

**Centro de Investigación en Alimentación
Y Desarrollo, R. I.**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA
CALIDAD DE LA SARDINA ENLATADA EN
SALSA DE TOMATE**

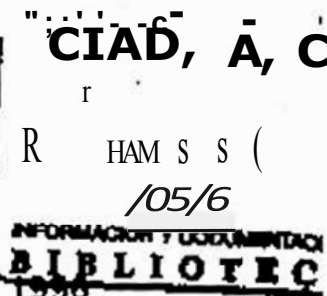
por

ROSA ELENA VILLEGAS OZUNA

**TESIS APROBADA POR LA
DIRECCION DE CIENCIA Y TECNOLOGIA
DE LOS ALIMENTOS
COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS ESPECIALIDAD
EN NUTRICION Y ALIMENTOS**

HERMOSILLO, SONORA

MAYO DE 1996



CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS.	ix
INDICE DE FIGURAS.	x
RESUMEN.	xi
INTRODUCCION.	1
REVISION BIBLIOGRAFICA.	3
La Pesca en el Estado de Sonora.	3
Pesquería de la Sardina.	5
Composición del Músculo de Pescado.	8
Lípidos.	9
Proteínas.	9
Minerales.	10
Nitrógeno no Proteico (NNP).	10
Historia de la Industria Enlatadora.	11
Enlatado.	11
Procesamiento de la Sardina para Enlatar.	12
Deterioro de Alimentos Marinos Enlatados.	13
Deterioro Antes del Procesado.	13
Deterioro Durante el Procesado.	15
Deterioro Después del Procesado.	15
Evaluación de la Calidad de Sardina Enlatada.	15
Pruebas Físicas y Sensoriales.	16
Pruebas Microbiológicas.	16
Pruebas Químicas.	16
Estándares y Normas de Calidad.	17
Frescura del Pescado y Estimación de su Calidad.	18

Principales Cambios Posmortem.	19
Camino de Degradación del ATP.	19
Índice K.	22
Lipólisis.	25
Oxidación de Lípidos como Índice de Calidad.	27
Proceso de Auto-oxidación de los Lípidos.	27
Productos Secundarios de la Reacción.	28
Factores que Afectan la Rancidez Oxidativa.	29
Control o Prevención de la Auto-oxidación.	30
Determinación del Grado de Oxidación.	31
Cambios Bioquímicos Resultantes del Deterioro Bacteriano.	32
Aminas Biogénicas en Pescado Enlatado.	33
Frescura y Aparición de Histamina y otras Aminas Biogénicas.	34
Producción de Bases Volátiles Totales (BVT).	38
MATERIALES Y METODOS.	40
Selección de la Materia Prima.	40
Preparación de la Muestra para los Análisis Químicos.	40
Evaluación de la Calidad Mediante Pruebas Físicas y Ponderales.	40
Pruebas Físicas.	40
Medición de textura.	40
Medición del color.	41
Medición del vacío.	41
Medición del espacio libre.	41
Pruebas Ponderales.	41
Peso neto, peso drenado y volumen de la salsa.	41
Evaluación de la Calidad Mediante Pruebas o Índices Químicos.	42
Índice de Peróxidos (IP).	42
Prueba del Ácido Trobarbitúrico (TBA).	42

Evaluación de la Calidad Mediante Pruebas Bioquímicas de Origen Endógeno.	43
Ácidos Grasos Libres (AGL).	43
Índice K.	44
Evaluación de la Calidad Mediante Pruebas Bioquímicas de Origen Microbiano.	45
Determinación de Histamina.	45
Bases Volátiles Totales (BVT).	45
Análisis Estadístico.	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	47
Pruebas Físicas y Ponderales.	47
Peso Neto, Peso Drenado y Volumen de Salsa.	47
Textura.	50
Color.	52
Vacío y Espacio Libre.	54
Pruebas Químicas.	56
Índice de Peróxidos (IP).	56
Índice del Ácido Tioarbitúrico (TBA).	58
Pruebas Bioquímicas de Origen Endógeno.	61
Ácidos Grasos Libres (AGL).	61
Índice K.	64
Pruebas Bioquímicas de Origen Microbiano.	67
Histamina.	67
Bases Volátiles Totales (BVT).	72
CONCLUSIONES.	77
BIBLIOGRAFÍA.	89

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1.	Volumen de Captura y Destino de la Sardina en México. 4
2.	Peso Neto, Peso Drenado y Volumen de la Salsa de Tomate para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada. 49
3.	Valores Promedio de Textura para la Sardina Enlatada de las Diferentes Marcas Estudiadas. 51
4.	Parámetros de Color "L", "a", "b" y Angulo de Matiz (θ) para la Salsa de Tomate de las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada. 53
5.	Vacío y Espacio Libre en Sardina Enlatada de Diferentes Marcas. 55
6.	Valor de Peróxidos para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada. 57
7.	Valor de Acido Tiobarbitúrico (TBA) para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada. 59
8.	Acidos Grasos Libres para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada. 63
9.	Indice K, ATP y Productos de Degradación en Músculo de Sardina Enlatada. 66
10.	Contenido de Histamina en Sardina Enlatada. 71
11.	Valor de Bases Volátiles Totales (BVT) para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada. 75

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Proceso de elaboración de sardina enlatada.	14
2.	Principales cambios posmortem del músculo de pescado.	20
3.	Camino de degradación del ATP en el músculo de pescado.	21
4.	Cambios en la cuenta bacteriana, pH, aminoácidos libres, proteínas solubles en sal, BVI, TMA y valor K en el músculo de lenguado durante el almacenamiento en hielo.	24
5.	Cromatograma típico de los estándares de ATP y productos de degradación por HPLC.	68
6.	Cromatograma típico de la cuantificación del ATP productos de degradación por HPLC, en una muestra de sardina enlatada en salsa de tomate.	69
7.	Cromatograma típico del estándar de histamina.	73
8.	Cromatograma típico de la cuantificación de histamina por HPLC, en una muestra de sardina enlatada en salsa de tomate.	74
9.	Comportamiento de los índices químicos y bioquímicos (endógenos y microbiológicos) por marca de sardina enlatada.	78

RESUMEN

A pesar de que la sardina destaca entre las especies que se capturan en el estado de Sonora por su volumen, costos de producción y alto valor nutritivo, no es un constituyente activo en la dieta de la población. En el presente estudio se evaluó la calidad de diferentes marcas de sardina enlatada en salsa de tomate: dos marcas estatales (E1 y E2), una nacional (N) y uno de importación (I). Se determinaron índices de calidad ponderales (peso neto, peso drenado y volumen de salsa), físicos (textura, color, espacio libre y vacío), químicos (índice de peróxidos y TBA), bioquímicos endógenos (índice K y ácidos grasos libres) y bioquímicos de origen microbiano (histamina y BVT). Se relacionó la calidad de la sardina enlatada con el grado de frescura y calidad microbiológica de la materia prima utilizada.

De las pruebas ponderales, solamente en el peso neto y peso drenado se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las cuatro marcas estudiadas; en la mayoría de las muestras se detectó un peso mayor que el declarado en la etiqueta, debido principalmente a la dificultad que se presenta en el llenado de la lata por la variabilidad en la talla de la sardina.

En lo que respecta a la textura, no se encontró diferencia significativa entre las marcas ($p > 0.05$); sin embargo, la E2 presentó la menor firmeza coincidiendo con el aspecto que presentaba el contenido a la apertura, ya que en algunos lotes de esta marca se encontraron sardinas desintegradas, con partes sin piel.

En la determinación del color de la salsa de tomate por colorimetría triestímulo los valores "L", "a" y "b" resultaron positivos en todos los casos lo cual sitúa al líquido de cobertura en el cuadrante rojo-amarillo, lo que corrobora el color rojo de éste. Las mediciones de espacio libre y vacío, no mostraron diferencia significativa entre marcas para ambos parámetros ($p > 0.05$). Los valores medidos para vacío cumplen con las recomendaciones dadas en la literatura sin embargo, el espacio libre fue menor al reglamentado en todas las muestras.

INTRODUCCION

La pesca sonorense en los años recientes ha venido ocupando uno de los primeros lugares en producción nacional. No obstante su crecimiento en cuanto a volumen de captura, la industria estatal procesadora de alimentos marinos no ha diversificado suficientemente sus líneas de proceso.

La pesca del Estado se apoya principalmente en la captura del camarón y sardina para consumo humano y uso industrial. La infraestructura actual se enfoca a su conservación y transformación y a la producción de harina de pescado. La elaboración de este último producto tiene como materia prima principal a la sardina, destinándose el 70-75% de la captura anual a este proceso, por lo que esta pesquería debe considerarse un recurso no adecuadamente utilizado, desde el punto de vista alimentario, nutricional y energético.

Una de las razones por la cual el industrial ha desplazado concientemente el uso de la sardina hacia la producción de harina de pescado, es que la sardina destinada a ello no requiere una calidad consistente que garantice la uniformidad del producto terminado.

Destinar el recurso sardinero al consumo humano en su presentación de enlatado, implica necesariamente un control de calidad riguroso del producto desde su captura, manejo a bordo, conservación, desembarco y procesado en la planta industrial. Para garantizar lo anterior, la industria sardinera requiere reacondicionar sus embarcaciones, modificar algunos aspectos de las prácticas de captura y control de la línea de producción.

El proceso de esterilización industrial al que es sometida la sardina enlatada puede garantizar la calidad microbiológica del producto terminado, pero no contrarrestar las manifestaciones químicas, bioquímicas, fisicoquímicas y de origen microbiano, resultantes del mal manejo al que es sometida la especie desde su captura hasta su presentación final, expresadas en la calidad organoléptica del producto al momento de

su consumo. La falta de uniformidad en la calidad del producto terminado y en algunos casos manifestaciones claras de utilización de materia prima en estados no óptimos para ser destinados a este producto, pudieran ser los factores principales que determinen la baja aceptación y consumo del mismo.

Dado que es necesario validar con datos precisos y confiables la suposición anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar los índices de calidad físicos, químicos y bioquímicos (endógenos y de origen microbiológico) en diferentes marcas de sardina enlatada en salsa de tomate (estatal, nacional y de importación) de venta en el mercado local, así como relacionar la calidad de la sardina enlatada con el grado de frescura y calidad microbiológica de la materia prima utilizada.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La Pesca en el Estado de Sonora

Sonora es uno de los estados productores de materias primas agrícolas, pecuarias y pesqueras más importantes del país, lo que le permite contribuir a satisfacer en forma considerable la demanda de productos alimentarios básicos y de uso industrial del resto de México.

La pesca sonorenses en los años recientes ha venido ocupando el principal lugar en la producción nacional. En esta zona, se encuentran alrededor de 200 especies que se pueden aprovechar comercialmente, lo cual hace que nuestro estado aporte aproximadamente un 30% a la captura nacional, siguiendo los estados de Veracruz y Campeche (SEPESCA, 1994). No obstante su crecimiento en cuanto a volumen de captura, la industria estatal procesadora de alimentos marinos no ha diversificado suficientemente sus líneas de proceso. La pesca del Estado se apoya principalmente en la captura de camarón y sardina para consumo humano (El Imparcial, 31/VII/1989).

En relación a su destino, las necesidades de la industria avícola se han impuesto sobre los usos de la sardina. Esto ha dado como resultado un cambio en el destino principal del producto: de ser en un principio destinado en su totalidad a enlatado para el consumo humano directo y haberse considerado a la harina de pescado como un subproducto, ha pasado este último a ser el producto principal.

En el Cuadro 1 se puede observar que de 1940 a 1952 el volumen total de la captura era destinado al enlate. Para el año de 1965 se observa un incremento paulatino de las capturas que va de aproximadamente 20,000 toneladas para ese año, a 121,642 en 1975 y 375,508 en 1985. Las proporciones que se destinaban al enlatado y a la reducción se fueron invirtiendo. En 1973 el 30% de la captura se destinaba a la producción de harina; para 1980, estaba por arriba del 70%.

Cuadro 1. Volumen de Captura y Destino de la Sardina en México.

Año	Captura Vol. total (ton)	Enlase Vol. Total (ton)	Harina Vol. total (ton)
1940	2,660	2,657	--
1941	2,876	2,863	--
1950	17,379	17,359	--
1952	2,374	--	--
1954	5,458	--	441
1955	5,244	--	1,493
1960	17,088	--	4,495
1965	20,361	--	-
1973	93,934	64,434	29,458
1974	84,985	54,978	29,901
1975	121,642	75,956	45,446
1976	143,230	64,182	79,048
1977	108,462	45,688	62,744
1978	137,357	53,602	87,755
1981	347,940	116,851	231,089
1983	384,295	86,769	297,515
1985	375,508	157,756	217,763
1986	472,340	110,505	361,835
1987	477,971	123,772	354,199
1988	446,696	107,521	339,175
1991*	309,448	60,692	248,756
1993*	70,310	27,997	42,313
1995*	279,611	50,031	229,580

Fuente: INEGI, CONAL. El Sector Alimentario en México. 1990. Secretaría de Marina, Estadísticas Básicas de la Actividad Pesquera. Secretaría de Industria y Comercio; Estadísticas Básicas de la Actividad Pesquera. Síntesis Pesquera. 1982-1987. Secretaría de Desarrollo Económico y Productividad, Gobierno del Estado de Sonora.

* Producción para el Estado de Sonora.

Aunque desde hace varios años se hacen esfuerzos para sustituir la harina de pescado en las raciones alimenticias para aves de engorda y de postura, no se ha llegado aún a encontrar un sustituto de costo igual a este producto. Según Doode (1990), entre los factores más importantes que hacen que la reducción sea más rentable económicamente, se encuentran los siguientes:

a) El capital de operación para la industria reductora es mucho menor al de la enlatadora.

b) Debido a la gran demanda de harina de pescado que existe en el mercado, la tonelada de sardina para reducción muchas veces se paga por arriba del precio oficial, lo que estimula las capturas destinadas a la reducción.

c) La recuperación de la inversión es inmediata ya que se paga contra entrega del producto.

d) El costo del empaque en el enlatado es muy elevado (30-40% del costo de producción).

e) Los márgenes de utilidad de la harina de pescado son mucho mayores que los del enlatado en una relación beneficio/costo.

Además, algo muy importante a considerar es -que es condición para el enlatado- que la sardina llegue en buen estado, mientras que para la fabricación de harina, no es un requisito: siempre habrá alguna planta que lo reciba aunque llegue en estado de franca descomposición (Doode, 1990).

Pesquería de la Sardina

Las sardinas son especies pelágicas costeras de aguas tropicales y subtropicales, de hábitos gregarios que se localizan en densos bancos. Según la edad, se encuentran cerca de la costa o lejos de ella, formando cardúmenes que varían en densidad desde unas cuantas toneladas, hasta varios cientos de ellas (Ruiz, 1979; Whitehead, 1985).

La pesquería de la sardina en el Estado de Sonora tiene sus orígenes a mediados de los años sesenta, cuando este pelágico comienza a aparecer en el Golfo de California

como resultado, al parecer, de migraciones desde la costa occidental de la Baja California.

Hacia finales del siglo pasado, la zona de captura más importante de estas especies en el Pacífico era en el norte, en el área de Vancouver, Canadá. Años después, hacia la tercera década de este siglo, la población de sardina comenzó a escasear para aparecer hacia el sur de la misma costa, en las cercanías de Monterey, California. En esta zona pudo ser aprovechada con éxito durante varios años, alcanzando la captura su máximo volumen en California durante la temporada 1936-37 con 726.124 toneladas (Doode, 1990).

En México, entre los años 1930 y 1940, la pesca de sardina se realizaba entre Ensenada e Isla de Cedros. Debido al desplazamiento del recurso, la actividad se trasladó hacia el sur por la zona de Bahía Magdalena, B.C.S. Para 1960 se manifestó notablemente la desaparición de la sardina en las cercanías del puerto de Ensenada. Hacia 1967, con el descubrimiento de grandes concentraciones de sardina en el Golfo de California, Guaymas se convierte en el principal puerto sardinero de México (Doode, 1992).

Las especies encontradas en el Golfo de California son: sardina monterey (*Sardinops sagax caerulea*), crinuda (*Opisthomema libertate*), bocona (*Catengrulis mysticeatus*) y japonesa (*Etrumeus teres*) (Robles, 1988). La sardina monterey, la más adecuada para el enlatado, pertenece al orden Clupeiformes; familia Clupeidae; subfamilia Clupeinae; género *Sardinops*; especie *sagax caerulea* (Nelson, 1984; Whitehead, 1985).

Las tallas de sardina monterey en las capturas varían entre 15 y 19 cm. El cuerpo es moderadamente comprimido con mandíbula superior redondeada y sin entalladuras cuando es vista de frente. La mandíbula inferior es prominente en relación a la superior y la maxila alcanza casi el centro del ojo. La aleta anal contiene de 15 a 20 radios, con los últimos dos alargados. El cuerpo presenta escamas de igual tamaño sobre los francos y una hilera de lunares azul oscuro en los costados (Alstrom, 1960).

Como especie migratoria, la sardina se encuentra distribuida por el Golfo de California en diferentes estadios fisiológicos. Así, en el mes de abril se han localizado

huevos de sardina monterey en las cinco zonas de mayor importancia: boca del Golfo de California; la zona costera entre Cabo San Lucas e Islas Cerralvo; desde Isla del Carmen a Punta Chivato y Bahía Concepción; la zona costera entre Mazatlán y Altata y de Agiabampo hasta Bahía de Kino. Sin embargo, en algunos de estos lugares se ha encontrado también en los meses de febrero, junio y diciembre (SEPESCA, 1987).

Las larvas son encontradas en el mismo litoral que los huevos, no obstante un poco más al norte. Por otra parte, los juveniles se han reportado principalmente en la costa oeste del golfo, desde el sur de Bahía La Ventana hasta el Canal de Ballenas y en la costa oriental, al sur de Guaymas. Estos migran hacia el norte a sitios de engorda localizados al norte de la Isla de Tiburón y alrededor de la Isla Angel de la Guarda (SEPESCA, 1987).

Una vez alcanzado el grado de madurez, la sardina monterey se concentra desde Bahía de Kino hasta Yavaros y frente a Bahía Ojuira, sitios de predesove en los meses de septiembre a diciembre. El desove se lleva a cabo a lo largo de la zona costera de ambos literales del golfo en los meses de noviembre a mayo, con fuertes desoves en enero y febrero, coincidiendo el predesove y desove con la temporada de pesca (SEPESCA, 1987). La captura de este recurso se lleva a cabo durante la noche, estando restringida su pesca a los quince días del mes cuyas noches son de completa oscuridad (Ruiz, 1979). Se han dado varias explicaciones del comportamiento migratorio de la sardina por parte de los estudiosos de este fenómeno:

a) Se plantea que la sardina tiene un ciclo de aproximadamente 80 años, al cabo de los cuales se desplaza a otra zona. Este fenómeno de distribución cíclica fue demostrado por Soutar e Isaacs en 1969, al examinar núcleos de sedimentos del canal de Santa Barbara, California, encontrando que la sardina monterey ha tenido 12 ciclos de ocurrencia en 1850 años, es decir ciclos de aproximadamente 80 años (Doode, 1990).

b) Según el Centro Regional de Investigación Pesquera (CRIP) de Guaymas, es más factible que el desplazamiento de la sardina se atribuya a condiciones hidrográficas. Es decir, a parámetros hidrológicos, principalmente la temperatura del agua. Tal sería el caso de la corriente llamada del "Niño", que trae consigo un aumento considerable de

la temperatura del agua y como consecuencia de ello una disminución de su salinidad y de las concentraciones de plancton de las cuales se alimentan estos peces (Doode, 1990; Pesca Industrial, 1990).

c) De igual forma, se plantea que la sobreexplotación del recurso es la causa principal de la desaparición de la sardina en una determinada zona. Lo anterior basado en la aparición de tallas juveniles de la especie en cantidades significativas, en las muestras de captura que se toman de las embarcaciones.

Hasta ahora, la explicación con la que mayor número de investigadores parece estar de acuerdo, es que la combinación de ciertas condiciones hidrográficas, con elevados niveles de explotación ha sido la causa de la desaparición de esta especie en esas zonas. En torno a esto, aún existe polémica acerca de los niveles permisibles de captura para no sobreexplotar el recurso (Doode, 1992).

Composición del Músculo de Pescado

Generalmente, en el pescado se observan dos tipos de músculo: el blanco y el oscuro o rojo. La proporción de éstos varía entre especies. La sardina *Sardinops melanostrica* se caracteriza por contener una alta proporción de músculo oscuro, que varía de 20-30% (Watabe *et al.*, 1989).

El músculo oscuro debe su coloración roja a la gran cantidad de mioglobina (Hashimoto *et al.*, 1979). Además, es rico en citocromos y mitocondrias (Watabe *et al.*, 1991), lípidos y glucógeno. Posee un alto nivel de enzimas del metabolismo aeróbico, por lo que se deduce que podría actuar como un hígado suplementario, transfiriendo metabolitos al músculo blanco adyacente, además de proporcionar al músculo la energía necesaria para la actividad de nado. Por lo que respecta al músculo blanco, éste no presenta altas concentraciones de estos componentes (Hashimoto *et al.*, 1979).

La composición química muscular depende de varios factores, entre ellos: genéticos, morfológicos, fisiológicos, ambientales y condiciones de vida (alimentación). Además, hay variación de especie a especie, entre individuos de una misma especie y en

la localización anatómica. Así, el contenido de grasa es mayor en el tejido ventral que en otros tejidos (Robles, 1988).

Los principales constituyentes del músculo de pescado son: agua 66-84%; proteína 15-24%; lípidos 0.1-22% y cenizas 0,8-2%. Además, contiene cantidades mínimas de azúcares, trazas de algunos minerales, así como algunas vitaminas solubles en agua y grasa (Jacquot, 1961).

Lípidos

Para la sardina del Japón, *Sardinops melanosticta*, se ha reportado un contenido de lípidos de 17% en la estación de invierno (Cho *et al.*, 1989), mientras que para la sardina del atlántico se reporta mayor contenido de grasa en otoño (8.6%) que en primavera (2%). Se ha observado que la sardina en sus dos primeros años de vida es inmadura y que su contenido de grasa se mantiene alrededor del 3%; sin embargo, al final del tercer año, cuando se reproduce, varía entre 5 y 15%, dependiendo de la estación. Frecuentemente, el músculo alcanza su máximo contenido de grasa antes del desove del pez. Sonu (1986), reportó que el contenido de grasa en el músculo oscuro de la sardina (*Sardinops melanosticta*) fluctúa entre 2.6 y 18.4%.

