Valor que - está muy próximo al $z = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ de Michiels (1973), - usando un método de punción individual. Pero tam bién observaron una clara desviación del comporta miento logarítmico, medido por cizallamiento y por punción cuando las condiciones de tratamiento son - intensas. De forma general y siendo N el número - de microorganismos o el factor de calidad que se de grada, la ecuación del primer orden sería:

$$KN = \frac{-dN}{dt}$$

A partir de la ecuación anterior, se llega a la siguiente ecuación:

$$F_T = t = D_T \log \frac{N_0}{N_n} = D_T \cdot n$$

Esta última ecuación se conoce como ley de Su pervivencia o primera ley de la cinética, cuya representación en papel semilogarítmico es una recta con una pendiente $1 D_T$ en esta ecuación:

F_T = Tiempo de tratamiento a temperatura cons tante para reducir el N_n N_0 hasta un valor determinado.

D_T = Tiempo de reducción decimal a la tempe ratura T. Por definición, D_T es el tiempo de ca - lentamiento a temperatura constante (T), necesario para reducir o degradar a la décima parte el número de microorganismos o el factor de calidad.

El carácter exponencial de esta ley indica -- que teóricamente no puede llegarse a una destruc - ción total de microorganismos aunque el tiempo del tratamiento sea muy largo. Lo que se hace en el - caso de microorganismos, es fijar un factor de re - ducción n que equivalga a una probabilidad de su - pervivencia tan baja que no suponga un riesgo para

el consumidor. Rodrigo M. (35).

b. Segunda ley.-

La curva del TDT o segunda ley de la cinética de microorganismos relaciona los logaritmos del -- tiempo de destrucción TDT o del tiempo de reduc - ción decimal (D_T) con la temperatura. Matemática- mente se representa por las siguientes ecuaciones:

$$F_{121} = F_r \cdot 10^{\frac{T - 121}{Z}}$$

$$F_T = F_{121} \cdot 10^{\frac{121 - T}{Z}}$$

Donde, en estas ecuaciones:

Z = Número de grados requeridos para que la velo- cidad de destrucción térmica aumente o dis- minuya 10 veces.

F_{121} = Minutos necesarios para destruir un núme- ro prefijado de microorganismo a 121 °C.- Cuando el Z del microorganismo es igual a 10 °C o 18 °F, al F_{121} se le denomina - F_r .

Diversas investigaciones han propuesto el uso de los parámetros semiempíricos: Constante de la- velocidad de la reacción (K) y energía de activa- ción de Arrhenius (E_A) como sustituto de los valo-

res (F) y (Z) respectivamente, Hayakawa 1977, según Rodrigo M. (35), el uso de aquellos parámetros no es más ventajoso que el de éstos últimos, entre otras causas porque requiere cálculos más complicados.

En algunos casos se utiliza el parámetro Q_{10} como medida de la variación del log D_T o F con la temperatura. Su relación con Z es:

$$Z = \frac{10}{\log. Q_{10}}$$

Y cuando $Z = 10 \text{ }^\circ\text{C}$ (Clostridium botulinum) $Q_{10} = 10$. Cuando se mide la termorresistencia de enzimas o de un factor de calidad, se utilizan los parámetros E y C en lugar de F., los tres tienen un significado similar.

III.- MATERIALES Y METODOS

A.- Lugares de ejecución.-

El presente trabajo de tesis se realizó en las instalaciones de la Granja Zootécnica de la UNAS., los Laboratorios de Nutrición y Biología, así como la Planta Piloto de procesamiento de frutas y hortalizas de la Universidad Nacional Agraria de la Selva - Tingo María, que se encuentra ubicada a 641 metros sobre el nivel del mar, con latitud - Sur 09°17', con una humedad relativa promedio de 84 %, y una temperatura promedio anual de 23.5 °C. Finalmente el estudio toxicológico se realizó en el Laboratorio de la Asignatura de Toxicología y Química legal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ambos de Lima - Perú.

B.- Materia prima.-

Como materia prima se usó una sola especie: El Gualo (Leptodactylus pentadactylus), procedentes en su primera etapa del estanque bioterio de la Granja Zootécnica de la UNAS., y de los lugares de Castillo Grande, Naranjillo, San Jorge y de los alrededores de Tingo María.

C.- Materiales y equipos.-

L.- Materiales:

- Palas, picos, cinta métrica, alambre de hierro, clavos, maderas, caña bambú, piedras, plantas acuáticas.

- cas, cal y superfosfato simple.
- Red de cuchara con aro de fierro, insertado al con- torno una malla de pescar.
 - Mesa de preparación rodante LABCONCO-USA, de 1 mt. por 0.60 mts., con una bandeja de fibra de vidrio- incorporado.
 - Envase de hojalata barnizada, tipo tuna N° 307 X - 113.
 - Solución de cubierta de pasta de tomate, y otros - ingredientes como: Sal común de mesa, vinagre, pi- mienta y glutamato monosódico.
 - Micrómetro starrett Athol. Cov. U.S.A.
 - Regla cromatográfica Dessaga, con 5 vidrios de 20- X 20 cms.
 - Carril para cromatografía Dessaga.
 - Cubeta de saturación Dessaga.
 - Pulverizador para revelar Dessaga.
 - Regla de medir R_f Dessaga.
 - Disolventes: a) Eter de petróleo, b) Acetato de etilo, c) Etano, d) Acetona, e) Cloroformo, f)- Eter etílico y agua destilada a 75 °C.
 - Reactivos reveladores para cromatografía.
 - Silicagel 60 G MERK.
 - Material Biológico: a) Ratón blanco (Mus musculus)-

y b) Gato doméstico (Félix doméstico).

2.- Equipos.-

- Balanza de torsión marca Metripond, con una capacidad hasta de 1 Kg.
- Ollas co chaquetas de vapor de 600 X 400 mm.
- Tanque esterilizador, con capacidad vital de 400 - lts.
- Selladora Semiautomática M.A.I.E.R., tipo 34 74.
- Autoclave discontinuo vertical; con capacidad vital de 125 lts. y rango de temperatura de 0-200 °C.
- Termocupla ELLAB, TEC-APP de 4.5 voltios, con rango de temperatura de C-130 °C.
- Estufa Thelco, modelo 17, con rango de temperatura de 0-300 °C.
- Estufa MENMERT SCHUTZART DIN, con termómetro incorporado de 0-200 °C.
- Proyector de traslape WACO-WILKENS Anderson Chicago U.S.A.
- Mufal marca MUSZERIPER, con rango de temperatura - 0-900 °C.
- Potenciómetro, marca RADELKIS, rango de medida de - 1-14.
- Vacuómetro marca Narshall, con rango de medida de 0 a 30 pulg. de mercurio.

- Extractor de grasa, marca VARI-HEAT. USA.
- Digestor de proteína, marca LABCONCO.
- Balanza analítica marca Volland y Mettler.
- Equipo de Baño María, con rango de temperatura de 0-100 °C.
- Lámpara de luz ultravioleta UV DESSAGA, con un rango de medida de 366 mm.
- Microscopio Carl Zeiss, de 40 X 400 aumentos.
- Esteroscopio Marca WARZAWA.
- Cámaras fotográficas.

D.- Métodos y procedimientos.-

1.- Ensayos de Biocultivo:

a. Construcción del estanque e incorporación de Guanos.-

Se construye un estanque con un espejo de agua de 9 m². de dimensión, y con un margen de terreno de 16 m²., al perímetro del estanque, donde se siembra plantas hornamentales tales como la pituca (Colocasia esculenta), que les sirve de microclima natural; una vez finalizada la construcción se les cerca con caña bambú, el estanque tiene una compuerta de entrada y otra de salida; antes de llenarlo con agua, el estanque se desinfectó con cal, luego se añade periódicamente 100 gr.

de superfosfato simple cada 6 días, según lo recomienda Rodríguez Papuico. (34), también se añaden piedras y plantas acuáticas. Finalmente se incorpora 9 gualos adultos, tomando en cuenta para este caso 1 m² de espacio para cada animal. El diseño del estanque se muestra en la Figura N° 2.

b. Captura del espécimen y su manipulación.-

La captura del Gualo (Leptodactylus pentadactylus), se realiza en las noches con un aparato especial parecido al mariposero, con el fin de no dañar al animal de sus habitats naturales de Tingo María (Naranjillo, San Jorge, Castillo Grande), luego se transportó al estanque.

c. Análisis del contenido estomacal.-

A los tres primeros especímenes del gualo - capturados, se les sacrificó y evisceró para realizar el estudio del contenido estomacal; lo que nos sirvió de referencia objetiva para conocer su hábito alimenticio y así criarlos en cautiverio.

d. Alimentación Natural.-

De acuerdo al resultado del análisis del contenido estomacal, que nos sirvió de referencia sobre la alimentación natural del gualo, se les proporcionó una ración alimenticia natural para cono

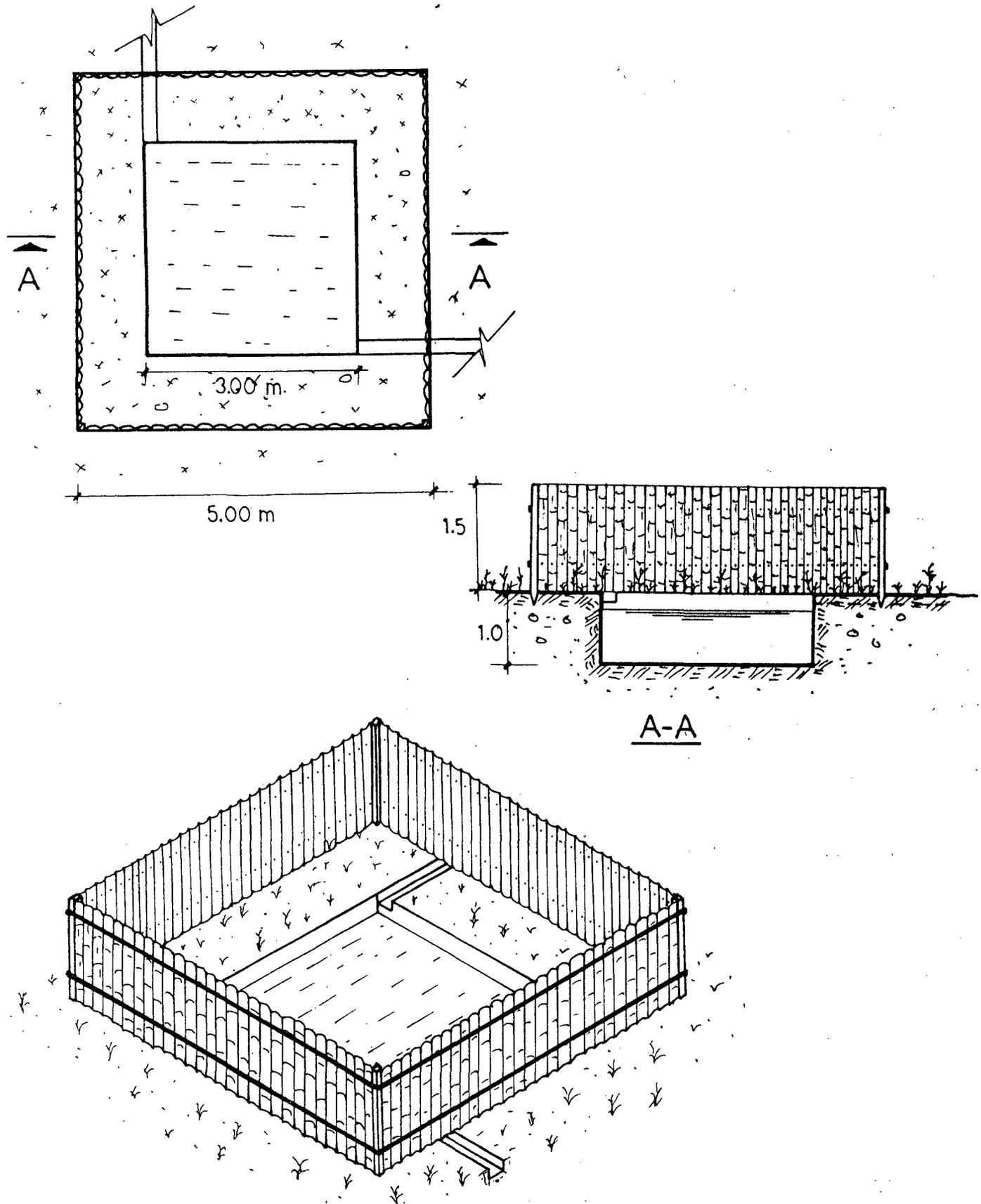


FIGURA Nº 2.- Dimensiones y plano isometrico del estanque de crianza del gualo

cer si la alimentación presentada al animal era -
la adecuada.

e. Muestreos y controles.-

En forma periódica se hace controles de peso, que se realiza por 5 veces, con intervalos de 1 mes por control, tal como se muestra en el Cuadro N°-10; el número de especies a utilizar es de 9, a -- los dos meses se efectuó una desinfección del estanque con cal, añadiendo 100 gr. de superfosfato simple cada seis días.

2.- Estudio toxicológico.-

El estudio toxicológico del presente trabajo se basó en recomendaciones establecidas por Harrison (17) (a) Marcha de Stas Otto modificado para la extracción e investigación de toxinas, y b) Método de extracción y separación de principios inmediatos por acción de disolventes selectivos adaptados para cromatografía; de CIBA GEIGY (7), para la investigación toxicológica; de Litter (23), para el estudio de toxinas de origen animal y vegetal, finalmente lo recomendado por Randersath (33) para la determinación cromatográfica de glucósidos cardiotóxicos.

a. Finalidad.-

La investigación toxicológica del presente -

trabajo tuvo por finalidad localizar las posibles toxinas contenidas en la piel, parte dorsal, ancas frescas y producto terminado (ancas) del Guallo (Leptodactylus pentadactylus), y determinar si afectaban los sistemas digestivos, respiratorio, nervios y circulatorio de los animales de laboratorio, así mismo identificar los efectos tóxicos o peligrosos para el consumidor; además establecer parámetros para otros trabajos de investigación, con miras a producir el enlatado comercial de dicha carne, con un mínimo de inconvenientes y molestias para el consumidor.

b. Procedimiento.-

Se basa en los procedimientos establecidos por los autores: Hárrison (17), Ciba Geigy (7), Litter (23) y Randerath (33), para el estudio de toxinas de origen vegetal y animal. Las pruebas toxicológicas planteadas para tal efecto son:

- LADME (Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Eliminación.
- Marcha de Stas Otto modificado para la extracción e investigación de toxinas.
- Método de extracción y separación de principios inmediatos por acción de disolventes selecti -

vos adaptados para cromatografía.

Luego se realizó las pruebas Bio-tóxicológicas: a) Aguda, b) Subaguda; usando animales de Laboratorio; ratones blancos (Mus musculus) y gatos (Félix domésticos).

Finalmente se realizó la identificación química toxicológica por cromatografía para identificar glucósidos cardiotónicos. Recomendado por Randerath (33).

1) Liberación.-

Para determinar la liberación de posibles toxinas del Gualo, se seleccionó el material en estudio como sigue: a) Producto procesado (ancas de Gualo), b) Parte dorsal, cabeza y piel del gualo recién sacrificado, y c) Ancas frescas del Gualo; lo que se picó finamente las tres muestras por separado, para luego extraer las toxinas por el método de Stas Otto, las tres muestras citadas y otras tres muestras por el método de extracción y separación de principios inmediatos por acción de disolventes selectivos adaptados para cromatografía, tal como se sintetiza en los Cuadros 2 y 3.

2) Modo de instalación.-

Siguiendo los criterios para evaluar un sistema de jaulas para el alojamiento y cuidado de animales de laboratorio, se construyeron cuatro jaulas, con los datos recomendados para ratas de 20 cms. de ancho, 30 cms. de profundidad y 20 cms. de altura, usando para ello malla metálica N° 20 de 3/8" de diámetro, unidas con alambre galvanizado y tapas de triplex, la misma que sirvió de puerta para dar de comer y beber. En cada uno de los cuales fueron colocados ratones machos de un mes de edad, seleccionados por su contextura y peso promedio para cada grupo, tal como sigue: a) Testigo 16.5 gr. de la jaula N° 1, b) Serie B1 16.0 gr. de la jaula N° 2, c) Serie B2 18.2 de la jaula N° 3, y d) Serie B3 y 17.5 de la jaula N° 4. En el caso de los gatos se usó también lo propuesto por el mismo autor, de 45 cms. de ancho, 60 cms. de profundidad y 60 cms. de altura para dos gatos de la misma camada de 750 grs. de peso cada uno.

CUADRO N° 2.- Liberación de posibles toxinas por el método de Stas Otto modificado para la extracción e investigación de toxinas. Harrison (17).

Código	Tipo de muestra	Peso en gr.	Adición de reactivos ml.	Maceración horas	Operaciones y especificaciones	Concentración final
A 1	Producto procesado ancas de rana.	100	2 grs. de ác. tartárico + 300 ml. alcohol etílico.	12	Filtrado y recuperación del re activo a 98 °C en un aparato de soxhlet, á baño maría.	Líquido de color amarillo que se deposita en un tubo de prueba.
A 2	Parte dorsal + cabeza + piel.	103	2 grs. de ác. tartárico + 150 ml. alcohol etílico.	12	Filtrado y recuperación del re activo a 98 °C en un aparato de soxhlet, á baño maría.	Líquido de color marrón, que se depositó en un tubo de prueba.
A 2	Ancas frescas de rana.	106	2 grs. de ác. tartárico + 150 ml. alcohol etílico.	12	Filtrado y recuperación del re activo a 98 °C en un aparato de soxhlet, á baño maría.	Líquido de color amarillo que se depositó en un tubo de prueba.
1 AEP	Residuo de la lra. maceración.	-	300 ml. de éter de petróleo.	24	Filtrado y recuperación del re activo a 68 °C en un aparato de soxhlet, á baño maría.	Líquido color anaranjado claro que se depositó en un tubo de prueba.
2 AEP	Residuo de la lra. maceración.	-	150 ml. de éter de petróleo.	24	Filtrado y recuperación del re activo a 98 °C en un aparato de soxhlet, á baño maría.	Líquido de color marrón claro que se depositó en un tubo de prueba.
3 AEP	Residuo de la lra. maceración.	-	150 ml. de éter de petróleo.	24	Filtrado y recuperación del re activo a 68 °C en un aparato de soxhlet, á baño maría.	Líquido color amarillo claro que se depositó en un tubo de prueba.

CUADRO N° 3.- Liberación de posibles toxinas por el método de Principios Inmediatos por acción de disolventes selectivos Adaptados - para cromatografía. Hárrinson, (17).

