

## IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL DETERIORO EN EL PULPO *OCTOPUS MAYA*

*Miguel A. Carballo-Bautista, Luis F. Cuevas-Glory\*, María de Lourdes Vargas y Vargas, Enrique Sauri-Duch y Elsy Noemí Tamayo-Canul*

*Instituto Tecnológico de Mérida, División de Estudios de Posgrado e Investigación, km 5 Carr. Mérida-Progreso. C.P.97118. Mérida, Yucatán, México. Tel. y Fax: (999)9448479.*

*\*E-mail: lfcuevas@yahoo.com*

### RESUMEN

En este estudio se evaluaron e identificaron compuestos volátiles totales en muestras de *Octopus maya* durante la etapa de deterioro después de haber sido sometidas a un proceso de conservación por congelamiento. La técnica de extracción y análisis utilizada fue microextracción en fase sólida de espacio de cabeza y cromatografía de gases-espectrometría de masas. Las muestras se analizaron desde el primer día de captura hasta 21 días después del tratamiento de congelamiento. En total, se identificaron 11 compuestos volátiles involucrados en la degradación de *O. maya*. Los volátiles de las muestras de pulpo se evaluaron utilizando fibras de microextracción PDMS y DVB. Se ensayaron varios tiempos de extracción y condiciones de temperatura hasta encontrar los óptimos para los análisis. Con la fibra de PDMS se identificaron las aminas biogénicas: trimetilamina y isopropilamina y con la fibra DVB a la dimetilamina. Estos compuestos sirven como indicadores de la descomposición de los alimentos. Asimismo, se detectó la presencia de ácido acético, el cual es un compuesto que indica deterioro de los alimentos en las primeras etapas.

**Palabras clave:** *Octopus maya*, Aminas biogénicas, HS-SPME, CG/EM

### ABSTRACT

#### **Identification of volatile compounds from decomposition of *Octopus maya***

In this work it was evaluated and identified total volatile compounds in samples of *Octopus maya* during decomposition by using headspace-solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. The samples were analyzed from the first day of capture until 21 days after treatment of freezing. A total of 11 volatile compounds involved in the degradation of *O. maya* were identified. The volatiles were analyzed by PDMS and DVB SPME fibers. Several extraction times and temperature conditions were tested in order to achieve optimum conditions for the analysis. By using the PDMS fiber was possible identifying trimethylamine and isopropylamine, and by using DVB fiber, dimethylamine. These compounds are usually used as indicators of food decomposition. Also, was possible detecting acetic acid, which, is a compound related to food spoilage in the early stages.

**Keywords:** *Octopus maya*, Biogenic amines, HS-SPME, GC-MS

### INTRODUCCIÓN

Los productos pesqueros, entre ellos el mero y el pulpo, son de gran importancia en Yucatán, México, debido a que son utilizados en la alimentación en forma tradicional tanto en México como en otras regiones del mundo (1). El pulpo es uno de los productos marinos de importancia en la alimentación por su valor proteico, el contenido de vitaminas y minerales (1). En Yucatán la producción de pulpo en el 2012 fue de 17,462 t lo cual correspondió al 92,6 % de la producción anual en el país (2, 3). El pulpo ha cobrado un importante interés co-

---

**\*Luis F. Cuevas Glory:** Graduado de Ingeniero Bioquímico (Instituto Tecnológico de Mérida, México, 2001). Doctor en Ciencias Bioquímicas y Biotecnología de Alimentos (Instituto Tecnológico de Mérida, México, 2013). Su temática de trabajo abarca estudio de inocuidad alimentaria, análisis de compuestos volátiles en alimentos e identificación de microorganismos en alimentos por métodos de biología molecular.

mercial por el aumento en su exportación. No obstante, este producto alimenticio durante el proceso de manipulación, almacenaje y congelamiento está sujeto a sufrir deterioro. Se reporta que bajo condiciones de almacenaje y congelamiento, ciertos microorganismos son capaces de sobrevivir y continuar su crecimiento a una velocidad reducida, provocando el deterioro en tiempos de almacenamiento largos, ocasionando cuantiosas pérdidas económicas (4).

