

ISSN 0325 - 1403

CNEA 434  
Informe

# Radiopasteurización del Filete de Merluza: III.

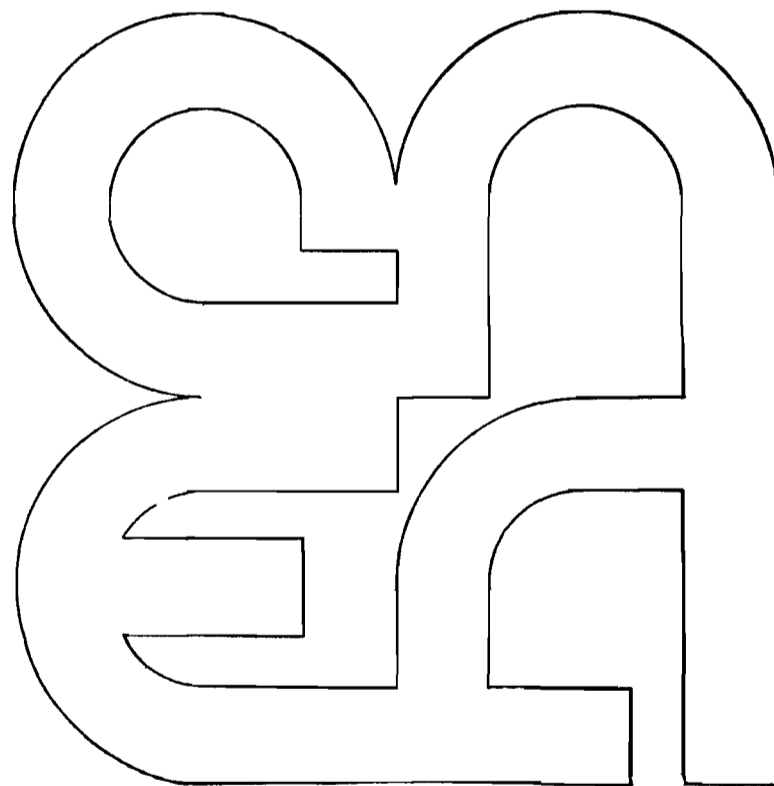
Estudio de las Proteínas Solubles Totales

Norma Kaupert

Comisión  
Nacional  
de Energía  
Atómica

República Argentina

Buenos Aires, 1977



INIS CLASSIFICATION AND KEYWORDS

C43

FOOD  
FISHES  
PASTEURIZATION  
RADURIZATION  
GAMMA RADIATION  
MYOSIN  
ACTIN  
RADIATION EFFECTS  
SEDIMENTATION

---

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA  
PRESIDENCIA DE LA NACION

**RADIOPASTEURIZACION DEL FILETE DE MERLUZA: III.\***

**ESTUDIO DE LAS PROTEINAS SOLUBLES TOTALES**

Norma Kaupert

Aceptado en Agosto de 1976

**RESUMEN**

Se analizó el sistema actinmiosina en filetes de merluza (*Merluccius, merluccius hubbsi*) sometidos a 0,50 Mrad de irradiación gamma.

Esta experiencia fue llevada a cabo para evaluar las propiedades físicas de estas proteínas, en filetes irradiados.

La extracción proteica del filete fue realizada inmediatamente después de irradiado, procesando al mismo tiempo muestras controles.

La velocidad de sedimentación de las proteínas se determinó en una ultracentrífuga Spinco L2-65 equipada con sistema óptico.

Los resultados experimentales demostraron que la dosis de 0,50 Mrad de radiación gamma no afecta las proteínas del sistema actinmiosina.

Este estudio fue realizado bajo contrato N° 1069/RI/RB, del Organismo Internacional de Energía Atómica.

\* La primera y segunda parte fue publicada en los Informes CNEA N° 360 y 381 respectivamente.

---

#### SUMMARY

##### *Radiopasteurization of "Merluccius, merluccius hubbsi" fillet. III Part.*

The actomyosin system of the "*Merluccius merluccius hubbsi*" fillet exposed to a dose of 0,50 Mrad gamma radiation was studied.