Código	Tipo de muestra	Peso en gr.	Adición de reactivos ml.	Maceración horas	Operaciones y especificaciones	Concentración final
1 B	Producto procesado ancás de rana.	100	300 ml. eter de pe - tróleo.	12	Filtrado y recuperación del re_ activo a 68 °C en un aparato - de Soxhlet, á baño maría.	Líquido Siruposo de color marrón claro, que se depo_ sitó en un tubo de prueba.
2 B	Parte dorsal + ca- beza + piel.	100	150 ml. eter de pe - tróleo.	12	Filtrado y recuperación del re_ activo a 68 °C en un aparato - de Soxhlet a baño maría.	Líquido siruposo de color amarillo claro, que se de_ positó en un tubo de prue_ ba.
3 B	Ancas de rana frescas.	114.8	150 ml. eter de pe - tróleo.	12	Filtrado y recuperación del re_ activo a 68 °C en un aparato - de Soxhlet a baño maría.	Líquido amarillo claro, - que se depositó en un tu- bo de prueba.
1 BC	Residuos de la lra. maceración.	-	300 ml. de clorofo- r- mo.	24	Filtrado y recuperación del re_ activo a 98 °C en un aparato - de Soxhlet a baño maría.	Líquido siruposo de color marrón, que se depositó - en un tubo de prueba.
2 BC	Residuo de la lra. maceración.	-	150 ml. de clorofo- r- mo.	24	Filtrado y recuperación del re_ activo a 98 °C en su aparato - de Soxhlet a baño maría.	Líquido siruposo de color amarillo, que se depositó en un tubo de prueba.
3 BC	Residuos de la lra. maceración.	-	150 ml. de clorofo- r- mo.	24	Filtrado y recuperad ón del re_ activo a 98 °C en un aparato - de Soxhlet a baño maría.	Líquido siruposo de color blanquesino, que se depo- sitó en un tubo de prueba.

CUADRO N° 3.- (Continuación), liberación de posibles toxinas por el método de principios inmediatos por acción de disolventes selectivos adaptados para cromatografía. HÁrrison. (17).

Código	Tipo de muestra	Peso en gr.	Adición de reactivos. ml.	Maceración horas	Operaciones y especificaciones	Concentración final.
1 BEE	Residuo de la 2da. maceración.	-	200 ml. de éter etílico estabilizado.	12	Filtrado y recuperación del reactivo a 59 °C en un aparato de Soxhlet, á baño maría.	Líquido siruposo anaranjado oscuro, que se depositó en un tubo de prueba.
2 BEE	Residuo de la 2da. maceración.	-	150 ml. de éter etílico estabilizado.	12	Filtrado y recuperación del reactivo a 59 °C en un aparato de Soxhlet, á baño maría.	Líquido siruposo amarilloblanquesino, que se depositó en un tubo de prueba.
3 BEE	Residuos de la 2da. maceración.	-	100 ml. de éter etílico estabilizado.	12	Filtrado y recuperación del reactivo a 59 °C en un aparato de Soxhlet, á baño maría.	Líquido siruposo amarillo que se depositó en un tubo de prueba.
1 BAE	Residuo de la 3ra. maceración.	-	300 ml. de acetato de etilo.	12	Filtrado y recuperación del reactivo a 75 °C en un aparato de Soxhlet a baño maría.	Líquido siruposo anaranjado, que se depositó en un tubo de prueba.
2 BAE	Residuo de la 3ra. maceración.	-	150 ml. de acetato de etilo.	12	Filtrado y recuperación del reactivo a 75 °C en un aparato de Soxhlet a baño maría.	Líquido siruposo amarillcon PP blanco, que se depositó en un tubo de prueba.
3 BAE	Residuo de la 3ra. maceración.	-	100 ml. de acetato de etilo.	12	Filtrado y recuperación del reactivo a 75 °C en un aparato de Soxhlet a baño maría.	Líquido siruposo amarillo transparente, que se depositó en un tubo de prueba.

CUADRO N° 3.- (Continuación) liberación de posibles toxinas por el método de principios inmediatos, por acción de disolventes selectivos, adaptados para cromatografía. Hárrison, (17).

Código	Tipo de muestra	Peso en gr.	Adición de reactivos ml.	Maceración horas	Operaciones y especificaciones	Concentración final
1 BA	Residuo de la 4ta. maceración.	--	200 ml. de Acetona .	24	Filtrado y recuperación del sol ₁ vente a 75 °C 90 °C en un aparato de soxhlét a baño maría.	Líquido siruposo anaranjado oscuro, que se depositó en un tubo de prueba.
2 BA	Residuo de la 4ta.	-	150 ml. de Acetona.	24	Filtrado y recuperación del sol ₁ vente a 75°C 90°C en un aparato de soxhlét a baño maría.	Líquido siruposo color blanco, que se depositó en un tubo de prueba.
3 BA	Residuo de la 4ta. maceración.	-	100 ml. de Acetona.	24	Filtrado y recuperación del sol ₁ vente a 75°C 90°C en un aparato de soxhlét a baño maría.	Líquido siruposo color blanco espeso, que se depositó en un tubo de prueba.
1 BAD	Residuo de la 5ta. maceración.	-	200 ml. de agua destilada a 75 °C.	12	Filtrado y eliminación del agua a 110 °C.	Líquido siruposo anaranjado, que se depositó en un tubo de prueba.
2 BAD	Residuo de la 5ta. maceración.	-	150 ml. de agua destilada a 75 °C.	12	"	Líquido siruposo de color blanco gelatinoso, que se depositó en un tubo de prueba.
3 BAD	Residuo de la 5ta. maceración.	-	100 ml. de agua destilada a 75 °C.	12	"	Líquido siruposo de color blanco gelatinoso, que se depositó en un tubo de prueba. *

* Líquido siruposo que a las 24 horas se volvió gelatinoso.

3) Dosis.-

Con la finalidad de llevar a cabo las pruebas toxicológicas escogidas, se administró a los ratones y gatos, diversos porcentajes de alimento balanceado y ancas de rana, mezclados con a-tún respectivamente, teniendo en cuenta la cantidad de alimento habitual consumido por ellos con las dosis y sobredosis recomendados por: Ci ba Geigy (7), Litter (23) y Vellard (40), las mismas que se muestran en los Cuadros N° 4 y N° 5.

CUADRO N° 4.- Tratamiento realizado durante el estudio toxicológico (toxicidad aguda) en ratones de la serie B.

Tratamiento	N° de ratones	Peso en grs. de ratones.	Alimentación normal-purina	Dosis de la mezcla total de extracto en ml.
Testigo	8	16.5	Purina	0
Serie B ₁ \$	8	16.0	Purina	5
Serie B ₂ %	8	18.2	Purina	5
Serie B ₃ &	8	17.5	Purina	5

\$, %, &. Teniendo en cuenta que para la extracción de cada serie se utilizó el mismo solvente, se optó por mezclarlas agrupados en series como sigue:

Serie B₁ .- IB - 1Bc - 1BEE - 1BAE - 1BA - 1BAD.

Serie B₂ .- 2B - 2Bc - 2BEE - 2BAE - 2BA - 2BAD.

Serie B₃ .- 3B - 3Bc - 3BEE - 3BAE - 3BA - 3BAD.

CUADRO N° 5.- Tratamiento realizado durante el estudio toxicológico (toxicidad Subaguda) en gatos de la serie A.

Tratamiento	N° de gatos	Peso en gr. de gatos.	Alimentación normal (atún)	Dosis de la mezcla total de extracto en ml.						
				1	2	3	4	5	6	7
- Serie A 1,2,3 \$	1	750	Ancas más A - tún.	1	1	1	1	1	1	1
- Serie B 1,2,3 &	1	750	Ancas más A - tún.	1	1	1	1	1	1	1

\$, & .- Teniendo en cuenta que para la extracción de cada serie se utilizó el mismo solvente, se optó por mezclarlas agrupados en series como sigue:

- Serie A.- Macerado con ácido tartárico y alcohol etílico.

1,2,3 \$

- Serie B.- Macerado con éter de Petróleo.

1,2,3 &

4) Modo de administración.-

La administración se realizó por vía oral, junto con los alimentos mezclados de acuerdo a la dosis indicada en los Cuadros 4 y 5, con conejina para el caso de los ratones y con ancas-de Gualo procesado más atún para el caso de los gatos; en ambos casos mezclados con las posibles muestras tóxicas sintetizados, las que están resumidas en los Cuadros 2 y 3.

5) Pruebas Bio-toxicológicas y química-toxicológicas realizadas.-

- (a) Toxicidad aguda.
- (b) Toxicidad sub-aguda.
- (c) Prueba química toxicológica por cromatografía.
- (a) Toxicidad aguda:

Para esta prueba a los ratones se les administra una sola dosis elevada, siguiendo las propuestas de CIBA GEIGY (7), y Litter (23) por 24 horas, para evaluar todo tipo de anomalías como son: Movimiento brusco, nerviosismo, caminata de retroceso, intranquilidad, etc. Evaluando de este modo la mortalidad, tomando en cuenta el 100

% de los animales, expresado en la dosis letal media: DL_{50} ; la cantidad de 5 ml. por animal, para 8 ratones de cada serie, tal como se indica en el Cuadro N° 4.

(b) Toxicidad sub-aguda:

Siguiendo las recomendaciones de CI BA GEIGY (7) y Litter (23), esta prueba se realizó solo en gatos que tienen un peso de 750 gr. cada uno, es decir se administró dosis repetidas en la ración alimenticia de éstos durante dos semanas, - con intervalos de dos días, con una cantidad de 7 ml. por cada gato o sea 1 ml. por cada día de administración, tal como se muestra en el Cuadro N° 5.

(c) Prueba química-toxicológica por cromatografía.-

Según Randerath (33), toxicológicamente la cromatografía de capa fina representa en casos de envenenamiento, de origen desconocido, un método de análisis ideal por su rapidez, siendo en muchos casos decisiva para salvar la vida.

La prueba cromatográfica es un método

do de análisis especial por el cual se detectan pequeñísimas cantidades de sustancias (gamas); es de gran sensibilidad, práctico y sencillo; por todo ello éste método de análisis se usa actualmente mucho en la investigación pura, como en la industria y en la toxicología. Hárrison (17).

Para este trabajo se usó la cromatografía de capa fina que tiene las siguientes ventajas según Hárrison (17).

- El tiempo de desarrollo del cromatograma es menor que en el papel, generalmente de 30 a 45 minutos.
- La separación de los componentes de una mezcla es por lo general más efectivo.
- Se pueden usar reactivos reveladores más enérgicos como ácido sulfúrico, tricloruro de antimonio, vapores de bromó de yodo, etc., como también temperaturas más altas para detectar los componentes.

Para preparar la capa fina se pesó-

30 gr. de silicagel G-60 MERK, para cromatografía, y se mezcló con 65 cc. de agua destilada en un matraz por un tiempo no mayor de 1 minuto, luego se pasó a un extendedor o carro DESSAGA sobre la superficie de 5 láminas de 20 x 20 cms., superpuestas en una regla cromatográfica, después éstas láminas se llevaron a una estufa para desecarlas a 100 °C por 30 minutos, quedando así listas para su uso. En éstas placas se puntea ó aplica con la ayuda de un capilar cada una de las 24 muestras liberadas o sintetizadas. La cantidad de 5 Ug (microgramo) aproximadamente, según se detalla en la Figura N° 3.

En esta clase de cromatografía el solvente debe alcanzar una altura de 10 a 15 cm. A su vez para preparar los solventes y reveladores, se siguieron las recomendaciones de Randerath (33), para la separación de glucósidos cardiotónicos en cromatografía de capa fina; trabajándose a saturación la cámara o cubeta; las mismas que están resumidas en el Cuadro N° 6.

CUADRO N° 6.- Preparación de solventes y reveladores para la cromatografía de capa fina.

SOLVENTES Y REVELADORES	REACTIVOS Y USADOS	PROPORCION
Solvente	50 cc. ácido ester acético. 10 cc. de Pridina. 40 cc. de agua destilada.	5-1-4
Revelador N° 1.	8 cc. de agua destilada.	
Reactivo Aldehído anísico.	2 cc. de acetona.	\$
Acido perclórico	1 cc. de ácido perclórico. 0.1 cc. de anisaldehído.	
Revelador N° 2.	10 cc. de una solución acuosa al 3 % de cloramina.	
Reactivo cloramina-ácida Tricloroacético.	40 cc. de una solución al 25 % de ácido tri- cloro acético en etanol al 96 %.	&
Revelador N° 3	0.85 gr. de subnitrate de bismuto.	
Reactivo de Dragendorff	40 cc. de agua destilada.	
Munier "A"	10 cc. de ácido acético glacial.	
Reactivo de Dragendorff	8 gr. de yoduro de potacio.	
Munier "B"	20 cc. de agua destilada.	
A y B se mezclan en partes iguales para su uso.		

\$ Las placas con 24 muestras punteadas, después de la aspersion con el revelador N° 1, se calentaron por 5 minutos a 80 °C y se observó a luz visible y ultravioleta (UV).

& La placa 2, después de la aspersion con el revelador N° 2, se calentó por 7 minutos a 110 °C, y se observó la luz visible y ultravioleta. La placa 3 se observó a la luz visible y ultravioleta solamente.

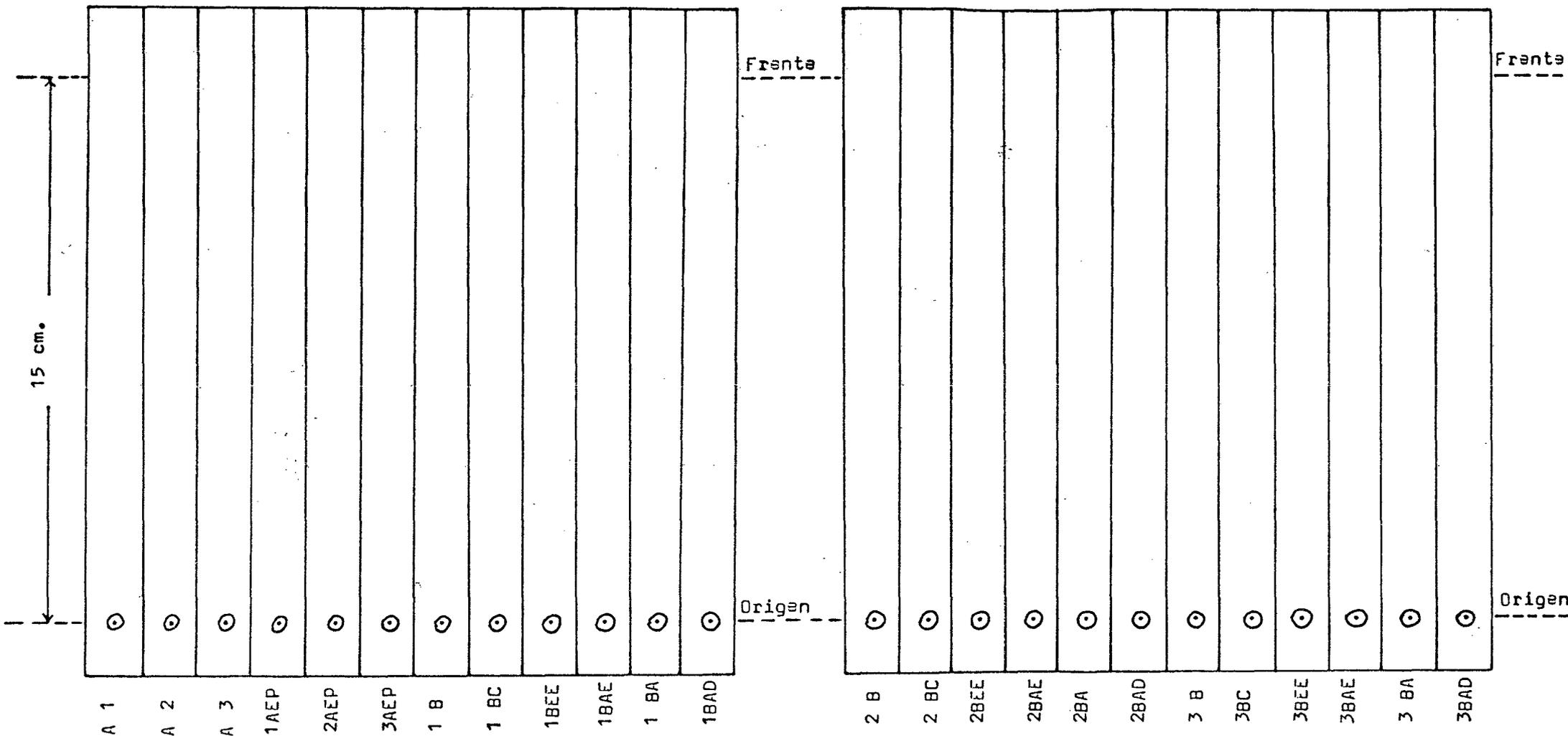


FIGURA 3. Cromatografía de capa fina para la determinación de glucósidos cardiotónicos y alcaloides de las posibles muestras tóxicas extraídas de las series "A" y "B" del gualo (Leptodactylus pentadactylus)

3.- Procesamiento de la materia prima.-

a. Flujograma general de operaciones:

En la Figura N° 4 se plantean operaciones fundamentales y tradicionales conocidas para el enlatado, aplicadas para el procesamiento de la carne de gualo (Leptodactylus pentadactylus) en estudio.

b. Descripción de las operaciones:

1) Materia prima.-

Los Gualos para las primeras pruebas de este estudio, se tomaron del estanque biotorio, así como de las capturas nocturnas que se realizaron para las pruebas finales, luego se los llevó a la planta Piloto para su sacrificio.

2) Eviscerado y pelado.-

Usando cuchillo de acero inoxidable se seccionó las ancas de la coyuntura de los huesos acetábulo e isquiún, por otro lado a nivel de las coyunturas de los huesos tarsales, incluyendo éstos para mayor rendimiento. Tal como se explica en la figura N° 5. Diseño tomado del autor Wodsedalek, (41).