Proteínas

Otro de los principales componentes del músculo de pescado son las proteínas, las cuales se clasifican en base a su solubilidad en: sarcoplásmicas, miofibrilares y del estroma.

Las proteínas sarcoplásmicas o metabólicas están constituidas por enzimas glucolíticas (amilasas, proteinasas, lipasas, etc.) y pigmentos musculares (mioglobina). Constituyen en promedio el 20-30% del total de las proteínas musculares. Se ha reportado un contenido de estas proteínas en músculo oscuro y blanco de sardina, *Sardinops melanosticta*, de 23-29% y 33-37%, respectivamente (Hashimoto *et al.*, 1979).

Las proteínas miofibrilares, las cuales constituyen a las miofibrillas formando el elemento contráctil, comprenden aproximadamente un 66-77% del total de las proteínas del músculo (Suzuki, 1981). Están formadas principalmente por miosina, actina y las denominadas proteínas reguladoras: troponina, troponina y actinina. El contenido de proteínas miofibrilares reportado en músculo oscuro y blanco para *Sardinops melanosticta* es de 62-66% y 59-61%, respectivamente (Hashimoto *et al.*, 1979).

Las proteínas del estroma se localizan en la periferia de la célula muscular y están formadas por colágeno, reticulina y elastina. Hashimoto y colaboradores (1979), reportaron un contenido de estroma en músculo oscuro y blanco de *Sardinops melanosticta* de 2-3% y 1-2%, respectivamente.

Minerales

La sardina muestra un mayor contenido de calcio, fósforo y hierro, en comparación con otras especies como macarela, bonito y bacalao. Pivarnik *et al.* (1989), determinaron cinco macroelementos: calcio (Ca), potasio (K), magnesio (Mg), fósforo (P) y sodio (Na) y cuatro microelementos, hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu) y manganeso (Mn) en salmón ahumado, arenque y pescado blanco ahumado. Todos los productos contenían al menos el 2% de los requerimientos diarios de estos minerales. En particular, los alimentos marinos son una excelente fuente de potasio (68.5 mg de K/100 g para arenque y 423 mg de K/100 g en pescado blanco ahumado).

Dudek *et al.* (1989), estudiaron el efecto del cocinado y enlatado sobre el contenido de minerales en pescado. Las pérdidas fueron mínimas con excepción de 10 a 25% para el Na^+ y K^+ . El pescado enlatado mostró incremento en Zn^{++} y Fe^{++} , atribuyéndolo a la contribución del recipiente en el cual el producto fue envasado.

Nitrógeno no Proteico (NNP)

Los constituyentes nitrogenados no clasificados como proteínas comprenden entre 0.5 y 1% del peso total del músculo. Los componentes mayores son el óxido de

trimetilamina, urea, taurina, péptidos, aminoácidos y nucleótidos (Konosu *et al.*, 1974). Muchos de estos compuestos han sido relacionados con el sabor del pescado (Jones, 1963) y los productos de degradación del ATP tales como inosina e hipoxantina han sido correlacionados con el sabor y la frescura del pescado (Spinelli, 1971).

Historia de la Industria Enlatadora

En 1795 Nicolás Appert, repostero francés, inició los estudios sobre conservación de alimentos, estimulado en parte por el premio de 12.000 francos ofrecido por el gobierno de Francia para mejorar la alimentación de las tropas napoleónicas. Hasta 1804 encontró un método satisfactorio que consistía en lo siguiente: se envasaba el alimento en recipientes de vidrio, se cerraban no muy apretados y después se calentaban en agua hirviendo por períodos definidos y al final se cerraban herméticamente. En 1810 recibe el premio por sus trabajos. Aparentemente, Appert no comprendió el papel que desempeñaban los microorganismos en la descomposición de los alimentos y consideraba la expulsión del aire el principal factor en la conservación (Van den Broek, 1961).

Antes de 1810, en Holanda ya se usaban envases de hojalata para la conservación de pescado, que antes se sometía a un proceso de salado y ahumado, después se envasaba, se adicionaba con mantequilla o aceite de oliva y finalmente se cerraban los envases. El camarón se empezó a enlatar en Nueva Orleans en 1875 y la sardina en Maine en 1876.

Enlatado

El principal objetivo del enlatado, es obtener un producto estable que pueda ser almacenado en recipientes adecuados por un período considerable (al menos dos años), sin que sufra deterioro, mientras retiene las cualidades nutricias y sensoriales deseables (Anónimo, 1988).

El procesamiento térmico de los alimentos enlatados se realiza con la finalidad de destruir y/o inactivar las bacterias que causan descomposición y que representan un peligro para la salud humana. Esto es lo que se conoce como esterilidad comercial o más bien "estabilidad comercial". Esto no implica una verdadera esterilidad, sino meramente que un alimento enlatado está libre de patógenos y se conservará por aproximadamente dos años bajo condiciones normales. Un proceso de enlatado puede ser considerado exitoso si solamente una lata en 10.000 corre el riesgo de deterioro (Van den Broek, 1961).

Al parecer las bacterias formadoras de esporas y aún asporógenas pueden estar presentes en el pescado enlatado sin causar deterioro. Esta es la llamada "latencia" que con frecuencia se ve favorecida por la presencia de grasa, como en el pescado empacado en aceite, donde la bacteria puede estar encapsulada y volverse menos sensible al calor. Las esporas termoresistentes más importantes parecen ser de anaerobios mesofílicos (*Clostridium sporogenes*, *Cl. putrefaciens*) produciendo olores pútridos y mesófilos aerobios (*Bacillus* spp.) dando cambios en el color, sabor y textura.

Puesto que es prácticamente imposible predecir cuales especies de bacterias resistentes al calor estarán presentes en un alimento, es más seguro llevar a cabo el procesamiento de tal manera que el patógeno formador de esporas más peligroso, *Clostridium botulinum*, sea destruido (Abahouch, 1987). Este es un microorganismo capaz de desarrollarse en alimentos no ácidos ricos en proteínas, como el pescado (pH 6-7), y formar una toxina potente. Las curvas de muerte térmica de varias cepas de este organismo han sido establecidas y se ha observado que el tratamiento térmico del contenido entero de la lata debe ser al menos equivalente a 120°C/4 min o 115°C/10 min, para matar a la cepa más resistente, aún en grandes cantidades.

Procesamiento de la Sardina para Enlatado

La tecnología tradicional divide la operación de enlatado de sardina en 6 etapas: pretratamiento (pesado, lavado); empaque en las latas; precocinado; llenado y sellado;

esterilización y operaciones finales (Anónimo, 1988). En la Figura 1 se presenta el proceso para la elaboración de sardina enlatada, desde la captura hasta su distribución.

Deterioro de Alimentos Marinos Enlatados

La aplicación de buenas prácticas de manufactura es de gran importancia para la industria enlatadora de alimentos marinos, con el fin de garantizar la calidad y seguridad de los productos. El deterioro puede ser indicado por la apariencia anormal de las latas o malos olores, aunque un producto conteniendo toxinas puede no mostrar tales signos externos o visibles (Ababouch, 1988).

Las causas del deterioro pueden ser originadas antes del procesamiento, en el transcurso de éste y/o después del proceso de elaboración.

Deterioro antes del Procesado

Este tipo de deterioro toma lugar antes de que el producto enlatado sea térmicamente procesado. Puede ser causado por acción microbiana y/o enzimática, dando como resultado una acumulación de gas, desarrollo de olores y la presencia de un número excesivo de células microbianas muertas en el producto final. En algunos casos, esas bacterias son patógenas capaces de producir toxinas termoestables, las cuales pueden causar envenenamiento alimenticio.

La calidad del material crudo es una de las determinantes más importantes del producto terminado. Por lo tanto, es necesario que el material crudo sea inspeccionado antes del procesamiento. El material de calidad pobre deberá ser removido del área de procesamiento. Cada paso en la elaboración, si no es manejado y/o controlado en forma apropiada, presenta un potencial para el deterioro del producto (Ababouch, 1988).

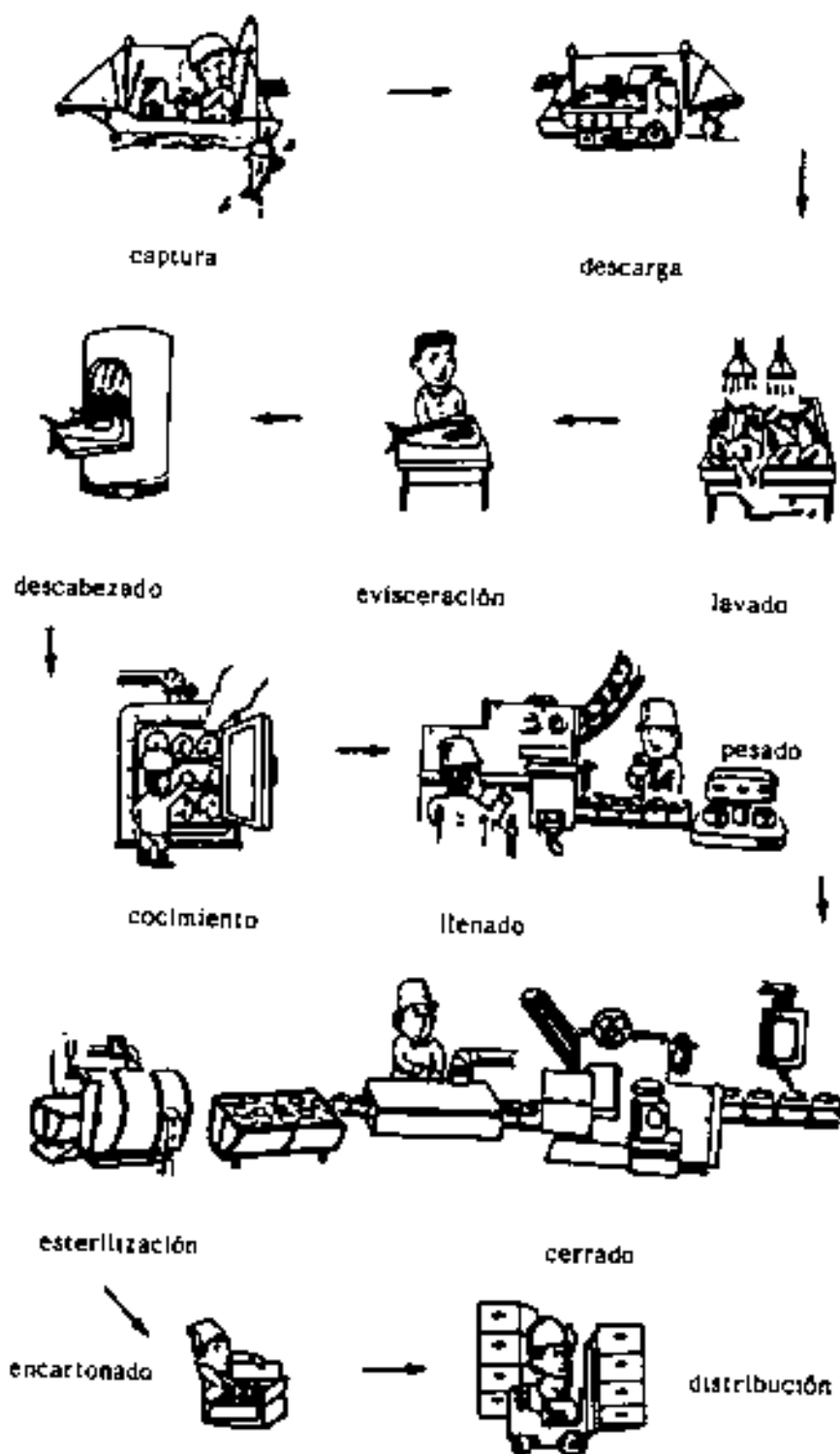


Figura 1. Proceso de elaboración de sardina enlatada.

Fuente: Neave (1986).

Deterioro Durante el Procesado

El deterioro durante el procesamiento puede ser causado por un diseño defectuoso del proceso térmico. Las esporas bacterianas pueden sobrevivir a un proceso de calor, si la temperatura inicial del producto, el tiempo de procesado y la contaminación del producto se desvían del óptimo. El equipo de procesamiento con calor y el procedimiento utilizado, el tiempo de procesado y la temperatura deben ser cuidadosamente monitoreados, controlados y registrados para asegurar la esterilización comercial adecuada (Pesca Industrial, 1989; Ababouch, 1988).

Los alimentos de baja acidez pueden deteriorarse si son almacenados a altas temperaturas ($>40^{\circ}\text{C}$), debido al crecimiento de bacterias formadoras de esporas. Consecuentemente, las latas deberán ser rápidamente enfriadas a $35\text{--}40^{\circ}\text{C}$ al final del proceso (Ababouch, 1988).

Deterioro Después del Procesado

Este tipo de deterioro toma lugar cuando los contaminantes microbianos penetran en la lata después del proceso de esterilización. Las principales causas son defectos en el cierre de las latas, presencia de contaminantes bacterianos en el agua de enfriamiento o un manejo inadecuado de las latas calientes después del procesado (Ababouch, 1988).

Evaluación de la Calidad de Sardina Enlatada

El pez sufre cambios irreversibles después de su captura, resultando en una pérdida de la calidad. Existen numerosas pruebas de laboratorio para evaluar la calidad, las cuales se clasifican en:

- a) físicas y sensoriales
- b) microbiológicas
- c) químicas

Ninguna de ellas puede servir satisfactoriamente como prueba de calidad por sí misma; normalmente se combinan resultados de las tres para la evaluación de la calidad del pescado (Siang y Tsukuda, 1989).

Pruebas Físicas y Sensoriales

El pez sufre cambios en su color, textura y olor después de la muerte. Un manejo poco cuidadoso puede originar daños físicos. Los cambios físicos con frecuencia son usados como un primer paso para la evaluación de la calidad (Siang y Tsukuda, 1989).

Pruebas Microbiológicas

El músculo de un pez normal, saludable, se supone que es estéril. Sin embargo, la superficie y agallas están expuestas a las bacterias del medio ambiente. Después que el pez es capturado, estará sujeto a contaminación por bacterias en distintos pasos de su manejo, procesamiento y distribución antes de llegar al consumidor. La calidad microbiológica es enfocada a dos grupos de microorganismos: las bacterias patógenas que pueden causar enfermedades a humanos y las bacterias putrefacticas que causan el deterioro del pescado mismo. Entre los índices de calidad de origen microbiano se citan la determinación de trimetilamina (TMA), bases volátiles totales (BVT) o nitrógeno básico volátil y la formación de histamina (Siang y Tsukuda, 1989).

Pruebas Químicas

Cuando el pez muere, los sistemas enzimáticos internos en sus tejidos inician procesos autohíticos o digestivos afectando proteínas y lípidos, con la subsecuente reducción de su frescura. Los índices químicos son usados para medir los componentes involucrados en esos procesos de degradación. Las ventajas de los índices químicos sobre los procedimientos físicos y sensoriales es que son objetivos. Sin embargo, debido a la

enorme variación biológica encontrada en diferentes organismos, los índices químicos deben ser usados cuidadosamente y en conjunto con información generada por otras pruebas (Siang y Tsukuda, 1989). Entre los índices químicos más utilizados se encuentra la determinación de peróxidos (IP) y el valor de ácido tiobarbitúrico (TBA).

Estándares y Normas de Calidad

Las conservas de pescado son alimentos de baja acidez, con un pH mayor de 4.6 y una actividad de agua mayor de 0.85. Esta característica del producto, lo convierte en un medio ideal para el crecimiento de *Clostridium botulinum*, bacteria patógena que en condiciones favorables produce una toxina que es considerada como una de las sustancias más venenosas que existen, ya que un microgramo de ésta puede ocasionar la muerte de un individuo. El *Clostridium botulinum* es utilizado como un índice o parámetro para diseñar procesos térmicos para los alimentos enlatados de baja acidez. Es ésta la razón de la gran importancia de efectuar procesos térmicos correctos a fin de evitar cualquier riesgo de una mala esterilización (Pesca Industrial, 1989).

De acuerdo con el Comité del Codex Alimentario sobre pescados y derivados (ALINORM 76/18), las conservas de sardinas y de productos del tipo sardina deben ser preparados con pescados enteros y limpios. La materia prima puede ser fresca o congelada y debe ser apropiada para el consumo humano. El líquido de cobertura debe estar en buenas condiciones, pudiéndose emplear jugo natural o agua, escabeches, gelatina, aceite comestible, salsas y otros.

Se deben quitar por completo la cabeza y las agallas. Las escamas y/o la cola pueden ser removidos. Si el pescado es eviscerado, deben quedar prácticamente libres de partes de vísceras, con excepción de las ovas del riñón. En caso de no ser eviscerados, deben estar prácticamente libres de alimento no digerido que pueda perjudicar la calidad del producto. El pescado puede ser cocido o ahumado. Después de su cierre, los recipientes deben ser esterilizados mediante calor y vuelta a enfriar (Pesca Industrial, 1989).

Existen además normas de etiquetado de los alimentos envasados, dados por la Comunidad Económica Europea ("Norma general de etiquetado, presentación y publicidad de los alimentos envasados", decretada el 12 de agosto de 1982). Dichas normas se refieren a las especificaciones en cuanto al nombre correcto del producto, lista de ingredientes, pesos y medidas, marcado de fechas, instrucciones de conservación e identificación del lote del fabricante, entre otros (Millo, 1982).

El método más común, rápido y generalmente aceptado para detectar pescado descompuesto ha sido por medios organolépticos. La subjetividad de este método y la necesidad de obtener y entrenar gente capaz de detectar la descomposición a un grado relativamente alto de exactitud ha sido un problema e indica la necesidad de un método químico (Mietz y Karmas, 1977).

A la fecha, se han utilizado varios índices químicos para determinar la descomposición o grado de frescura en productos pesqueros. Hillig y Clark (1938), usaron ácidos volátiles como un índice, el cual fue más tarde expandido para incluir ácidos acético y succínico, alcohol etílico, bases volátiles, aminas volátiles y trimetilamina. Otros autores investigaron cambios en lípidos y en la composición de ácidos grasos, liberación de H_2S , productos del rompimiento de nucleótidos y otros compuestos químicos (Mietz y Karmas, 1977).

Trabajos recientes que involucran descomposición, se han centrado alrededor de la producción de aminas volátiles como dimetilamina y trimetilamina, amoníaco y otras aminas volátiles de peso molecular mayor. Compuestos nitrogenados no volátiles como aminoácidos, hipoxantina, indol y escatol y otras aminas especialmente histamina e histidina han sido extensamente estudiados y han mostrado tener, en muchos casos, una correlación ya sea con la frescura o descomposición de productos de pescado (Mietz y Karmas, 1977).

Frescura del Pescado y Estimación de su Calidad

Puesto que la frescura del pescado disminuye rápidamente, ésta puede ser considerada un sinónimo de calidad, no solamente de los productos que son consumidos

crudos o que se cocinan en el hogar, sino también de aquéllos que son procesados (Ehira y Uchiyama, 1986).

Principales Cambios Posmortem

Una vez que el pescado muere, no hay transporte de oxígeno, para la circulación, por lo que se desarrolla una condición anaeróbica en el músculo que trae consigo una serie de cambios bioquímicos como son: la autólisis, que involucra la degradación del ATP, disminución del pH y desnaturalización de las proteínas; la hidrólisis y oxidación de las grasas y la producción de compuestos indeseables por acción bacteriana (Figura 2).

Camino de Degradación del ATP

En el músculo vivo, el ATP es obtenido en la mitocondria por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa (Lehninger, 1982); después de la muerte, no hay oxígeno disponible que permita producir más ATP por este medio, por lo que se obtiene a partir de la creatinina fosfato y la adenilato quinasa que convierte 2 ADP en una molécula de ATP y una de AMP. Esta fuente de energía cae en los primeros minutos posmortem.

La mayor fuente anaeróbica de ATP es la glucólisis que convierte glucógeno en ácido láctico, pero ésta cesa cuando el pH cae a niveles que inhiben la actividad de las enzimas glucolíticas (Hultin, 1985; Iwamoto *et al.*, 1988; Watabe *et al.*, 1991). El ATP sufre una rápida defosforilación y desaminación a monofosfato de inosina (IMP) después de la muerte. El IMP acumulado es degradado, más lentamente a inosina (HxR) y luego a hipoxantina (Hx) (Dondoro *et al.*, 1982) (Figura 3).