El deterioro de los alimentos marinos puede deberse a procesos autolíticos, químicos y microbiológicos (5). Reportándose principalmente compuestos volátiles totales en muestras de pescados y mariscos presentes durante el deterioro. Entre estos compuestos volátiles se encuentran las aminas biogénicas (AB), las cuales son utilizadas como indicadores de frescura o grado de contaminación de pescados y alimentos marinos (6).

Entre los procesos de evaluación de calidad y deterioro podemos mencionar al nitrógeno básico volátil total (N-BVT), que expresa cuantitativamente las bases volátiles de bajo peso molecular, la medición de trimetilamina producida por deterioro bacteriano (N-TMA), dimetilamina y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros (6, 7). Con respecto al N-TMA se ha descrito que durante el almacenamiento aerobio y que después de un período de latencia, los niveles aumentan siguiendo el perfil de una curva exponencial, lo cual concuerda con el comportamiento del crecimiento bacteriano (4, 8). Este hecho establece una correlación entre los niveles de N-TMA y el recuento total de microorganismos (9). De ahí que el N-TMA sea utilizado como una estrategia para evaluar la calidad higiénica y sanitaria de los productos marinos. El contenido de las bases volátiles totales se ve mayormente afectada por la temperatura, el tiempo de almacenamiento y no realmente por las especies analizadas. Las bases volátiles totales reportadas en productos marinos, son trimetilamina (TMA), originada por acción bacteriana durante el almacenamiento en refrigeración, dimetilamina (DMA) y (NH<sub>3</sub>), producidas por acción bacteriana y enzimas endógenas durante su almacenamiento en congelación (10). La TMA puede ser encontrada en pescados, molusco cefalópodos y crustáceos y la DMA se desarrolla en algunos moluscos

cefalópodos mayormente reportado en calamar, cabe destacar que el consumo de aminas biogénicas por el ser humano es tóxico (10).

Existen muchos métodos y modificaciones para el análisis de las aminas conocidas como aminas biogénicas (N-TMA, dimetilamina y monometilamina básicamente), entre ellos la cromatografía de gases (11, 12). Frecuentemente, en la cuantificación e identificación de compuestos se utiliza la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Esta técnica, es ampliamente utilizada para la separación y determinación de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles.

Dada la sensibilidad y confiabilidad de la técnica de CG-EM en el este trabajo se evaluaron e identificaron los compuestos volátiles involucrados en proceso de deterioro del pulpo *Octopus maya*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el muestreo de pulpo *Octopus maya* en el centro de acopio Hulkan en Celestún Yucatán, las muestras fueron tomadas en condiciones higiénicas y transportadas en una nevera con hielo hasta el laboratorio donde fueron preparadas para la inducción del deterioro. Para esto se tomaron 10 g de tejido de pulpo, se licuó con 25 mL de agua destilada estéril, se depositó en viales de 50 mL sellados con membranas de silicona y finalmente se almacenó a -20 °C hasta su análisis. Las muestras se retiraron del congelador en los días 0, 8, 16 y 21 de almacenamiento, se incubaron para inducir el deterioro a temperatura ambiente (21 ± 2 °C) y posteriormente se analizaron los compuestos volátiles por HS-SPME-CG/EM a los tiempos de 1, 4, 8, 16 y 24 h de incubación.

La extracción de los compuestos volátiles se realizó por HS-SPME, para lo cual se tomó como base un estudio previamente reportado (13). Se utilizaron dos fibras: PDMS de 100 m de diámetro no polar y PDMS/DVB de 65 m de diámetro de polaridad intermedia. El equipo para la técnica HS-SPME consistió en un baño a temperatura controlada para garantizar una temperatura constante en la muestra contenida en el vial. Las extracción de los volátiles consistió en dos etapas: equili-

brio (30 min y 37 °C) y extracción (30 min y 37 °C); ambas etapas se llevaron a cabo con agitación constante (100 min<sup>-1</sup>).