El corte del brazuelo se hace a la altura del hueso supraescápula, excluyendo éste por ser indeseable; el corte final se realiza a ni

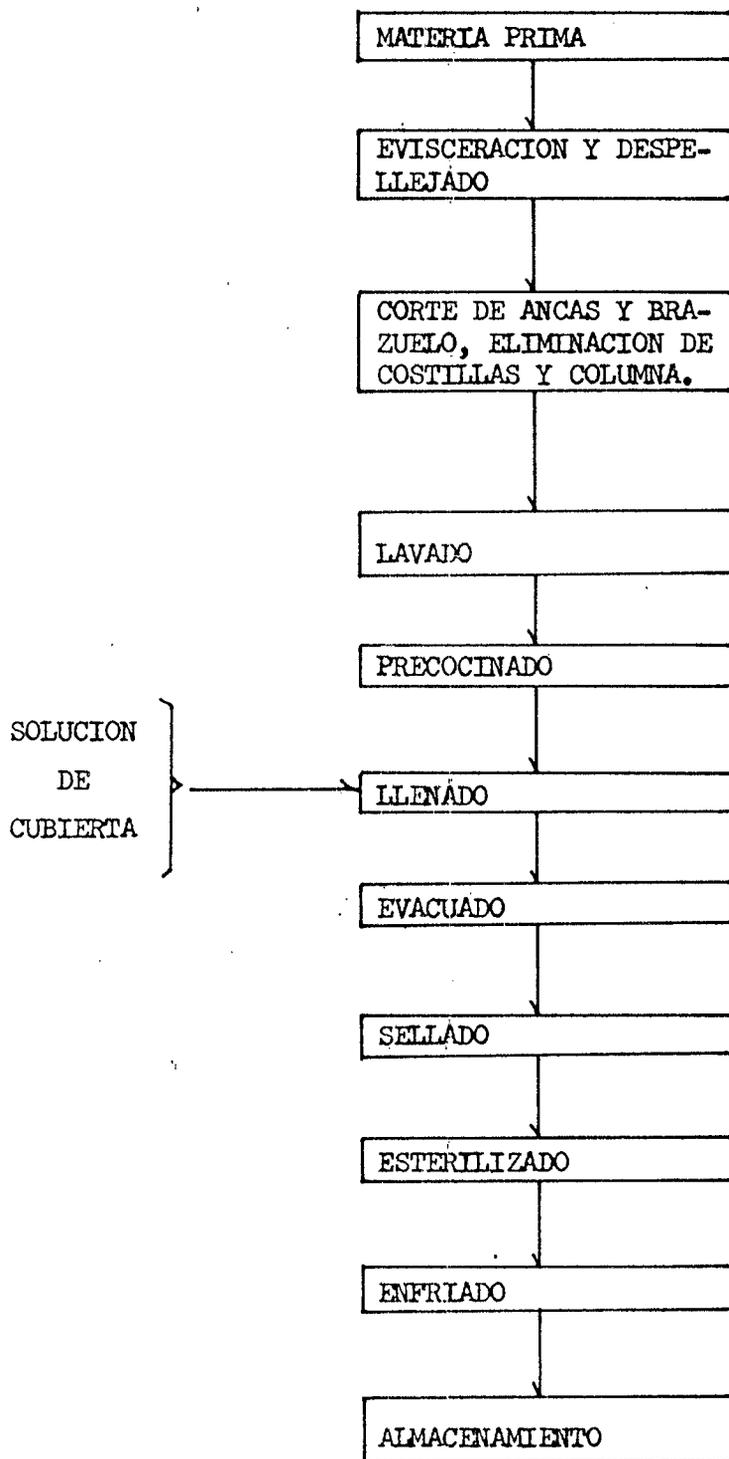


FIGURA N° 4.- Flujograma general de operaciones.

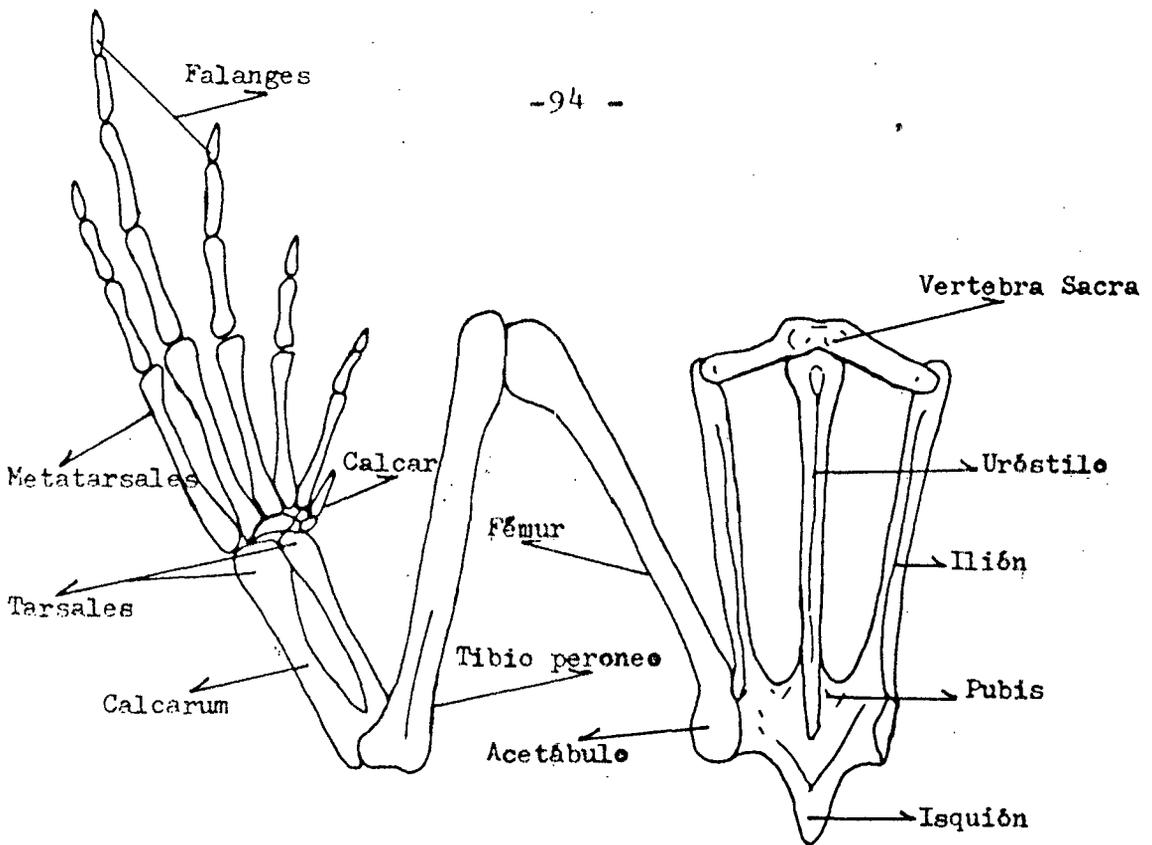


Figura Nº 5.-Disposición de los huesos de la pierna de la rana toro
(Rana catesbiana).

Fuente.- WODSEDALEK, J.E. General zoology, laboratory, guide. 4 Th ed.
Dubuque Brown Company. 1,965 pp 179-197.

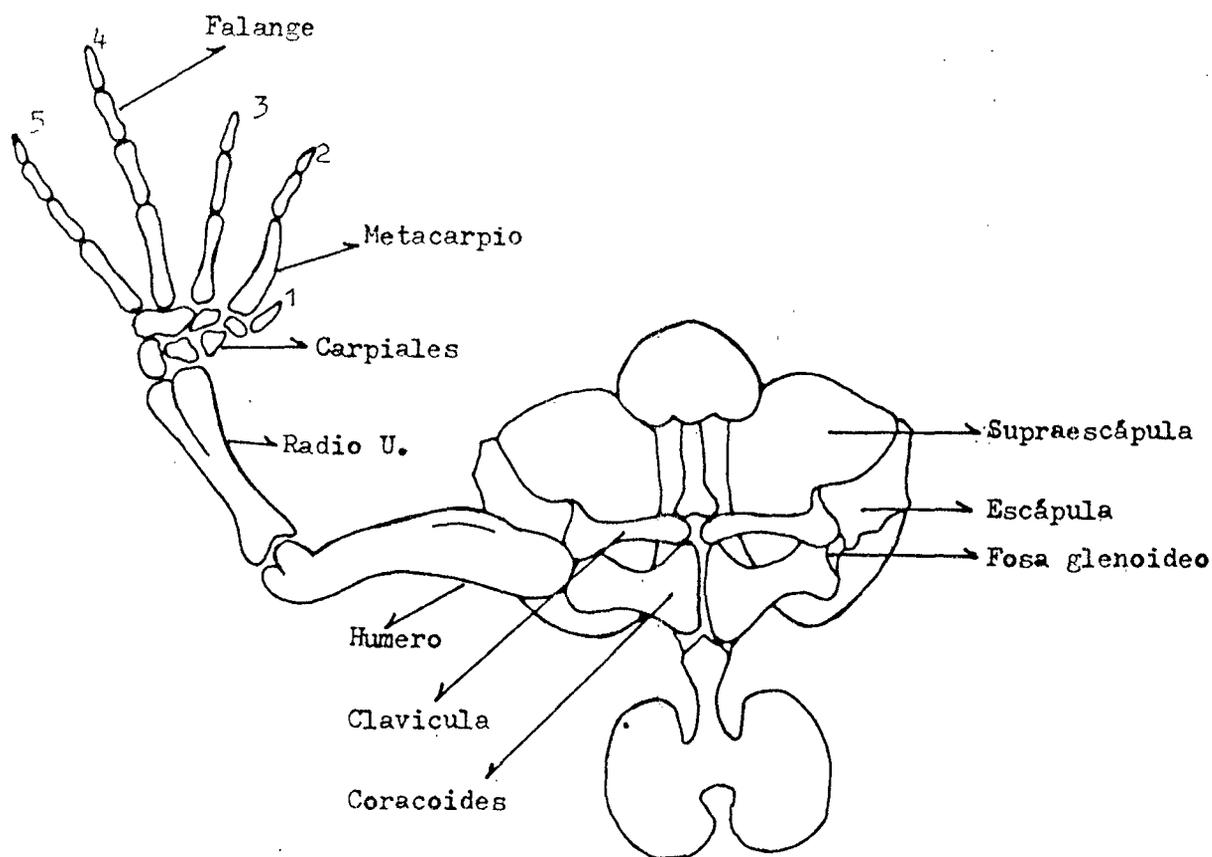


Figura Nº 6 .- Disposición de los huesos del brazo de la rana toro
(Rana catesbiana)

Fuente.- MUEDRA, V. Atlas de anatomía animal, Barcelona España, ed Jover.
1,979.

vel de los huesos del brazo a la altura del -- cuerpo, y por el otro lado excluyendo los huesos carpiales. Este método de corte nos proporciona el máximo rendimiento de la carcasa ; tal como se explica en la Figura N° 6, diseño de Muedra (28).

3) Lavado.-

El lavado se realizó con agua corriente, con la finalidad de eliminar restos de sangre y posibles microorganismos o materiales indeseables presentes.

4) Precocinado.-

Las ancas lavadas fueron sometidas a la precocción, la cual se realizó en la marmita o chaqueta de vapor, cociéndose la carne a temperatura de ebullición, promedio de (98.5 °C), - que se mide con un termómetro. Se probó seis variables de tiempo: 1,2,3,4,5 y 6 minutos de precocción; determinándose la pérdida de humedad en cada período de tiempo.

Para determinar el tiempo necesario de -- precocción, se evaluó organolépticamente en base a la cocción del músculo de la carne indicada por la coloración blanca característica.

5) Llenado.-

Previo al llenado se lavaron las latas con detergente y agua hirviendo durante 5 minutos, para evitar la contaminación. El llenado se realizó manualmente, pesando 150 grs. de músculo y 30 gr. de líquido de gobierno, lo que permite tener un espacio reglamentario entre el producto y la tapa del envase.

6) Adición de solución de cubierta.-

La solución de cubierta empleado, es una solución de salsa de tomate en la concentración siguiente por cada envase 2 gr. de sal, 9.5 grs. de salsa de tomate, 14 cc. de agua, 4 cc. de vinagre, 0.38 grs. de glutamato monosódico y 0.12 °grs. de pimienta; con la finalidad de dar sabor al producto, favorecer la transferencia de calor y desalojar parte del aire ocluído en el alimento; la misma que se encuentra especificado en el Cuadro N° 7.

7) Evacuado.-

Se eliminó el aire por calentamiento al vapor, que se realizó en un tanque esterilizador, colocando las latas con tapas superpuestas en la base del tanque agujereado, por los

CUADRO N° 7.- Condiciones de procesamiento y formulación de la solución de cubierta de las pruebas preliminares para el enlatado de carne de Gualo.

PROCESAMIENTOS	Tiempo y Temperatura de precocción	Evacuado en minutos	Tiempo de procesamiento (Esterilizado)	FORMULACION	
				Solución de cubierta	Aditivos por cada envase
Primer Procesamiento	0 = 6' T° = 98.5	0 = 5'	θ = 30' T° = 250 °F P = 23.8 lb/pulg. ² θ enfria. = 10'	S 1 = Solución salina	Agua = 25.0 gr. Pimienta = 0.30 Sal = 4.5 gr. G.M.S. = 0.5 gr.
				T 1 = Pasta de tomate	Agua = 15 gr. Pasta de tomate = 6.0 gr. Vinagre = 4.0 gr. Pimienta = 1.1 gr. G.M.S. = 0.9 gr. Sal = 3.0 gr.
Segundo Procesamiento	0 = 6' T° = 98.5	0 = 5'	θ = 35' T = 250 °F P = 23.8 lb./pulg. ² θ enfria. = 10'	T 2 = Pasta de tomate	Pasta de tomate = 7.75 gr. Sal = 6.75 gr. Agua = 15.5 gr.
Tercer Procesamiento	0 = 6' T° = 98.5	0 = 5'	θ = 40' T = 250 °F P = 23.8 lb/pulg. ² θ enfria. = 10'	T 3 = Pasta de tomate	Agua = 14.00 gr. Sal = 2.500 gr. Pasta de tomate = 8.00 gr. Vinagre = 5.00 gr. G.M.S. = 0.380 gr. Pimienta = 0.120 gr.

cuales sale el vapor saturado, el tiempo del-
evacuado es de cinco minutos con el tanque ta
pado en la parte superior.

8) Sellado.-

Esta operación se realizó inmediatamente
al sacar del tanque esterilizador las latas,-
con una selladora semiautomática.

9) Esterilizado.-

En el presente estudio el esterilizado -
se realizó en un autoclave vertical de funcio
namiento discontinuo a temperatura de 121 °C-
ó 250 °F, presión de trabajo a 1.7 Kg./cm² ó
23.8 lib./pulg.²

10) Enfriado.-

La conserva alimenticia después del tra
tamiento térmico pasó a la operación del en-
friado, el cual se realizó con el agregado -
de agua fría hasta que llega a la temperatu-
ra de 35 °C.

11) Almacenado.-

Los productos se almacenaron durante 60
días a temperatura ambiente; posteriormente-

se puso a pre-incubación a 32 °C por 15 días, y 55 °C durante 10 días para los análisis microbiológicos respectivos.

c. Cálculo del punto de calentamiento más tardío (p.m.f.).-

Al producto óptimo que se obtuvo por análisis organoléptico, se le llenó en una lata de 1/2 libra de capacidad de dimensiones 307 por 113, lo cual se perforó previamente considerando 3 niveles, ubicados a 1/4, 1/2 y 3/4 de altura a partir de la base, acondicionándoles una montura de termocuplas a cada una de ellos hasta el centro geométrico de la lata, bien sujetadas con tuercas y arandelas de jebe para evitar fugas de calor; este producto debidamente acondicionado es sometido a un tratamiento térmico adecuado para conocer el punto de calentamiento más tardío de la conserva, lo cual se opera como sigue: La lata es llevada a un autoclave vertical, de funcionamiento discontinuo, los otros extremos de los termopares se conectan al termoregistrador a través de conductores, un cuarto termopar es colocado en el interior del autoclave, proveniente del termoregistrador, a fin de comprobar el buen funcionamiento del termómetro exterior aco

plado a la retorta, luego se procede a cerrar el autoclave, a continuación se abre la llave de ingreso de vapor al autoclave a un tiempo cero (0), luego el termorregistrador registra cada minuto las variaciones de temperaturas de la retorta y de los puntos en estudio.

Alcanzada la temperatura de trabajo del autoclave, se cierra la entrada de vapor, tratando en lo posible de mantener la temperatura y presión constante.

Cuando se observa que la marcha de la temperatura en el punto de calentamiento más tardío se hace constante, se pone en marcha el enfriamiento hasta alcanzar la temperatura de 35 °C ó 95 °F, en el alimento.

d. Cálculo del tiempo de tratamiento térmico.-

Una vez que se conoce el punto de calentamiento más tardío (p.m.f.), se determina la marcha de la temperatura en ese punto, para lo cual se hacen tres determinaciones.

Los datos correspondientes a cada determinación, sirven para confeccionar tablas de tres columnas, donde a) En la primera columna se anota los valores de tiempo en minutos, b) En la segunda se

pone los datos de la temperatura en °C en el punto de referencia, y c) Se ubican los mismos datos de la temperatura en grados F.

Además se confecciona otra tabla en la cual se anotan los datos de la temperatura de la retorta en °C y °F, así como el tiempo en minutos.

Para determinar el tiempo de tratamiento térmico, se aplican los métodos matemáticos de Ball y Stumbo, basados en la fórmula siguiente:

$$B = fh \log \left(\frac{j_{ch} \cdot I_h}{g} \right)$$

Los cálculos se desarrollan considerando al Clostridium botulinum tipo A como mínimo estándar para el procesamiento de alimentos enlatados de baja acidez (ph mayor de 4.5), se consideró valor de Z = 18.

E.- Métodos analíticos de control.-

1.- Análisis físico organoléptico.-

a. Materia prima:

Se determinó la longitud y peso del Gualo antes de sacrificarlos, posteriormente se evaluó organolépticamente la carne para determinar su calidad.

b. Producto final:

Para el análisis físico-organoléptico de las conservas, se siguió las recomendaciones dadas por ITINTEC, que son las siguientes:

1) Control de hermeticidad.-

Se realizó usando un inflador, un manómetro y un punzón; con el punzón se perfora una lata vacía previamente sellada, se la llena de aire con un inflador hasta presión de 18 lib/pulg.² manométrica, luego se sumergió la lata en una cuba con agua para comprobar si existía fugas por fallas durante la operación del sellado. La hermeticidad se comprobó por la no presencia de burbujas.

2) Medición de vacío.-

Para medir el vacío se usó un vacuómetro, que lleva acoplado un punzón hueco en la parte inferior, que se inserta en la parte superior de la lata.

3) Control de cierre.-

Se usó un micrómetro y un medidor de profundidad, para realizar mediciones de altura, traslape, espesor y profundidad del sellado, cada determinación se hizo por triplicado.

4) Control de corrosión.-

Previo almacenaje de la conserva de carne de Gualo en pasta de tomate, enlatadas en latas tipo tuna, se procedió con el control de corrosión con la finalidad de verificar el ataque de ácidos de la solución de cubierta a dicho envase.

Este control se realizó con método del sulfato de cobre, cuyo procedimiento se describe en el Anexo. Este estudio se hace en las instalaciones de control de calidad de la Cervecería San Juan - Pucallpa.

5) Determinación del ph.-

El Ph se determina con un potenciómetro Sargent Welch que tiene un rango de medida entre 1 y 13, dicho aparato se calibró previamente con una solución Buffer, antes de su uso.

2.- Análisis químicos.-

Los análisis químicos que se usaron, ya sea para la materia prima como para el producto final, se detallan a continuación.

a. Composición química proximal de la materia prima:

1) Humedad.-

Para determinar la humedad, se utilizó -

el método gravimétrico de la estufa, indicado por Pearson, (31).

2) Proteína.-

Se determinó proteína total por el método Macro Kjeldahl, y se usó el factor 6.25, según FAO (10).

3) Grasa total.-

Se determinó grasa total usando el método de soxhlet, descrito por Villavorta (39).

4) Cenizas.-

Se determinó por calcinación en una mufla a 550 °C, método recomendado por Lees (22).

5) Carbohidratos.-

Se determinó por diferencia de peso, respecto a las anteriores determinaciones, según Pearson (31).

b. Producto final.-

La composición química proximal del producto procesado, se realiza a los 60 días de almacenamiento; previamente se homogeniza el contenido de la conserva en un mortero, luego se hace el análisis mencionado siguiendo la misma metodología que la empleada para el caso de la materia prima.