La actividad de las enzimas que participan en la degradación de nucleótidos varía con la especie y depende también de la temperatura, pH, manipulación, etc.; es decir,

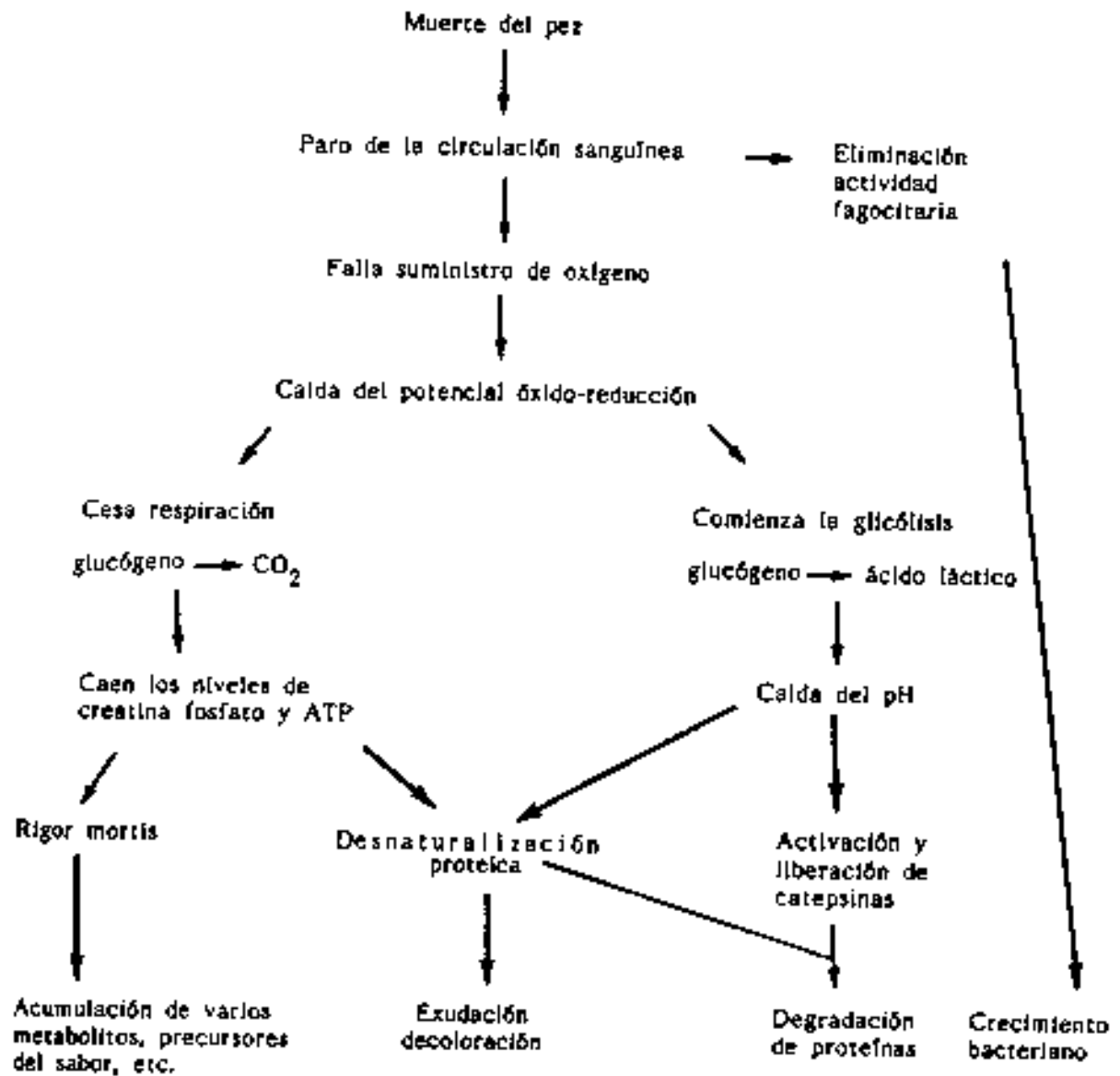


Figura 2. Principales cambios posmortem del músculo de pescado.

Fuente: EAC Corp. (1985).

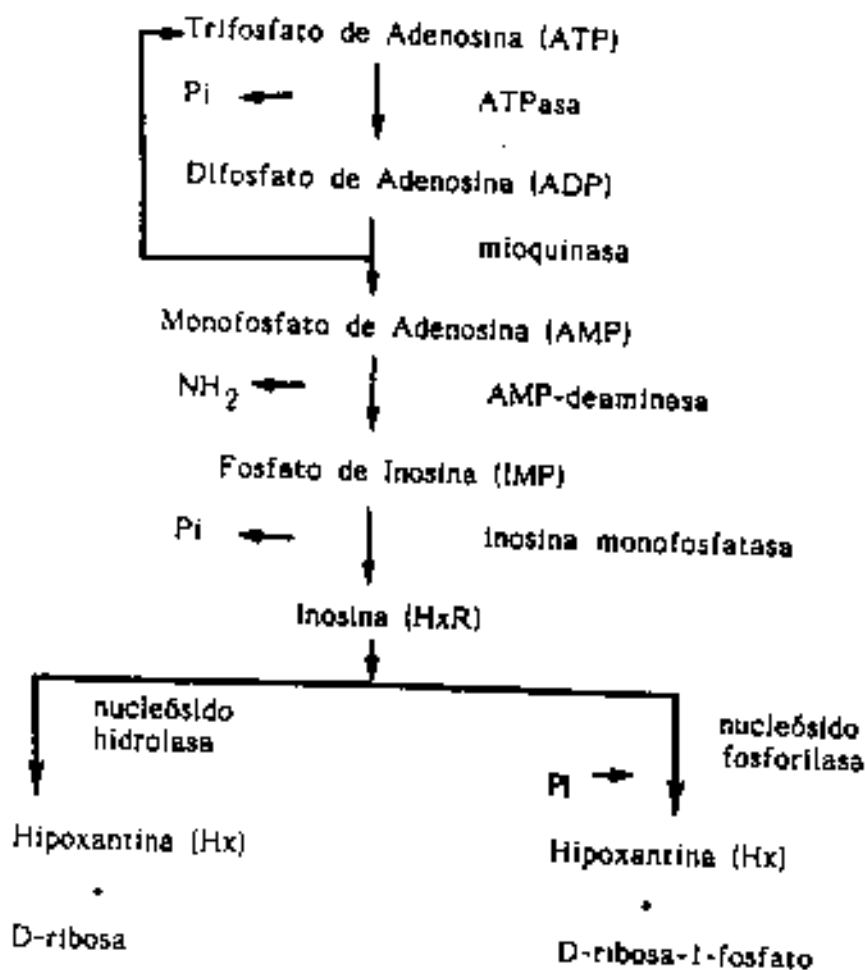


Figura 3. Camino de degradación del ATP en el músculo de pescado.

Fuente: EAC Corp. (1985).

de factores relacionados con las condiciones de elaboración, con el estado del pez antes de la captura y con los métodos de captura y muerte (Dondero *et al.*, 1982).

Esto ha conducido a intentar correlacionar los cambios de los nucleótidos durante el almacenamiento y, en particular, la formación de Hx, con los cambios en la calidad del pescado almacenado a bajas temperaturas. Sin embargo, la conversión de HxR a Hx depende de la actividad de la enzima nucleósido hidrolasa o nucleósido fosforilasa, que varía considerablemente según la especie (Dondero *et al.*, 1982).

Índice K

Diferentes métodos han sido usados para la determinación cuantitativa del ATP y sus productos de degradación, pudiendo ser divididos en dos grandes categorías: aquellos métodos que miden los nucleótidos totales, nucleósidos y bases, los cuales proveen información sobre el ATP y compuestos relacionados, y aquéllos que miden un compuesto en particular, por ejemplo, hipoxantina (Davis y Reece, 1982).

El valor K como un índice para estimación de la frescura del pescado, el cual es ampliamente utilizado en Japón (Ehira y Uchiyama, 1986), se define como:

$$K = \frac{HxR + Hx}{HxR + Hx + ATP + ADP + AMP + IMP}$$

donde:

HxR = inosina

Hx = hipoxantina

ATP = trifosfato de adenosina

ADP = difosfato de adenosina

AMP = monofosfato de adenosina

IMP = monofosfato de inosina

En 1959, Saito y colaboradores estimaron la frescura del pescado (lenguado) usando el valor K. Este es expresado como un porcentaje de la cantidad de HxR e Hx en la cantidad total de ATP y compuestos relacionados en el músculo de pescado. El

valor K del músculo de lenguado se incrementó constantemente con el tiempo, por lo que puede ser considerado un índice útil de frescura durante la autólisis.

Estudios realizados por Ehira y Uchiyama (1986), reportan los cambios en la cuenta bacteriana, pH, aminoácidos libres, proteínas solubles en sal, bases volátiles totales, trimetilamina y valor K en músculo de lenguado durante el almacenamiento en hielo (Figura 4). Los resultados de estos investigadores mostraron que aún después de 17 días de almacenamiento en hielo, las bacterias viables (incubadas a 20°C) se encontraron en el orden de 10^5 por gramo, en el mínimo del rango (10^5 a 10^9 por gramo) considerado el umbral del deterioro inicial del pescado. Tanto el pH como la cantidad de proteínas solubles en sal cambiaron poco durante el almacenamiento en hielo.

La cantidad de aminoácidos libres cambió poco durante los primeros dos días, incrementándose rápidamente durante el tercero al séptimo día, permaneciendo casi constante del 8° al 15° día, e incrementándose otra vez al final del período de almacenamiento. El nitrógeno básico volátil no alcanzó el umbral de deterioro inicial de 20 a 30 mg/100 g y el TMA no se incrementó por 13 días. Los resultados de observaciones organolépticas fueron como sigue: el máximo *rigor mortis* se presentó después de cuatro días de almacenamiento, desapareciendo a los 10 días y la suavidad ocurrió después de 14 días. Aunque el olor a deterioro no apareció aún después de 17 días, la calidad alimenticia del pescado (percibida organolépticamente) fue perdida después de 14 a 15 días. Estos resultados indican que la frescura del pescado, en el verdadero sentido de la palabra, se perdió antes de que la cuenta bacteriana se incrementara significativamente. Por lo tanto, no se puede estimar la frescura del pescado por medición del número de bacterias viables o productos bacterianos, tales como bases volátiles totales y TMA, los cuales han sido previamente usados como índices de frescura.

Resultados experimentales han sugerido que la pérdida de la frescura en el pescado no es causada por acción bacteriana sino que resulta de cambios bioquímicos en el tejido del músculo. Para demostrar esto, pequeños bloques de bacalao del Pacífico y músculo de pez aleta amarilla fueron cortados asépticamente y enhielados. Los cambios

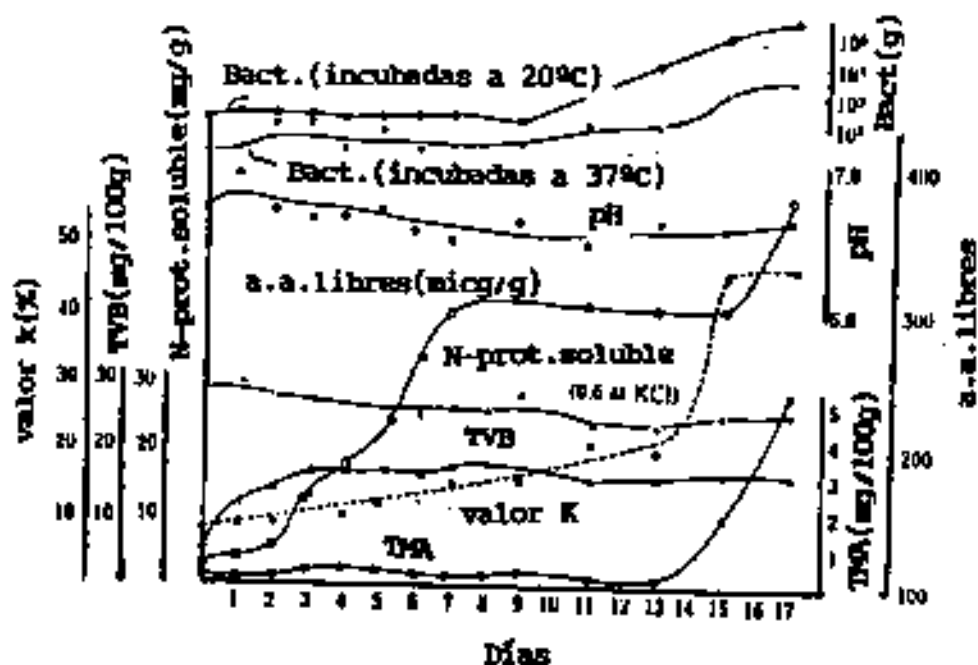


Figura 4. Cambios en la cuenta bacteriana, pH, aminoácidos libres, proteínas solubles en sal, TVB, TMA y valor K en el músculo de lenguado durante el almacenamiento en hielo.

Fuente: Ehira y Uchiyama (1986).

en sus valores K y la cantidad de TMA fueron monitoreados durante el almacenamiento en hielo. Las pendientes de las curvas de valor K difirieron con las especies, pero fueron casi la misma para muestras asépticas y no asépticas de la misma especie. Esto confirmó que la pérdida de la frescura inicial es independiente de las bacterias. Por consiguiente, la frescura en el verdadero sentido de la palabra, debe distinguirse de la frescura estimada usando deterioro bacteriano. La primera es llamada frescura bioquímica o frescura enzimática y la última es llamada frescura bacteriana y/o deterioro (Uchiyama y Ehira, 1974).

La relación entre la frescura del pescado y el valor K fue estudiada por Uchiyama *et al.*, (1970) en 104 muestras de pescado derivado de fuentes comerciales. El nitrógeno básico volátil (BVT), TMA y valor K fueron medidos en 3 grupos de muestras: pescado inmediatamente después de morir (I); carne de atún de buena calidad (II); y material de calidad media (III). En las mediciones de TVB y TMA los resultados muestran ligeras diferencias y una reducida correlación con la frescura entre los tres grupos de muestras. Contrariamente, para el intervalo de confianza del 95% los valores K promedio de las muestras fueron: $3.5 \pm 1.9\%$, para el grupo I; $18.7 \pm 4.0\%$, para el grupo II y $52.2 \pm 8.9\%$ para el grupo III. De lo anterior se concluyó, que el índice K , es el parámetro más adecuado para la evaluación de la frescura real del pescado.

Ryder (1985) estudió los cambios en las concentraciones de IMP, Hx y HxR en pescado durante su almacenamiento en hielo, observando que la Hx se incrementaba mientras que el IMP disminuyó y la HxR permaneció constante. El valor K también se incrementó durante este período. Ehira *et al.* (1970) utilizaron cromatografía de intercambio iónico empleando un sistema de elución con gradiente cóncavo y obtuvieron una rápida separación de HxR, Hx, IMP, AMP, ADP y ATP.

Lipólisis

Dentro de los procesos deteriorativos de los lípidos se incluye la rancidez hidrolítica, empleándose para su evaluación la determinación de ácidos grasos libres. Esta

rancidez implica, aunque no necesariamente, actividad lipolítica. Las enzimas lipolíticas catalizan la reacción de hidrólisis de las grasas, en la cual los productos de importancia generados son los ácidos grasos libres. Este tipo de rancidez se manifiesta principalmente mediante olores desagradables identificados comúnmente como olores "rancios". Lo anterior resulta de la formación de ácidos grasos de peso molecular reducido y por lo tanto con posibilidades de volatilizarse a ciertas temperaturas (Han y Liston, 1987). Es necesario mencionar que la actividad lipolítica puede estar presente en forma natural en la materia prima, o bien provenir de contaminación microbiológica posterior (German y Kinsella, 1983).

Existen evidencias de actividad fosfolipasa durante el almacenamiento de numerosas especies de pescado, incluyendo bacalao (Lovern y Olley, 1962), arenque (Bosund y Garrot, 1969) y salmón (Botta *et al.*, 1983).

Las consecuencias de la lipólisis sobre la aceptabilidad no son claras. La atención ha sido más bien concentrada en saber si los ácidos producidos interactúan con las proteínas afectando así las cualidades de textura del pescado (Hardy, 1980). Algunos autores han reportado que la oxidación de los lípidos se presenta más rápidamente en tejidos que contienen ácidos grasos libres y esto puede representar un efecto secundario de la hidrólisis de lípidos.

La actividad lipolítica del tejido del pez parece ser dependiente de la especie. Todas las especies contienen fosfolípidos y aunque la mayoría están sujetos a lipólisis, ciertas especies de elasmobranquios son marcadamente estables. Existen evidencias de que solamente los ésteres de fosfatidilcolina y etanolamina son hidrolizados, mientras que aquéllos de serina e inositol permanecen estables (Hardy, 1980). Los tejidos conteniendo triacilgliceroles de algunas especies también están sujetos a hidrólisis pero parece ser menos común que en fosfolípidos.

La cocción, o cualquier tipo de tratamiento térmico, es el método empleado más frecuentemente para evitar cambios enzimáticos deteriorativos en muestras biológicas durante su almacenamiento. Se han efectuado estudios con objeto de elucidar el efecto de la cocción sobre la oxidación lipídica y sobre el desarrollo de la rancidez en pescado

destinado a la congelación o al enlatado. Sin embargo, poco se sabe acerca del efecto que sobre los lípidos tiene la cocción y un subsiguiente período de almacenamiento a temperatura ambiente previo al enlatado del pescado. En algunas ocasiones en la industria, ocurre que el material crudo o cocido, permanece a temperatura ambiente durante distintos períodos antes del enlatado (Han y Liston, 1987). A este respecto, Stabyj y True (1978), demostraron que a 0.6°C y con alta concentración salina, la sardina podría aguantar hasta tres días sin mostrar deterioro aparente, mientras que a 7.2°C y baja concentración salina debe ser enlatada antes de 36 horas.

Oxidación de Lípidos como Índice de Calidad

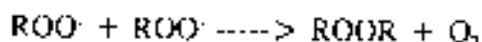
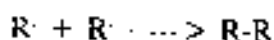
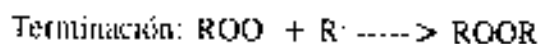
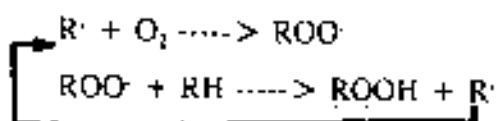
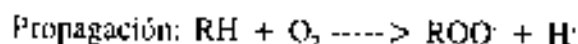
Debido a que la sardina es una especie con un alto contenido en lípidos se considera importante determinar índices de calidad relacionados con su oxidación (Han y Liston, 1987).

Proceso de Auto-oxidación de los Lípidos

Después de la muerte, los lípidos del pescado están sujetos a dos cambios mayores denominados lipólisis y auto-oxidación. Este último cambio es el más importante, particularmente en el deterioro de productos de pescado congelado, causando cambios en el sabor, color y posiblemente en la textura (Hall y Ledward, 1986).

El mecanismo clásico para oxidación de los lípidos es vía la producción de radicales libres a partir de su sustrato inicial, los ácidos grasos insaturados. El mecanismo de reacción en cadena por radicales libres ha sido aceptado como el único proceso involucrado en la auto-oxidación (Gray, 1978). El siguiente esquema simplificado muestra las diferentes etapas en la reacción:

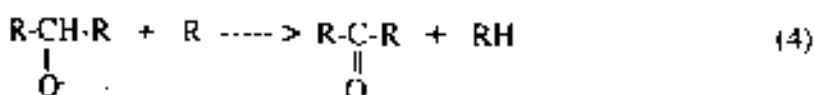
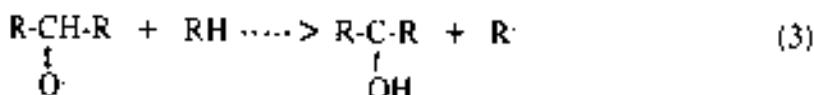
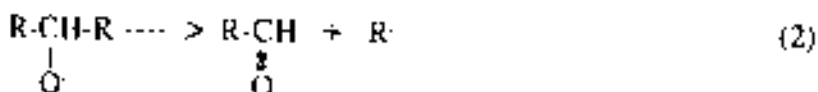
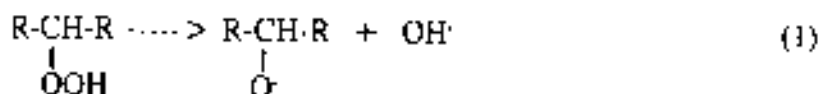
Iniciación: $RH \rightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$

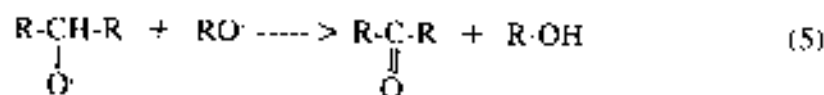


donde ROO^\cdot es un radical peroxilípido, R^\cdot es un radical lípido y RH es un lípido poliinsaturado.

Productos Secundarios de la Reacción

Los peroxilípidos son muy inestables y se rompen para producir un variado número de productos secundarios de la reacción (Khayat y Schwall, 1983), los cuales contribuyen al sabor oxidado de los lípidos en alimentos. La descomposición de hidroperóxidos procede por un mecanismo de radicales libres y puede ser ilustrado como sigue:





El hidropéroxido es transformado a radicales libres alcoxi e hidroxilo (Reacción 1). Las reacciones 2,3,4 y 5 indican la reacción del radical libre alcoxi con otros radicales libres o moléculas para formar productos secundarios. Los productos de oxidación incluyen compuestos carbonilo, alcoholes, ácidos, hidrocarburos, lactonas y ésteres.

Factores que Afectan la Rancidez Oxidativa

La facilidad con la cual algunos pescados sufren la rancidez oxidativa es por la gran proporción de grasas altamente insaturadas que puede contener el músculo. Existe una gran diferencia entre especies de peces en cuanto a su contenido lipídico. Especies como macarela y arenque, presentan un alto contenido de lípidos, mientras que los peces magros, como el bacalao, tienen un contenido bajo, principalmente en la forma de fosfolípidos y lipoproteína, íntimamente asociado con las proteínas del músculo. Aún dentro de un mismo pez, hay diferencia en la facilidad con la cual las distintas porciones sufren rancidez después de su muerte (Hardy, 1980).

Los siguientes factores juegan un papel importante en las reacciones oxidativas en tejido de pescado:

1. Naturaleza de la grasa, determinada por el tipo de ácidos grasos libres, grado de insaturación y proporción de fosfolípidos.
2. Distribución de la grasa en el cuerpo. Contacto de la grasa en carne con una solución acuosa conteniendo aceleradores o inhibidores de rancidez y la orientación de los ácidos grasos insaturados en la interfase.
3. Presencia o ausencia de otros compuestos químicos en el tejido, los cuales pueden actuar como aceleradores o inhibidores de las reacciones de rancidez, sujeto a otros factores como pH, ambiente químico, etc.
4. Factores externos como temperatura, luz y radiaciones UV, los cuales tienden a cambiar el equilibrio de los componentes del tejido. Por ejemplo, la principal razón

para la oxidación de las grasas en el pescado congelado es la deshidratación del tejido durante su almacenamiento y exposición al oxígeno atmosférico (Khayat y Schwall, 1983).

Control o Prevención de la Auto-oxidación

El esquema general de la reacción de oxidación indica cuatro condiciones o situaciones que pueden ser manejadas para controlar la velocidad de oxidación: almacenamiento a baja temperatura, prevención de la etapa de iniciación, exclusión de oxígeno y remoción de radicales libres (Hardy, 1980). Todas tienen su aplicación en tecnología pesquera. La más común es el control por almacenamiento a baja temperatura, resultando más efectiva en combinación con una adecuada remoción de oxígeno. Las otras condiciones no son de aplicación universal debido a que la modificación del mecanismo inicial o remoción de radicales libres requiere agentes de control para los sitios involucrados en la reacción.

El método más común de control de la rancidez oxidativa es el almacenamiento a bajas temperaturas. Por cada 10°C de reducción en la temperatura, la velocidad de oxidación disminuye por un factor de 2 a 3. Los pescados grasos como el atún o la macarela, alcanzan una vida media de 6 meses a -30°C. El pescado blanco magro puede almacenarse por tiempos aún mayores antes de que el sabor rancio aparezca. La deshidratación afecta ambos tipos de pescado y reduce considerablemente la vida media (Hardy, 1980).