Para la separación e identificación de los compuestos se utilizó un cromatógrafo de gases Clarus 500 equipado con un espectrómetro de masas Clarus 500 (Perkin Elmer, Shelton., CT, EE.UU.). La fibra con los analitos se desorbió en modo *splitless* durante 4 min a 250 °C. Se utilizó una columna AT5-MS de 30 m x 0,25 mm diámetro interno y 0,05 m de espesor de fase estacionaria. La fase móvil fue Helio a un flujo de 1 mL/min. Las condiciones cromatográficas del horno fueron las siguientes: temperatura inicial: 40 °C; velocidad de incremento de temperatura: 3 °C/min; temperatura final: 220 °C. Las condiciones del espectrómetro de masas fueron las siguientes: modo de impacto electrónico, energía de la fuente 70 eV, monitoreo de masas: 34-450 u; temperatura de la interface: 220 °C.

La identificación de los compuestos de la fracción volátil de la muestras de pulpo se hizo a través de las base de datos NIST 2.0, WYLEY y ADAMS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

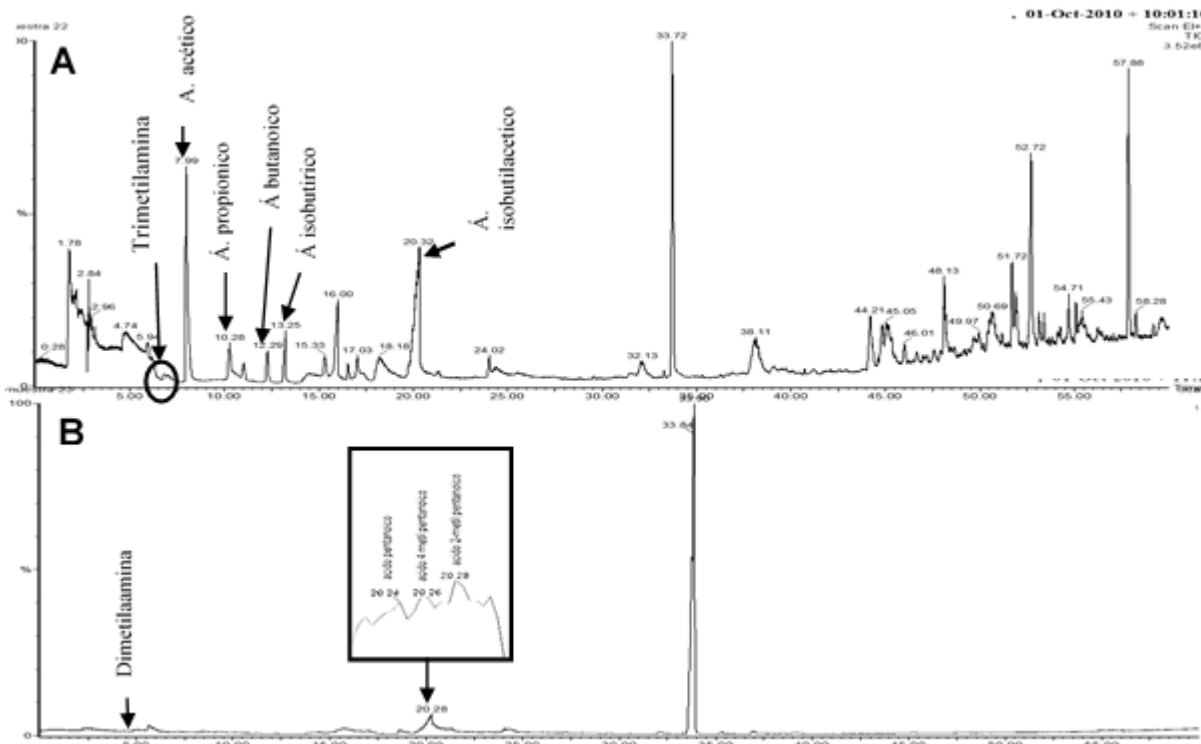
Los compuestos volátiles totales son determinantes para conocer la buena calidad de los productos marinos, estos compuestos pueden evidenciar el grado de