3.- Análisis Microbiológico.-

Con fines de establecer la efectividad del tratamiento térmico empleado en el producto, se realizó -- los análisis microbiológicos a los 60 días de almacenamiento.

a. Determinación llevadas a cabo:

- 1) Control de esterilidad.
- 2) Numeración de esporas viables.
- 3) Numeración de esporas Clostridium sulfito reductor.
- 4) Numeración de Staphylococcus aureus.

b. Medios de cultivo:

- Caldo cerebro corazón + 0.1 % almidón.
- Caldo cerebro corazón + cisteína.
- Agar casoy.
- Agar brewer para anaerobios.
- Agar sulfito de fierro.
- Agar baird parker.

c. Procedimiento:

1) Muestreo y examen externo preliminar.-

Se tomaron las muestras al azar, realizándose la inspección en forma visual de las latas para detectar la presencia de defectos mecánicos, como abolladuras y otras anomalías.

dades que pueden ser útiles en los hallazgos bacteriológicos.

2) Pre-Incubación de las conservas.-

Las latas tomadas al azar fueron lavadas cuidadosamente en una solución de detergente. Después de secarlos son dispuestos sobre hojas de papel filtro en ambos extremos, para detectar durante el período de incubación cualquier pérdida del contenido de la lata a través de la sutura.

Considerando su Ph. mayor de 4.5 se incubaron:

- 3 latas a 35 °C por 21 días.
- 3 latas a 55 °C por 10 días.

En esta prueba, las latas fueron agitadas cada dos días é invertidas respecto a su posición.

3) Control de esterilidad.-

Apertura de las latas:

Una vez concluídas la pre-incubación, las latas se desinfectaron con alcohol al 70 %, - dejándose un poco en la superficie de las tapas por espacio de 10 minutos, luego flamearlas. Posteriormente se abrieron con un abre-

latas esterilizado; se tomaron una muestra para la medida del Ph, cubriendo luego la lata con una placa estéril para prevenir la contaminación. Asimismo la apertura se realizó en presencia de dos mecheros de gas, para evitar contaminación con las bacterias del medio ambiente.

Modo de Operación:

Se homogenizó el contenido de la lata -- preincubada, y se toma 5 ml. de muestra a tubos de prueba que contiene caldo, cerebro, corazón más 0.1 % de almidón para detectar microorganismos aerobios y caldo cerebro corazón más aerobios y caldo cerebro, corazón más cisteína para detectar microorganismos anaerobios, adicionándoles parafina para el desarrollo de las bacterias anaerobias estrictas; -- luego los tubos se llevaron a incubación a temperatura de preincubación, o sea a 35 y 55 °C durante 48 horas. Al finalizar la incubación se examinaron los tubos y se realiza la coloración de "gram", observándose al microscopio, luego las muestras de dichos tubos se siembran en agar casoy para bacterias aero -

bias y agar brewer para anaerobios estrictos, con la finalidad de descartar la posibilidad de crecimiento.

4) Numeración de esporas viables.-

Se realizó el análisis siguiendo la metodología recomendada por Garrido (13) del CLEIBA (Centro Latinoamericano de Enseñanza e investigación de Bacteriología Alimentaria), se usó Agar Casoy y Agar Brewer.

5) Numeración de esporas Clostridium, sulfito reductores.-

Se realizó el análisis siguiendo las recomendaciones de Mossel y Quevedo (27), usando agar sulfito de fierro.

6) Numeración de Staphylococcus aureos.-

Se realizó el análisis siguiendo las recomendaciones de Garrido (13) del CLEIBA, usando para ello agar Baird Parker.

4.- Control Estadístico.-

a. Prueba preferencial del producto terminado:

En esta prueba se trató de averiguar la diferencia entre las concentraciones del líquido de gobierno, es decir cuál de ellos presentaba los mejores atributos; para ello se proporcionó a ca-

da panelista (no entrenado), las diversas muestras, teniendo en cuenta las características organolépticas; la misma que se sintetiza en el Cuadro N° 8, - recomendado por Halgard (16) y Lyss (24).

b. Prueba de aceptabilidad final.-

Tratándose de productos nuevos, se trató de a veriguar su aceptabilidad por el consumidor. Se conformó un panel de degustación. Integrado por personas no especializadas, a los cuales se les dió una ligera explicación sobre las características de cada tratamiento.

Para evaluar la aceptabilidad de la conserva, se utilizó el método de valor numérico (Scorning) modificado, descrito por LARMOND (21), la cual se dá puntuación ó valor numérico a cada una de las características como: Aspecto, gusto y textura. La puntuación se dá en las siguientes escalas, cuyo valor mínimo es 2 y la máxima corresponde a 7.

Mediocre	=	2 puntos.
Regular	=	4 puntos.
Bueno	=	5 puntos.
Muy bueno	=	6 puntos.
Excelente	=	7 puntos.

Luego el análisis estadístico se realizó aplicando el análisis de variancia y la prueba de significación de Duncan. Esta evaluación se hizo en los estudios del músculo del Gualo y la solución de cubierta del producto.

CUADRO N° 8.- Tabla de calificación usada por los panelistas en el análisis organoléptico.

TRATAMIENTOS	M U S C U L O			LIQUIDO DE GOBIERNO		OBSERVACIONES	PREFERENCIA TOTAL
	Aspecto	Gusto	Textura	Aspecto	Gusto		
S1							
T1							
T2							
T3							

A.- Músculo

1. Aspecto:

2. Oscuro veteadado.
4. Oscuro menos ve
teado.
5. Ligeramente os-
curo irregular.
6. Claro uniforme.
7. Claro muy unifor
me.

2. Gusto:

2. Desagradable.
4. Aceptable.
5. Agradable.
6. Muy aceptable.
7. Muy agradable.

3. Textura:

2. Muy fibroso.
4. Fibroso.
5. Aceptable.
6. Suculento.
7. Muy sucu -
lento.

B.- Líquido de gobierno

1. Aspecto:

2. Muy desa
gradable.
4. Desagra-
dable.
5. Aceptable
6. Atractivo.
7. Muy atrac-
tivo.

2. Gusto

2. Muy desagra
dable.
4. Desagrada -
ble.
5. Aceptable.
6. Muy acepta-
ble.
7. Muy agrada-
ble.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

A.- De la materia prima.-

Los especímenes capturados de los lugares indicados en el capítulo de Materiales y Métodos, así como los provenientes del estanque bioterio, fueron sacrificados y eviscerados para luego separar las ancas y brazuelos.

Cuando no se produce el sangrío al momento del sacrificio, la carne después del enlatado toma un aspecto desagradable al aparecer fibras de color negro que contrasta con la carne blanca, las fibras son las arterias y venas en las cuales ha quedado sangre, en consecuencia es importante hacer el sangrío inmediatamente después de sacrificar al animal.

B.- Métodos y procedimientos.-

1.- Ensayos de biocultivo:

a. Construcción del estanque e incorporación de Gualos.-

En el estanque bioterio de la Granja Zootécnica de la UNAS., se los ha criado en cautiverio, y según los datos que aparecen en el Cuadro N° 9, se puede afirmar que los Gualos se adaptan en dicho estanque.

Siendo la cantidad de ejemplares en estudio de nueve (9) y el área de 9 m^2 , en consecuencia la densidad del bioterio fue de 1 m^2 por animal.

Antes de incorporar los Gualos al estanque se trató de crear un microclima apropiado, al sembrar en el margen del estanque plantas hornamentales como la pituca (Colocasia esculenta), y en el agua se incorporó plantas acuáticas como la lenteja de agua (Lemna minor), jacintos de agua (Eichornia crassipes) y elodea (Elodea potamogeton).

b. Captura del espécimen y su manipulación.-

Con respecto a la captura y su manipuleo, la red de cuchara empleada demostró ser un método de caza eficiente, ya que no maltrata al animal y permite además restituir a su habitat natural a los animales que no están aptos para el sacrificio.

c. Análisis del contenido estomacal.-

Para realizar el análisis del contenido estomacal, los especímenes se les sacrificó y evisceró, luego se practicó un corte a la altura del estómago y el intestino delgado, para poder reconocer la dieta alimenticia. El resultado de las observaciones al esteroscopio y microscopio fueron:

- Gran cantidad de pequeños gasterópodos del género Biomphalaria intermedia y Physa.
- Coleópteros: Orden coleóptera.
- Peces pequeños como el Guppys (Lebiste reticulata).

ta).

- Ninfas y pupas.
- Gramíneas.
- En el intestino delgado se encontró gran cantidad de protozoarios.

d. Alimentación natural.-

Con el resultado del análisis del contenido estomacal, se optó por alimentarlos con peces pequeños (Lebistereticulata), por existir en gran cantidad en la zona. Estos peces pequeños se alimentan de larvas de zancudos (Culicidae), que proliferan en ausencia de las mismas.

e. Muestreos y controles.-

Los resultados del Cuadro N° 9 nos muestran los pesos de cada uno de los animales, a su vez se observa que los animales menores de 143 gramos a 215 gramos de peso, son los que reportaron mayor porcentaje de incremento en cuanto al peso, con un incremento de 5.21 a 10.27 y el poco incremento de los tres primeros animales, se debe a que son animales adultos y ya alcanzaron su peso estándar.

CUADRO N° 9.- Resultado de los pesos del control periódico del Gualo (Leptodactylus pentadactylus).

SEÑA DE RECONOCIMIENTO	FECHA Y PESOS DE CONTROL EN grs.					
	20.12.81.	20.01.82.	20.02.82.	20.03.82.	20.04.82.	% DE INCREMENTO
Macho grande	405.5	408	410	415	415	2.35
Macho mediano	287	287	290	294	298	3.80
Hembra adulta	266	268	270	273	278	4.50
Moteado oscuro	215	218	222	228	234	8.83
Hembra con manchas naranjas	185	188	195	200	204	10.27
Hembra grande	230	231	235	238	242	5.21
Hembra con manchas blancas nítidas ambas piernas	140	140	143	147	150	7.14
Moteado claro	143	143	146	148	152	6.29
Hembra moteado claro	145	145	148	152	156	7.58

2.- Del estudio toxicológico:

a. Toxicidad aguda.-

Al terminar la etapa experimental, se obtuvieron resultados negativos de muerte respecto a la dosis letal media (DL_{50}), observándose que dichos animales presentaban las mismas características -- que los animales testigo. En el Cuadro N° 10 se presenta los resultados del análisis macroscópico-- realizándose en los principales órganos: Pulmón, hígado, corazón, riñón y bazo, no observándose alteraciones en los órganos analizados.

Esta prueba sin muerte alguna en los animales de experimentación, nos indica que no existe toxinas en la materia prima; porque se sabe que la toxina de anfibios es soluble en los disolventes empleados, recomendados por Hárison (17) y Vellard (40), a la vez que son estables a las condiciones analíticas empleadas, asimismo en los órganos analizados por intoxicación, debe presentar puntillos hemorrágicos, lo que nos confirma que no existe toxinas en la materia prima.

b. Toxicidad sub-aguda.-

Al terminar la etapa experimental, basada en el Cuadro N° 5, indicado en Materiales y Métodos,-

CUADRO N° 10.- Evaluación toxicológica de órganos de ratones alimentados con posibles toxinas liberadas de la carne, piel, parte dorsal, cabeza y producto procesado del Gualo (Leptodactylus pentadactylus).

ORGANO	TESTIGO			Serie B1			Serie B2			Serie B3		
	Co.	Ap.	Ph.	Co.	Ap.	Ph.	Co.	Ap.	Ph.	Co.	Ap.	Ph.
Hígado	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0
Corazón	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0
Pulmones	1	3	0	1	3	0	1	3	0	1	3	0
Riñones	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0
Bazo	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0

Leyenda: Co. = Color-puntuación.

1 = Pulmón-blanco rosado característico.

2 = Hígado-rojo oscuro natural.

2 = Riñón-rojo oscuro natural.

2 = Corazón-rojo oscuro natural.

2 = Bazo-rojo oscuro natural.

Ap. = Apariencia-puntuación.

1 = Malo.

2 = Regular.

3 = Bueno.

Ph. = Puntillos hemorrágicos.

E = Existe.

0 = No existe.

en la que se proporciona alimentos a gatos durante 15 días, administrándole dosis de posibles toxinas con intervalos de 2 días; la misma que no reportó resultados de toxicidad. Por lo que se puede afirmar que no existe toxicidad sub-aguda en la carne de Gualo.

CUADRO N° 11.- Resultado de la separación de glucósidos cardiacos por medio de la cromatografía de capa fina.

MUESTRAS	REVELADOR	CALENTAMIENTO		COLORACION STANDART	COLORACION ESPERADO
		80 °C	110 °C		
Placa N° 1,24 muestras punteadas (para glucósidos)	N° 1, Aldehído anísico-ácido perclórico.	*		Rojo	Negativo
Placa N° 2,24 muestras punteadas (para glucósidos)	N° 2, Cloramina ácido tricloro acético.		*	Rojo, lige ramente - claro.	Negativo
Placa N° 3,24 muestras punteadas (para Alcaloides).	N° 3, Reactivo de Dragendorff Munier.	No se calienta.		Anaranjado	Negativo

c. Prueba química-toxicológica por cromatografía.-

Finalmente la etapa experimental basada en la Figura N° 3, indicado en Materiales y Métodos de las 24 muestras liberadas y punteadas en las placas cromatográficas, comparados con 14 estándares de glucósidos cardiotónicos que se muestra en la figura N° 13 del Anexo, donde se muestra y detalla las principales formas y colores de estos glucósidos. Se obtuvieron resultados negativos en las tres pruebas de revelados y observaciones a luz ultravioleta y visible, tal como se observa en el Cuadro N° 11, lo que nos demuestra que la carne de gualo no tiene glucósidos cardiacos.

3.- Del procesamiento:

a. Diagrama de procesamiento definitivo y el balance de materia.-

En la Figura N° 7 se dá el flujo óptimo para el enlatado de la carne de Gualo en pasta de tomate, con sus respectivos parámetros en cada operación; a su vez en la Figura N° 8 se muestra el balance de materia referente al procesamiento final de la conserva de carne de Gualo en pasta de tomate, a partir de 100 Kg. de carne, produciéndose un rendimiento final de 40.7 % que corresponde a-

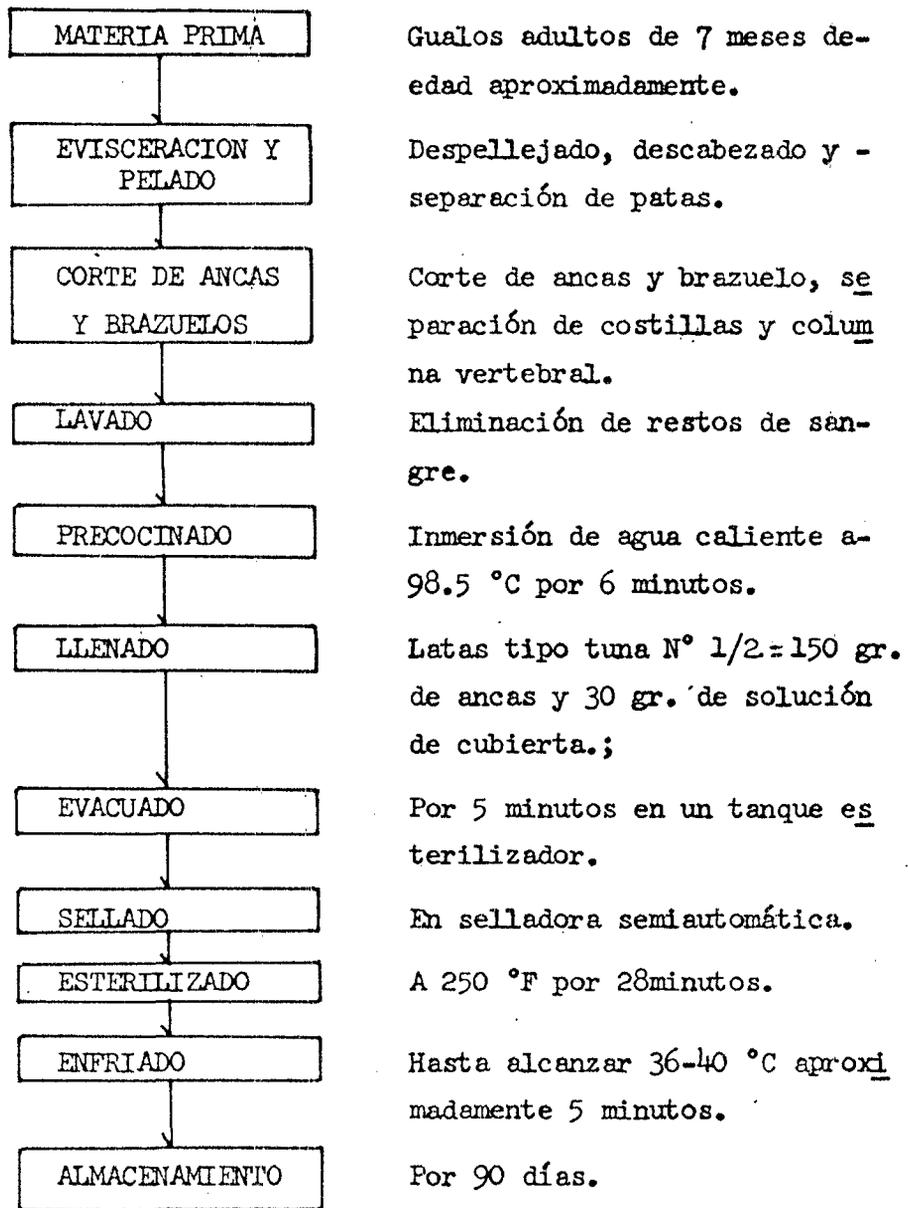


FIGURA N° 7.- Diagrama de procesamiento para el enlatado de carne de gualo en pasta de tomate.