The experiment was performed in order to evaluate the physical properties of these proteins from fillet that has been irradiated to extend its storage time at 4° C.

The proteins extraction was made immediately after irradiation; at the same time, control samples were processed.

A Spinco L2-65 Ultracentrifuge with a Schlieren Optics Accessory was used for velocity sedimentation measurements on the protein solutions.

The results show that there are no changes in the sedimentation diagram of actomyosin system from irradiated fillet.

#### INTRODUCCION

Las proteínas desempeñan un papel muy importante en la calidad de un alimento destinado al consumo humano. Así las alteraciones del sabor, olor, apariencia y digestibilidad de un alimento irradiado pueden asociarse a modificaciones físico-químicas de sus proteínas.

Teniendo en cuenta tales antecedentes, se encaró el análisis de las proteínas fibrilares del sistema actinmiosina de filetes de merluza irradiados con 0,50 Mrad de Co-60.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la irradiación sobre el sistema actinmiosina como un conjunto, dando a la vez una imagen del comportamiento de cada uno de sus componentes, mediante la determinación del coeficiente de sedimentación aparente. Dicho parámetro está relacionado con el tamaño y estructura de las moléculas proteicas.

Para poder verificar los posibles cambios en las proteínas irradiadas se estudiaron paralelamente muestras controles (sin irradiar).

La información bibliográfica demuestra la importancia que reviste el sistema actinmiosina dentro de los componentes proteicos de la carne de pescado.

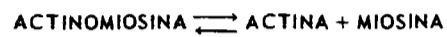
Dyer (1950), usando músculo de bacalao, halló que el contenido proteico era del 18% del cual el 70% correspondía al sistema actinmiosina. Señala

---

además la similitud de las proteínas musculares de pescado respecto a las de mamíferos, coincidiendo con los estudios hechos por Bailey en 1954.

Johnson y Landolt (1950-1951) observaron tres componentes en preparaciones de actinmiosina a partir de músculo de conejo. Estos son: actinmiosina, miosina y actina.

Estos autores postularon la existencia de una disociación reversible



provocada por concentración salina y ATP.

Hanoir (1955) señala que el músculo de pescado contiene una fracción globulínica consistente en actinmiosina, miosina, actina y tropomiosina o nucleotropomiosina, a las que se le suma en los mamíferos una fracción albuminoide de varios componentes.

Ellis y Winchester (1959) indican que el mayor componente del músculo de bacalao es la actinmiosina, además de tres componentes menores y una fracción de gel.

Masao Fujinaki y otros (1961) irradiaron carnes con 0,40 Mrad de irradiación gamma de Co-60, obteniendo como resultado de su estudio que tanto la actina como la actinmiosina pudieron ser perfectamente extraídas del material irradiado.

Ley F.J. (1965) señala que la irradiación de filetes de pescado crudo con 0,60 Mrad de Co-60 no produce pérdida de proteínas.

#### MATERIAL

En este estudio se utilizaron filetes de merluza cuyo tiempo de conservación, desde su captura hasta el momento en que fueron sometidos a las radiaciones, osciló entre 3 a 5 días. El proceso de fileteado se realizó en la planta industrial de la compañía *San Antonio* de Mar del Plata y fueron enviados a nuestros laboratorios en las condiciones habituales de comercialización.

Todas las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno de 100 micrones de espesor. El material fue procesado inmediatamente después de irradiado, analizándose simultáneamente muestras controles, según la metodología siguiente:

---

#### *Material Testigo*

Se procesaron unas muestras en las condiciones de arriba al laboratorio (4 a 6°C). Otras fueron colocadas en estufa a 34°C ± 1°C (temperatura aproximada de la cámara de Gammacell) durante 110 min, alcanzando así una temperatura intramuscular de 32°C ± 3°C. Por último se colocaron con hielo seco y a su vez se mantuvieron otras muestras a 34°C ± 1°C durante 110 min. En estas condiciones el músculo del filete registró temperaturas de 3°C ± 2°C.

Los tres grupos de muestras testigos así obtenidos, se denominarán en adelante como T, T (t amb) y T (hs) respectivamente.