El recubrimiento con papel encerado, papel aluminio o películas plásticas ayuda a minimizar este efecto de deshidratación. Un efecto protector mayor puede lograrse por congelación en agua. Usando este método, el pescado graso puede ser almacenado hasta por 15 meses a -30°C. El mecanismo de acción de este método se debe a dos razones: primero, la prevención de la deshidratación y segundo, el método tiende a remover el aire (cluido dentro del pescado y también interpone una barrera para la entrada de oxígeno).

Más recientemente, el empaque al vacío ha sido usado como método de control. En esta técnica el pescado es sellado en bolsas flexibles construídas de materiales que tienen una baja permeabilidad al oxígeno. Por otro lado, el control de la oxidación por medios químicos es variable y depende de los agentes que puedan ser suministrados a los sitios reactivos. Tal control es ejercido por reducción o prevención de la iniciación o por remoción o disminución de la concentración de radicales libres. En el caso del pescado enlatado, el contenido de oxígeno es reducido por evacuación del aire o cocinado con vapor antes del sellado.

El músculo de pescado contiene proteínas heme; éstas pueden promover la producción de radicales y por lo tanto la autooxidación. El EDTA y los fosfatos pueden reducir la actividad de las proteínas heme.

Una amplia variedad de compuestos que pueden remover radicales libres son componentes naturales en el pez. Estos junto con compuestos sintéticos han sido evaluados como antioxidantes. Entre ellos se incluyen componentes solubles en agua como ácido ascórbico, derivados de la riboflavina, ácido cítrico, glutamatos y sustancias fenólicas. Los resultados han sido variables, en algunos casos retardaron la oxidación mientras que en otros no se observaron efectos benéficos.

Determinación del Grado de Oxidación

La medida de la oxidación en productos pesqueros presenta un problema mayor que no ha sido resuelto satisfactoriamente. El mecanismo de oxidación descrito anteriormente muestra cómo se forman los hidroperóxidos y los productos secundarios de la oxidación, que en sistemas lipídicos complejos pueden ser numerosos. La determinación individual de ellos no es práctica y por lo tanto no puede hacerse una verdadera evaluación cuantitativa. Sin embargo, ciertos componentes o grupos de componentes son determinados y se correlacionan con la producción y grado de oxidación (Hardy, 1980). Entre los índices químicos de calidad que miden la oxidación de los lípidos se encuentran el índice de peróxidos y el valor de ácido tiobarbitúrico.

El valor de peróxidos es determinado midiendo la cantidad de yodo liberado del yoduro de potasio, como resultado de su oxidación por peróxidos, en un medio ácido acético/cloroformo (Asakawa y Matsushita, 1980). Este índice de calidad es más útil que otros debido a que da información acerca de la extensión de la oxidación en un aceite de pescado. Una desventaja de este método es el hecho de que los aceites rancios no siempre muestran altos valores de peróxidos, ya que los hidropéroxidos altamente insaturados son extremadamente inestables y se rompen en componentes de peso molecular menor, con amplias implicaciones en el sabor incluso a muy bajas concentraciones.

La reacción del TBA en pescado o extractos de lípidos es también utilizada para estimar la oxidación. El TBA reacciona con compuestos carbonilo, malonaldehído en particular, los cuales son productos de descomposición de hidropéroxidos. Nakamura *et al.* (1980), separaron e identificaron componentes del olor en aceite de sardina oxidado por destilación con vapor, recogiendo compuestos carbonilo, después de su derivación con 2,4-dinitrofenilhidrazina.

Toyomizu *et al.* (1980) almacenaron macarela del Pacífico, sardina, macarela, pez aleta amarilla y barracuda a -5°C por aproximadamente un mes y midieron los valores de TBA. Se observó que la oxidación de los lípidos procedió durante el almacenamiento en el siguiente orden: piel > músculo oscuro > músculo blanco.

Cambios Bioquímicos Resultantes del Deterioro Bacteriano

Existen índices de calidad bioquímicos de origen microbiológico como es el valor de trimetilamina (TMA), el valor de bases volátiles totales (BVT), el número de ácidos volátiles y la determinación de histamina.

El músculo de las especies marinas contiene niveles elevados de óxido de trimetilamina (TMAO). La reducción postmortem del TMAO a TMA por la acción bacteriana es bien conocida. El olor amoniacal del pescado deteriorado ha sido con frecuencia correlacionado con los niveles de TMA en tejido (Wong *et al.*, 1988).

El valor de BVT es una medida del nitrógeno producto de la descomposición de proteínas y otros compuestos nitrogenados no proteicos (Yeannes *et al.*, 1983; El Marrakchi *et al.*, 1990), mientras que el valor de ácidos volátiles, mide los ácidos resultantes de la proteólisis y deaminación bacteriana (McCarthy *et al.*, 1989).

Finalmente, una de las determinaciones de mayor importancia es la evaluación del contenido de histamina, la cual proviene de la descarboxilación del aminoácido histidina por acción de los microorganismos (Gouygou *et al.*, 1987).

Aminas Biogénicas en Pescado Enlatado

Las aminas biogénicas se presentan en una amplia variedad de alimentos tales como vinos, quesos, carne y pescado (Maga, 1978; Coutts *et al.*, 1986). La descarboxilación de aminoácidos es el modo más común de síntesis de esas aminas. Los principales factores que conducen a su formación y que determinan el tipo y cantidad, son la disponibilidad de aminoácidos libres y la presencia de ciertas bacterias capaces de descarboxilar aminoácidos. Las aminas biogénicas son sustancias ya sea psicoactivas o vasoactivas, las cuales pueden causar problemas en algunos individuos. Entre éstas, la histamina es potencialmente la más peligrosa y es el agente causante del envenenamiento escombroides del pescado (Maga, 1978).

Muchos métodos cromatográficos, especialmente HPLC, han sido desarrollados para permitir el análisis de aminas biogénicas en alimentos. Sin embargo, los métodos reportados tienen limitaciones tales como largos tiempos de análisis, pobre resolución, o detección confinada a solamente unas cuantas aminas.

Yen y Hsieh (1991) desarrollaron un método por HPLC rápido y simple usando un sistema de elución por gradiente para la determinación cualitativa y cuantitativa de aminas en productos pesqueros enlatados. Las aminas fueron derivadas con cloruro de benzoilo y separadas en columna LiChrosorb 100 RP-18 con una mezcla de metanol y agua. Se utilizó el cloruro de benzoilo como reactivo derivante diluido debido a su simplicidad química y a que los derivados benzoilo son estables y no requieren

precauciones especiales para su almacenamiento. La metodología se usó para determinar los niveles de nueve aminas en pescado comercial enlatado, encontrando que todas las muestras contenían putrescina, cadaverina, espermina y agmatina. Triptamina, 2-feniletilamina y espermidina, se encontraron solamente en unas cuantas muestras y en niveles muy bajos. Se detectaron concentraciones de histamina entre 9.14 y 54.00 $\mu\text{g/g}$ en anchoveta enlatada. Según Ienistea (1973), se requiere de 116°C por 90 minutos para destruir a la histamina, lo que permite utilizar a dicho compuesto como indicador del uso de material crudo de baja calidad.

Frescura y Aparición de Histamina y otras Aminas Biogénicas

La presencia de aminas en productos marinos se debe a la actividad metabólica de los microorganismos presentes. Muchas de estas aminas son volátiles y producen alteraciones en el aroma de los alimentos; otras dan olores amoniacales y putrefactos. Por esta razón, la cuantificación de las mismas puede servir como un índice de la intensidad de la acción microbiana (Ferencik, 1970).

Entre las aminas destaca la histamina, que está implicada en el conocido proceso de intoxicación denominado "envenenamiento escombroideo". Este nombre proviene de la intoxicación producida por el consumo de pescados de la familia Scombridae, tales como: atún (*Thunnus thunnus*), bonito (*Sarda sarda*), caballa (*Scomber japonicus*) y listado (*Katsuwonus pelamis*), en estado de alteración (Lukton y Oleott, 1958; Taylor *et al.*, 1977; Arnold y Brown, 1978; Taylor *et al.*, 1978). Los síntomas de la intoxicación son: sonrojamiento de la cabeza y cuello, ardor epigástrico, dolores de cabeza, sed, vómitos y dolor de estómago. La ingestión de cantidades de histamina del orden de 100 mg/100 g o más, está asociada a toxicidad (Ferencik, 1970; ICMSF, 1978).

Cuando la histamina es ingerida, es detoxificada principalmente por las enzimas diamina oxidasa y la histamina N-metiltransferasa. La histamina pura ha sido administrada en dosis relativamente altas a humanos sin efectos aparentes (Arnold y Brown, 1978), conduciendo a la sugerencia de que el envenenamiento escombroideo por

pescado deteriorado es causado por la histamina actuando sinérgicamente con otras diaminas, principalmente putrescina y cadaverina, presentes en el producto. Putrescina y cadaverina provienen de la descarboxilación de los aminoácidos lisina y arginina, respectivamente. Ambas pueden interferir con el sistema de detoxificación normal de histamina en el hígado por competencia por la diamina oxidasa.

Valores inferiores a 5 mg/100 g son normales en los alimentos; no obstante, concentraciones entre 5 y 10 mg/100 g, pueden causar síntomas en individuos muy sensibles, siendo más tóxicos los valores más elevados (Ienistea, 1973). Cattaneo y Cantoni (1978) encontraron valores inferiores a 5 mg/100 g en muestras de pescado fresco mientras que Taylor *et al.* (1977), valores medios de 3,58 mg/100 g en muestras de atún enlatado. Estos autores resaltaron que los niveles de histamina encontrados estaban por debajo de los límites tolerables. Williams (1954) obtuvo valores inferiores a 6 mg/100 g en conservas de bonito y sardinas preparadas a partir de materia prima en buen estado; por otra parte, cuando analizó muestras preparadas con materia prima en malas condiciones, llegó a obtener valores de 362 mg/100 g.

Numerosas especies de bacterias son capaces de producir histamina en condiciones óptimas de crecimiento. Eggerth (1939), estudió la actividad histidino descarboxilasa de *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Shigella*. Gale (1946), comprobó la actividad de *Escherichia*, *Clostridium* y *Klebsiella*. Kimata y Kawai (1953) aislaron especies de bacterias capaces de producir cantidades importantes de histamina, a las que le dieron el nombre de *Achromobacter histamineum*, aunque más tarde se comprobó que eran idénticas a *Proteus morganii* (Kimata *et al.*, 1958; Kimata y Kawai, 1958). Ienistea (1973) cita a microorganismos de la familia Enterobacteriaceae, concretamente los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella* y *Proteus*. Según la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1978), *Proteus morganii* es el principal productor de histamina. Omura *et al.* (1978) aislaron bacterias productoras de histamina a partir de muestras de atún y caballa, que fueron identificadas como *Proteus morganii* y *Hafnia alvei*, fundamentalmente. Entre las poblaciones bacterianas aisladas en macarela española se encontraron *Acinetobacter lwoffii*, *Aeromonas*

hydrophila, *Clostridium perfringes*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp., *Hafnia alvei*, *Enterobacter* sp., con actividad histidina descarboxilasa.

Estudios realizados sobre las bacterias relacionadas con la alteración del pescado, ponen de manifiesto que sólo una pequeña parte de ellas son capaces de producir histamina, siendo la mayoría organismos productores de otras aminas relacionadas con la alteración. Kimata y Tanaka (1954) en estudios sobre caballa (*Scomber japonicus*) alterada, pusieron de manifiesto que sólo un 5-30% del total de bacterias son capaces de producir histamina.

Debido al incremento en la muerte de pollos alimentados con carne de pescado, la industria avícola del Japón sospechó de la presencia de histamina en su alimentación. De lo anterior derivó que productos comerciales relativamente frescos producidos a partir de carne y desechos de pescado, fueran analizados por Toyama *et al.* (1982) para evaluar el grado y mecanismo de acumulación de la histamina. En consecuencia, se encontraron cantidades relativamente grandes de histamina en algunas carnes provenientes de especies con músculo rojo, tales como la macarela, sardina y anchoveta. Arnold y Brown (1978), señalaron los factores que tienen influencia sobre la actividad histidina descarboxilasa, destacando la temperatura, pH, carbohidratos, vitaminas, coenzimas y tensión de oxígeno.

La presencia de carbohidratos, especialmente glucosa, estimula la actividad de la histidina descarboxilasa; la cisteína, cistina y metionina tienen el mismo efecto, debido a la disminución del potencial de oxidorreducción del medio (Arnolds y Brown, 1978); también la presencia de diaminas tales como putrescina, cadaverina y espermina, potencian la formación de histamina (Maga, 1978).

Yamanaka *et al.* (1986) estudiaron los cambios de aminas no volátiles, BVT y pH de la carne de sardina (*Sardinops melanostica*) durante su almacenamiento a 5 y 20°C. En el punto de inicio de los experimentos la carne de sardina se juzgó muy fresca de acuerdo al valor de BVT (6.6 mg/100 g de carne). No se encontraron aminas en la carne fresca excepto espermidina (0.4 mg/100 g de carne) e histamina (8.5 mg/100 g de carne). Cuando se almacenó a 5°C, la carne daba un ligero olor pútrido al sexto día, marcando

la descomposición inicial. La concentración de bases volátiles se incrementó linealmente con el tiempo de almacenamiento, alcanzando valores de 47,7 mg/100 g al décimo día. El pH de la carne al inicio fue de 6,40, disminuyendo gradualmente por 6 días e incrementándose después: el valor más bajo (5,68) fue obtenido en la etapa de descomposición inicial. Los niveles de histamina, putrescina, cadaverina, tiramina y triptamina se incrementaron conforme progresaba la descomposición. La histamina se formó en la concentración más alta (241 mg/100 g a los diez días de almacenamiento) seguida por cadaverina (37,0 mg/100 g).

En el caso del almacenamiento a 20°C, la carne se descompuso más rápidamente que a 5°C. La etapa de deterioro inicial se observó al tercer día. La mayor temperatura aceleró la formación de bases volátiles (53,6 mg/100 g a los tres días) y de aminas, destacando la histamina que alcanzó hasta 104 mg/100 g de carne (al primer día de almacenamiento), excediendo el nivel (100 mg/100 g) requerido para causar alergia por envenenamiento alimenticio. No obstante, la carne no mostró alteraciones, desde el punto de vista organoléptico.

Los trabajos realizados por Hardy y Smith (1976), Yoshida y Nakamura (1982) y Yamanaka *et al.* (1986) confirmaron el efecto de la temperatura sobre la formación de aminas biogénicas. Sus resultados concuerdan con la hipótesis de que su producción está más relacionada con la actividad de bacterias mesofílicas que psicrófilas (Frank *et al.*, 1985).

El Marrakchi *et al.* (1990) llevaron a cabo un estudio para determinar la conservación de sardinas en hielo y la producción de diferentes aminas, particularmente histamina. Los resultados muestran que la sardina en hielo tiene una vida media de nueve días. Tiempos de conservación similares han sido reportados en pescado capturado en aguas frías o templadas de Nueva Zelanda. Para pescado capturado en aguas tropicales o subtropicales, los tiempos de conservación en hielo son relativamente más grandes, de dos a más de tres semanas. Esta diferencia es debida a la naturaleza de la microflora inicial presente en el pescado al tiempo de la captura.

De estos mismos estudios se observó que al tiempo de captura el valor de BVT fue de 16.15 mg/100 g de carne, incrementándose al final del almacenamiento en hielo hasta 47.18. Al día nueve, el cual correspondió al último día de aceptabilidad sensorial, el valor de BVT fue de 27.83. Sin embargo, en sardinas almacenadas a temperatura ambiente, valores de 30 mg/100 g o más fueron alcanzados en 24 horas.

Takagi *et al.* (1969) investigaron la formación de histamina en macarela del Pacífico después de 24 y 48 horas de almacenamiento a 25°C, encontrando niveles de 246 mg/100 g.

Dada la importancia de los escómbridos en la industria de conservas de pescado y su elevado contenido de histidina libre, precursora de la histamina, es de evidente interés estudiar la formación de esta última amina durante el almacenamiento, ya que posee probada actividad tóxica.

Producción de Bases Volátiles Totales

La determinación de bases nitrogenadas volátiles (BVT) fue propuesta como método para la evaluación objetiva de la calidad del pescado conservado en hielo, dado que estas bases se generan por acción microbiana y enzimática durante el deterioro (Calabrese y Werner, 1977; Trucco, 1980).

Actualmente existen serias dudas sobre la validez absoluta del contenido de BVT como índice de la calidad del pescado, pues las especies marinas contienen nitrógeno no proteico en cantidades sujetas a variaciones estacionales y de otros órdenes, el cual, por acción del calor y de la destilación básica aplicados en la determinación de BVT, da lugar a bases volátiles que interfieren en la determinación de las bases generadas por acción microbiana y enzimática. Sin embargo, la determinación de BVT se emplea en diversos países para evaluar la calidad, no sólo del pescado fresco, sino también del congelado salado, en conserva y en semiconserva (Yeannes *et al.*, 1983).

En el caso del pescado en conserva, los niveles de BVT superan ampliamente los límites admitidos para pescado fresco o congelado, lo cual se debe a que durante los

procesos térmicos aplicados en la elaboración de las conservas se forman cantidades variables, pero importantes, de BVT. La cantidad de bases volátiles formadas en este proceso depende no sólo de la intensidad del proceso térmico, sino también de la especie de pescado y de otros factores, como son la época de captura y la alimentación del pez. Por ello, la determinación de BVT en las conservas de pescado como medio para evaluar la calidad de la materia prima utilizada, debe tener en cuenta la influencia de los aspectos anteriormente mencionados.

Yeannes *et al.* (1983) determinaron los incrementos de BVT que tienen lugar en los procesos de cocción y esterilización durante la fabricación de conservas de varias especies de pescado, partiendo de materia prima fresca. Por otra parte, utilizando bonito (*Sarda sarda*) con distintos grados de deterioro, se elaboraron conservas para ver las posibles correlaciones entre los valores de BVT en la materia prima y los del producto cocido, y entre estos últimos y los del producto esterilizado.

Se observó que las distintas especies contienen diferentes niveles de BVT en el estado fresco: anchovita (*E. anchoita*), 39.86 ± 7.49 ; atún aleta amarilla (*T. albacore*), 25.73 ± 1.41 ; atún ojos grandes (*T. obesus*), 26.55 ± 2.12 ; bonito (*S. sarda*), 28.37 ± 2.78 . Los resultados evidencian un aumento de BVT con los tratamientos térmicos (pescado cocido: 41.97 ± 4.22 a 58.63 ± 6.00); pescado esterilizado: 57.14 ± 1.17 a 77.56 ± 4.96). Los aumentos pueden atribuirse, en parte, a la descomposición de óxido de trimetilamina y a la posibilidad de que el vapor arrastre parte de las bases nitrogenadas volátiles.

Botta *et al.* (1984) estudiaron seis diferentes métodos para la determinación de BVT, observando que aunque el método influyó en los valores obtenidos, no afectó la relación entre las BVT y evaluación sensorial del pescado crudo o cocinado.

MATERIALES Y METODOS

Selección de la Materia Prima

Se utilizaron cuatro marcas de sardina enlatada en salsa de tomate en su presentación ovalada. Una marca era de importación (I), otra de procedencia nacional (N) y dos estatales (E1 y E2). Se muestrearon tres lotes diferentes por marca. Cada muestra consistió de 15 latas escogidas al azar, destinando siete para los análisis químicos y pruebas ponderales y el resto para los análisis físicos. Las latas de sardina se obtuvieron en enero de 1992; las de procedencia estatal y nacional se adquirieron en los supermercados de la localidad y la de importación en Tucson, AZ. Las latas empleadas para las determinaciones de histamina e índice k fueron obtenidas en el mes de junio de 1994.

Preparación de la Muestra para los Análisis Químicos

Se tomaron siete latas de un mismo lote, procediendo manualmente a separar el músculo de la piel: se separó la columna y en algunos casos hubo necesidad de eliminar restos de colas y vísceras. La muestra se homogenizó en un procesador de alimentos Cuisinart 8 Plus (Cuisinart Inc., Greenwich, CT), para posteriormente realizar los análisis químicos, almacenando una parte de la muestra a -20°C y empacada al vacío.

Evaluación de la Calidad Mediante Pruebas Físicas Ponderales

Pruebas Físicas

Medición de textura. Se tomaron tres latas por lote, escogiendo al azar dos sardinas de cada lata. Se cortaron longitudinalmente de 6 cm a partir del extremo

superior, colocándose en el aditamento kramer, de manera perpendicular a las hendiduras del mismo. El análisis de la textura se llevó a cabo en una máquina universal de textura Instron, modelo 1130 (Instron, Corp. Lab., Canton, MA) con una celda de 500 Kg; la velocidad del cabezal y del graficador fueron de 20 cm/min.

Medición del color. Se tomaron tres latas por lote, drenando la salsa de tomate sobre una caja de petri, evitando los espacios vacíos. Para cada caja petri se realizaron tres giros de aproximadamente 90 grados, efectuándose una medición por giro. El color del líquido de cobertura (salsa de tomate) fue evaluado por colorimetría de triestímulo utilizando un colorímetro Hunter-Lab Modelo D25-PC2 (Hunter Assoc. Laboratory, Inc., Reston, VA). Se obtuvieron los valores "L" (luminosidad), "a" (matiz rojo-verde) y "b" (matiz amarillo-azul). A partir de éstos se calculó el ángulo de matiz (Minolta Corp, 1990).

Medición del vacío. Se midió el vacío de tres latas por cada lote mediante el uso de un vacuómetro de punzón (Dixie Canner Equipment Co., Athens, GA). La evaluación del vacío se efectuó en forma manual, colocando el vacuómetro en el centro de la lata y haciendo presión para lograr su perforación.

Medición del espacio libre. Se evaluó el espacio libre (en milímetros) en siete latas de sardina por cada lote, midiendo la distancia entre el nivel de la superficie del líquido de cobertura y el borde inferior del corte de la tapa, es decir, el espacio que existe entre el contenido y la tapa, siguiendo las recomendaciones de Durazo (1987).

Pruebas Ponderales

Peso neto, peso drenado y volumen de la salsa. El peso neto se obtuvo restando al peso total del producto el peso de la lata. Para obtener el peso drenado se escurrió el líquido de cobertura, pasando éste a una probeta para medir el volumen de salsa.