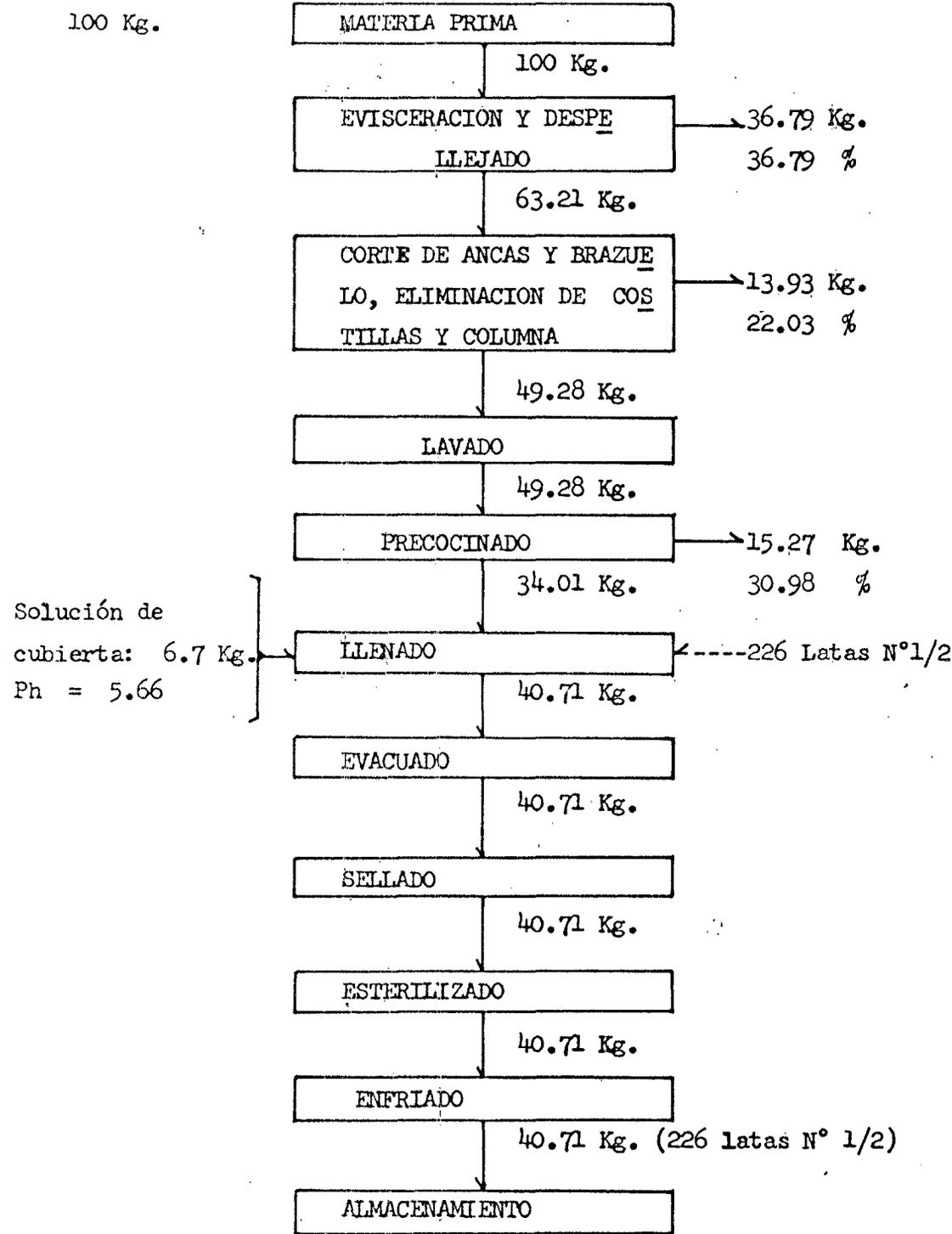


FIGURA N° 8.- Diagrama de balance de materia en el procesamiento de la carne de Gualo en pasta de tomate (base de 100 Kg.).

226 latas N° 1/2 que se considera buena por que - solamente se procesa las ancas y brazuelos.

1) Eviscerado y despellejado:

A esta operación entra 100 Kg. de materia prima, teniéndose una pérdida de 36.79 Kg. que representa el 36.79 %, ésta pérdida corresponde a la piel y las vísceras sustraídas por el corte que le realiza al sacrificar, y luego daría cortes adecuados para seleccionar las ancas y brazuelos.

2) Corte de ancas, brazuelos y eliminación de costillas y columna vertebral:

A esta operación entre 63.21 Kg. de materia prima, donde se tiene una pérdida de 13.93 Kg., lo que representa un porcentaje del 22.02 %, ésta pérdida corresponde a las costillas y columna vertebral que se le extrae al seleccionar las ancas y brazuelos.

3) Pre-cocinado:

A esta operación ingresa 49.28 Kg. de materia prima, donde hay una pérdida de 15.27 Kg. que representa el 30.98 %, esta pérdida corresponde al líquido que se encuentra oculto en la materia fresca, la misma se detalla-

CUADRO N° 12.- Determinación del tiempo óptimo de precocción de carne de Gualo a T° = 98.5 °C.

Tiempo de Pre <u>co</u> cción (min.)	Apariencia del músculo	Pérdida de agua (%)	Resistencia de la carne
1	Crudo, rosa <u>a</u> do opaco.	Muy resistente
2	Sup. crema <u>o</u> paco, rosado en el centro.	7	Resistente.
3	Sup., crema claro, centro rosa.	14	Resistente
4	Sup. Blanco, centro rosa pálido.	20	Resistente
5	Super. blanco cocido el cen <u>tr</u> o.	26	Resistente
6	Sup. blanco co <u>cc</u> ido totalmente.	31	Resistente

CUADRO N° 13.- Parámetros de procesamiento de la prueba final para el enlatado de la carne de Gualo.

PROCESAMIENTO	TIEMPO Y TEMPERATURA DE PRECOCCION.	EVACUADO EN MINUTOS.	TIEMPO DE PROCESAMIENTO-ESTERILIZADO.	FORMULACION	
				LIQUIDO DE GOBIERNO.	ADITIVOS POR ENVASE (gr.)
Procesamiento Final.	0 = 6' T° = 98.5	0 = 5'	QB = 28.33" QS = 43 T° = 248 °F P = 23.8 lb/pulg ² QE = 10'	TP = Pasta de toma te. Final.	Agua..... = 12.00 Sal..... = 2.50 Paste de tomate. = 9.00 Vinagre..... = 6.00 G.M.S..... = 0.38 Pimienta..... = 0.12

Leyenda: QB = Tiempo de procesamiento por método de Ball.
 QS = Tiempo de procesamiento por método de Stumbo.
 QE = Tiempo de enfriamiento.

en el Cuadro N° 12.

4) Llenado.-

A esta operación ingresa 34.01 Kg. de materia prima y 6.7 Kg. de solución de cubierta, con un pH de 5.66, haciendo un total de 40.71 Kg. - de producto comestible. Como cada lata contiene 180 gr. de peso, se obtienen 226 latas de conserva. La concentración final de la solución de cubierta y parámetros finales, se explica en el Cuadro N° 13.

5) Evacuado, sellado, esterilizado, enfriado y almacenaje.-

En cada una de estas operaciones se tiene 40.71 Kg. de producto comestible, la misma que está envasado en 226 latas tipo tuna N° 1/2.

b. Determinación del punto de calentamiento más tardío (p.m.f.).-

En los Cuadros N° 14 y 15 se presentan los resultados de penetración de calor, correspondiente al autoclave y a la determinación del punto de calentamiento más tardío, para lo cual se ubican los termopares a tres niveles de la lata: 1/4, 1/2 y 3/4 de altura a partir de la base, con los datos obtenidos se confeccionó la figura N° 9, en ella se -

puede observar que el punto de calentamiento más-tardío se encuentra en el centro geométrico del - envase.

Con la ubicación de los tres termopares y los puntos, se confeccionó las líneas de la Figura N° 9, donde se observa que la transmisión de calor - fue mixta, o sea por convección y conducción. Es-te resultado nos indica que el punto de calenta - miento más tardío se encuentra ubicado en el cen-tro geométrico del envase.

c. Cálculo del tiempo de tratamiento térmico.-

En los Cuadros N° 16, 17 y 18, se presentan- los datos correspondientes a la penetración de ca- lor en el punto de calentamiento más tardío (cen- tro geométrico), con los datos en mención se con- feccionó las Figuras N° 10, 11 y 12, las mismas - que nos sirvió de base para calcular el tiempo de tratamiento térmico empleando los métodos matemá- ticos de Ball y Stumbo, basados en las fórmulas - siguientes:

$$O_B = fh \log \left(\frac{T_a - P_s T_b}{T_a - T} \right) \quad \text{Método de Ball)}$$

$$B = fh (\log J_{ch} \cdot I_h - \log g_c) \quad \text{(Método Stumbo).}$$

El tiempo promedio de tratamiento térmico - calculado aplicando el método matemático de Ball para envasado de carne de Gualo en latas N° 307-113; con un pH = 5.66, fue de 28.33 minutos, y de 43 minutos del método matemático de Stumbo. - Por todo ello se puede concluir que se necesita como tiempo mínimo de procesamiento el de Ball y un tiempo máximo el de Stumbo; cuyos valores promedios se resume en el Cuadro N° 22.

CUADRO N° 14.- Datos correspondientes al tiempo y temperatura de calentamiento del autoclave.

Tiempo (Minu.)	Temp. °C	Temp. °F
0	46	114.8
1	49	120.2
2	60	140.0
3	71	159.8
4	88	190.4
5	96	204.8
6	100	212.0
7	106	222.8
8	112	233.6
9	113	235.4
10	114	237.2
11	114	237.2
12	114	237.2
13	115	239.0
14	115	239.0
15	117	242.6
16	119	246.2
17	119	246.2
18	119	246.2
19	120	248.0
20	120	248.0
21	120	248.0
22	121	249.8
23	121	249.8
24	121	249.8
25	121	249.8
26	121	249.8
27	121	249.8
28	121	249.8
29	121	249.8
30	121	249.8

CUADRO N° 15.- Datos correspondientes al cálculo del punto de calentamiento más tardío, ubicados a: 1/4, - 1/2 y 3/4 de altura a partir de la base en lata tipo tuna N° 307 x 113).

Tiempo (Min.)	Temper. °F 1/4	Temp. °F 1/2	Temp. °F 3/4
0	104.0	109.4	105.8
1	105.8	113.0	111.2
2	113.0	114.8	113.0
3	127.4	129.2	122.0
4	147.2	156.2	143.6
5	165.2	177.8	161.6
6	186.8	195.8	185.0
7	215.6	210.2	199.4
8	219.2	221.0	212.0
9	222.8	226.4	221.0
10	228.2	230.0	228.2
11	230.0	233.6	230.0
12	230.0	235.4	230.0
13	233.6	235.4	231.8
14	235.4	237.2	235.4
15	237.2	239.0	237.2
16	240.8	240.8	239.0
17	240.8	240.8	239.0
18	240.8	240.8	239.0
19	240.8	248.0	239.0
20	240.8	248.0	239.0
21	242.6	248.0	240.8
22	246.2	248.0	240.8
23	246.2	248.0	240.8
24	248.0	248.0	246.2
25	248.0	248.0	246.2
26	248.0	249.8	248.0
27	248.0	249.8	248.0
28	248.0	249.8	248.0
29	248.0	246.2	246.2
30	248.0	246.2	246.2

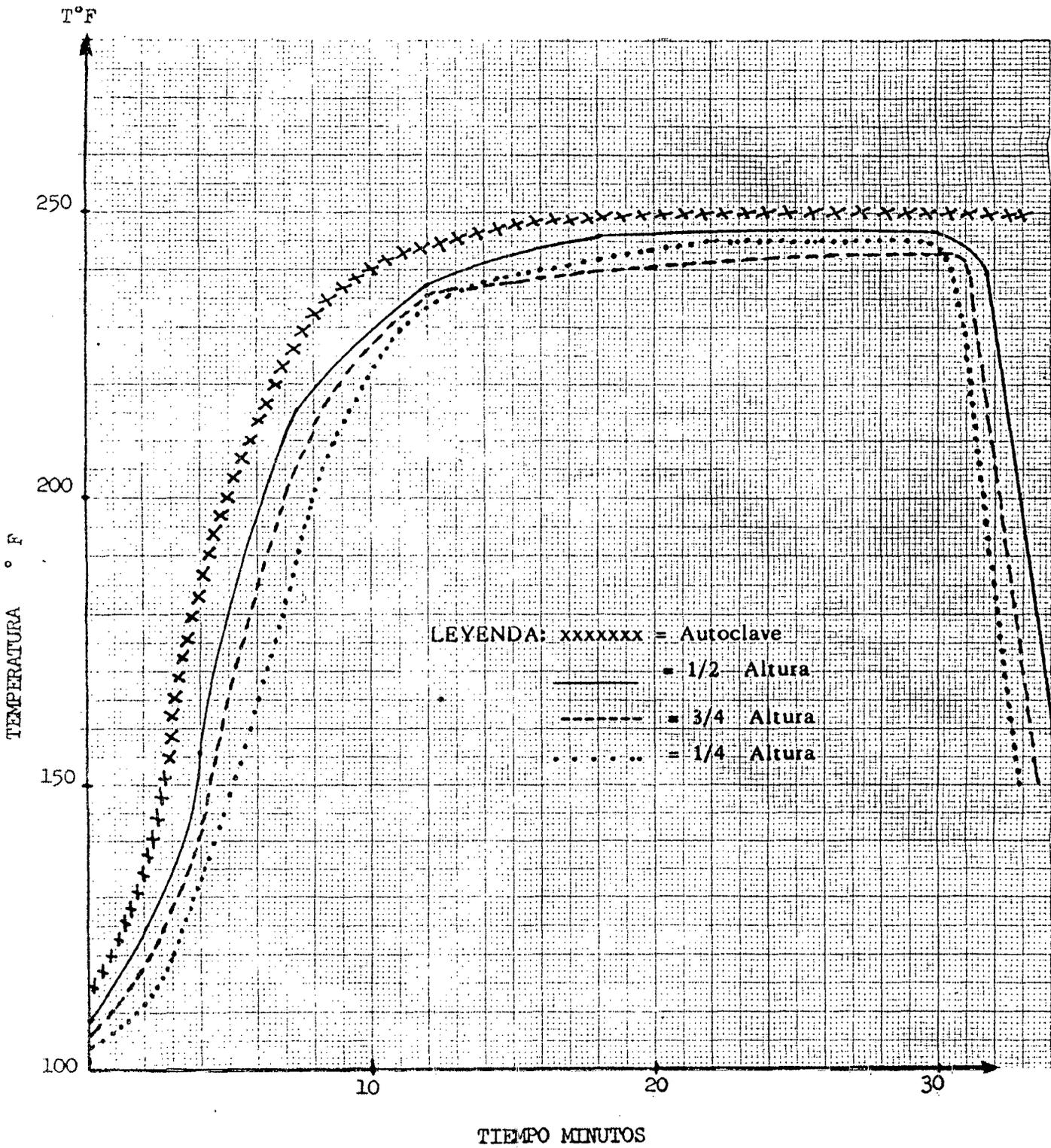


FIGURA N° 9.- Curva de Penetración de calor a 1/4, 1/2 y 3/4 de altura a partir de la base.

CUADRO N° 16.- Datos de penetración de calor obtenidos por el termoregistrador en el enlatado de carne de Gualo, en latas (N° 307x313). "Lata A", a 1/4 de altura a partir de la base (&).

Tiempo (Minu.)	Temper. °C	Temp. °F
0	40	104.0
1	41	105.8
2	45	113.0
3	53	127.7
4	64	147.2
5	74	165.2
6	86	186.8
7	102	215.6
8	104	219.2
9	106	222.8
10	109	228.2
11	110	230.0
12	110	230.0
13	112	233.6
14	113	235.4
15	114	237.2
16	116	240.8
17	116	240.8
18	116	240.8
19	116	240.8
20	116	240.8
21	117	242.6
22	119	246.2
23	119	246.2
24	120	248.0
25	120	248.0
26	120	248.0
27	120	248.0
28	120	248.0
29	120	248.0
30	120	248.0

(&) Temperatura del producto en el punto de calentamiento más tardío (p.m.f.).

CUADRO N° 17.- Datos de penetración de calor obtenidos por el termoregistrador en el enlatado de carne de Gualo, en latas (N° 307x113). "Lata B", a 1/2 de altura a partir de la base (&).

Tiempo (Minu.)	Temp. °C.	Temp. °F
0	43	109.4
1	45	113.0
2	46	114.8
3	54	129.2
4	69	156.2
5	81	177.8
6	91	195.8
7	99	210.2
8	105	221.0
9	108	226.4
10	110	230.0
11	112	233.6
12	113	235.4
13	113	235.4
14	114	237.2
15	115	239.0
16	116	240.8
17	116	240.8
18	116	240.8
19	119	246.2
20	119	246.2
21	119	246.2
22	120	248.0
23	120	248.0
24	120	248.0
25	120	248.0
26	120	248.0
27	120	248.0
28	121	248.0
29	119	248.0
30	119	246.2

(&) Temperatura del producto en el punto de calentamiento más tardío (p.m.f.).

CUADRO N° 18.- Datos de penetración de calor obtenidos por el termorregistrador en el enlatado de carne de Gualo, en latas (N° 307 x 113) "Lata C", a 3/4 de altura, a partir de la base (&).

Tiempo (minu.)	Tempera. °C	Temper. °F
0	41	105.8
1	44	111.2
2	45	113.0
3	50	122.0
4	62	143.6
5	72	161.6
6	85	185.0
7	93	199.4
8	100	212.0
9	105	221.0
10	109	228.2
11	110	230.0
12	110	230.0
13	111	231.8
14	113	235.4
15	114	237.2
16	115	239.0
17	115	239.0
18	115	239.0
19	115	239.0
20	115	239.0
21	116	240.8
22	116	240.8
23	116	240.8
24	119	246.2
25	119	246.2
26	120	248.0
27	120	248.0
28	120	248.0
29	120	248.0
30	120	248.0

(&) Temperatura del producto en el punto de calentamiento más-tardío (p.m.f.).

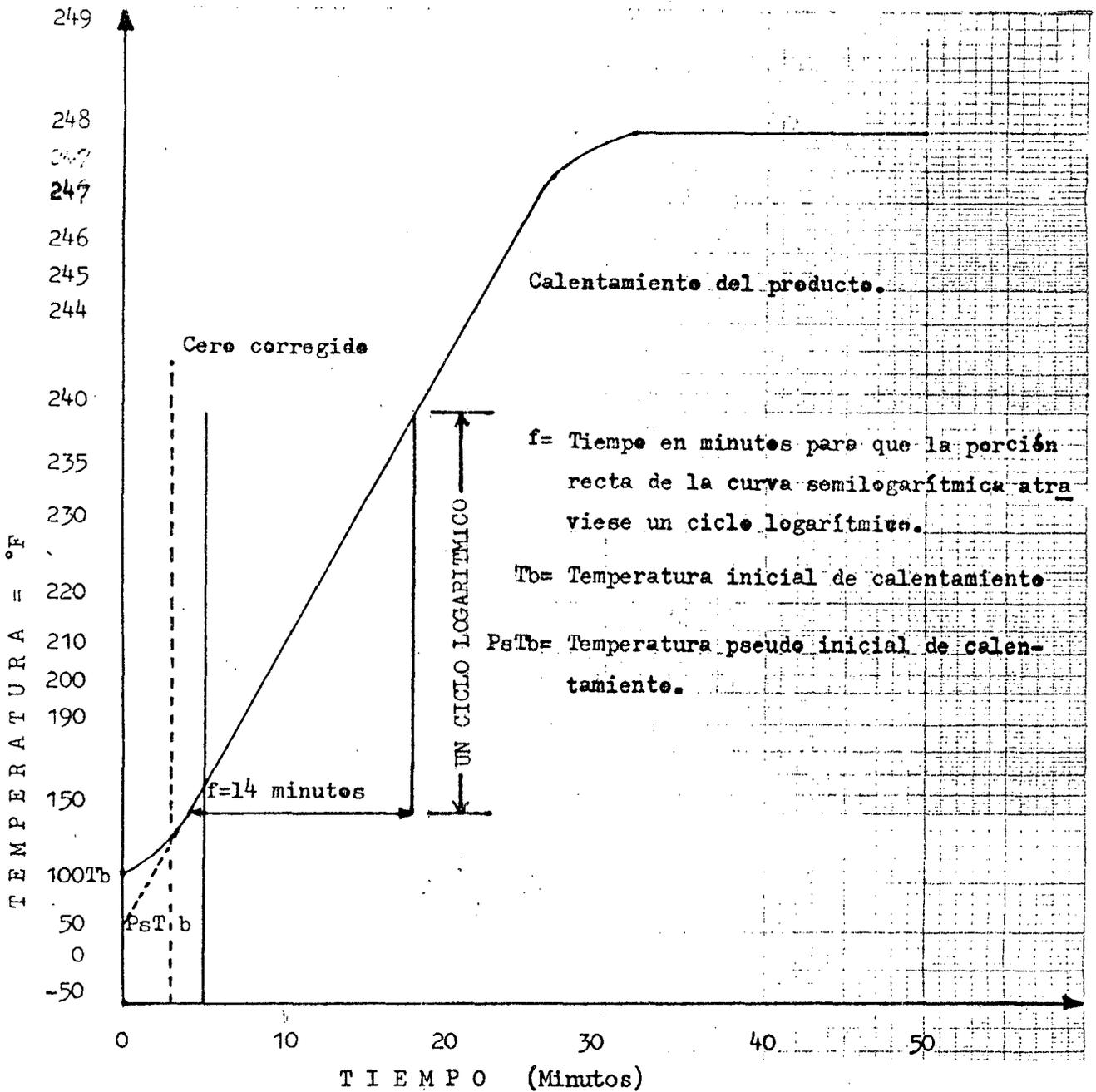


FIGURA N° 10.- Curva de penetración de calor a la carne de Gualo. Lata A (1/4 de altura a partir de la base).