deterioro de las muestras evaluadas (4). En este estudio, los análisis del día cero no presentaron indicios de compuestos involucrados en el deterioro. Estos compuestos, se pudieron detectar a partir de los 8, 16 y 21 días de almacenamiento. Los compuestos identificados como trazadores del deterioro fueron dimetilamina, isopropilamina y trimetilamina. La presencia de estos compuestos ha sido reportada anteriormente (14) en la fracción amina de los mariscos, los cuales resultan de la descarboxilación de los aminoácidos por la acción bacteriana. Así mismo, en otros estudios realizados (10) se ha identificado trimetilamina (TMA) en cantidades bajas en organismos marinos frescos, el cual se acumula durante su almacenamiento y deterioro como consecuencia de la degradación bacteriana del óxido de trimetilamina (OTM) (6).

Por otro lado, los resultados de los análisis realizados a los tiempos 1, 4, 8 y 16 h de incubación, a temperatura ambiente, no revelaron compuestos indicadores de deterioro (cromatogramas no mostrados). Al tiempo de incubación de 24 h, se detectaron los compuestos involucrados en el deterioro del pulpo así como los ácidos grasos butíricos, propiónico y pentanoico, los cuales son compuestos del producto de la actividad bacteriana en los alimentos cárnicos y son los causantes del olor característico a rancio (6). La Tabla 1 presenta la relación de los compuestos identificados en las muestras de pulpo en proceso de deterioro.

**Tabla 1. Tiempo de retención de compuestos volátiles identificados en pulpo en deterioro**

Tiempo de retención (min)	No. de muestras	Nombre	Índice de retención
3.101	23	Dimetilamina	426
4.917	24	Isopropilamina	498
6.152	22	Trimetilamina	503
7.949	22	Ácido acético	663
10.292	22	Ácido propionico	718
12.270	22	Ácido isobutírico	793
13.248	22	Ácido butanoico	829
20.257	23	Ácido pentanoico	841
20.262	23	Ácido 4 metilpentanoico	949
20.282	23	Ácido 2-metilpentanoico	949
20.330	22	Ácido isobutilacético	949



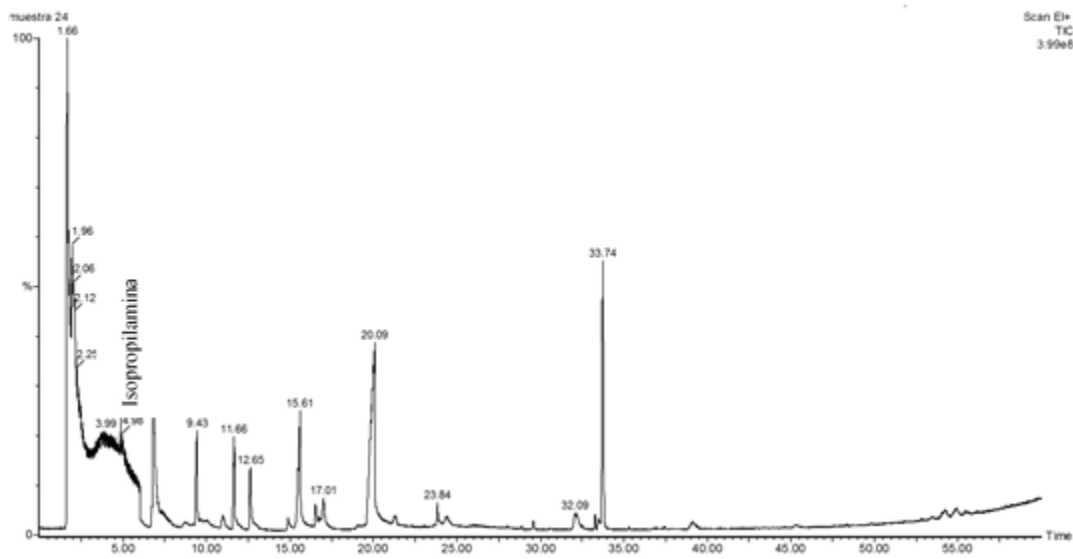
**Fig. 1. Perfiles cromatográficos de muestras de pulpo en deterioro. A), Compuestos identificados con la fibra 1 apolar (PDMS 100  $\mu\text{m}$ ), B), compuestos identificados con la fibra 2 intermedia (PDMS/DVB) 65  $\mu\text{m}$ .**