#### *Material Irradiado*

Se irradió con una fuente de <sup>60</sup>Co cuya velocidad de dosis aproximada fue de 4,35 krad/min; en estas condiciones, se necesitaron 115 min de exposición para alcanzar la dosis de 0,50 Mrad.

La irradiación de los filetes se realizó en presencia de aire y bajo dos condiciones diferentes de temperatura. En unos casos, la exposición se realizó a la temperatura de la cámara del Gammacell, detectándose en el músculo de pescado 34°C ± 2°C; en otros, fueron irradiados en presencia de hielo seco, y luego de los 110 min de exposición el músculo adquirió la temperatura de 3°C ± 1°C. En adelante se las mencionará como 0,50 Mrad (t amb) y 0,50 Mrad (hs) respectivamente.

#### *ESTUDIO ANALITICO*

La extracción proteica fue hecha siguiendo el método de Dyer y colaboradores (1950) y de Ellis y Winchester (1959) con modificaciones. Así, se utilizó solución extractiva de ClNa ajustada a pH7 mediante solución reguladora NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. La concentración iónica de la solución reguladora fue de T/2 = 0,6. El tiempo total de trituración del músculo de pescado en la solución extractiva fue de 3 a 5 minutos, fraccionado en períodos de 10 segundos separados por 5 segundos de descanso.

El total de N proteico fue determinado por el método de Snow (1950) usando para su standarización el método de Jacobs (1956). Para determinar la velocidad de sedimentación de la solución proteica se utilizó una ultracentrífuga Spinco L2-65 equipada con sistema óptico para trabajos analíticos.

La velocidad de centrifugación fue de 59,780 r.p.m.; la temperatura de trabajo fue de 18°C ± 1°C y las fotografías fueron tomadas a los 8 y 12 minutos, a partir del momento en que la velocidad de centrifugación fue de 40.000 r.p.m.

---

No se hicieron correcciones por viscosidad para calcular los valores del coeficiente de sedimentación, que se expresaron en unidades Svedberg,  $S E \text{ cm/seg/dina/gr} \times 10^{13}$ .

### RESULTADOS

Los componentes del extracto de proteína solubles totales sedimentaron rápidamente y los picos difundieron con gran velocidad durante la ultracentrifugación. Se observaron 4 picos (figs. 1, 2, 3 y 4) enumerados de derecha a izquierda. El pico 1 sólo apareció en algunas muestras testigos e irradiadas de muy alta concentración proteica, 1,2 mg N/ml.

La alta viscosidad de estas soluciones concentradas reduce la difusión de este pico, permitiendo su observación. A baja concentración, este componente difunde tan rápidamente que es imposible detectarlo.

Debido a la excepcional aparición de este componente, no se ha podido calcular su coeficiente de sedimentación, que suponemos debe ser mayor que el del componente II.

El componente II aparece en los diagramas de sedimentación como un pico muy agudo y de lenta dispersión.

En los cálculos realizados para determinar su coeficiente de sedimentación, pudo observarse que el mismo variaba con la concentración.

Coincidiendo con Ellis y Winchester, estas características definieron una molécula asimétrica y de gran tamaño.

Para los casos de mayor concentración proteica obtenidos se ha determinado el valor de coeficiente de sedimentación del pico II que corresponde a un valor de 29 S; el mismo se ve aumentado a medida que baja la concentración.

Los componentes III y IV son fracciones proteicas que en todas las muestras aparecen con las mismas características. El pico III se presenta como un pico pequeño pero bien definido de 15 S de coeficiente de sedimentación, manteniéndose constante a diferentes concentraciones de proteína.

El pico IV se pudo observar bien en todas las muestras; aparece bien definido, su coeficiente de sedimentación fue de 11 S y no se observaron modificaciones por cambios de concentración.

**Ambas fracciones sedimentan rápidamente.**

---

### CONCLUSIONES

En base a los S obtenidos y en concordancia con la investigación de Hanoir (1955), se puede identificar al componente II como actinmiosina, al III como miosina y al IV como tropomiosina o actina globular.