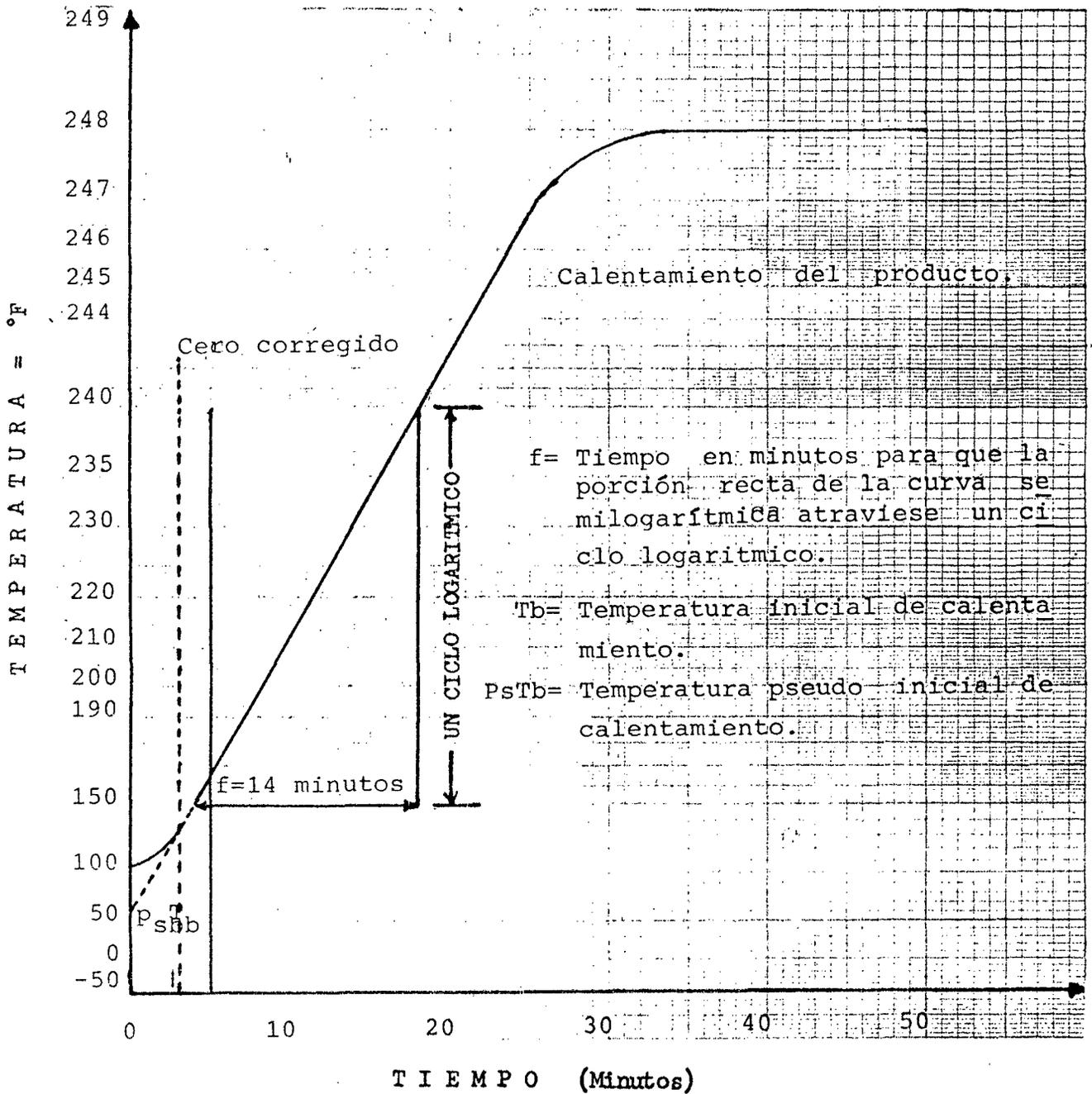


FIGURA N° 11.- Curva de penetración de calor a la carne de Gualo Lata B (1/2 de altura a partir de la base).

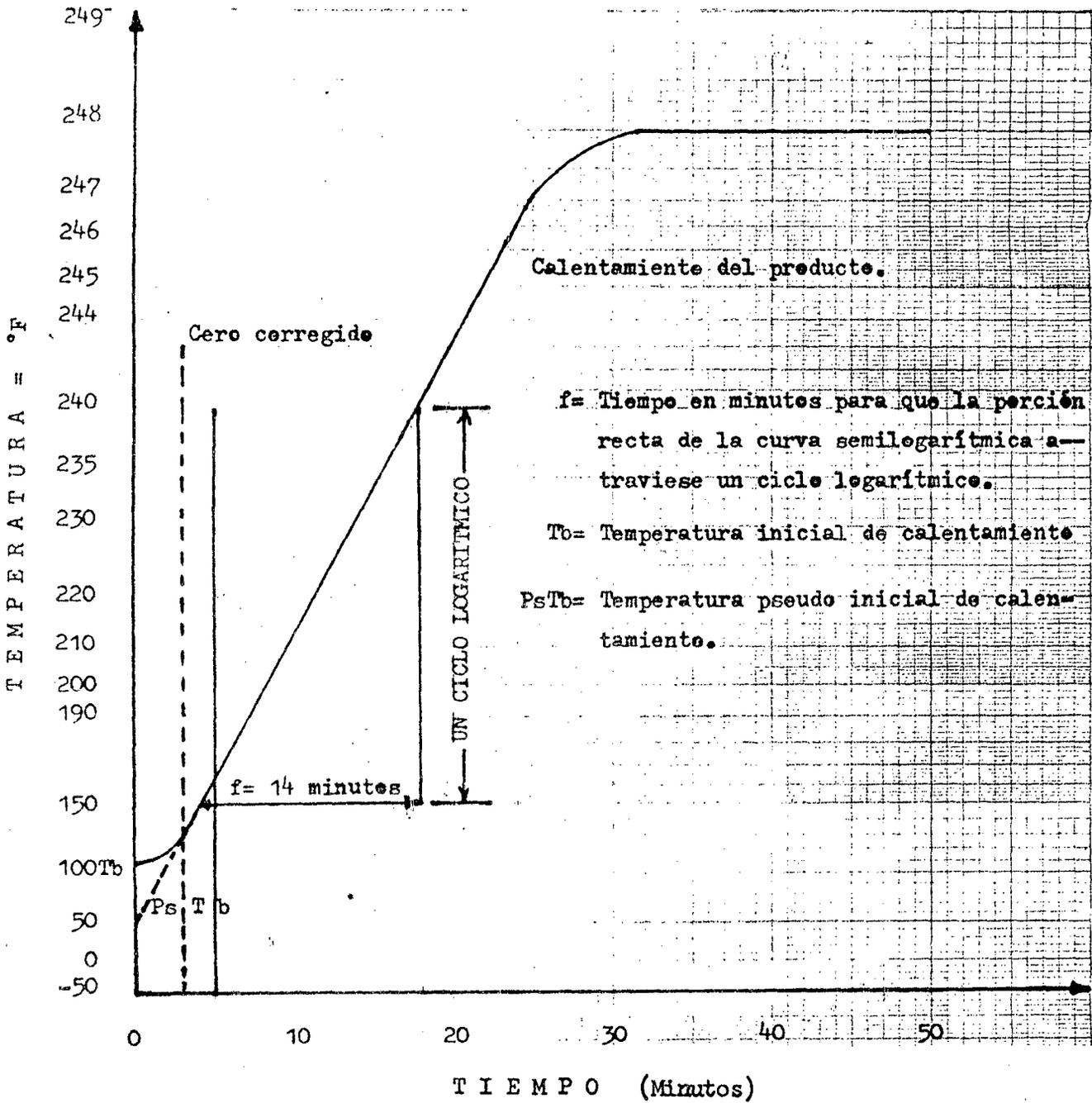


FIGURA N° 12.- Curva de penetración de calor a la carne de Gualo Lata C (3/4 de altura a partir de la base).

CUADRO N° 19.- Cálculo del tiempo de tratamiento térmico para la carne de Gualo en latas N° 307 x 113; por el método matemático de Ball, "Lata A", a 1/4 de altura a partir de la base.

$O_B = fh \log \left(\frac{T_a - P_s T_b}{T_a - T} \right)$	Determinación de B
Z	18 °F
fh	14 min.
T_b	104 °F
$P_s T_b$	50 °F
T_a	250 °F
CUT	5 min.
Cero corregido (CUT x 0.60)	3 min.
Fc	20.95
m + g =	180°
$J_{ch} = \frac{T_a - P_s T_b}{T_a - T_b}$	1.36
$O_B = fh \log \left(\frac{T_a - P_s T_b}{T_a - T} \right)$	28 min.
$O_B + 3$	31 min.

CUADRO N° 20.- Cálculo del tiempo de tratamiento térmico para carne de Gualo en latas N° 307 x 113; por el método matemático de Stumbo (Lata B), a "1/2" de altura a partir de la base.

$$B = fh (\log J_{ch} \cdot I_h - \log g_c)$$

$$Z = 18 \text{ } ^\circ\text{F}$$

$$fh = 14 \text{ min.}$$

$$T_b = 109.4 \text{ } ^\circ\text{F}$$

$$T = 246.2 \text{ } ^\circ\text{F}$$

$$P_s T_b = 50 \text{ } ^\circ\text{F}$$

$$T_a = 250 \text{ } ^\circ\text{F}$$

Determinación del volumen:

Del Cuadro N° 32 del Anexo, para lata N° 1/2 tipo tuna.

$$V = 208 \text{ cm}^3$$

Determinación de la cantidad de esporas:

Considerando 10 esporas de *C. Botulinum* por cm^3 , según Stumbo (38), se tiene:

$$a = 2080 \text{ esporas por lata.}$$

Determinación de D_r :

De la Fig. N° 14 del Anexo, con temperatura en $^\circ\text{F}$.

$$D_r = 4.8$$

Determinación de b :

$$b = 1/6 \times 10^{-9} \text{ esporas, de acuerdo a Stumbo (38).}$$

Cálculo de F_c :

$$F_c = F_s = D_r (\log a - \log b) = 62.86$$

Cálculo de F_i :

$$F_i = \log^{-1} \times \frac{250 - T_s}{z} = 1$$

Cálculo de U_c :

$$U_c = F_c \times F_i = 62.86$$

Cálculo de fh/U_c :

$$fh/U_c = 0.22$$

Cálculo de J_{ch} :

$$J_{ch} = T_a - P_s T_b / T_a - T_b = 1.42$$

Determinación de g_i :

De la Fig. N° 15 del anexo, con valores de z y fh/U_c , se tiene

$$g_i = 0.1$$

Cálculo de I_h :

$$I_h = T_a - T_b = 140.6 \text{ } ^\circ\text{F}$$

Cálculo de $J_{ch} \cdot I_h$

$$J_{ch} \cdot I_h = 199.65$$

Aplicando la fórmula inicial de Stumbo:

$$B = fh (\log J_{ch} \cdot I_h - \log g_c) = 46 \text{ minutos.}$$

Menos 3 minutos en que demora en calentarse el autoclave, por lo tanto $B = 43$ minutos.

CUADRO N° 21.- Parámetros de esterilización comercial para la carne de Gualo, procesada en latas N° 307-113 , por los métodos matemáticos de Ball y Stumbo.

Lata N° 307-113	F	Z	Temperatura del autoclave	Tiempo de Pro- cesamiento S- tumbo (&).	Tiempo Procesa- miento Ball - (&).
"A"	14	18	250 °F	43.00	31
"B"	14	18	250 °F	43.00	27
"C"	14	18	250 °F	43.00	27
PROMEDIO	14	18	250 °F	43.00	28.33

& El tiempo se dá en minutos.

d. Rendimiento de la materia prima.-

El Cuadro N° 22 muestra los resultados del rendimiento del Gualo, en lo que se observa un rendimiento promedio de carcasa de 49.26 % del peso referido al animal en vida o fresco. En el Cuadro N° 23 se describe el balance de materia en base de 100 Kg., donde se nota que el rendimiento hasta el lavado es de 49.28 Kg.; luego entra al precocado, donde pierde 15.27 Kg., quedando en el proceso la cantidad de 34.01 Kg., por lo tanto el rendimiento del producto en mención es de 34 %.

En ambos cuadros se observa que el mayor % de pérdidas es en el eviscerado y despellejado, con un porcentaje de 36.79 %, seguido por la eliminación de costillas y columna vertebral. Otra pérdida importante sucede en el momento de realizar la precocción con un 15.27 %. Estos resultados obtenidos nos indican un aprovechamiento aceptable para la elaboración de productos enlatados con ancas y brazuelos del Gualo.

CUADRO N° 22.- Resultado del rendimiento del Gualo (Leptodactylus pentadactylus).

Identificación	PARAMETROS DE MEDIDA (peso en gramos).						
	Peso total en vida	Peso de la cabeza y patas	Peso de la piel	Peso de las vísceras	Peso de costillas y columna	Peso neto de la carcasa	% de la carcasa del peso total
A	325	35	30	45	40	175	53.84
B	205	25	20	35	30	95	46.34
C	165	18	10	30	26	81	49.09
D	220	27	20	40	30	103	46.81
E	240	30	22	38	35	115	47.91
Promedio total	331	27	20.4	37.6	32.2	113.8	49.26

CUADRO N° 23.- Balance de materia en base a 100 Kg. de materia prima (peso promedio de 5 Gualos -
elevado a 100 Kg.).

Operación	Kg. Materia que ingresa al pro- ceso.	Kg. materia que se pierde.	Kg. materia que sigue en proce- so.	Rendimiento
. Materia prima	100	100	100
. Evisceración y despellejado.	100	36.79	63.21	63.21
. Corte de ancas, bra- zuelo y eliminación de costillas y co- lumna.	63.21	13.93	49.28	49.28
. Lavado	49.28	49.28	49.28
. Precocinado	49.28	15.27	34.01	34.01
. Llenado	34.01	34.01	34.01

C.- De los métodos analíticos de control.-

1.- Del análisis físico-organoléptico del Gualo.

a. Materia Prima:

En el Cuadro N° 24, se presentan los resultados correspondientes a la evaluación física-organoléptica, siendo la carne de color rosado opaco, - muy parecido a la del pollo y un peso promedio de 330 gramos.

CUADRO N° 24.- Características físico-organolépticas del Gualo (Leptodactylus pentadactylus) (&).

ASPECTO DEL ANIMAL	CARACTERISTICAS
Color externo	Moteado, anaranjado, negro, verde, etc.
Longitud total	30 cm.
Longitud sin extremidades	18.5 cms.
Peso promedio total en vida	331 gr.
Ojos	Prominente y brillante.
Carne	Color rosado opaco, firme, y no conserva impresión al dedo.

(&) Promedio de 5 Gualos.

b. Producto terminado.-

Para ello se sigue las recomendaciones dadas por el ITINTEC, que son las siguientes:

1) Control de hermeticidad:

Para realizar este estudio se tomó 5 latas previamente selladas, luego se puso en práctica lo descrito en materiales y Métodos; cuyo resultado fue la no presencia de burbujas, lo que nos indica que el sellado fue herético.

2) Medición de vacío:

En el Cuadro N° 25 se detalla los resultados del vacío, donde tenemos un valor promedio de 12.73 pulg. de mercurio (Hg); lo que nos indica que el vacío está dentro de lo permisible en las normas técnicas.

3) Control de cierre:

En el Cuadro N° 26, se da los resultados en cuanto al cierre, cuyos valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos normales de variación, así la altura promedio fue de 0.117 pulg. contra 0.115" - 0.120", establecido por la norma de la Continental Can Company (ver Cuadro N° 31 del Anexo), igualmente la

profundidad 0,125", espesor 0.47" y traslape de 0.053 se encuentran dentro de los rangos permisibles.

4) Control de corrosión:

En el Cuadro N° 25, se da el resultado de la prueba de corrosión por el método de sulfato de cobre; este resultado negativo se debe a que se usa latas barnizadas y además al pH poco ácido de la carne.

A los 90 días de almacenamiento no se presentaron olores característicos atribuibles a la corrosión o formaciones de precipitados por causas de metales en la solución de cubierta. Lo que nos demuestra que el envase empleado es el adecuado para el envasado de la carne del Gualo.

5) Determinación del pH.

Para cada una de las pruebas realizadas, se determinó como promedio tope de pH = 5.66 lo cual nos indica que el pH. se encuentra cerca a la alcalinidad, lo que se detalla en el Cuadro N° 25.

CUADRO N° 25.- Controles físicos en latas de producto terminado del Gualo Leptodactylus pentadactylus.

Lata	Corrosión	Vacío (Pulg. Hg.)	pH
1	S.C.	13.0	5.65
2	S.C.	13.2	5.70
3	S.C.	12.0	5.63
\bar{X}	S.C.	12.73	5.66

S.C. = Sin corrosión.

CUADRO N° 26.- Control de cierres en latas N° 307 X 113 de producto terminado de carne de Gualo.

Lata	Altura pulg.	Profun. pulg.	Espesor pulg.	Traslapea pulg.
1	0.118	0.122	0.48	0.055
2	0.116	0.128	0.47	0.050
3	0.117	0.126	0.47	0.056
\bar{X}	0.117	0.125	0.47	0.053

2.- Análisis químico.-

a. Composición química proximal:

En el Cuadro N° 27, se presentan los resultados del análisis químico proximal de la carne y el producto procesado de la carne del Gualo:

Se observa que la humedad, proteína y ceniza varían en la materia prima con respecto al producto procesado, manteniéndose el porcentaje de grasa relativamente constante.

El incremento en el porcentaje de ceniza del producto procesado, con respecto a la materia prima, se debe a la adición de sales durante la formulación de la solución de cubierta y a la pérdida de humedad.

CUADRO N° 27.- Composición química proximal de la materia prima y producto procesado del Gualo.

COMPONENTES &	P O R C E N T A J E %	
	Materia Prima	Producto procesado
Humedad	79.80	74.04
Proteína (% de N por 6.25)	18.00	19.00
Grasas	0.90	0.96
Cenizas	1.30	2.00
Carbohidratos por diferencia	0.00	0.00
Grán total	100.00	100.00

3.- Análisis Microbiológico.-

Al finalizar los 60 días, de almacenamiento, las latas no mostraron alteraciones, provocadas por microorganismos por un mal tratamiento térmico.