En las Fig. 1A y 1B se observa un número de compuestos volátiles en muestras de pulpo en proceso de deterioro, del total hallado, fue posible identificar 11 compuestos involucrados en el deterioro, entre los que se destacan algunas aminas biogénicas trazadoras del deterioro, así como ácido acético y ácidos grasos volátiles. En estudios similares por HS-SPME (15) se ha reportado la presencia de trimetilamina, ácido butanoico y ácido pentanoico en muestras de pescado almacenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , los cuales coinciden con algunos de los compuestos identificados en este estudio.

En el día 16 de almacenamiento a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y después de incubar las muestras 24 h, se pudo identificar con la fibra PDMS, seis compuestos trazadores del deterioro del pulpo: trimetilamina, ácido acético, ácido propionico, ácido isobutirico, ácido butanoico y ácido isobutilacetico (Fig. 1A). Estudios del deterioro de *O. vulgaris* (16) demostraron la presencia de TMA y otros compuestos volátiles. Sin embargo, las concentraciones reportadas son inferiores a las establecidas por otros autores (14) los cuales podrían indicar el grado de frescura de los moluscos evaluados. Este mismo compuesto (TMA)

se ha identificado por HS-SPME/CG-EM (17) en muestras de pescado. Por otra parte, también existen reportes (18) de la presencia de TMA en sardinas y pescados lo cual indica que es un compuesto que contamina los alimentos marinos. Existen reportes de que bacterias de los géneros de *Pseudomonas*, *Acinobacter* y *Moraxella* producen ácido acético y ácido butírico en alimentos con  $\text{pH} < 6$ , en este estudio fue posible identificar ambos compuestos, esto podría estar indicando la posible presencia de alguno de estos géneros en las muestras de pulpo deterioradas. Por otro lado, en esta misma etapa, se identificaron con la fibra PDMS/DVB, 4 compuestos trazadores del deterioro los cuales fueron dimetilamina, ácido pentanoico, ácido 4-metilpentanoico y ácido 2-metilpentanoico (Fig. 1B).

A los 21 días de almacenamiento en congelación, se identificó con la fibra PDMS/DVB, la amina biogénica isopropilamina el cual es otro de los compuestos importantes para predecir el deterioro de los alimentos (Fig. 2).



**Fig. 2. Perfil de volátiles de pulpo en deterioro. Se detectó el compuesto isopropilamina con la fibra de PDMS, 100 mm, al día 21 de almacenamiento y en un tiempo de 24 h de incubación a temperatura ambiente.**

Como se mencionó anteriormente, durante las primeras horas después de la incubación a temperatura ambiente, los análisis de las muestras no demostraron indicios de compuestos atribuibles al deterioro. Una de las razones podría deberse a que los microorganismos presentes tienen baja viabilidad o se encuentran en proceso adaptativo en esas etapas del deterioro, por lo cual no están activos metabólicamente. Otra razón puede deberse a que los MO requieren un mayor tiempo de activación al estar en estado latente durante el tiempo de almacenamiento a bajas temperaturas o tal vez a que existe una baja densidad microbiana por lo cual la actividad de descarboxilación de los aminoácidos para la producción de las aminas biogénicas volátiles no se ve reflejada.

## CONCLUSIONES

Para este análisis se requirió cantidades pequeñas de muestra, mínima manipulación y corto tiempo de análisis, lo cual puede ser de gran utilidad para las empresas de alimentos cárnicos ya que en poco tiempo se pudo conocer la calidad del alimento (5 h) a diferencia de otros métodos que requieren mayor tiempo (hasta 24 h) y a una mayor manipulación de la muestra. Este método permite diagnosticar en forma rápida la calidad de los alimentos, lo cual es de gran utilidad para las

empresas ya que los resultados rápidos permiten conocer la calidad del alimento antes de ser aceptado para su comercialización.