De acuerdo a lo descrito por la literatura sobre este tema, se podía esperar que las condiciones de temperatura de las muestras durante la irradiación ofrecieran alguna influencia en las transformaciones provocadas en el material irradiado.

Schweigert (1956) señala que la irradiación sensibiliza a las proteínas a los cambios de temperatura; así mismo, este autor aconseja la irradiación de proteína en presencia de sales y a bajas temperaturas. Por otra parte Bacq y Alexander (1956) señalaron que la temperatura, si bien no influyen en los efectos directos de la radiación, juega un papel importante en los efectos secundarios.

Por estas razones se irradiaron muestras en frío y a la temperatura de la cámara del Gammacell; sin embargo, no se halló cambio alguno entre las muestras citadas.

Asimismo, no se observaron cambios en los diagramas de sedimentación de muestras testigos e irradiadas, lo que coincide con lo expresado por Kumta y Schreenivasan (1970). Ambos autores indican que cuando se irradia carne de pescado con 0,50 Mrad se produce pérdida de humedad retenida, pero no hay disminución de extractibilidad de las proteínas musculares.

Como conclusión, puede afirmarse que con la dosis de 0,50 Mrad de irradiación Gamma de  $^{60}\text{Co}$  no se afectan las proteínas del sistema actinmiosina del filete de *Merluccius merluccius hubbsi*.

---

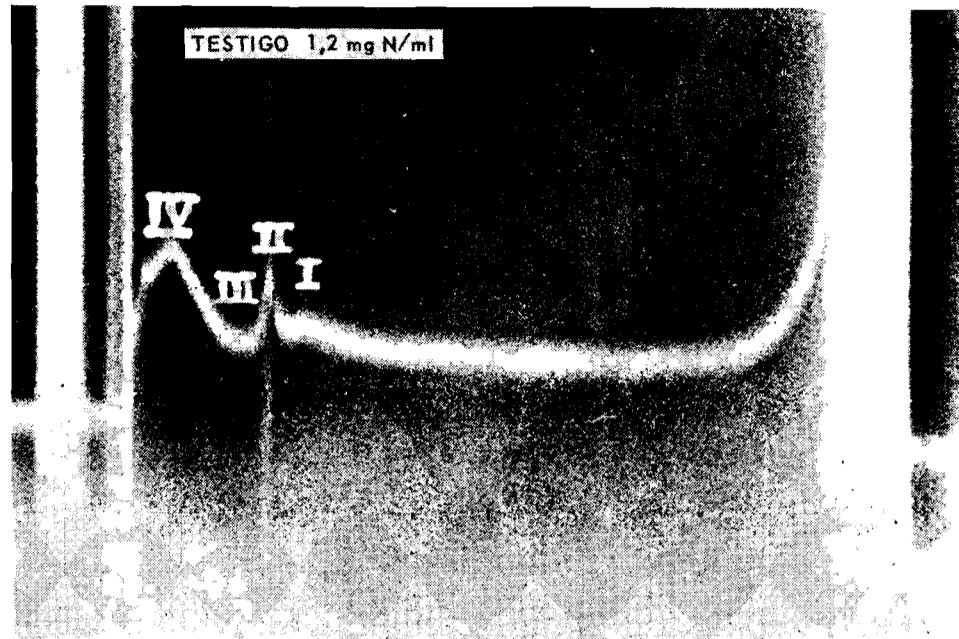


FIGURA 1

Diagrama de sedimentación de extracto proteico de muestra testigo de concentración 1,2 mg N proteico/ml. Velocidad de centrifugación 59 780 r.p.m.; temperatura 18°C; tiempo 12 minutos.