El resultado del Análisis Microbiológico se detalla en el Cuadro N° 28, donde se observa que los análisis microbiológicos dieron resultados negativos, lo que nos demuestra que el tratamiento térmico empleado y la hermeticidad de los envases fueron excelentes.

CUADRO N° 28.- Análisis microbiológico de la conserva de Gualo en latas N° 307 x 113.

CONTROLES	MESOFILOS	TERMOFILOS
•Control de esterilidad:		
- Aerobios	Negativo	Negativo
- Anaerobios	Negativo	Negativo
•Numeración esporas viables	Negativo	Negativo
•Numeración esporas clostridium sulfito reductor.	Negativo	Negativo
•Numeración staphylococcus aureos.	Negativo	-

4.- De la evaluación organoléptica de preferencia.-

En el Cuadro N° 34 del Anexo se muestran los resultados de preferencia de la conserva de carne de Gualo referidos al músculo y la solución de cubierta, emitidos por 12 panelistas para cuatro repeticiones; a su vez en los Cuadros N° 29 y 30, se detallan los resultados del análisis de variancia y prueba de significación de Duncan de la evaluación organoléptica referidas al músculo, con un resultado de altamente significativo en cuanto al aspecto y el gusto, y de significativo referente a la textura; con respecto a la solución de cubierta con un resultado de altamente significativo, en cuanto al aspecto y el gusto. El nivel de significación de Duncan nos indica que los tratamientos T_3 , S_1 , T_1 , el panelista no distingue uno del otro, pero el tratamiento T_2 si se diferencia de los otros tratamientos, ya que el atributo sal de la solución de cubierta era disminuída. Los Cuadros N° 35, 36, 37, 38 y 39 del Anexo, muestran los resultados del Análisis de variancia referidas al músculo como a la solución de cubierta.

Por todo ello se puede concluir que el producto nuevo de la conserva de Gualo es de buena calidad organoléptica.

CUADRO N° 29.- Análisis de variancia y prueba de significación de Duncan de la evaluación organoléptica del enlatado de carne de Gualo para determinar la diferencia respecto al Aspecto, Gusto y Textura del músculo.

Parámetro	Característica	Formulación	F	F	Significación	Valores ordenados		Significación de Duncan - (0.05)
			Teórico	Calculado		FORMULACION	PROMEDIO	
			0.01 - 0.05					
MUSCULO	A) Aspecto	S1				T3	6.00	a
		T1	4.26 - 2.82	5.67	A.S.	S1	5.83	a b
		T2				T1	5.75	a b c
		T3				T2	4.83	d
	B) Gusto	S1				T3	5.91	a
		T1	4.26 - 2.82	4.78	A.S.	S1	5.75	a b
		T2				T1	5.66	a b c
		T3				T2	5.16	d
	C) Textura	S1				T3	5.66	a
		T1	4.26 - 2.82	4.12	S.	S1	5.50	a b
		T2				T1	5.41	a b c
		T3				T2	4.66	d

A.S. = Diferencia altamente significativa al 99 % - 95 %.

S. = Diferencia significativa al 95 %.

CUADRO N° 30.- Análisis de variancia y prueba de significación de Duncan de la evaluación organoléptica del enlatado de carne de Gualo, para determinar la diferencia respecto al aspecto y gusto de la solución de cubierta.

Parámetro	Característica	Formulación	F		Significación	Valores ordenados		Significación de Duncan 0.05	
			Teórico	Calculado		Formulación	Promedio		
Líquido de Gobierno	A) Aspecto	S1				T3	5.91	a	
		T1	4.26	2.82	5.51	A.S.	S1	5.75	a b
		T ₂					T ₁	5.66	a b c
		T3					T2	4.91	d
	B) Gusto	S1					T3	6.00	a
		T1	4.26	2.82	5.87	A.S.	S1	5.83	a b
		T2					T1	5.75	a b c
		T3					T2	5.00	d

A.S. = Diferencia altamente significativa al 99 % - 95 %.

V.- CONCLUSIONES

- A.- De acuerdo a las pruebas de tipo bio y química toxicológica, la carne del Gualo (Leptodactylus pentadactylus), no presenta en su composición toxinas, por lo que es apta para el consumo humano.
- B.- Los principales parámetros para su conservación por el método de enlatado, son los siguientes:
- 1.- Materia prima:

Escoger como materia prima, animales con un peso y tamaño mínimo de 331 gr. y 30 cms. de longitud, respectivamente.
 - 2.- Precocinado:

El tiempo y temperatura de precocinado es de 6 minutos a 98,5 °C.
 - 3.- Llenado:

El llenado de cada envase N° 1/2 (307 x 113), tipo tuna, es con 150 gr. de ancas y brazuelo y 30 grs. de solución de cubierta.
 - 4.- Evacuado:

El tiempo y temperatura de sellado es de 5 minutos a 80 °C.
 - 5.- Esterilización comercial:

El tiempo mínimo de esterilización es de 28.33 minutos a una temperatura de 121 °C (249.8 °F).

C.- Los análisis físico organolépticos, bromatológicos, sensoriales, microbiológicos y de corrosión, demostraron que el producto procesado es de buena calidad, y estable en almacenamiento.

VI.- RECOMENDACIONES

- A.- Realizar los estudios Bioecológicos para fomentar la crianza en el cautiverio del Gualo (Leptodactylus pentadactylus), con la finalidad de incentivar la ranicultura.
- B.- Realizar estudios referente a la calidad de los aminoácidos (aminograma) de la carne.
- C.- Con los sub-productos como la piel, hígado y el intestino, efectuar trabajos de aplicación industrial.

VII.- RESUMEN

El Gualo (Leptodactylus pentadactylus), es originaria de la América Tropical; en nuestro país es consumido en la región Amazónica por el poblador selvático. El presente trabajo se planteó con los siguientes objetivos: Conocer si la carne es apta para el consumo humano, establecer los parámetros óptimos para su enlatado, y establecer la calidad del producto obtenido.

El estudio se realizó principalmente en los Laboratorios de Toxicología y Química Legal, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y en los Laboratorios de Nutrición, Biología y en la Planta Piloto de Conservas de la Universidad Nacional Agraria de la Selva en Tingo María; empleando una sola especie.

Las pruebas experimentales duraron un año, realizándose primero la crianza en cautiverio con buenos resultados; luego en la fase del estudio toxicológico, se ensayaron diversas pruebas; entre ellas: Toxicidad aguda, sub-aguda y prueba química-toxicológica, todos ellos con extractores de posibles sustancias tóxicas obtenidas con solventes selectivos.

Se utilizó para el envasado latas tipo tuna N° 307 x 113 y como solución de cubierta salmuera y pasta de tomate.

El estudio de la calidad nutritiva se realizó a nivel de materia prima y producto procesado.

Los resultados obtenidos indican que la carne de gualo no contiene toxinas, por lo tanto es apto para el consumo humano.

Los parámetros tecnológicos óptimos son:

1.- Materia prima:

Escoger como materia prima animales con un peso y tamaño mínimo de 331 gr. y 30 cms. de longitud respectivamente.

2.- Pre-cocinado:

El tiempo y temperatura de precocinado es de 6 minutos a 98.5 °C.

3.- Llenado:

El llenado de cada envase N° 1/2 (307 x 113) tipo tuna, es con 150 gr. de ancas y brazuelo y 30 gr. de solución cubierta.

4.- Evacuado:

El tiempo y temperatura de sellado es de 5 minutos a 80 °C.

5.- Esterilización comercial:

El tiempo mínimo de esterilización es de 28.33 minutos, a una temperatura de 121 °C., (249.8 °F).

6.- Enfriado:

El enfriado se realiza con agua fría, durante 10 minutos.

Los análisis físico-organolépticos, bromatológicos, sensoriales, microbiológicos y de corrosión, demostraron que el producto procesado es de buena calidad y estable en almacenamiento.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS, Report of the subcomités for evaluation of packages and packaging materials Proc. 1,970. Pp. 240-243.
- 2.- BARDACH, J. E., RYTHER, J. y HYMYC. L. Agriculture the forming and husbandry of fresh water and marine organism.- New York. Wiley. Interscience. 1,970.;
- 3.- BERGERET, G. Conservas vegetales, frutas y hortalizas. Barcelona. Salvat. 1,963. 100 p.
- 4.- BRENNAN, J. G., BUTTERS, J. R. y COWELL, N. D. Las operaciones de la Ingeniería de los Alimentos. Zaragoza, España - Acribia. 1,970. 422 p.
- 5.- CASARETT, G., AND DOULL, S. Toxicology, the Basic Science of poisons. 2da. ed. New York. Mac Millan. 1,980.- 1,200 p.
- 6.- CHARM, S. E. The fundamentals of food Engeniering. 2da. ed. Wesport Avi. 1,971.
- 7.- CIBA GEIGY. El mundo de los productos Farmacéuticos Ciba - Geigy. ed. para Latinoamérica. México. 1,982. 32 - p.
- 8.- CLAUS, E., VARRO, P. y TYLER, E. Farmacognosia, 5ta. ed.- Buenos Aires. El Ateneo. 1,969. 533 p.
- 9.- COCHRAN, N. D. El mundo de la naturaleza, los anfibios, - Barcelona. Seix Barral. 1,961.
- 10.- FAO. Control de calidad de los productos agropecuarios. -

- México. Trillas. 1,983.
- 11.- FONSECA DA FLAVIO, V. Animais pegohentos. Sao Paulo. -
Brasil. Instituto Butantan. 1,962. Pp. 235 - 240.
 - 12.- FRAZIER, N. C. Microbiología de los Alimentos. Zaragoza.
Acribia. 1,976. Pp. 89-113.
 - 13.- GARRIDO ALVA, T. Guía de trabajos prácticos. Curso In -
ternacional de Microbiología e higiene de los alimen -
tos. Lima. U.N.M.S.M. - CLEIBA. 1,967. Pp. 1-33.
 - 14.- GIANNONI SUCAR, E. B. Evaluación y optimización del tra -
tamiento térmico de los alimentos enlatados. Tesis -
Ing. Alimentarias. La Molina. U.N.A. 1,977. Pp. -
72 - 107.
 - 15.- GILI, G. Enciclopedia de química Industrial, productos -
agrícolas, alimenticias y medicinales. España. GUGI
SA. 1,958.
 - 16.- HALGARD, C. Curso sobre algunos principios de la evalua -
ción sensorial. La Molina. UNA-FAO. 1,971.
 - 17.- HARRISON, T. J. Farmacognosia II. Lima. U.N.M.S.M. De
partamento de Farmacología de la Facultad de Farmacia
y Bioquímica. 1,970. 127 p.
 - 18.- _____ . AND DIMENT, M. S. The coryotype in determi -
nig relations Ships in the Leptodactylus - Complex --
(Anphibia Leptodactylidae). Proceeding. Washington.-
Biological society. 1,974. Pp. 27 - 36.

- 19.- HEYER, W. R. Systematics of the pentadactylus. Species-Group of the frog genus Leptodactylus - Amphibia. Washington. Smithsonian Institution. 1,979. 42 p.
- 20.- HEREDIA, M. I. Tecnología y conservación de los alimentos. Barcelona. CEDEL. 1,968.
- 21.- LARMOND, E. Methods for sensory evaluation of food. US. Department of Agriculture. Publication N° 1284. 1, 967.
- 22.- LEES, J. Manual de análisis de los alimentos. Zaragoza. España. Acribia. 1,983.
- 23.- LITTER, M. Compendio de Farmacología. 2da. ed. Buenos-Aires. El Ateneo. 1,978. 705 p.
- 24.- LY, S. F. Curso sobre control de calidad de los alimentos. La Molina. UNA - FAO. 1,973.
- 25.- MAAR, A., MARTINER, M. y VANDER, E. Manual de piscicultura. México. Publicidad artística Litográfica. 1,971.
- 26.- MACEDO, R. H. Anotaciones para el conocimiento del género Batrachoprhnus macrostomus, anfibia salienta. - Lima. U.N.M.S.M.
- 27.- MOSSEL y QUEVEDO, N. Control microbiológico de los alimentos. Lima. CLEIBA. UNMSM. 1,967.
- 28.- MUJEDRA, V. Atlas de anatomía animal. Barcelona, España. JOVER. 1,979.

- 29.- MUSEO DE HISTORIA NATURAL JAVIER PRADO. Taxonomía de anfibios peruanos. Lima. U.N.M.S.M. 1,967.
- 30.- NICKERSON, J. T., SINSKEY, A. J. Microbiología de los alimentos y sus procesos de elaboración. Zaragoza. Acribia. 1,978. 278 p.
- 31.- PEARSON, D. Técnicas de Laboratorios para el análisis de los alimentos. Zaragoza. Acribia. 1,976. Pp. 55-62.
- 32.- PERU ITINTEC. Normas técnicas "envases metálicos para conservar alimenticias". N° 350. 007. Lima. 1,971. - 47 p.
- 33.- RANDEPATH, K. Cromatografía de capa fina. Enciclopedia de química Industrial. Bilbao Urmo. 1,969. 291 p.
- 34.- RODRIGUEZ PAPUICO, H. "Experimentos sobre adaptación, -- crianza y procesamiento de la rana de Junín (Batrachophrynus macrostomus)". Tesis Ing. Pesquero. Lima.- U.N.A. La Molina. 1,974. 136 p.
- 35.- RODRIGO, M. y SAFON, J. Optimización del proceso de esterilización y cocción. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (España). 22(1). 1,981. 37 p.
- 36.- _____ . LORENZO, P. y SAFON, J. Optimización de alimentos por tratamiento térmico. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (España). 20(2): 25-81. 1,981.

- 37.- RUBIN, R. La rana y su explotación. México CESCA. 1,9-81. 133 p.
- 38.- STUMBO, C. R. Thermobacteriology in food procesing. New York. Academic Press. 1,973.
- 39.- VILLACORTA, L. y BRICEÑO, Z. Manual del curso de Nutri - ción I. La Molina. UNA. 1,979.
- 40.- VELLARD, J. Los animales venenosos. Resumen de las con - ferencias dictadas en Lima. Perú. UNMSM. 1,967. Pp. 27 - 37.
- 41.- WODSEDALEK, J. E. General zoology. Laboratory guide. 4. ta. ed. Dubuque, Brown Company. 1,965. Pp. 179 - 197.

IX.- A N E X O

ANEXO N° 1

PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR LA RESISTENCIA A LA CORROSION DE LA-
LATA.-

A.- Reactivos.-

- 1.- Sulfato de cobre en cristal.
- 2.- Acido clorhídrico concentrado 36-38 %.

B.- Aparatos.-

- 1.- Cronómetro.
- 2.- Recipiente de 4 litros.

C.- Preparación de la solución de prueba ácida.-

Preparar una solución conteniendo 200 gr. de sulfato de cobre en cristal, 100 gr. de solución de ácido clorhídrico y 700 gr. de H_2O , mover hasta que se consiga una completa solución, guardar a temperatura ambiente; se pueden preparar soluciones múltiples de la solución si se desea.

D.- Método.-

A un recipiente de 4 litros de capacidad llenar 1 1/2 litro de solución de ácido sulfúrico concentrado, luego colocar 2 latas que van a ser probadas (ver nota 1 y 2) en la solución y comenzar el cronometrado. Las latas usadas deberán ser llenadas antes con agua para que no floten. El nivel de la solución prueba debería llegar justo a la parte superior de la lata, para que pueda ser rápidamente sacadas sin dificultad.

Después de exactamente 2 minutos, sacar las latas y -

enjuagarlas con agua, luego examinarlas y observar si existe depósito de cobre o un ennegrecimiento en cualquier lugar de la lata.

E.- Resultados.-

Las latas que han sido bien protegidas con barniz o laca, no presentarán ninguna mancha, lo que indicará una buena protección.

Las latas bien selladas o unidas no presentarán ninguna marca en las uniones. Las latas mal unidas (Nota 3), presentarán corrosión coloreada (cobre) o manchas negras donde la protección ha sido dañada.

El grado de mancha es anotado, separadamente por la parte externa como por la parte interna, y de las uniones en la forma siguiente:

a) Ninguno. b) Ligero. c) Moderado. d) Fuerte.

Las manchas en las condiciones señaladas indican el grado de corrosión que pueda ocurrir en las latas, debido a una exposición adversa de humedad y temperatura del ambiente.

1.- Nota 1.

Las latas que se destapan manualmente, tiene un accesorio incorporado de aluminio, que cuando no ha sido laqueado o barnizado, reacciona rigurosamente con la solución prueba.

2.- Nota 2.

La solución de sulfato de cobre deberá ser descargada cuando comienza a decolorar.

3.- Nota 3.

Este método puede ser usado como un indicador del tiempo, cuando parezca que las piezas de uniones o soldaduras necesiten un servicio de mantenimiento o reemplazo.

FUENTE: AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS. Report of the sub-comite for evaluation of packages and Packaging materials Proc. 1,970. Pp. 240-243.

