

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN
Y DESARROLLO A. C.**

**Efecto de la Temperatura sobre la Fisiología Antemortem y la
Bioquímica Posmortem, Calidad y Vida de Anaquel del Músculo
Abductor, en la Almeja Mano de León *Nodipecten subnodosus*.**

POR

VÍCTOR MANUEL OCAÑO HIGUERA

TESIS APROBADA POR LA

**COMISIÓN DE ASESORIA TECNOLÓGICA DE ALIMENTOS
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE**

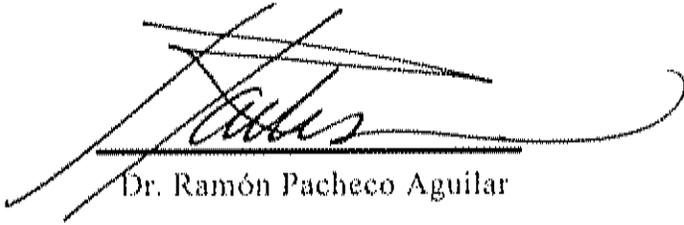
DOCTOR EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora

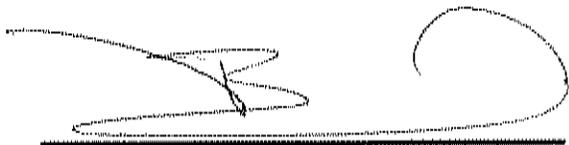
Diciembre de 2003

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis del Maestro en Ciencias Victor Manuel Ocaño Higuera, la han encontrado satisfactoria y recomiendan sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias.

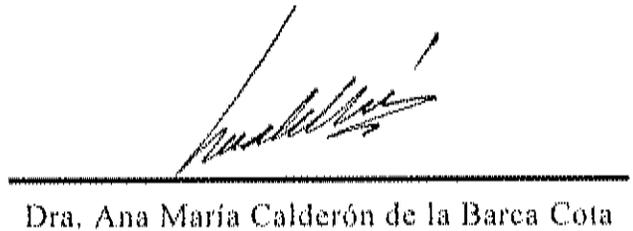


Dr. Ramón Pacheco Aguilar
Director de Tesis



Dra. Silvia Gómez Jiménez

Dr. Alfonso Maeda Martínez



Dra. Ana María Calderón de la Barca Cota

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD, A.C.).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos a CIAD, A.C., previa aprobación escrita del manuscrito en cuestión del director o directora de la tesis.



Dr. Alfonso Antero Gardea Béjar

Director general

DEDICATORIA

A DIOS y A LA VIRGEN DE GUADALUPE:

Gracias por prestarme vida y por permitirme alcanzar una meta más. La fé en ustedes me dió las fuerzas necesarias para poder culminar este gran esfuerzo y mantener la armonía interna que tanto necesité.

A MIS PADRES:

Rosalba y Héctor. Con el mas profundo respeto y agradecimiento. Su apoyo y confianza son parte importante en mi vida. Gracias por los valores que me inculcaron. Los quiero mucho.

A MIS HERMANOS:

Lupíta, Ana, Francisco Javier, Carlos Alberto y Reyna. Lo mejor de la vida para cada uno de ustedes.

A MIS SOBRINOS:

Kiko, Sofi y Coyac, por despertar lo que no habia sentido. Serán como mis hijos.

A MIS CUÑADOS (AS):

Francisco, Rosa y Pepe. Gracias por permitirme compartir con ustedes y por integrarse a la familia.

A MIS AMIGOS:

Gracias

A KARINA:

De manera especial dedico todo este esfuerzo a mi burrito. Sin ti, simple y sencillamente no lo hubiera logrado.

Gracias por ser mi compañera inseparable tanto en los momentos buenos y malos, y que a pesar de las dificultades que la vida nos impuso, no nos hundimos.

Gracias por hacer de mi vida y de mi persona algo mejor. Para ti de corazón, todo mi amor, cariño, admiración y respeto.

Te quiero mucho

Victor

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD,AC), por aceptarme en el programa de posgrado. Especialmente agradezco a la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal, por facilitarme las instalaciones y todo lo necesario para la realización de mi tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por haberme otorgado la beca de doctorado con registro 118112 durante mis estudios y por el financiamiento brindado a través del proyecto de grupo G-33593-B bajo la coordinación del Dr. Alfonso N. Maeda Martínez.

A mi director de tesis, Dr. Ramón Pacheco Aguilar, por contribuir en gran medida en mi formación académica y humana. Todo mi respeto y el mayor de los reconocimientos por su profesionalismo y humanidad. Gracias por su amistad.

Quiero agradecer al Dr. Alfonso N. Maeda Martínez por ser un miembro distinguido de mi comité de tesis, y por ser además de un gran amigo, un gran ejemplo de trabajo. Asimismo, le agradezco infinitamente su invaluable ayuda en la fase experimental del presente trabajo de investigación, debido a que con su gran experiencia y asesoría en el manejo y mantenimiento de organismos en vivo, se logró culminar con éxito el presente trabajo de tesis.