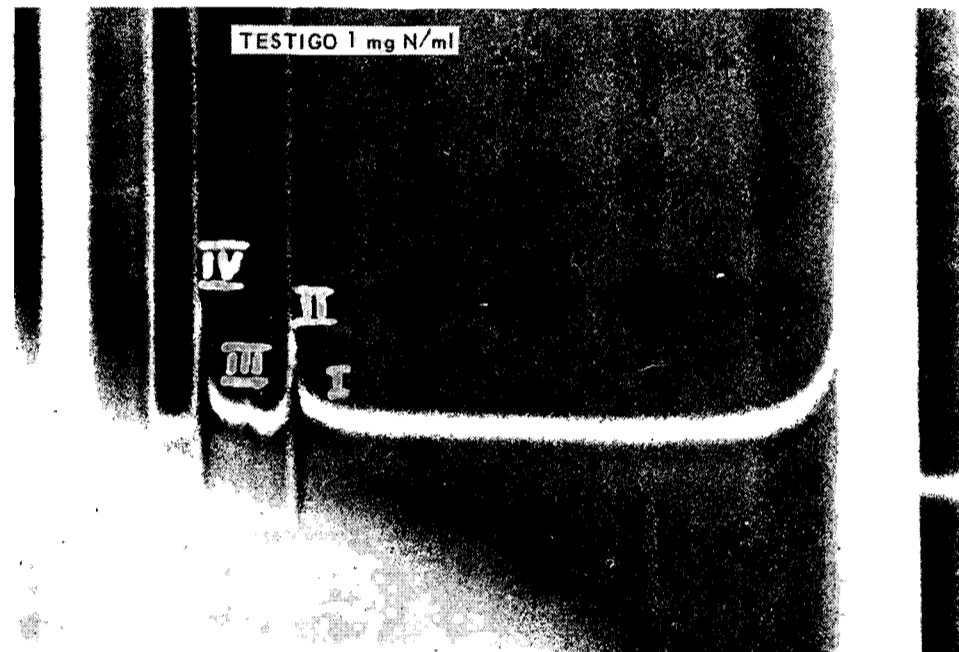


FIGURA 2

Diagrama de sedimentación de extracto proteico de muestra testigo de concentración 1 mg N proteico/ml. Velocidad de centrifugación 59 780 r.p.m.; temperatura 18°C; tiempo 12 minutos.

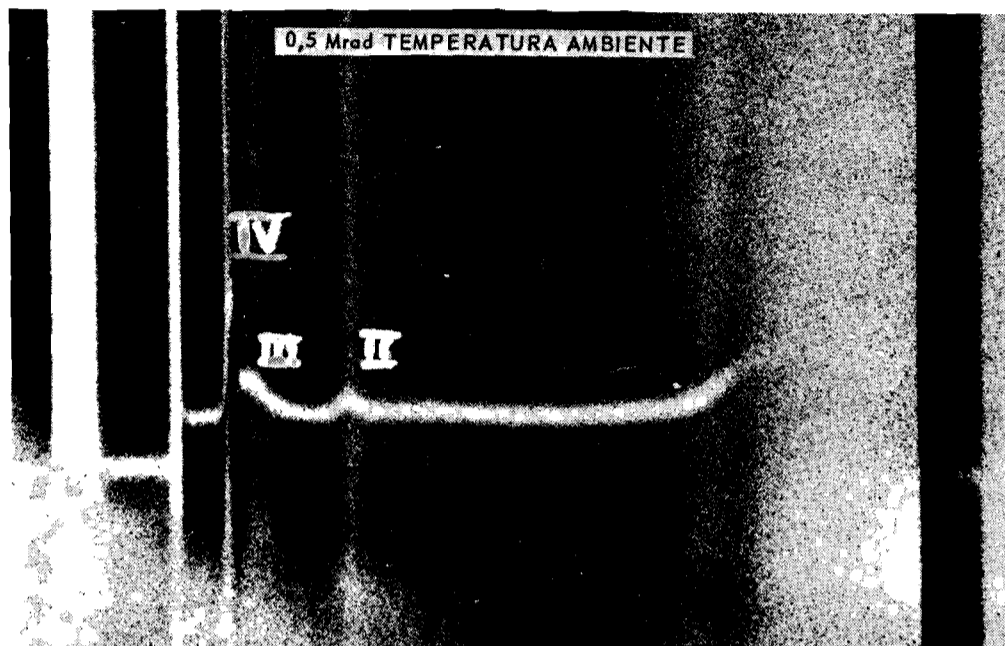


FIGURA 3

Diagrama de sedimentación de extracto proteico de muestra irradiada con 0,5 Mrad a temperatura de la cámara del Gammacell. Velocidad de centrifugación 59 780 r.p.m.; temperatura 18°C; tiempo 12 min.