Se estandarizó un método analítico para la extracción y determinación de los compuestos volátiles asociados al deterioro del pulpo a través del uso de las fibras PDMS y PDMS/DVB para SPME. El uso de ambas fibras permitió extraer e identificar un mayor número de compuestos en función de su polaridad y afinidad a las fibras. Así, ciertos compuestos asociados al deterioro de los mariscos fueron detectados solamente con la fibra PDMS y otros con la fibra PDMS/DVB. Se identificaron 11 compuestos involucrados en el deterioro del pulpo, de los cuales, los más importantes fueron las aminas biogénicas dimetilamina, isopropilamina y trimetilamina. Así mismo, se detectó la presencia de ácido acético el cual es un indicador en las etapas tempranas del deterioro, otros compuestos identificados fueron ácidos grasos que son parte de los compuestos volátiles totales presente en las muestras de pulpo analizadas.

Este método de análisis de los compuestos volátiles puede ser aplicado con éxito para indicar el grado de deterioro en pulpo y otros alimentos de origen marino, a través de la detección de compuestos marcadores de deterioro tales como las aminas biogénicas.

## REFERENCIAS

1. Villarroel, R.; Cabello, A.; Figuera, B. y Vallenilla, O. Características bromatológicas de moluscos comerciales. Memorias del VI Congreso Científico de la Universidad de Oriente. 5 al 7 diciembre. Consultado Marzo 2007 File://D:\ALIMENTOS\TA006.HHTM. Diciembre 2001.
2. SAGARPA. Anuario Estadístico de Pesca. Secretaria del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, Gobierno Federal. México, 2012.
3. El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) presenta la Perspectiva estadística Yucatán. Diciembre 2012.
4. Huss, H.H. El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. FAO. Documento Técnico de Pesca N° 348, Roma. FAO, 1999.
5. FAO. Documento Técnico de Pesca. No. 334. Roma, FAO. 174 p, 1991.
6. Huss, H.H. Aseguramiento de la Calidad de los productos Pesqueros Documento Técnico de Pesca N° 334. Roma. FAO, 1997.
7. Quítral, V.; Abugoch J.; Vinagre, J.; Guarda M.; Larraín, M. y Santana, G. Efecto de tratamientos térmicos sobre las características químicas de carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*). Consultado marzo 2013. Disponible en <http://hdl.handle.net/2250/13472>, 2003.
8. Veciana-Nogués, M. T; Mariné-Font, A. y Vidal-Carou, M. C. J. Agric. Food Chem. 45: 1385-1389, 1997.
9. Pastoriza, L.; Sampedro, G.; Herrera, J.J. y Cabo, M. J. Sci. Food Agr. 17: 541-547, 1996.
10. Manriquez Allyson Dinamarca. Bases volátiles totales: Origen, Mecanismos, Determinacion y Prevencion se su formación en productos Marinos, 2006.
11. Baixas-Nogueras, S.; Bover-Cid, S.; Vidal-Carou, M.C. y Veciana-Nogués, M.T. J. Food Sci, 66 (1): 83-88, 2001.
12. Sánchez-Cascado Sofía Pons. Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del boquerón (*Engraulis encrasicolus*) y sus derivados tesis doctoral Universidad Barcelona, 2005.
13. Cuevas, G.L. Aplicación de métodos modernos para la caracterización del origen floral de mieles de abeja de Yucatán. Tesis Doctoral. Departamento de Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Mérida. México, 2007.
14. Connell, J. J. Control of fish quality. Ed. Fishing New. Ltd, Surry, Reino Unido, pp. 235, 1995.
15. Pham, A.J.; Schilling, M.W.; Yoon, Y.; Kamadia, V.V. y Marshall, D.L. J. Food Sci. 73: 268-274, 2008.
16. Cabello, A.M.; Villarroel, R.V.; Figuera, B.E.; Ramos, M.C.; Márquez, Y.V. y Vallenilla, O.M. Rev. Científica XIV (5): 457-466, 2004.
17. Iglesias, J. y Medina, I.J. Chromatogr. A 1192: 9-16, 2008.
18. Nishikawa, H.; Tabata, T. y Kitani, S. Food Nutr. Sci. 3: 1020-1026, 2012.