Se realizaron además las mediciones de número y tamaño de sardinas, así como observaciones relacionadas con el aspecto del contenido a la apertura (presencia de colas, sardinas desintegradas, tejido sin piel y vísceras).

Evaluación de la Calidad Mediante Pruebas o Índices Químicos

Índice de Peróxidos (IP)

Se extrajo la grasa del músculo con un sistema de solventes cloroformo, metanol y agua en una relación 2:2:0.8. El extracto se filtró al vacío utilizando un embudo Buchaner y se transfirió a un embudo de separación donde se dejó reposar toda la noche. La capa de cloroformo conteniendo los lípidos, se pasó a través de un embudo de filtración el cual contenía papel Whatman No. 1 y No. 4 y lleno hasta 3/4 partes con sulfato de sodio anhidro. El extracto se concentró en un rotavapor Büchi RE 12/1A (Büchi Inc. Schweiz). De los lípidos obtenidos, se tomaron de 2.5-5.0 g y se determinó el IP de acuerdo al procedimiento yodométrico del AOAC (1984), el cual se basa en la reducción de peróxidos en medio ácido por el yoduro de potasio. El yodo liberado es titulado con tiosulfato de sodio 0.01 N, utilizando almidón como indicador. El índice de peróxidos se expresó como meq de peróxido/1000 g de lípido, calculándose mediante la siguiente fórmula:

$$IP = \frac{V_1 \times N \times 1000}{W}$$

Donde:

V_1 = mL de tiosulfato gastados

N = normalidad del tiosulfato

W = peso de lípido en g

Prueba del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)

Este procedimiento se basa en la destilación de las sustancias reactivas al TBA en un medio ácido, en presencia de agentes quelantes y antioxidantes. Como resultado de la reacción con el TBA, se producen complejos de color rojo los cuales absorben luz a 535-538 nm. Para ello, 10 g de músculo sin descongelar fueron licuados con 35 mL de

agua destilada por 2 minutos. El licuado fue transferido cuantitativamente a un vaso de precipitados adicionando agua hasta obtener un peso final de 110 g, ajustando el pH a 1.5 con HCl 4 N.

La muestra se transfirió a un matraz de destilación conteniendo 100 mg de propilgalato y la misma cantidad de EDTA, además de perlas de ebullición. A la mezcla se le adicionaron 3 gotas de alcohol octílico (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) como antiespumante. La destilación se realizó bajo atmósfera de nitrógeno, colectando 50 mL de destilado. Para el desarrollo del color se añadieron a un tubo de ensayo de 18 x 150, de 1-5 mL de destilado, adicionando agua destilada hasta completar un volumen de 5 mL, y 5 mL de reactivo TBARS (Sigma Chemical Co., St Louis, MO). Los tubos se taparon y se agitaron vigorosamente en un vortex (Scientific Industries Inc., Bohemia, NY) para proceder a su calentamiento por 45 min, en un baño de agua hirviendo. Los tubos se enfriaron sumergiéndolos en agua fría y se midió la absorbancia de la solución a 538 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer de doble haz, modelo Lambda 3A UV/VIS (Perkin Elmer de México, S.A. de C.V. México, D.F.). Se corrió una curva utilizando el 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) como estándar, de acuerdo a la metodología establecida por Woyewoda *et al.* (1986).

Evaluación de la Calidad Mediante Pruebas

Bioquímicas de Origen Endógeno

Acidos Grasos Libres (AGL)

La determinación del contenido de ácidos grasos libres se realizó de acuerdo a Woyewoda *et al.* (1986). Se extrajo la grasa del músculo con un sistema de solventes cloroformo, metanol y agua en una relación 1:1:1. El extracto se filtró al vacío utilizando un embudo Buchner y se transfirió a un embudo de separación, donde se dejó reposar durante toda la noche. La capa de lípidos se pasó a través de un embudo de filtración (el cual contenía papel Whatman No. 1 y No. 4) lleno hasta 3/4 partes con sulfato de sodio

anhidro, aforándose a 100 mL con cloroformo. La muestra se transfirió cuantitativamente a un matraz erlenmeyer, se le agregaron 70 mL de isopropanol, 35 mL de metanol y púrpura de metaeresol como indicador, titulando con NaOH 0.05 N. Los AGL se calcularon como μ moles por gramo de tejido mediante la fórmula:

$$AGL = 1000 \times N_1 \times (V_4 - V_5)$$

$$\frac{W - V_2 \times W_2 \times P}{V_3}$$

$$V_3$$

donde:

N_1 = normalidad del hidróxido de sodio

V_2 = vol (mL) de alícuota para determinar grasa

V_3 = vol (mL) del volumétrico

V_4 = mL de NaOH usados en la muestra

V_5 = mL de NaOH usados en el blanco

W_2 = peso (g) de la muestra

P = número de alícuotas extraídas del matraz volumétrico

Indice K

Se homogenizaron 5 g de músculo con 25 mL de ácido perclórico 0.6 M a 0°C por 1 min, para posteriormente centrifugar a 3000 g por 10 min en una centrifuga refrigerada Beckman modelo J2-21 (Beckman Instruments INC. Palo Alto, CA). Del sobrenadante se tomaron 10 mL y se neutralizaron con KOH 1 M a pH 6.5-6.8. Se dejó reposar por 30 min a 0°C, filtrando a través de papel Whatman No. 1 para remover el perclorato de potasio formado. El extracto obtenido se diluyó a 20 mL y se almacenó en frascos pequeños a -20°C para su análisis. Este índice no fue determinado en la sardina enlatada de importación.

La determinación del índice K se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Se utilizó un sistema que consistió en una bomba Varian 9012 (Varian

Instrument, Walnut Creek, CA) y una válvula de inyección Rheodyne con un "loop" de 10 μ L de capacidad. Se usó un detector Varian 9050 con longitud de onda variable UV-VIS (Varian Instrument, Walnut Creek, CA). La columna empleada fue Bondesil RP C18 de acero inoxidable (3.9 mm ID x 30 cm) empacada con un tamaño de partícula de 5 μ m y equilibrada a 30°C. La fase móvil isocrática utilizada fue KH₂PO₄ 0.04 M y K₂HPO₄ 0.06 M, con una velocidad de flujo de 2 ml/min. Se monitoreó a 254 nm con la escala de deflexión puesta a 0.2 unidades de absorbancia y se midió la respuesta del detector para cada uno de los 6 nucleótidos (ATP, ADP, AMP, IMP, Hx, HxR) y las muestras, de acuerdo a Ryder (1985).

Evaluación de Calidad Mediante Pruebas Bioquímicas de Origen Microbiano

Bases Volátiles Totales (BVT)

Se colocaron 10 g de músculo y 300 mL de agua destilada en un matraz de fondo redondo de 1 litro; se agregaron 2 g de óxido de magnesio y perlas de ebullición. Las bases volátiles fueron destiladas y recogidas sobre ácido bórico al 2%, utilizando rojo de metilo y verde de bromocresol como indicador y titulando con ácido sulfúrico 0.05 N, de acuerdo a la metodología establecida por Woyewoda *et al.* (1986).

Determinación de Histamina

Para la determinación de histamina se siguió la metodología establecida por Gouygon *et al.* (1987). Se homogenizaron 50 g de muestra con 100 mL de ácido tricloroacético al 10% para posteriormente centrifugar a 2000 g por 15 minutos en una centrífuga refrigerada Beckman modelo J2-21 (Beckman Instruments INC, Palo Alto, CA). Se filtró a través de un filtro 0.45 μ m y el extracto obtenido se almacenó a 4 °C.

hasta su análisis empleando cromatografía líquida de alta presión (HPLC). El contenido de histamina no fue determinado para la sardina enlatada importada.

El sistema HPLC consistió de una bomba Varian 9012 (Varian Instrument, Walnut Creek, CA) y una válvula de inyección Rheodyne con un "loop" de 10 μ L de capacidad. Se usó un detector de fluorescencia con lámpara de deuterio Varian 9070 (Varian Instrument, Walnut Creek, CA). La columna utilizada fue Bondesil RP C18 (4.6 x 250 mm), empacada con un tamaño de partícula de 5 μ m. La fase móvil consistió de 900 mL de buffer de acetato + 95 mL de metanol + 5 mL de tetrahidrofurano, pH 7.2, con una velocidad de flujo de 1.2 mL/min. con un gradiente entre fase móvil y metanol. La histamina se derivó haciendo una modificación al método de Vázquez-Ortiz *et al.* (1995) y se detectó por fluorescencia a 350 nm de emisión y 400 nm de excitación.

Análisis Estadístico

Se realizaron tres repeticiones, efectuando los análisis por duplicado. Las marcas se compararon entre sí para cada uno de los índices de calidad, mediante análisis de varianza de un solo factor y prueba de comparación de rango múltiple de Duncan cuando fue necesario. Para todas las estadísticas se utilizó un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Pruebas Físicas y Ponderales

Peso Neto, Peso Drenado y Volumen de Salsa

En la sardina enlatada de procedencia nacional, dos muestras de un mismo lote resultaron con un peso neto inferior a los 425 g declarados en la etiqueta. El peso neto osciló entre 408 y 464 g, lo cual indica que hubo casos donde el peso se excedió hasta en un 9.2%. Para la marca de sardinas de importación, de 18 latas analizadas el 45% presentó menor peso neto que el declarado. Se encontró una muestra con un déficit del 7.8%; para este producto, los pesos obtenidos variaron entre 392 y 466 g. En lo que respecta a las sardinas de procedencia estatal, E1 y E2, las latas analizadas presentaron un exceso promedio en el peso neto declarado que alcanzó un 7 y 8%, respectivamente.

Todas las muestras de las cuatro marcas analizadas contenían más pescado sólido (peso drenado) que los 300 g declarados en la etiqueta, encontrándose en algunos casos hasta un 48% de sobrepeso.

En un estudio similar realizado en Caracas, Venezuela, con sardinas en conserva, nacionales y de importación, Tomes *et al.* (1971) encontró que el 50% de 75 latas de sardinas procedentes de 6 fábricas nacionales distintas, y el 8% de 24 latas de sardinas importadas, tenían un peso neto menor que el declarado en la etiqueta. Además, el 30% de las latas de sardina nacionales así como el 17% de las de importación, tenían menos del 80% de peso drenado en comparación con el peso neto declarado, lo cual puede considerarse como un mínimo práctico para dar la impresión de que la lata se ha llenado debidamente.

La Norma Oficial Mexicana (NOM-028-SSA1-1993) sobre pescados en conserva no reglamenta el contenido mínimo permitido de peso drenado, con respecto al peso neto

declarado en la etiqueta. Sin embargo, las Especificaciones Federales sobre sardinas en conserva en Estados Unidos señalan un peso drenado mínimo del 76%, mientras que las Danesas especifican un 60% para latas ovaladas y redondas.

Las dificultades que presenta el llenado de las latas se debe, en ocasiones, al tamaño excesivo del pescado en comparación con la dimensión de la lata. En el presente estudio, la talla de las sardinas para las cuatro marcas seleccionadas varió entre 6.6 y 13.0 cm. Lo anterior presenta dificultades al tratar de balancear el peso dentro de la lata, de modo que a menudo el resultado será un sobrepeso o una falta de éste. El exceso de pescado en la lata afecta directamente la apariencia del producto, ya que el contenido tiene que comprimirse al poner la tapa o bien, cuando se abre la lata con un destapador corriente. Ante esta situación, es casi inevitable que algunas de las sardinas se rompan, con el consiguiente deterioro de la apariencia.

Debido a la variabilidad en el tamaño de las sardinas, se observaron grandes diferencias en el número de pescados por lata. En las marcas de importación, se encontraron de tres a nueve sardinas por lata, mientras que en las de origen estatal y nacional osciló entre cuatro y seis.

De acuerdo a Tornes *et al.* (1971), los factores que más afectan la apariencia del producto enlatado son: la presencia de pescados partidos y pedazos sueltos de los mismos, las partes sin piel, la colocación defectuosa de los pescados en la lata y la apariencia de la salsa. La cantidad de salsa debe ser suficiente para mantener a las sardinas "húmedas" y dar a la piel un aspecto brillante al abrir la lata.

El volumen de salsa para las cuatro marcas varió dentro de un rango similar, entre 80 y 207 mL. El llenado de salsa debe hacerse preferiblemente con una máquina que dosifique el volumen. El problema básico es que el peso del pescado varía mucho, por lo que debe considerarse esto antes de calcular el volumen específico para el llenado correcto de las latas.

Los resultados en el Cuadro 2 muestran los promedios del peso neto y peso drenado, detectándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las cuatro marcas trabajadas. Contrario a lo anterior, no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) en

Cuadro 2. Peso Neto, Peso Drenado y Volumen de la Salsa de Tomate para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada.

Marca	Lote	P. Neto(1) (g)	P. Drenado(2) (g)	Vol. Salsa (mL)	(2)/(1)
E1	1	458.28	412.28	118.00	0.90
	2	450.73	411.11	115.36	0.94
	3	454.03	390.22	135.57	0.86
	X±SD	454.35±3.78 ^b	404.54±12.41 ^b	122.98±10.98 ^a	0.89±0.03
E2	1	443.06	326.47	193.17	0.74
	2	435.38	347.37	165.00	0.80
	3	438.34	392.86	129.28	0.90
	X±SD	438.93±3.87 ^{ab}	355.57±33.94 ^a	162.48±32.02 ^a	0.81±0.08
N	1	444.54	369.94	135.43	0.83
	2	428.43	345.66	137.57	0.81
	3	454.43	358.42	138.86	0.79
	X±SD	442.47±13.12 ^{ab}	363.22±20.38 ^{ab}	137.29±1.73 ^a	0.81±0.03
I	1	425.43	385.57	95.28	0.91
	2	443.44	345.66	157.71	0.78
	3	418.67	358.42	104.28	0.86
	X±SD	429.18±12.80 ^a	363.22±20.38 ^{ab}	119.09±33.75 ^a	0.85±0.07

Medias en la misma columna con diferente superíndice indican diferencias significativas ($p < 0.05$). El número de latas por lote fue siete.

el volumen de salsa de tomate entre las marcas. En base a lo declarado en la etiqueta de presentación de las marcas en estudio, la relación peso drenado/peso neto debiera ser de 0.71. Para todas las marcas analizadas este valor fue superior, lo cual pudiera tener implicaciones en la apariencia y en el costo de producción del mismo. Las relaciones superiores a 0.71 implican que estamos agregando menos salsa que la requerida para el peso de músculo en la lata, lo cual podría resultar en un producto opaco y reseco, al mismo tiempo que encarece el costo de producción, ya que el precio de la sardina es mayor que el de la pasta de tomate.

Textura

El pescado puede exhibir una amplia variedad de propiedades texturales, pero generalmente es suave, tierno, jugoso y en algunos casos fibroso. Poco se ha publicado sobre los factores que influyen la aceptabilidad del pescado. Parece ser que la textura no es una determinante importante al compararse con el sabor y, posiblemente, la apariencia. Estudios realizados sobre las propiedades sensoriales de atún enlatado, concluyen que la preferencia del consumidor hacia el sabor y apariencia era del 40% para cada una, mientras que para la textura sólo 20%. Trabajos llevados a cabo con panfistas entrenados, encontraron que la preferencia sobre bacalao de varias calidades estuvo más influenciada por el sabor que por la textura (Stanley, 1979). Lo anterior no significa que la textura por sí misma no sea un factor limitante en la aceptabilidad del consumidor.

En el Cuadro 3 se reportan los valores de textura (cm-kgf/g) de la sardina enlatada. La marca E2 presentó la menor firmeza, lo cual coincide con el aspecto que presentaba el contenido al abrir las latas, ya que en algunos lotes de esta marca se encontraron sardinillas desintegradas, con partes sin piel. No obstante lo anterior, no se detectó diferencia significativa entre las marcas para este parámetro físico ($p > 0.05$). Los coeficientes de variación indican que, con excepción de la marca E1, la textura del producto enlatado es muy inconsistente. Lo anterior pudiera ser resultado de la variación

Cuadro 3. Valores Promedio de Textura para la Sardina Enlatada de las Diferentes Marcas Estudiadas.

Marca	cm-kgf / g	% C.V.
E1	1.53 ± 0.04 ^a	3
E2	1.47 ± 0.27 ^a	18
N	1.79 ± 0.21 ^a	12
I	1.46 ± 0.30 ^a	21

Medias con el mismo superíndice indica que no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$). El número de latas por marca fue nueve.

en el grado de calidad de la sardina antes de iniciar su procesamiento, derivado del manejo poscaptura de la especie.

Color

El color es un parámetro importante de calidad que determina la aceptación del producto por el consumidor. La aplicación de la colorimetría de trisíntesis mediante el uso del sistema "L", "a", "b", probó ser una metodología adecuada y fácil de usar para estudiar las características de color de la salsa de tomate (Bhattacharya *et al.*, 1994).

El Cuadro 4 muestra los valores de los parámetros "L", "a", "b" y ángulo de matiz, para la salsa de tomate de las cuatro marcas estudiadas. El ángulo de matiz es la función arco tangente de la relación b/a. El comportamiento de este parámetro muestra más claramente la transición del matiz dentro de los diferentes cuadrantes del sólido de color; en este caso específico del cuadrante rojo-amarillo. Comparando los valores de ángulo de matiz obtenidos, se observó que éste fue mayor para la salsa de tomate de la marca E1, lo cual significa que su color sería "menos" rojo.

Sólo se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en el ángulo de matiz y luminosidad entre las marcas I y E1. Para todos los casos, los valores "L", "a" y "b" resultaron positivos, lo cual sitúa al líquido de cobertura (salsa de tomate) en el cuadrante rojo-amarillo del sólido de color. El ángulo de matiz, cuyos valores conjuntos oscilaron entre 30 y 40, indica que para todos los casos predominó el color rojo. Los valores de "L" por su parte, señalan un rojo tendiente a ser obscuro, mientras que los valores de "a" y "b" una baja cromaticidad o intensidad del color. Conjuntando los valores de estos tres parámetros (L, a, b), el color del líquido de cobertura se definiría como rojo obscuro y opaco, lo cual coincide con sus características visuales.

Los resultados anteriores concuerdan con las normas Danesas que especifican que el producto enlatado en salsa de tomate debe tener un color rojo o marrón-rojo; mientras que en Noruega, los estándares establecidos por el Laboratorio de la Industria de

Cuadro 4. Parámetros de Color "L", "a", "b" y Angulo de Matiz (θ) para la Salsa de Tomate de las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada.

Marca	Lote	"a"	"b"	"L"	Angulo de Matiz
E1	1	17.21	13.29	24.80	37.68
	2	16.86	11.44	23.33	34.16
	3	16.99	14.21	27.33	39.91
	X \pm SD	17.02 \pm 0.18 ^a	12.98 \pm 1.41 ^a	25.15 \pm 2.02 ^b	37.25 \pm 2.90 ^b
E2	1	19.91	15.13	25.96	37.23
	2	16.11	11.98	23.62	36.63
	3	16.33	10.49	20.78	32.72
	X \pm SD	17.45 \pm 2.13 ^a	12.53 \pm 2.37 ^a	23.45 \pm 2.59 ^{ab}	35.53 \pm 2.45 ^{ab}
N	1	17.40	13.02	21.84	35.45
	2	17.32	12.39	21.93	35.58
	3	18.29	12.38	22.60	35.43
	X \pm SD	17.67 \pm 0.54 ^a	12.60 \pm 0.37 ^a	22.12 \pm 0.41 ^{ab}	35.49 \pm 0.08 ^{ab}
I	1	15.76	9.80	20.22	31.87
	2	15.59	10.17	19.90	33.12
	3	18.96	11.30	21.66	30.79
	X \pm SD	16.77 \pm 1.90 ^a	10.42 \pm 0.78 ^a	20.59 \pm 0.94 ^a	31.93 \pm 1.16 ^a

Medias en la misma columna con diferente superíndice indican diferencias significativas ($p < 0.05$). El número de latas por lote fue tres.

Enlatados indican que el color debe ser un "rojo fresco", incluso con trazas de amarillo pero, no de marrón (Vinagre *et al.*, 1983).

Vacío y Espacio Libre

En los productos pesqueros enlatados, como en muchos otros alimentos, es útil dejar un cierto espacio libre mientras se llena la lata para permitir la expansión del contenido durante el procesamiento. El espacio libre se determina empíricamente y varía con la clase de producto y procesado que se le dé. Una vez establecido un estándar, el llenado se checará de acuerdo a estas reglas antes de cerrar la lata (Van den Broek, 1961). En lo que respecta al vacío, éste es expresado como la diferencia entre la presión interna de la lata y la presión atmosférica en plg o cm de mercurio.

En el Cuadro 5 se observan los valores de vacío y espacio libre en las muestras analizadas, encontrándose diferencia significativa ($p < 0.05$) entre marcas para ambos parámetros. De acuerdo a Durazo (1987), los valores recomendados para vacío y espacio libre en productos marinos enlatados son 10-13 cm Hg (3.94 - 5.12 plg de mercurio) y 3-5 mm, respectivamente. Otros autores recomiendan para pescado enlatado, un requerimiento mínimo de vacío de 5 plg de mercurio a 24°C (Van den Broek, 1961). La Norma Oficial Mexicana (NOM-028-SSA1-1993) señala que deberá dejarse un espacio libre en los envases metálicos herméticamente cerrados para que el contenido pueda dilatarse durante el tratamiento térmico y alcanzar un vacío adecuado; sin embargo, no indica valores límite.

Al comparar los resultados obtenidos (Cuadro 5) con las recomendaciones dadas por Durazo (1987) y Van den Broek (1961), se observan valores menores tanto para vacío como para espacio libre. El reducido espacio libre trae consecuencias en la apariencia del producto, ya que el sobrellenado puede ocasionar que se comprima la sardina, se desintegre, se de un mal sellado y se derrame el líquido de cobertura al abrir la lata, afectando la aceptación del producto por parte del consumidor. Además, el escaso

Cuadro 5. Vacío y Espacio Libre en Sardina Enlatada de Diferentes Marcas.