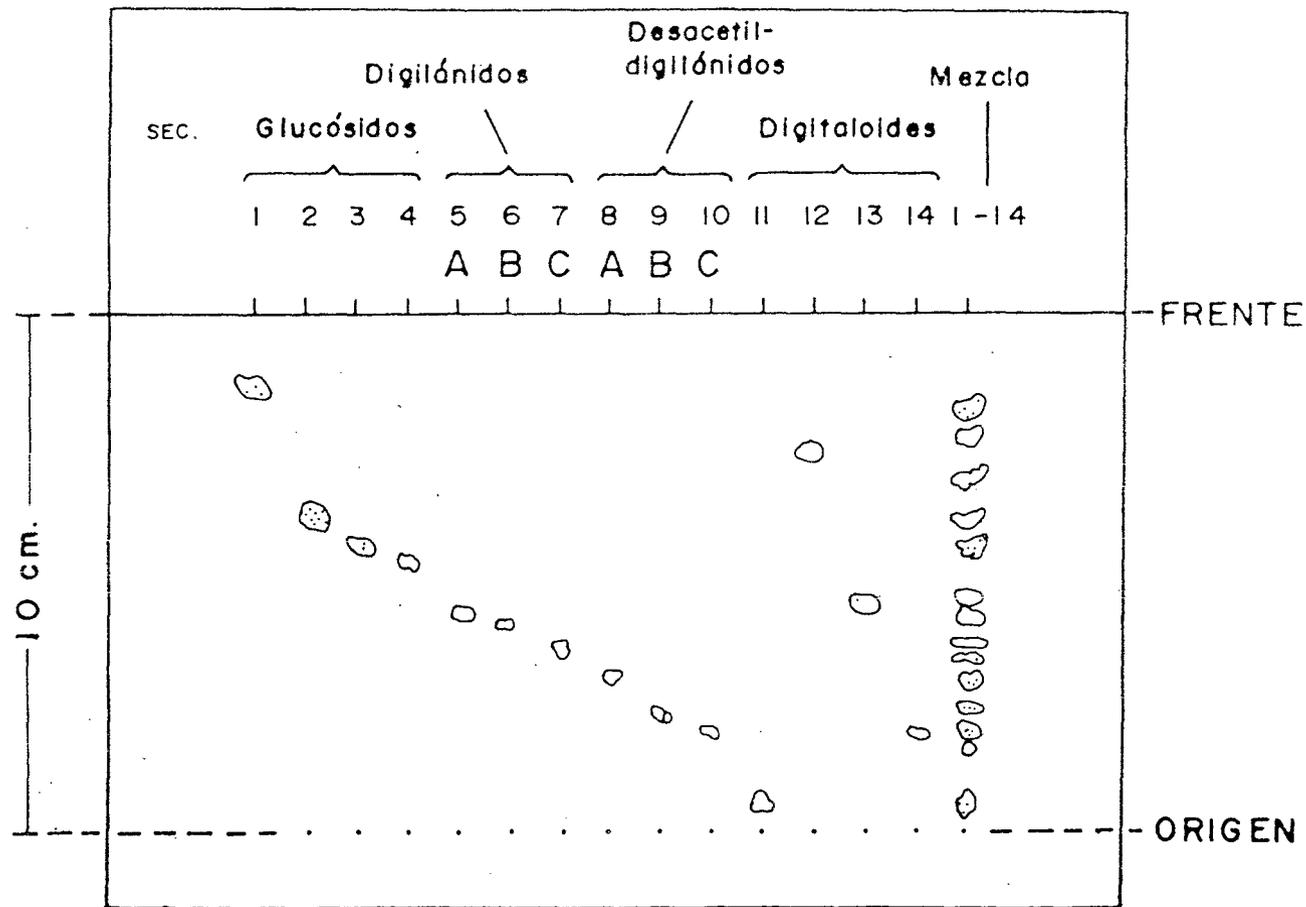


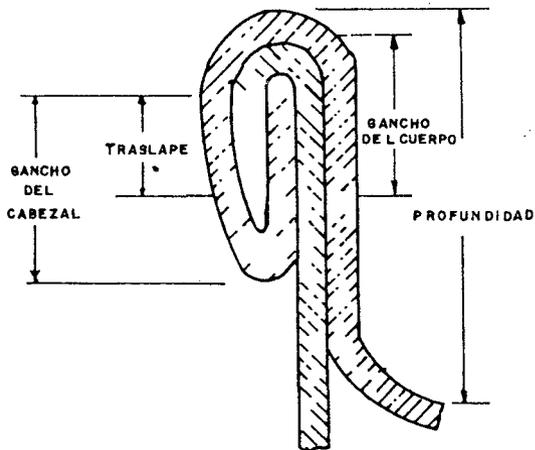
Figura Nº 13.-Cromatografía de capa fina de glucósidos cardiacos (1 Ug C.U.) sobre capa de silicagel G Saturación de cámara: 1.-Acetil-digitoxina; 2.-Digitoxina; 3.-Gitoxina; 4.-Digoxina; 5.-Digilánide A; 6.-Digilánide B; 7.-Digilánide C; 8.-Desacetil-digilánide A; 9.-Desacetil-digilánide B; 10.-Desacetil-digilánide C; 11.-K-estrofantósido; 12.-Cimarina; 13.-Proscillaridina A; 14.-Escilareno A— Visualización: Acide tricloroacético/cloramina (15:1), 10 minutos 110°C. en la Luz UV de onda larga: Fluorescencia, la superficie blanca= amarillo claro, amarillo pardusco, las zonas punteadas= azul claro- las rayadas, azul violeta las negras, las manchas Rf= rojo.

Fuente.- RANDERAT, KURT. Cromatografía de capa fina- Enciclopedia de Química Industrial.

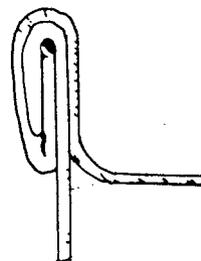
CUADRO Nº 31.º - CONTROL DE CIERRE EN CONSERVAS

ANEXO Nº 3

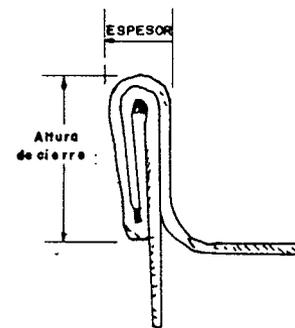
1 MEDIDAS INVARIABLES PARA TODO TIPO DE ENVASES



2 MEDIDAS QUE CAMBIAN SEGUN EL TIPO DE ENVASE



PRIMERA OPERACION



SEGUNDA OPERACION

3 CALCULO DEL TRASLAPE

$$T = IO + EH + BH - SH$$

de donde :

- T = Traslape
- IO = Constante
- EH = Gancho del Cabezal
- BH = Gancho del Cuerpo
- SH = Altura de Cierre

	STANDARD	SUB-STANDARD
PROFUNDIDAD	0.120" - 0.128"	0.129" - 0.132"
GANCHO DEL CUERPO	0.076" - 0.085"	0.072" - 0.074" 0.086" - 0.088"
GANCHO DEL CABEZAL	0.075" - 0.085"	0.072" - 0.074" 0.086" - 0.088"
TRASLAPE	0.048" - 0.056"	0.040" - 0.047" 0.057" - 0.060"

TIPO DE ENVASE	ESPESOR DE PRIMERA OPERACION	ESPESOR DE SEGUNDA OPERACION		ALTURA DE CIERRE	
	STANDARD	STANDARD	SUB-STANDARD	STANDARD	SUB-STANDARD
TUNA	0.077" - 0.083"	0.041" - 0.045"	0.046" - 0.049"	0.115" - 0.120"	0.113" - 0.118" 0.121" - 0.126"
TALL	0.077" - 0.083"	0.046" - 0.051"	0.052" - 0.054"	0.115" - 0.120"	0.113" - 0.118" 0.121" - 0.126"
OVAL	0.082" - 0.088"	0.052" - 0.055"	0.057" - 0.059"	0.119" - 0.123"	0.116" - 0.120" 0.124" - 0.128"

Unidad de medida: milésimas de pulgada.

Fuente: CONTINENTAL CAN COMPANY.

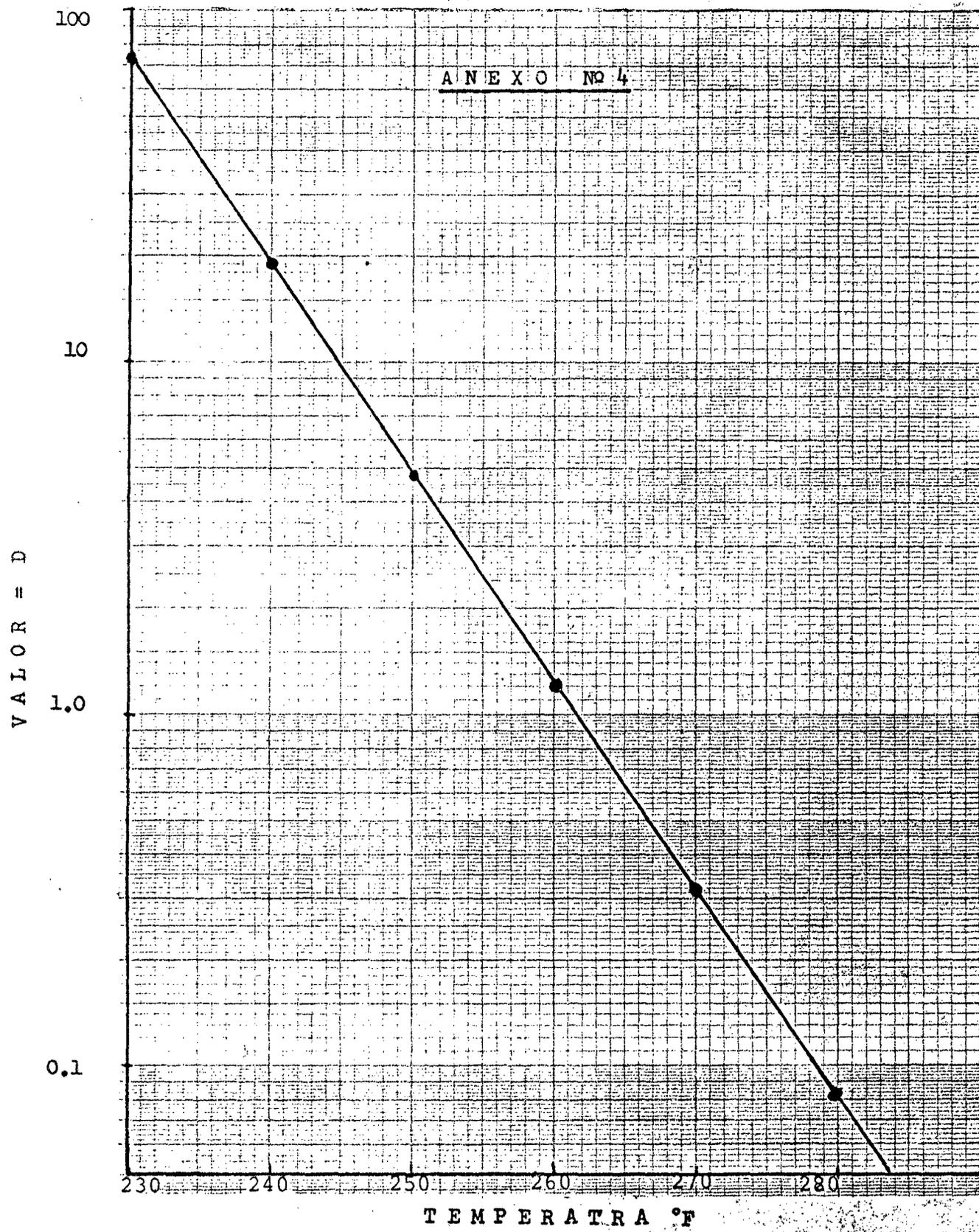


FIGURA N° 14.- Curva de destrucción térmica para esporas de P.A. 3679 de Clostridium botulinum.

Fuente: Thermobacteriology in food processing, Stumbo. 1973. p. 110.

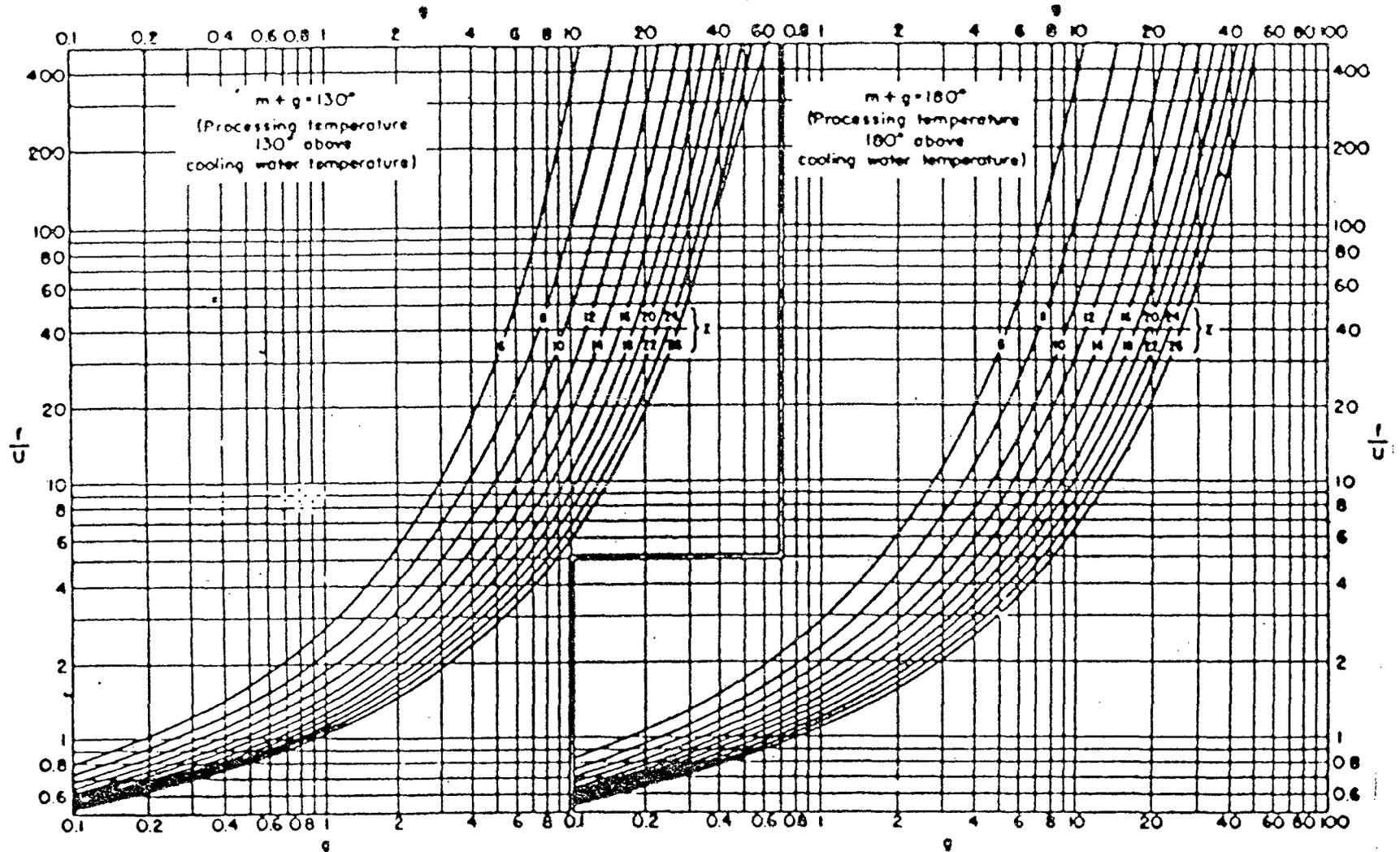


FIGURA N° 15.- Relaciones fh U y g.m.z: cuando: $m + g = 180$ y $m + g = 130$

Fuente: STUMBO. Thermobacteriology in food processing, 1,973.

A N E X O N°6

CUADRO N° 32.- Designación, uso y capacidad de los envases.

DESIGNACION COMERCIAL	DESIGNACION ITINTEC	PRINCIPAL USO	CAPACIDAD (ISO)	
1/4 libra (211 x 109)**	1/4 libra Atún (Tuna)	Pescado, Frutas carne y legumbres.	ml. 109	(onz. Flu) 3,7
1/2 libra (307 x 113)**	1/2 libra Atún (Tuna)	Pescado	208	7,0
1 libra (301 x 411)**	1 libra alta (Tall)	Pescado, Carnes y Frutas.	484	16,4
4 libras (603 x 408)**	4 libras Atún (Tuna)	Pescado	1964	66,4
1 lb. oval (608x406) x (103)**	1 libra oval (Portola)	Pescado	37	14,8
N° 1 (211 x 400)**	N° 1 Paseo (Picnic)	Frutas	316	10,7
N° 2 (307 x 409)**	N° 2	Frutas	590	20,0
4 onz (51 x 50)*	4 onz. Leche Condensada	Leche Condensada Azucarada	94	3,2
6 onz (73 x 47)*	6 onz. leche evaporada	Leche evaporada	173	5,9
14 onz (73 x 82)*	14 onz. leche condensada	Leche condensada azucarada	314	10,7
14 1/2 onz (73 x 102.5)*	14 1/2 onz. leche evaporada	Leche evaporada	401	13,6

** Valores expresados en pulgadas.

* Valores expresados en milímetros.

FUENTE: ITINTEC N° 380.007

ANEXO N° 7

CUADRO N° 33.- Resultado de la evaluación organoléptica de preferencia de la conserva de carne de gualo, respecto al músculo (método de Scoring).

Número de Panelista (n)	ASPECTO				GUSTO				TEXTURA			
	S1	T1	T2	T3	S1	T1	T2	T3	S1	T1	T2	T3
1	6	6	6	6	6	6	5	6	5	5	6	5
2	6	6	3	4	5	5	6	6	6	6	5	6
3	6	6	4	7	5	6	5	6	5	5	5	5
4	5	5	5	6	6	6	5	6	5	5	5	5
5	6	6	5	6	6	7	5	6	5	5	6	7
6	6	6	4	6	6	6	4	6	7	6	4	7
7	5	5	4	7	6	6	5	5	7	7	4	5
8	6	6	6	6	5	5	5	6	5	5	4	5
9	6	6	6	6	6	5	5	6	5	5	5	6
10	6	5	6	6	6	5	5	6	5	5	4	5
11	6	6	3	6	6	5	6	6	6	6	4	6
12	6	6	6	6	6	6	6	6	5	5	4	6
	70	69	58	72	69	68	62	71	66	65	56	68
	5.83	5.75	4.83	6	5.75	5.66	5.16	5.91	5.5	5.41	4.66	5.66
	269				270				255			

ANEXO N° 8

CUADRO N° 34.- Resultado de la evaluación organoléptica de preferencia, respecto al líquido de gobierno de la conserva de la carne de gualo, (método de Scoring).

Número de Panelista (n)	A S P E C T O				G U S T O			
	SI	T1	T2	T3	SI	T1	T2	T3
1	5	5	5	7	6	6	6	6
2	6	6	5	6	6	6	6	6
3	6	5	5	7	6	5	5	6
4	6	6	5	6	5	4	5	6
5	6	6	5	6	6	7	5	5
6	6	6	5	6	5	7	4	5
7	6	6	4	6	6	6	5	6
8	5	6	5	7	6	6	4	6
9	5	5	5	4	6	5	5	6
10	6	6	6	6	6	5	5	7
11	6	6	4	4	6	6	5	7
12	6	5	5	6	6	6	5	6
	69	68	59	71	70	69	60	72
	5.75	5.66	4.91	5.91	5.83	5.75	5.0	6.0
	267				271			

ANEXO N° 9

CUADRO N° 35.- Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto al aspecto del músculo.

Factores de variabilidad	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Significación
Muestras o Tratamientos	3	9.895	3.298	5.67	A.S.
Panelistas o error	44	25.583	0.580		
TOTAL	47	35.479			

ANEXO N° 10

CUADRO N° 36.- Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto al gusto del músculo.

Factores de Variabilidad	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Significación
Muestras o Tratamientos	3	3.750	1.25	4.78	A.S.
Panelistas o error	44	11.500	0.2614		
TOTAL	47	15.250			

ANEXO N° 11

CUADRO N° 37.- Análisis de variancia de la evaluación organoléptica de preferencia respecto a la textura del músculo.

Factores de variabilidad	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Significación
Muestras o Tratamiento	3	7.0625	2.35	4.12	S.
Panelistas o Error	44	25.250	0.573		
TOTAL	47	32.312			

ANEXO N° 12

CUADRO N° 38.- Análisis de variancia de la evaluación organoléptica, de preferencia respecto al aspecto de la solución de de cubierta.

Factores de variabilidad	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Significación
Muestras o tratamientos	3	7.0625	2.35	5.51	A.S.
Panelistas o error	44	18.75	0.4261		
TOTAL	47	25.8125			

ANEXO N° 13

CUADRO N° 39.- Análisis de variancia de la evaluación organo -
léptica de preferencia respecto al gusto de la
solución de cubierta.

Factores de Variabilidad	G.L.	S.C.	C.M.	F,C.	Significación
Muestras o tratamientos	3	7.06	2.35	5.87	A.S.
Panelistas o error	44	17.91	0.40		
TOTAL	47	24.97			