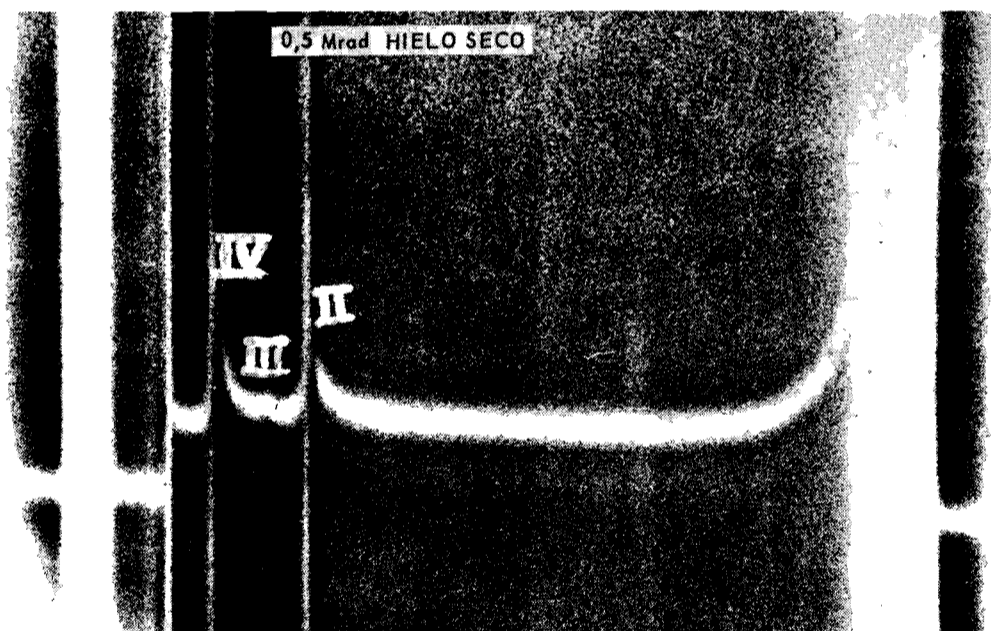


FIGURA 4

Diagrama de sedimentación de extracto proteico de muestras irradiadas a 0,5 Mrad en presencia de hielo seco. Velocidad de centrifugación 59 780 r.p.m.; temperatura 18°C; tiempo 12 minutos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BACQ y ALEXANDER - Nature 187, 846, 1956.
  - 2) BAILEY K. - The proteins Vol. 2 Academic Press Inc. Nueva York, 1954, p. 951.
  - 3) DYER W.J., FRENCH H.V., SNOW J.M. - Journal Fish Res. Bd Canadá 7, 585, 1950.
  - 4) ELLIS D.J. WINCHESTER P. - J. Fish Res. Bd. Canadá 16 (1) 33, 1959.
  - 5) FUJIMAKI, M., ARAKAWA N., OGAWA, G. - Journal Food Sci, 26, 178, 1961.
  - 6) JACOBS M. - Analyst 91, 502, 1956.
  - 7) JOHNSON P. y SANDOLT H.R. - Nature 165, 430, 1950.
  - 8) HAMOIR G. Adv. Prot. Chemistry Vol. X, Academic Press Inc, Nueva York 227, 1955.
  - 9) HAMOIR G. - Adv. Protein Chemistry Vol. X, Academic Press Inc, Nueva York 457, 1954.
  - 10) KUMTA V. y SCHREENIVASAN - Preservation of fish by irradiation, Procede-  
dente de una Junta FAO/IAEA, 1969, p. 75.
  - 11) SCHWEIGERT - Inst. J. Appl, Rad and Isotopes 6, 76, 1956.
  - 12) SNOW J.M.J. - Fish Res. Bd. Canadá 7, 594, 1950.
  - 13) LEY R.J. - Food Irradiation, Vol 5, Nº 4, 1965, p. A15.
-

---