Marca	Lote	Vacío (plg. de Hg) n=3	Espacio Libre (mm) n=7
E1	1	3.27	0.43
	2	3.37	0.14
	3	3.17	0.11
	X±SD	3.27±0.10 ^b	0.23±0.18 ^a
	%C.V.	3	78
E2	1	2.57	0.15
	2	2.10	0.67
	3	2.33	0.26
	X±SD	2.33±0.24 ^{a*}	0.36 ± 0.27 ^a
	%C.V.	10	75
N	1	2.10	0.57
	2	0.83	0.82
	3	2.73	0.66
	X±SD	1.89±0.97 ^a	0.68±0.13 ^{a*}
	%C.V.	51	19
I	1	2.93	1.21
	2	3.63	0.77
	3	3.83	1.84
	X±SD	3.46±0.47 ^{ab}	1.27±0.54 ^b
	%C.V.	14	43

Medias en la misma columna con diferente superíndice indican diferencias significativas ($p < 0.05$). n = número de latas por lote.

vacío pudiera favorecer el desarrollo microbiano y permitir que la oxidación de los lípidos continúe lo cual redundaría en el deterioro del producto.

Los resultados para estos dos parámetros muestran una alta inconsistencia, con coeficientes de variación de hasta el 51% (Marca N) para vacío y 78% (Marca E1) para espacio libre. Las causas de estas deficiencias pudieran ser atribuidas a tecnología obsoleta, ajustes inadecuados o equipamiento en mal estado.

Pruebas Químicas

Estas pruebas se relacionan con la estabilidad de la fracción lipídica del músculo, la cual es altamente susceptible al fenómeno de oxidación.

Índice de Peróxidos (IP)

La oxidación de lípidos durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos marinos, es una de las principales causas de cambios en la calidad que afectan aroma, sabor, textura, consistencia y apariencia. La vida media del pescado y productos pesqueros está limitada por el desarrollo de la rancidez y otros sabores. Esto es debido no sólo al contenido de lípidos altamente insaturados, sino también a la biocatálisis promovida por compuestos heme y metales de transición libres en el tejido (Cho *et al.*, 1989).

En el presente estudio, no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) en los valores de IP entre las diferentes marcas de sardina enlatada (Cuadro 6); sin embargo, los valores más altos se obtuvieron para la marca E2. La gran variabilidad de los resultados es característica del método utilizado cuando se aplica a sistemas alimentarios multicomponentes. Pizzocaro *et al.* (1984), reportan que el IP tiene un comportamiento muy irregular durante los días de almacenamiento, debido probablemente al mecanismo tan complejo de la auto-oxidación de los lípidos y a la facilidad con que los productos reaccionan con otros componentes del medio.

Cuadro 6. Valor de Peróxidos para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada.

Lote	meq/kg grasa			
	Marca			
	E1	E2	N	I
1	0.75	7.13	5.09	3.00
2	2.05	8.04	ND	4.28
3	ND	1.77	1.83	ND
X±SD	0.93 ± 1.04 ^a	5.65 ± 3.39 ^a	2.31 ± 2.58 ^a	2.43 ± 2.19 ^a
%C.V.	112	60	112	90

Medias con el mismo superíndice indica que no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$). El número de latas por lote fue tres. ND = no detectado.

La determinación del IP por sí sola no proporciona información concluyente, puesto que valores pequeños se pueden encontrar tanto en las etapas iniciales como finales de la oxidación. Robles-Burgueño (1993), reporta valores de peróxidos de 8.86 meq/kg grasa y 2.91 meq/Kg grasa para sardina capturada en las estaciones de invierno y primavera, respectivamente, almacenada a 0°C/24 horas. Además, coincide con Pizzocaro *et al.* (1984) al señalar que el comportamiento de este parámetro es muy irregular durante el almacenamiento en hielo; observándose una oxidación incipiente al quinto día (en un rango de 31.88 - 33.92 meq/kg grasa); mientras que los estados avanzados se detectaron al decimoprimer día. Lo anterior establece que este proceso es uno de los principales problemas en la conservación de la sardina, desde el punto de vista de su calidad organoléptica, sobre todo considerando que se trata de una especie grasa.

Por otro lado, Cho *et al.* (1989) reportan valores iniciales de IP para sardina fresca (*Sardinops melanostica*) de 27.6 meq/kg grasa. Los reducidos valores de IP obtenidos en el presente estudio (en un rango de 0.93-5.65 meq/kg grasa) sugieren que el grado de oxidación de los lípidos del músculo de sardina pudiese ser incipiente; sin embargo, para establecer una aseveración concluyente es necesario su complementación con los valores del ácido tiobarbitúrico.

Indice del Acido Tiobarbiturico (TBA)

La prueba del TBA es ampliamente utilizada para medir la extensión del deterioro oxidativo de los lípidos conocido como auto-oxidación (Nishimoto *et al.*, 1985; Martín *et al.*, 1978). En el Cuadro 7 se muestra el comportamiento del TBA para las cuatro marcas de sardina enlatada; no se encontró diferencia significativa entre ellas ($p > 0.05$). Nishimoto *et al.* (1985) consideran que el pescado es de buena calidad cuando el TBA es menor de 3 mg malonaldehído/kg músculo y de pobre calidad cuando oscila entre 4 y 27 mg malonaldehído/kg músculo. Robles-Burgueño (1993), reporta valores iniciales para TBA de 4.3 mg malonaldehído/kg músculo y máximos de 37.25 al décimo primer día de almacenamiento a 0°C.

Cuadro 7. Valor de Acido Tiobarbitúrico (TBA) para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada.

Lote	mg malonaldehído/kg			
	Marca			
	E1	E2	N	I
1	138.48	114.75	64.53	32.53
2	73.43	39.44	74.72	42.27
3	64.37	97.21	..	36.60
X±SD	92.09 ± 40.43*	83.80 ± 39.41*	69.63 ± 7.21*	37.13 ± 4.89*
%C.V.	44	47	10	13

Medias con el mismo superíndice indica que no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$). El número de latas por lote fue tres.

Los resultados obtenidos al incluir las marcas en su conjunto, exceden los sugeridos por Nishimoto *et al.* (1985) para pescado de calidad reducida. Según los resultados de Robles-Burgueño (1993), la sardina utilizada para el enlatado de las marcas estudiadas excedía al momento de su uso, los once días poscaptura almacenadas a 0°C. Por otro lado, Prizzocato *et al.* (1984) demostraron que las sardinias enteras en hielo pueden ser mantenidas en condición aceptable hasta el octavo día de almacenamiento, aún si una ligera rancidez es aparente al tercer día.

Es práctica común que el procesamiento de la sardina (destinada al enlatado) no exceda las 48 horas poscaptura. Los resultados obtenidos sugieren, para todas las marcas, un abuso poscaptura de la especie en tiempos y temperaturas, equivalente a tenerla almacenada a 0°C por un período mayor de 10 días antes de ser enlatada.

Uno de los factores a considerar en la oxidación de los lípidos es la exposición al oxígeno y la temperatura, ya que éstos propician que se desencadene el mecanismo de reacción por lo que es de suma importancia el cuidado que se tenga con la materia prima. Una de las ventajas que pudiera tener el enlatado de la sardina, es que se da un proceso de precocinado y esterilizado comercial con lo que se excluye el oxígeno; originando por consecuencia que la reacción de auto oxidación no continúe. Teóricamente, el deterioro lipídico (rancidez hidrolítica y auto-oxidación) debe detenerse como resultado del proceso de enlatado y su tratamiento térmico. Las condiciones al interior de la lata excluyen al oxígeno, sustrato necesario para dicho proceso deteriorativo, por lo que la vida de anaquel de este producto es indefinida. Lo anterior conduce a concluir que el nivel de oxidación detectado en el producto es el existente antes del enlatado.

Diversos estudios consideran que el TBA tiene un comportamiento irregular. Una disminución en los valores de TBA puede ocurrir durante el almacenamiento debido a la formación de productos secundarios de la oxidación de los lípidos los cuales no reaccionan con el reactivo del TBA o a la reacción del malonaldehído con proteínas. Braddock y Dugan (1973), reportaron que en filetes de salmón congelado-salado mantenidos a -20°C por un año, hubo un incremento inicial rápido en el nivel de oxidación (número de TBA) el cual disminuyó con el tiempo. Estos investigadores

reportaron un incremento de grupos funcionales C=N, compuestos tipo base de Schiff's, los cuales correspondían con la disminución en los números de TBA (Cuppett *et al.*, 1989).

Al comparar los resultados obtenidos para las marcas E1 y E2, se observa que los valores de TBA son entre 2.5 y 2.3 veces más elevados que los de la marca I y 1.3 y 1.2 veces más que los de la marca N. Los coeficientes de variación en todos los casos fueron iguales o mayores al 10%; en el caso específico de las marcas E1 y E2 incluso superior al 40%. Este comportamiento puede deberse a la inconsistencia en la calidad de la sardina utilizada, a la variabilidad de la reacción en sistemas multicomponentes o a la combinación de ambas situaciones.

Los altos valores obtenidos para TBA en combinación con los valores reducidos para IP, indican un nivel avanzado de deterioro oxidativo en el producto enlatado, el cual pudiese ser enmascarado por el sabor impartido por el líquido de cobertura.

Pruebas Bioquímicas de Origen Endógeno

Acidos Grasos Libres (AGL)

Cuando la sardina muere, los sistemas enzimáticos internos en los tejidos empiezan sus procesos autolíticos o digestivos, los cuales afectan proteínas, lípidos y nucleótidos, manifestándose en una reducción de la frescura (Kanner *et al.*, 1988; Ehira y Uchiyama, 1986). La lipólisis postmortem se presenta extensivamente en el músculo de pescado. Aunque los ácidos grasos libres no han sido implicados directamente en los defectos de calidad, se han sugerido efectos indirectos como cambios en la textura y sabor.

Los AGL y los productos derivados de su auto-oxidación, interaccionan con las proteínas promoviendo su agregación, lo cual podría resultar en cambios en la textura del músculo. Por otro lado, los hidroperóxidos resultantes de la descomposición de los ácidos grasos (auto-oxidación), generan compuestos volátiles que alteran las características de

sabor, olor y color. Ryder *et al.* (1984) reportan en su estudio con macarela (*Trachurus novaezelandiae*) almacenada a 0°C, que el incremento del TBA coincide con la aparición de olores y sabores aceitosos en pescado cocinado, detectados mediante evaluación sensorial.

Estudios realizados indican que los AGL son más susceptibles a la auto-oxidación cuando están libres que cuando están esterificados (Labuza, 1971). Otros estudios llegan a la conclusión opuesta al encontrar en bacalao desmenuzado y congelado y en lisa congelada, una relación inversa entre la producción de ácidos grasos libres y su auto-oxidación (Castell *et al.*, 1966). Al parecer, la hidrólisis de los triglicéridos conduce a un incremento de la oxidación de los lípidos, mientras que la hidrólisis de los fosfolípidos la disminuye.

En el Cuadro 8 se muestran los valores promedio de AGL para las cuatro marcas estudiadas. Comparando los valores obtenidos con los reportados por Robles-Burgueño (1993), los resultados para la sardina enlatada de las marcas N y E1 de 9.45 ± 0.64 y 9.69 ± 0.46 $\mu\text{moles/g}$ tejido respectivamente, corresponderían a un almacenamiento a 0°C de aproximadamente 7 días previo al enlatado. Para la marca I, el valor promedio de 6.77 ± 0.73 $\mu\text{moles/g}$ tejido equivaldría a un almacenamiento de tres días a 0°C, mientras que para la marca E2 la cual presentó los valores de AGL más altos (13.42 $\mu\text{moles/g}$ tejido ± 3.24), correspondería un almacenamiento a 0°C por 10-12 días. Los resultados indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las marcas con respecto a este parámetro.

Botta y Shaw (1975) encontraron que la concentración de AGL en pescado (*Macrourus berglax*) se incrementó ($p < 0.01$) durante su almacenamiento en hielo por 18 días. La prueba de rango múltiple de Duncan reveló que los AGL no se incrementaron significativamente hasta el día 12. El valor más alto para esa especie de 21.03 a los 14 días de almacenamiento en hielo, fue ligeramente mayor que el valor de aproximadamente 17.0 para bacalao almacenado en hielo por 15 días. Al igual que el IP y TBA, Robles-Burgueño (1993) reporta un comportamiento irregular para AGL durante el período de almacenamiento a 0°C, observándose un incremento pronunciado en los

Cuadro 8. Ácidos Grasos Libres para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada.

Lote	μmoles/g muestra			
	E1	E2	N	J
1	9.81	11.26	8.74	7.19
2	10.08	17.15	9.64	5.93
3	9.18	11.84	9.98	7.19
$X \pm SD$	9.69 ± 0.46^b	13.42 ± 3.25^c	9.45 ± 0.64^b	6.77 ± 0.73^a
%C.V.	5	24	7	11

Medias con diferente superíndice indica diferencias significativas ($p < 0.05$). El número de latas por lote fue tres.

primeros siete días, que coincide con los incrementos de IP y TBA, para después mantenerse prácticamente sin cambio.

Tomando en cuenta que la sardina destinada al enlatado es procesada al llegar a la planta, los resultados de AGL reiteran que no existe un manejo adecuado de la materia prima antes de su procesamiento. La actividad de las enzimas lipolíticas, la cual conduce a la acumulación de AGL poliinsaturados a temperaturas incluso por debajo de 0°C, puede ser una causa contributiva del alto nivel del deterioro oxidativo detectado en el producto como lo mostraron los valores de IP y TBA.

Barassi *et al.* (1987) encontraron una relación inversa entre la producción de ácidos grasos libres y la pérdida de frescura en merluza (*Merluccius hubbsi*) y proponen que la cuantificación de estos ácidos pudiera ser utilizada en la determinación del deterioro del pescado almacenado en hielo, como una alternativa a la evaluación sensorial. Contrario a los resultados de Barassi *et al.*, (1987) cuando los ácidos grasos libres fueron graficados contra la textura, sabor, olor y aceptabilidad, la inspección visual indicaba que no parecían correlacionarse con estas características (Botta y Shaw, 1975).

Índice K

Cuando un pescado "fresco" se echa a perder, pasa a través de varias etapas: rigor mortis, autólisis y deterioro bacteriano. Por lo tanto, los métodos para estimación de la "frescura" del pescado deben estimar el así llamado "grado de frescura" en la etapa de la autólisis, antes que comience el deterioro inicial. Los resultados experimentales sugieren que la pérdida de la frescura no es causada por acción bacteriana sino que resulta de cambios bioquímicos en el tejido del músculo (Ehira y Uchiyama, 1986). Obatake y Tomita (1988), estudiando la degradación del ATP en filetes de músculo blanco y mezclados con músculo oscuro de macarela (*Scomber japonicus*) almacenados en hielo por 8 días, encontraron una disminución de trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP), monofosfato de adenosina (AMP), monofosfato de inosina (IMP) e hipoxantina (Hx) mientras que la inosina (HxR) tendió a incrementar. La

cuantificación del ATP y sus productos de degradación sirven de base para calcular el Índice K, conocido como Índice de frescura.

En el Cuadro 9 se reportan las concentraciones promedio de ATP y sus metabolitos de degradación y el índice K para tres marcas de sardina enlatada. En esta parte del estudio no se incluyó la marca I por falta de disponibilidad de muestras. En los tres casos analizados, las concentraciones de ATP y ADP fueron muy pequeñas; para E1 no fueron detectados. Por el contrario, el IMP fue el metabolito que se encontró en mayor concentración, siendo E1 la marca donde se presentó el valor más elevado. Lo anterior concuerda con el hecho de que en esta marca no se detectaron ATP y ADP lo que significa que la mayor parte de estos compuestos ya habían sido degradados a los metabolitos subsecuentes. Las marcas E2 y N mostraron un comportamiento similar. Watabe *et al.* (1989) observaron en sardina (*Sardinops melanosticta*) una rápida disminución del ATP de 6.0 a 0.2 $\mu\text{moles/g}$ en 10 horas de almacenamiento a 0°C. Valores para Hx e IMP de 1.22 y 2.45 $\mu\text{moles/g}$ han sido reportados para merluza (*Merluccius gayi gayi*) a los 13 días de almacenamiento ($1 \pm 1^\circ\text{C}$) al cabo de los cuales resultó inaceptable por los panelistas.

En el presente estudio los valores promedio de índice K para las marcas oscilaron entre un 40-47% (Cuadro 9), no detectándose diferencia significativa entre ellas ($p > 0.05$). Uno de los lotes de la marca E1 presentó el porcentaje más elevado de 56.3 ± 1.7 (dato no mostrado). De acuerdo a los datos reportados por Lugo-Sánchez *et al.* (1996) para índice K en sardina Monterey (*Sardinops sagax caerulea*), los valores encontrados para las tres marcas equivaldrían a un almacenamiento de la especie previo a su enlate entre 10 y 14 días a 0°C. Por otro lado, Uchiyama y Ehira (1986) reportan valores de índice K de $3.5 \pm 1.9\%$ para atún recién capturado; de $18.7 \pm 4.0\%$ para carne de buena calidad grado "sushi" y de $52.2 \pm 8.9\%$ para grado sushi de mediana calidad.

En base a esta información, de los valores de índice K obtenidos en el presente estudio se puede concluir que el grado de frescura de la sardina utilizada al momento del empaque era, si no la óptima, sí adecuada.

Cuadro 9. Índice K, ATP y sus Productos de Degradación en Músculo de Sardina Enlatada.

ATP y Productos de Degradación $\mu\text{M}/10 \text{ mL}$ de extracto	Marcas		
	E1 $\bar{X} \pm \text{SD}$	E2 $\bar{X} \pm \text{SD}$	N $\bar{X} \pm \text{SD}$
ATP	ND	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00
ADP	ND	0.004 ± 0.005	0.001 ± 0.000
AMP	0.22 ± 0.02	0.16 ± 0.05	0.21 ± 0.02
IMP	0.45 ± 0.13	0.33 ± 0.18	0.46 ± 0.10
HxR	0.36 ± 0.04	0.26 ± 0.06	0.32 ± 0.02
Hx	0.22 ± 0.06	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.03
% Índice K	$47.42 \pm 8.07^*$	$46.43 \pm 9.70^*$	$40.57 \pm 5.98^*$

Medias con el mismo superíndice indica que no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$). El número de latas por marca fue nueve. ND= no detectado.

En las Figuras 5 y 6 se observa un cromatograma típico para los estándares del ATP y metabolitos de degradación y de una muestra de sardina enlatada. Los estándares del ATP y de sus metabolitos fueron perfectamente separados en las condiciones utilizadas. Comparando el cromatograma obtenido para la muestra de sardina enlatada (Fig. 6) con el de los estándares se puede observar que no se encontró ATP y ADP, pero sí concentraciones elevadas de IMP y un poco más bajas de AMP, Hx y HxR.

Pruebas Biquímicas de Origen Microbiano

Histamina

El estudio de la histamina en alimentos es de interés sanitario y toxicológico. Su presencia en pescado ha sido propuesto y/o empleado como indicador de deterioro microbiano, como índice de la baja calidad de un producto o de un procesamiento defectuoso (Vidal-Carou *et al.*, 1990).

En la industria pesquera, la producción bacteriana de histamina es controlada principalmente por el uso de bajas temperaturas. Las bacterias residen aparentemente en las agallas y los intestinos del pez y cualquier almacenamiento prolongado a alta temperatura da como resultado la acción bacteriana sobre la histidina del tejido. La producción de histamina depende no sólo del contenido en histidina libre del músculo, sino también de la actividad histidino descarboxilasa de los microorganismos (Belding y Taylor, 1982).

La detección de histamina en productos enlatados pone de manifiesto la termoestabilidad de este compuesto. Wootton *et al.*, (1989) detectaron histamina en varios productos (pescado, ostras y calamares secos, salados y enlatados) con niveles de 7 a 803 mg/kg (ppm). Las concentraciones de histamina entre 1 mg y 1 g/kg fueron detectadas en pescado enlatado y de 5-7 g de histamina/kg en bonito seco-salado, implicadas en incidentes escombrotóxicos (Murray *et al.*, 1982). Por su parte, Windyga *et al.* (1992), reportan niveles de histamina mayores de 20 mg/100 g en el 18% de 79

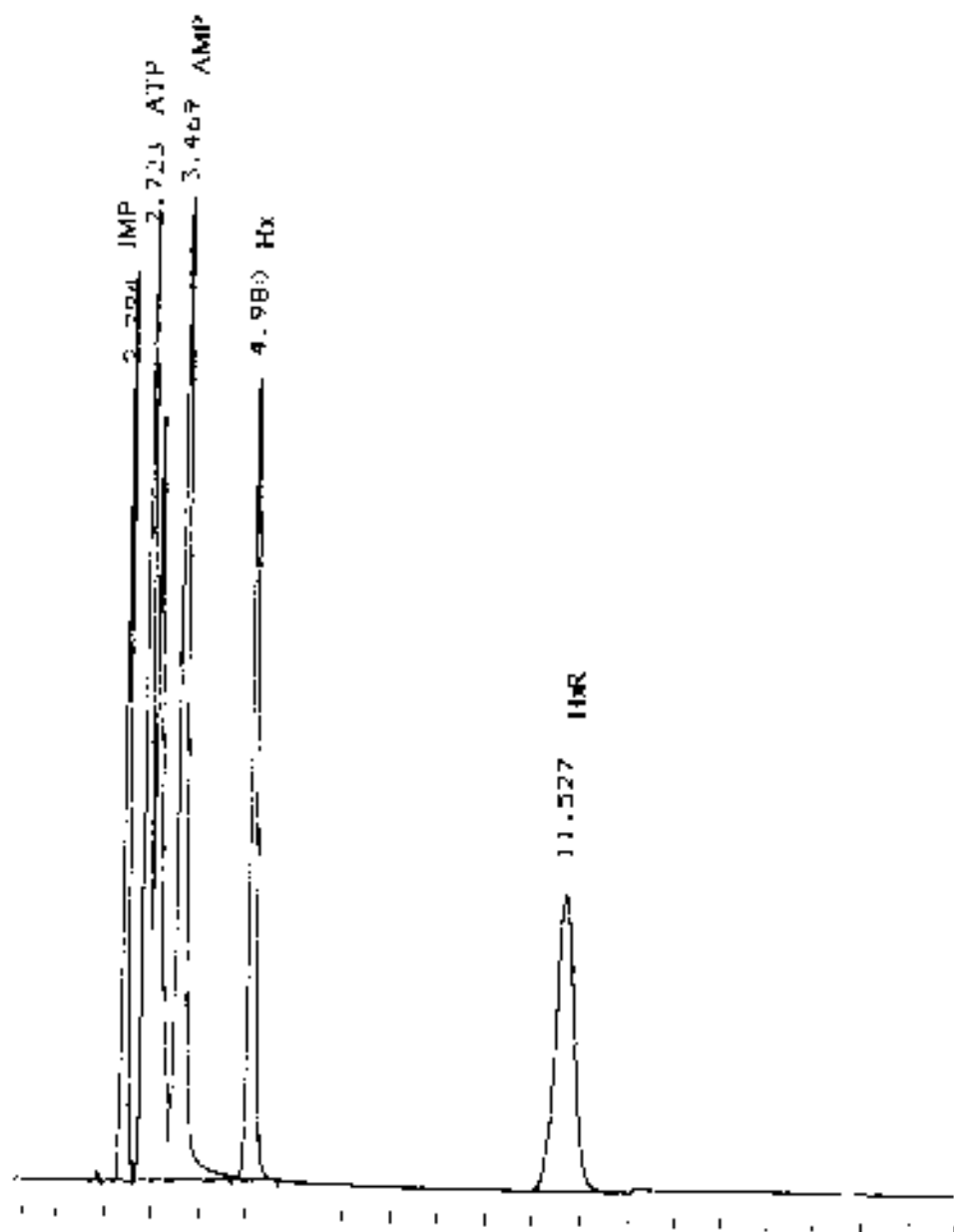


Figura 5. Cromatograma típico de los estándares de ATP y sus productos de degradación por HPLC.

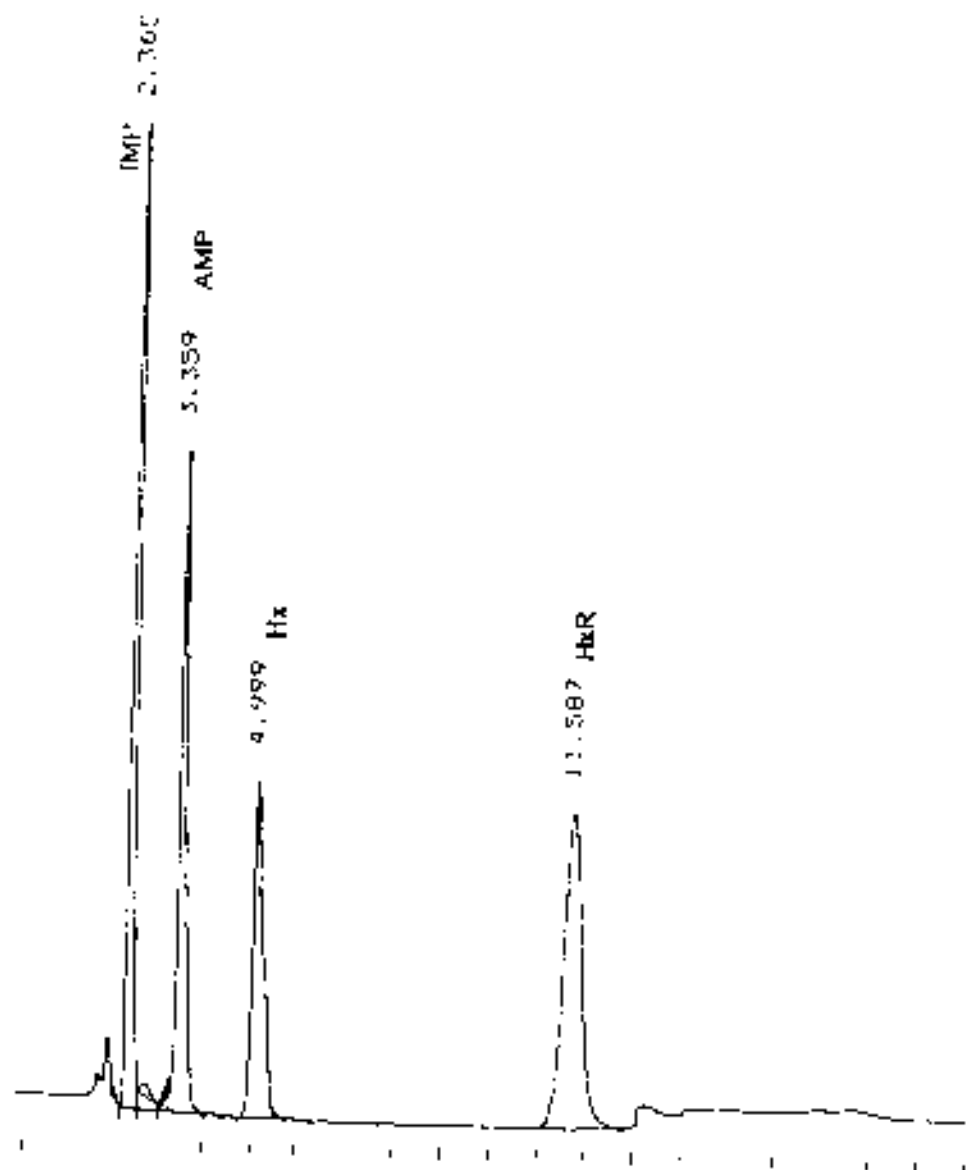


Figura 6. Cromatograma típico de la cuantificación del ATP y sus productos de degradación por HPLC, en una muestra de sardina enlatada en salsa de tomate.

muestras de sardinas y macarelas enlatadas analizadas, mientras que Gloria y Soares (1992), en el rango de 0.17 a 3.6 mg/100 g en el 92% de 87 muestras de sardina enlatada en Brasil.

Gheorghe *et al.* (1970) encontraron que las concentraciones de histamina permanecían por debajo de los niveles tóxicos cuando el pescado era almacenado a 8°C por 11 días o por ocho meses a -8°C. Señalan además, que la histamina nunca excedió los 6 mg/100 g cuando el pescado era almacenado a -10°C por ocho meses. Estudios realizados por Baldrati *et al.* (1980), reportan concentraciones de 60-70 mg de histamina/100 g en sardina y macarela después del almacenamiento por 3 días a 15-20°C. Por su parte, Robles-Burgueño (1993), reporta para sardina monterey una concentración de histamina en músculo después de 24 horas a 0°C de 0.0000179 mg/100 g; dicha concentración permaneció prácticamente estable durante el período de almacenamiento de 15 días a 0°C que duró su estudio.

En el Cuadro 10 se aprecian las concentraciones de histamina para tres de las cuatro marcas estudiadas. En las marcas E2 y N se encontraron los valores más bajos de 0.05 ± 0.01 y 0.14 ± 0.07 mg/100 g de muestra respectivamente, mientras que para la E1 se detectaron valores hasta 7.03 ± 1.42 mg/100 g de muestra. Considerando que la sardina para enlate es procesada inmediatamente después de llegar a la Planta y de acuerdo a los resultados reportados por Robles-Burgueño (1993), se puede aseverar que las latas de sardina analizadas contenían cantidades apreciables de histamina, muy por arriba de lo esperado. No se observó diferencia significativa en los valores de histamina entre las 3 marcas analizadas ($p > 0.05$).

Los niveles detectados en las marcas analizadas en el presente estudio, son similares a los reportados en la literatura para este tipo de producto e incluso menores. La Norma Oficial Mexicana (NOM-028-SSA1-1993) para pescados en conserva establece un límite máximo para histamina de 200 mg/kg. Por otro lado, la Oficina de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (USFDA), maneja niveles de riesgo de histamina en atún enlatado de 50 mg/100 g (500 ppm); no obstante actualmente se debate la necesidad de reducir este nivel a 5mg/100 g (Wekell, 1996,

Cuadro 10. Contenido de Histamina en Sardina Enlatada.

Lote	mg /100 g de Tejido Muscular		
	E1	E2	N
1	7.03	0.09	0.24
2	4.92	0.05	0.14
3	0.14	0.11	0.08
X±SD	4.03 ± 3.53*	0.08 ± 0.03*	0.15 ± 0.08*
% C.V.	88	38	53

Medias con el mismo superíndice indica que no se encontró diferencias significativas ($p > 0.05$). El número de latas por lote fue tres.

com. pers.). De los resultados obtenidos se puede concluir que los niveles encontrados, si bien superiores a los reportados en el estudio de comportamiento posmortem de Robles-Burgueño (1993) para la misma especie, están dentro de los límites considerados como inocuos para el consumidor (50 mg/100 g).

En las Figuras 7 y 8 se observan los cromatogramas típicos del estándar de histamina y de una muestra de sardina enlatada, respectivamente.

Bases Volátiles Totales (BVT)

Existen serias dudas sobre la validez absoluta del contenido de BVT como índice de la calidad del pescado. Las especies marinas contienen nitrógeno no proteico (NNP) en cantidades sujetas a variaciones estacionales y de otros órdenes, el cual, por acción del calor y de la destilación básica aplicados en su determinación, da lugar a bases volátiles que interfieren con las bases generadas por acción microbiana y enzimática. Sin embargo, su determinación se emplea en diversos países para evaluar la calidad, no solo del pescado fresco, sino también del congelado, salado, en conserva y en semiconserva (Yeannes *et al.*, 1983).

El Marrakehi *et al.* (1990) reportan que las BVT no son un buen índice para determinar los cambios de calidad en pescado durante las primeras etapas de almacenamiento en hielo, sino más bien para evaluar el grado de deterioro, ya que encontraron que la sardina almacenada en hielo tiene una vida media de 9 días, al cabo de los cuales las BVT fueron de 27.83 mg/100 g. Por otro lado, concentraciones de BVT de 30 mg/100 g han sido reportadas para sardina almacenada a temperatura ambiente por 24 horas (Nishimoto *et al.*, 1985).

En el presente estudio, los valores de BVT para las cuatro marcas de sardina enlatada oscilaron entre 31.70 y 42.95 mg/100 g, a excepción de uno de los lotes de la marca E1 que presentó un valor de 18.74 (Cuadro 11). Los resultados obtenidos concuerdan con el trabajo de McCarthy *et al.* (1989), donde reportan que los valores de BVT en pescado enlatado permanecen casi constantes, con la mayor parte de las

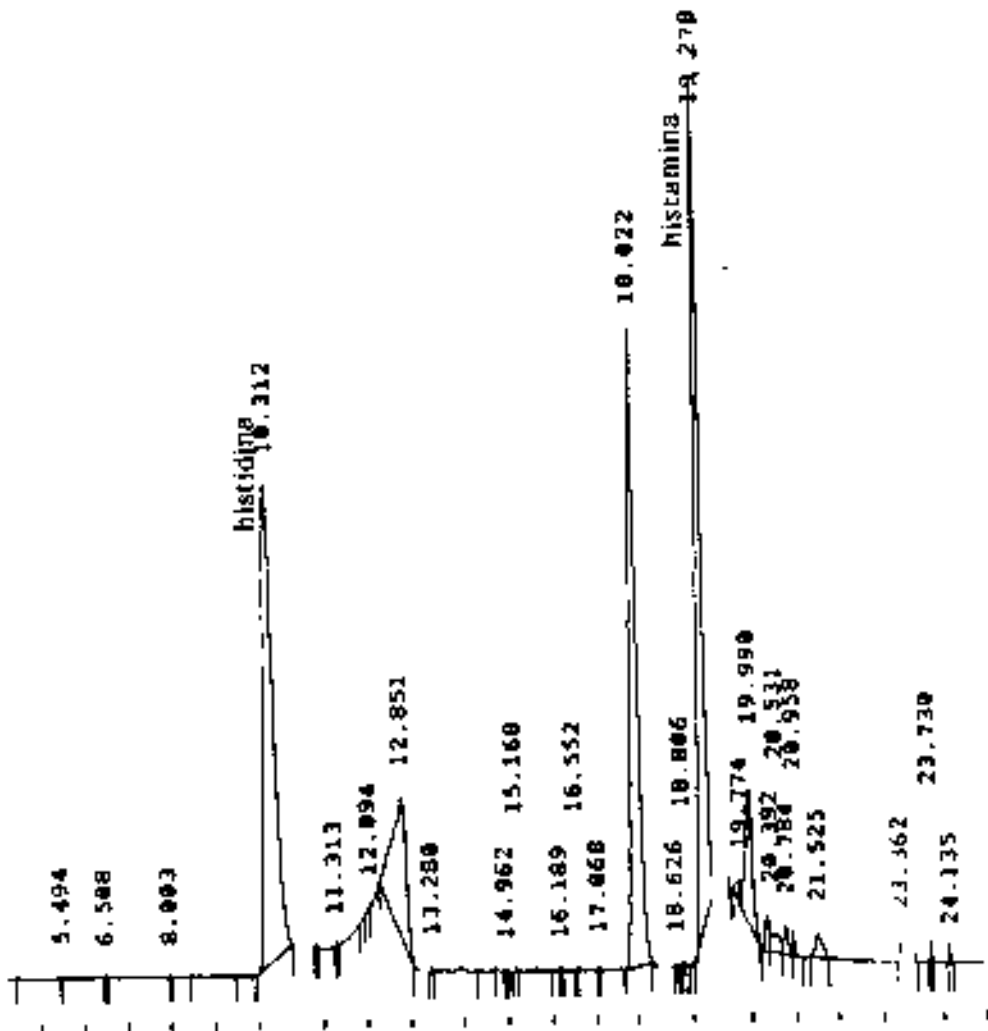


Figura 7. Cromatograma típico del estándar de histamina.

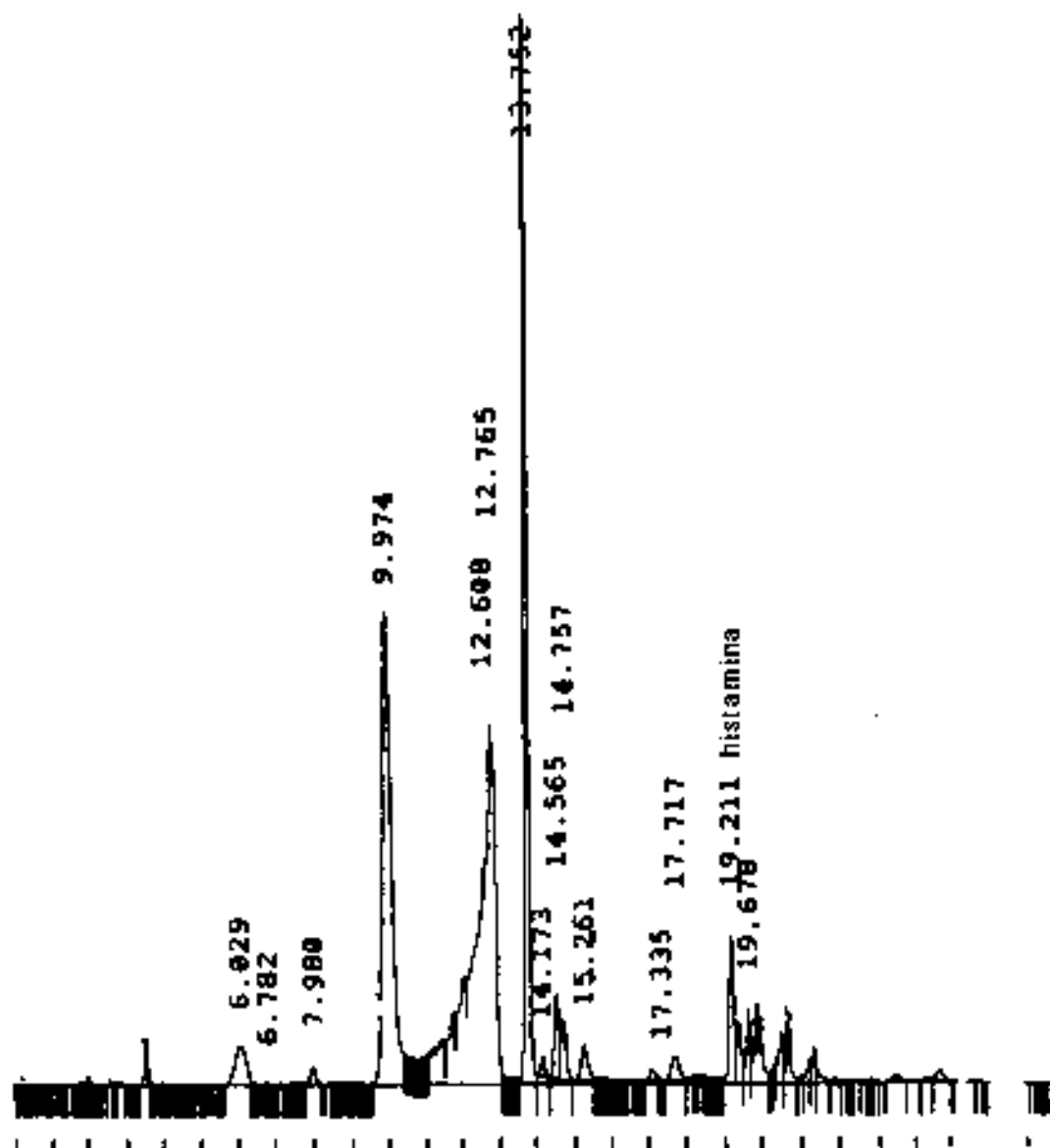


Figura 8. Cromatograma típico de la cuantificación de histamina por HPLC en una muestra de sardina enlatada en salsa de tomate.

Cuadro 11. Valor de Bases Volátiles (BVT) para las Diferentes Marcas de Sardina Enlatada.

Lote	mg / 100 g de Tejido Muscular			
	E1	E2	N	I
1	18.74	38.08	36.68	41.20
2	31.70	39.59	38.03	35.29
3	37.19	34.15	37.57	42.95
X±SD	29.21 ± 9.47*	37.27 ± 2.81*	37.43 ± 0.69*	39.81 ± 4.01*
%C.V.	32	8	2	10

Medias con el mismo superíndice indica que no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$). El número de latas por lote fue tres.

mediciones entre 40 y 50 mg/100 g. No se observó diferencia significativa entre las marcas estudiadas ($p > 0.05$).

CONCLUSIONES

La Figura 9 resume el comportamiento de los índices de frescura y de deterioro para las cuatro marcas analizadas, observándose en todos los casos una falta de uniformidad en el producto terminado.

Los índices de deterioro debidos a rancidez hidrolítica y oxidativa mostraron un comportamiento similar para las cuatro marcas, indicando en algunos casos estados incipientes y en otros avanzados de la oxidación.

Las bases volátiles totales no resultaron un buen índice de deterioro microbiano en pescado en conserva. Los datos obtenidos pueden estar afectados por la generación de otros componentes nitrogenados durante el precocinado del producto o bien por el método de destilación empleado.

Los valores de índice k sitúan a la materia prima utilizada en un grado de "buena calidad". Sin embargo, la presencia de histamina indica que probablemente no se dió un buen manejo poscaptura de la especie o bien ésta no fue procesada en un tiempo razonable.

Las cuatro marcas estudiadas presentaron índices de deterioro oxidativo, microbiano y pérdida de frescura de la materia prima utilizada, aunque en rangos aceptables para el consumo humano, siendo la marca I la que presentó la mejor calidad global.

Considerando que la sardina es un recurso que fácilmente se puede deteriorar debido a un mal manejo de la especie, es de especial importancia controlar la calidad de la sardina destinada al enlatado, ya que independientemente de que las características organolépticas o sensoriales del producto final al momento del consumo generen su aceptación o rechazo, están los aspectos relacionados con la salud pública tan importantes en esta especie.

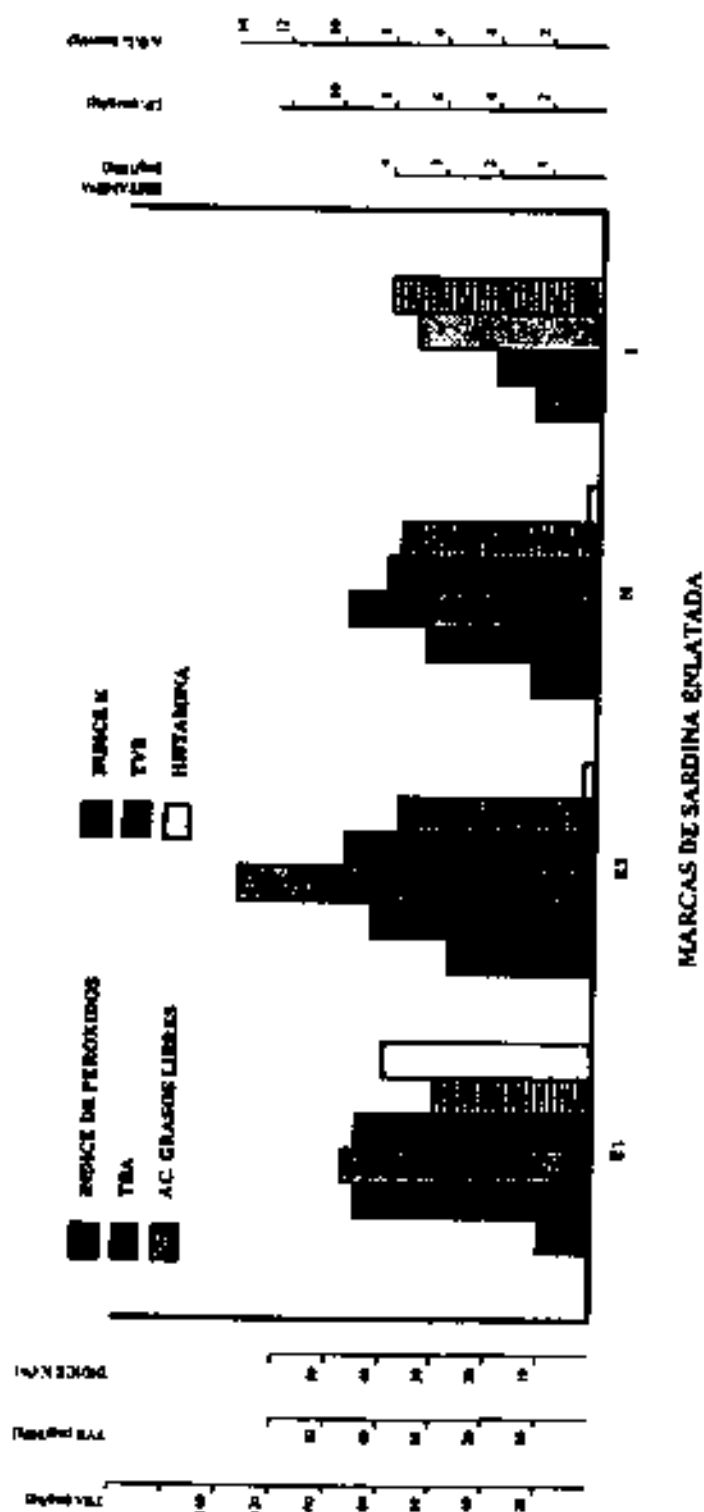


Figura 9. Comportamiento de los índices químicos y bioquímicos (endógenos y microbiológicos) por marca de sardina enlatada.

Por lo anterior, se puede concluir que si bien la calidad de las cuatro marcas de sardina enlatada no es óptima o excelente, sí está en condiciones adecuadas para el consumo. Probablemente la baja aceptación del producto se ve influenciada por la falta de uniformidad detectada entre las diferentes marcas estudiadas e incluso entre lotes de una misma marca. Lo que a su vez es el resultado de lo inadecuado de la infraestructura industrial actual para la captura, manejo y procesamiento de esta especie.

BIBLIOGRAFIA

- Ababouch, L. 1988. Spoilage of canned seafood: causes and prevention. *Infofish International*, 4:44.
- Ababouch, L., Chougver, L. y Busta, F.F. 1987. Causes of spoilage of thermally processed fish in Morocco. *Int. J. Food Sci. Technol.* 22:345-354.
- Ahlstrom, E.H. 1960. Synopsis on the biology of the pacific sardine (*Sardinops caerulea*). En: Proceedings of the world scientific meeting on the biology of sardines and related species, Vol. 2. FRQ Fish. Biol. Synops. p. 415-451.
- ALINORM 76/18. Comité del Codex sobre pescados y derivados. Comisión del Codex Alimentario - FAO-OMS-ONU.
- Anónimo. 1988. Fish canning. *Infofish International*.4:45-47.
- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis, 14th. ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Arnold, S.H. y Brown, W.D. 1978. Histamine toxicity from fish products. *Adv. Food. Res.* 24:114-154.
- Asakawa, T. y Matsushita, S. 1980. A colorimetric microdetermination of peroxide values utilizing aluminum chloride as the catalyst. *Lipids*. 15:965-967.
- Baldrali, G., Fornari, M.B., Spotti, e. y Inceri, I. 1980. Influenza della temperatura sulla formazione d'istamina in pesci ad elevato contenuto d'istidina libera. *Industria Conserve*. 55:114-122.
- Barassi, C. A., Pécora, R.P., Roldán, H. y Trucco, R.E. 1987. Total, non volatile free fatty acids as a freshness index for hake (*Merluccius hubbsi*) stored in ice. *J. Sci. Food Agric.* 38:373.
- Behling, A.R. y Taylor, S.L. 1982. Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. *J. Food Sci.* 47:1311-1314.
- Bhattacharya, S., Choudhury, G.S. y Studebaker, S. 1994. Color changes during thermal processing of pacific chum salmon. *J. Aquatic Food Product Technology*, 3:39-48.

- Bosund, I. y Garrot, B. 1969. Effect of pre-cooking of baltic herring on lipid hydrolysis during subsequent cold storage. *Lebensm. Wiss. Technol.* 2:59-61.
- Botta, J.B., Lauder, J.T. y Jewer, M.A. 1984. Effect of methodology on total volatile basic nitrogen (TVB-N) determination as an index quality of fresh Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Food Sci.* 49:734-736.
- Botta, J.R., Lauder, J.T. y Saint, W. 1983. Chemical and sensory assessment of nonspawning capelin (*Mallotus villosus*) subjected to long term frozen storage. *J. Food Sci.* 48:1512.
- Botta, J.R. y Shaw, D.H. 1975. Chemical and sensory analysis of roughhead grenadier (*Macrourus berglax*) stored in ice. *J. Food Sci.* 40:1249-1252.
- Bradlock, R.J. y Dugan, L.R. 1973. Reaction of autoxidizing linoleate with Coho salmon myosin. *J. Amer. Oil Chem. So.* 50:343.
- Calabrese, R. J. y Werner, J. 1977. Evaluación de algunos métodos de determinación de NBV-N y su importancia en la comercialización de pescado. *FII/HI/LA/77*. FAO.
- Castell, C.H., Moore, B.A., Jangaard, P.M. y Neal, W.E. 1966. Oxidation rancidity in frozen storage cod filets. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 23:1385-1400.
- Cattaneo, P. y Cantoni, C. 1978. Identificazione e dosaggio rapido dell'istamina nelle carni di pesce. *Ind. Alimentari.* 17:303-307.
- Cho, S., Endo, Y., Fujimoto, K. y Kaneda, T. 1989. Oxidative deterioration of lipids in salted and dried sardines during storage at 5°C. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 55:544.
- Coutts, R.T., Baker, G.B. y Pasutto, F.H. 1989. Foodstuffs as sources of psychoactive amines and their precursors: content, significance and identification. *Adv. Drug Res.* 15:169.
- Cuppitt, S.J., Gray, J.L., Booren, A.M., Price, J.F. y Stachiw, M.A. 1989. Effect of processing variables on lipid stability in smoked great lakes whitefish. *J. Food Sci.* 54:52-54.
- Davis, H.K y Reece, P. 1982. Fluorescence of fish muscle: causes of change occurring during frozen storage. *J. Sci. Food Agric.* 33:1143-1151.
- Dondero, M.L., Claveria, M.V. y Faúndez, N. 1982. Degradación del monofosfato de inosina en merluza (*Merluccius gayi gayi*, Guichenon), refrigerada y congelada, y su relación con la calidad organoléptica. *Rev. Agronóm. Tecnol. Aliment.* 22:257-264.

Doode, M.S. 1990. La Pesquería de la Sardina en Sonora. En: Relaciones. Estudios de Historia y Sociedad. Revista trimestral publicada por el Colegio de Michoacán. 41:45-77.

Doode, M.S. 1992. La industria sardinera ante las nuevas condiciones de mercado. En: La Industria Alimentaria en Sonora. Reestructuración y retos ante la apertura comercial, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (Ed.), p. 213-242.

Dudek, J.A., Elkins, E.R., Behl, B.A., Berman, S.C., Egelhofer, D. y Hagen, R.H. 1989. Effects of cooking and canning on the mineral content of selected seafoods. *J. Food Composition and Analysis*. 2:273-285.

Durazo, B. E. 1987. Manual de Tecnología Marina II. F.C.M. de la Universidad Autónoma de Baja California, México.

EAC Corp. 1985. Freshness testing paper (FTP). Manual técnico. Research Institute for Food Science. Kyoto University.

Eggerth, A.H. 1939. The production of histamina in bacterial cultures. *J. Bacteriol.* 37:205-222.

Ehira, S., Uchiyama, H., Uda, F. y Matsumiya, H. 1970. A rapid method for determination of the acid-soluble nucleotides in fish muscle by concave gradient elution. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 36:491-496.

Ehira, S. y Uchiyama, H. 1986. Determination of fish freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. En: Seafoods quality determination, D.E. Kramer y J. Liston (Eds.), p. 185-207. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.

El Marrakehi, A., Bennour, M., Bouchriti, N., Hamama, A. y Tagafatit, H. 1990. Sensory, chemical and microbiological assessments of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *J. Food Prot.* 53:600-605.

Ferencik, M. 1970. Formation of histamine during bacterial decarboxylation of histidine in the flesh of some marine fishes. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 14:52-60.

Frank, A.H., Baranowski, J.D., Chongsiriwatana, M., Brust, P.A. y Premaratne, R.J. 1985. Identification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahimahi (*Coryphaena hippurus*) after incubation at 0°C and 32°C. *Int. J. Food Microbiol.* 2:331.

- Gale, E.F. 1946. The bacterial aminoacide decarboxylases. *Adv. Enzymol. Relat. Subj. Biochem.* 6:1-32.
- Gheorghe, V., Manea, M., Bad-Oprisescu, D. y Jantea, F. 1970. Preservability and sanitary control of frozen ocean mackerel. *Igiena.* 19:601.
- German, J.B. y Kinsella, J.E. 1983. Lipid oxidation in fish tissue. Enzymatic initiation via lipoxygenase. *J. Agric. Food. Chem.* 33:680-683.
- Gloria, M.B.A. y Soares, V.F.M. 1992. Histamine level in fish commercialized in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Paper No. 236. IFT Annual Meeting. New Orleans, Louisiana.
- Gouygou, J.P., Siquin, C. y Durand, P. 1987. High pressure liquid chromatography determination of histamine in fish. *J. Food Sci.* 52:925-927.
- Gray, H. 1978. Measurement of lipid oxidation: A review. *J. AOAC* 55:539-546.
- Hall, G.M. y Ledward, D.A. 1986. Silage from tropical fish 3. Lipid behaviour. *J. Food Technol.* 21:45-54.
- Han, T.J. y Liston, J. 1987. Lipid peroxidation and phospholipid hydrolysis in fish muscle microsomes and frozen fish. *J. Food Sci.* 52:294-299.
- Hardy, R.L. 1980. Fish Lipids. Part 2. En: *Advances in Fish Science & Technology*. J.I. Connell (Ed.), p. 103-111. Fishing News Books LTD. Surrey, England.
- Hardy, R.L. y Smith, J.G. 1976. The storage of mackerel (*Scomber scombrus*). Development of histamine and rancidity. *J. Sci. Food Agric.* 27:595-599.
- Hashimoto, K., Watabe, S., Kono, M. y Shiro, K. 1979. Muscle protein composition of sardine and mackerel. *Bull. Jap. Soc. of Sci. Fish.* 45:1435-1441.
- Hillig, F. y Clark, E.P. 1938. A chemical procedure for evaluation spoilage in canned fish, especially salmon and tuna fish. *J. AOAC.* 21:688-695.
- Hulting, H.O. 1985. Characteristics of muscle tissue. En: *Food Chemistry*, O. R. Fenema, (Ed.), p. 725. Marcel Dekker, Inc., NY.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1978. *Microorganisms in Foods; their significance and methods of enumeration*, Vol. 1, 2nd. ed. University of Toronto Press, Toronto.

Ienastea, C. 1973. Bacterial production and destruction of histamine in foods and food poisoning caused by histamine. *Nahrung*. 15:109-115.

Iwamoto, M., Yamanaka, H., Abe, H., Ushio, H., Watabe, S. y Hashimoto, K. 1988. ATP and creatine phosphate break-down in spiked plaice muscle during storage, and activities of some enzymes involved. *J. Food Sci.* 53:1662-1665.

Jacquot, R. 1961. Organic constituents of fish and another aquatic animal foods. En: *Fish as Food*, Vol. 1. G. Borgstrom (Ed.), p. 145. Academic Press, Orlando, Fla

Jones, N.R. 1963. Chemical changes in fish muscle during storage. *Proc.Nutr.Soc.* 22:172.

Kanner, J., Shegalovich, I., Harel, S. y Hazan, B. 1988. Muscle lipid peroxidation dependent on oxygen and free metal ions. *J. Agric. Food Chem.* 36:409-412.

Khayat, A. y Schwabl, D. 1983. Lipid oxidation in seafood. *Food Technol.* 37:130-140.

Kimata, M. y Kawai, A. 1953. The freshness of fish and the amount of histamine presented in the meat. *Mem. Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ.* 5:25-54.

Kimata, M. y Kawai, A. 1958. Studies on the histamine formation of *Proteus morgani*. *Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ. Fish. Ser.* p. 92-99.

Kimata, M., Kawai, A. y Akamatsu, M. 1958. Classification and identification of the bacteria having an activity which can produce a large amount of histamine. *Mem. Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ.* 14:33-41.

Kimata, M. y Tanaka, M. 1954. On the bacteria causing spoilage of fresh fish, especially on the activity which can produce histamine. *Mem. Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ.* 7:12-17.

Konosu, S., Watanabe, K. y Shimizu, T. 1974. Distribution of nitrogenous constituents in the muscle extracts of eight species of fish. *Bull. Jpn. Soc. Fish.* 40:909

Labuza, T.P. 1971. *Kinetics of lipid oxidation in foods*. CRC Critical Review *Food Technol.* 2:355-405.

Lehninger, A.L. 1982. *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York.

Lovern, J.A. y Olley, J. 1962. Inhibition and promotion of post-mortem lipid hydrolysis in the flesh of fish. *J. Food Sci.* 27:551-559.

- Lugo-Sanchez, M.E. 1996. Comportamiento del índice K en sardina durante su almacenamiento en hielo. Informe técnico. C.I.A.D.A.C. Hermosillo, Son., México.
- Lukton, A. y Olcott, H.S. 1958. Content of free imidazole compounds in the muscle tissue of aquatic animals. *Food Res.* 23:611-618.
- Maga, J.A. 1978. *Amines in Foods*, CRC Critical reviews in Food Science and Nutrition, Vol. 10, p. 373-403. CRC Press, EEUU.
- Martin, R.E., Gray, R.J.H. y Pierson, M.D. 1978. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. *Food Tech.* 188.
- McCarthy, H.T., Christopher Ellis, P., Silva, M.L. y Mills, B. 1989. Comparison of volatile acid number test with enzymatic acetic acid assay for assessment of seafood quality. *J. AOAC.* 72:828-834.
- Mietz, J.L. y Karmas, E. 1977. Chemical quality index of canned tuna as determined by High-Pressure Liquid Chromatography. *J. Food Sci.* 42: 155-158.
- Millo, L. 1982. Legislación, Normas de Etiquetado de los Alimentos Envasados. España Adopta las de la CEE. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* 22:339-344.
- Minolta Corp. 1990. Precise color communication. Osaka, Japón.
- Murray, C.K., Hobbs, G., Gilbert, R.J. 1982. Scombrottoxins and scombrottoxin-like poisoning from canned fish. *J. Hyg Camb.* 88:215-220.
- Nakamura, K., Iida, H. y Tokunaga, T. 1980. Separation and identification of odor in oxidized sardine oil. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46:355-360.
- Neave, V. H. 1986. *Introducción a la Tecnología de Productos Pesqueros*. CECOSA, México.
- Nelson, J.S. 1984. *Fishes of the World*, 2a. Ed. J. Wiley y Sons. N. York.
- Nishimoto, J., Suwetja, I.K. y Miki, H. 1985. Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.* 3:1-89.
- Ohatake, A. y Tomita, K. 1988. Effect of dark muscle on the degradation of inosinic acid in the white muscle of common mackerel. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 54:289.

Omura, Y., Price, R.J. y Olcott, H.S. 1978. Histamine forming bacteria isolated from spoiled skipjack tuna and jack mackerel. *J. Food Sci.* 43:779-781.

Periódico El Imparcial. Julio 31, 1989. Hermosillo, Sonora.

Pesca Industrial. 1989. Año 3, Noviembre. Consejos técnicos para la correcta operación de autoclaves. Ensenada. B.C. México.

Pesca Industrial. 1990. Año 4. Núm. 5. Agosto. Un niño para 1990. Ensenada. B.C. México.

Pivarnik, L.F., Ferguson, E., Rheault, A., Mac Donald, L. 1989. Nutrient content of processed fish products common to the Jewish diet. *J. Food Composition and Analysis.* 2:59-68.

Pizzocaro, F., Fideli, E. y Gasparoli, A. 1984. Studies on the Auto-oxidation of Sardine Oil. En: *Advances in Fish Science and Technology*, J.J. Conell (ed.). Fishing News (Books) LTD, Farnham, Surrey Engl.

Robles, A. 1988. The Sardine fishery of the gulf of California, Mexico: problems and possible solutions. En: *Postharvest Fishery Losses*, M. J. Morrissey (ed.), ICMRD, Rhode Island, USA.

Robles-Burgueño, M.R. 1993. Caracterización química, bioquímica y tecnológica del músculo de sardina Monterrey (*Sardinops sagax caerulea*). Tesis de Maestría. CIAD, Hermosillo, Son., México.

Ruiz Dara, M.F. 1979. Descripción de la sardina del pacífico. Técnica Pesquera. p. 23-27.

Ryder, J.M., Buisson, D.H., Scott, D.N. y Fletcher, G.C. 1984. Storage of New Zealand jack mackerel (*Trachurus novaezelandiae*) in ice: chemical, microbiological and sensory assessment. *J. Food Sci.* 49:1453.

Ryder, J.M. 1985. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 33:678-680.

Saito, T., Arai, K. y Madsuyoshi, M. 1959. A new method for estimating the freshness of fish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 24:749-750.

- SEPESCA. 1994. Dirección General de Información y Registro Pesquero. BIOSA. Boletín de Información oportuna del Sector Alimentario. Núm. 100. Abril, p. 36-37. México.
- SEPESCA. 1987. Dirección General de Informática y Estadística. Pesquerías Mexicanas: Estrategias para su administración. México.
- Siang, N.C. y Tsukuda, N. 1989. Laboratory tests and equipment for quality assessment of chilled and frozen fish. *Infofish International*. 6:24-27.
- Slabyj, B. y True, R. 1978. Effect of preprocess holding on the quality of canned maine sardines. *J. Food Sci.* 43:1172-1176.
- Sonu, S.C. (ed.). 1986. Surimi based on dark-fleshed fish. En "Surimi". NOAA-IM. Technical Memorandum of National Marine Fisheries Service. Department of Commerce. Terminal Island, California.
- Spinelli, J. 1971. Biochemical Basis of Fish Freshness. *Process Biochem.* 6:36.
- Stanley, D.W. 1979. The texture of meat and its measurement. En: *Rheology and Texture in Food Quality*. Man, J.M., Voisey, P.W., Rasper, V.F. y Stanley, D.W. (ed.), The Avi Publishing Company, Inc, Westport, Connecticut.
- Suzuki, T. 1981. Protein composition of fish meat. En: *Fish and Krill Protein: processing technology*, p. 1-56. Applied Sci. Publishers Ltd. London, England.
- Takagi, M., Iida, A., Murayama, H. y Soma, S. 1969. On the formation of histamine during loss of freshness and putrefaction of various marine products. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 20:227.
- Taylor, S.L., Leatherwood, M.L. y Lieber, E.R. 1977. A survey of histamine levels in commercially processed scombroid fish products. *J. Food Quality.* 1:393-397.
- Taylor, S.L., Guthertz, L.S., Leatherwood, M.L., Tillman, F. y Lieber, E.R. 1978. Histamine production by food borne bacterial species. *J. Food Safety.* 1:173-187.
- Torres, E., George, P. y De Delgallo, E.M. 1971. Observaciones sobre la calidad de la sardina en conserva en Venezuela. Informe técnico No. 28. Proyecto de Investigación y Desarrollo Pesquero, Caracas, Venezuela.
- Toyama, K., Hoshi, M., Mishiguro, M. y Aoe, H. 1982. Behavior of histamine during the manufacturing process of fish meal. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 49:1333.

- Toyomizu, M., Hanaoka, K. y Nakamura, T. 1980. Lipid oxidation in the skin during storage of fish in the Round at -5°C and the susceptibility predictable for lipid oxidation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46:1011-1017.
- Trucco, R. W. 1980. Aspectos bioquímicos del deterioro del pescado. CITEP. Mar del Plata.
- Uchiyama, H., Ehira, S., Kobayashi, H. y Shimizu, W. 1970. Significance in measuring volatile base and trimethylamine nitrogen and nucleotides in fish muscle as indexes of freshness of fish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 36:177.
- Uchiyama, H. y Ehira, S. 1974. Relation between freshness and acid-Soluble nucleotides in aseptic cod and yellowtail muscles during ice storage. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* 78:23.
- Van den Broek, C.J.H. 1961. Fish Canning. En: *Fish as Food*, Vol. 1, p. 135-137. G. Borgstrom (Ed.). Academic Press. Inc. London.
- Vázquez-Ortiz, F.A., Caire, G., Higuera-Ciapara, I. y Hernández, G. 1995. High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *J. Liquid Chromatography*. 18:2059-2068.
- Vidal-Carou, M.C., Veciana-Nogués, M.T. y Mariné-Font, A. 1990. Spectrofluorometric determination of histamine in fish and meat products. *J. Assoc. off Anal. Chem.* 73:565-567.
- Vinagre, J., Godoy, M.T., Witting, E., Craddock, M. y Herrera, P. 1983. Calidad de conservas de sardina española al natural (*Sardinops sagax*) elaborada en Chile. Proposición de norma. *Rev. Agroquím. Tecnol. Alim.* 23:443-453.
- Watabe, S., Kamal, M. y Hashimoto, K. 1989. Changes in Ca²⁺ ATPase activity of sardine ordinary and dark muscle myofibrils during storage at various pH values. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 55:705-707.
- Watabe, S., Kamal, M. y Hashimoto, K. 1991. Postmortem changes in ATP, creatine phosphate, and lactate in sardine muscle. *J. Food Sci.* 56:151-153.
- Whitehead, P.J.P. 1985. *FAO species catalogue*. Vol. 7. Cupfeoid fishes of the world. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolfherrings. Part I. Clupeonidae, Clupeidae and Pristigasteridae. *FAO Fish. Synop.* 7(125).

- Williams, D.W. 1954. Report on chemical indexes of decomposition in fish (histamine). *J. AOAC*, 37:567-572.
- Windyga, B., Grochowska, A., Scieczynska, H., Goreka, K. y Fonberg-Broczek, M. 1992. Determination of histamine content in canned fish products determined by the colorimetric method of Hardy and Smith. *Roczniki-Panstwowego-Zakladu-Higieny*, 43:193-199.
- Wong, K., Bartlett, P. y Gill, T.A. 1988. A diagnostic test strip for the semiquantitative determination of trimethylamine in fish. *J. Food Sci.* 53:1653-1655.
- Wootton, M., Silalahi, J. y Wills, R.B.H. 1989. Amine levels in some asian seafood products. *J. Sci. Food Agric.* 49:503-506.
- Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J. y Burns, B.G. 1986. *Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality*. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences. No. 1448. Department of Fisheries and Oceans. Halifax, Nova Scotia, Canadá.
- Yamanaka, H., Shimakura, K., Shiomi, K. y Kikuchi, T. 1986. Changes in non-volatile amine contents of the meats of sardine and saury pike during storage. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 52:127-130.
- Yeannes, M.I., Del Valle, C.E. y Lupin, H.M. 1983. Generación de bases nitrogenadas volátiles durante el proceso de elaboración de conservas de pescado. *Rev. Agroquim. Technol. Alim.* 23:585-590.
- Yen, G. y Hsieh, C. 1991. Simultaneous analysis of biogenic amines in canned fish by HPLC. *J. Food Sci.* 56:158-160.
- Yoshida, A. y Nakamura, A. 1982. Quantitation of histamine in fishes and fish products by High Performance Liquid Chromatography. *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 23:339.