Asimismo, agradezco de todo corazón y con la mas alta de las admiraciones al resto de mi comité de tesis, Dra. Silvia Gómez Jiménez y Dra. Ana María Calderón de la Barca Cota, quienes con sus excelentes contribuciones durante el desarrollo de la realización, enriquecieron el presente trabajo de investigación.

Al cuerpo técnico y de apoyo del área de productos pesqueros integrado por mis tías la M. en C. Guillermina García Sánchez y a la M. en C. María Gisela Carvallo Ruiz por su ayuda en la preparación del extracto de hidroxiprolina y cuantificación de TMA por gases, respectivamente. Especialmente, doy mi mas sincero reconocimiento y

agradecimiento a la M. en C. María Elena Lugo Sánchez por su calidad profesional y humana. Su inmejorable ayuda analítica durante toda la fase experimental fue fundamental en el desarrollo de la investigación. A ellas Muchas Gracias.

A mis casi hermanos M. en C. Enrique Márquez Ríos por hecharme la mano cuando mas lo necesitaba durante toda mi doctorado y a la M. en C. Martha A. Puente Z. por su ayuda durante la fase experimental. Los voy a extrañar mucho y pueden contar conmigo para cualquier cosa.

Al área de Carnes, en especial a la Dra. Natalia Gonzáles Méndez que a pesar de que no pudo participar en mi comité, sus comentarios fueron excelentes y enriquecederos. Asimismo, agradezco a la M. en C. Libertad Zamorano por su ayuda en la calibración del Instron, al M. en C. Humberto González Ríos por su asesoría estadística y al M. en C. Martín Valenzuela por la prestación de reactivos y equipo.

Al área de Proximal por las facilidades otorgadas para la realización de las determinaciones de lípidos y cenizas.

Al Depto. de Tecnología de Cereales: Dra. Alma Rosa Islas y a la Q. B. María del Carmen Granados, por su asesoría y por el préstamo del equipo analizador de textura texturómetro TA-XT2.

Al laboratorio de análisis instrumental de la coordinación de Nutrición. En especial al Q.B. Francisco Antonio Vázquez Ortiz por la asesoría cromatográfica y por facilitarme el equipo.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California Sur, Campus Pichilingue, habernos facilitado sus instalaciones para la aclimatación de los organismos.

Agradezco al Dr. Jorge García Pámanes, Coordinador del Área de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Baja California Sur, Unidad Pichilingue, por haberme facilitado sus instalaciones para la aclimatación y mantenimiento de los organismos experimentales.

Al personal del CIBNOR; M. en C. María Teresa Sicard, M. en C. Armando López-Sánchez y a la M. en C. Ana Isabel Beltrán por su excelente ayuda durante la aclimatación y mantenimiento de los organismos, así como a Diana Carreño y Roberto Hernández del laboratorio de Bioquímica Fisiológica por sus consejos en la determinación de glucógeno. A la Bíol. Ma del Carmen Rodríguez, responsable del laboratorio de Histología e Histoquímica por su apoyo en la elaboración e interpretación de los cortes histológicos de las gónadas de almeja mano de león, por microscopía de luz.

A la Dra. Ofelia Rouzaud Sáñez del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora, campus Hermosillo, por la prestación del calorímetro y por su excelente asesoría y disponibilidad. Muchísimas gracias.

A la empresa Marímex S.A. de C.V., en especial a los Srs. Philippe Danigo y Carlos Reyes por la donación de parte de los organismos experimentales utilizados en el presente trabajo de investigación.

A la coordinación de docencia integrada por la Dra. Ana María Calderón de la Barca Cota, Hector Galindo, Ana Isabel y Verónica Araiza por su excelente disposición y ayuda durante mi estancia en CIAD.

Al personal de biblioteca, L.B. Magdalena Vallejo, Q.B. Fernando Alejo Leyva y Q.B. Luis Francisco Conde, por su excelente disposición de apoyo.

Al Centro de Computo por ayuda y excelente disposición.

A los Guardias y Veladores del Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo, A.C. por su excelente disposición y por facilitarme todo a cualquier hora.

Al personal administrativo, de intendencia y vigilancia, quiénes me brindaron todas las facilidades para acceder a las instalaciones de este centro.

A Faly y Don Héctor por su apoyo durante mis estudios.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvii
RESUMEN.....	xix
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1. Pectínidos	3
1.1. Generalidades.....	3
1.2. Panorama mundial de la producción de pectínidos.....	5
1.3. Producción de pectínidos en México.....	6
1.4. Productos comerciales elaborados a partir de pectínidos.....	9
2. Almeja Mano de León.....	11
2.1. Aspectos generales.....	11
2.2. Biología.....	12
2.3. Recolección de organismos.....	13
2.4. Producción de almeja mano de león.....	14
3. Cambios Bioquímicos Posmortem.....	16
3.1. <i>Rigor mortis</i>	17
3.2. Producción de energía.....	19
3.3. Degradación de adenosina 5' trifosfato (ATP) en el músculo.....	21
3.4. Disminución del pH.	23
3.5. Desnaturalización de protefnas.....	23
3.6. Oxidación e hidrólisis de las grasas.....	23
3.7. Deterioro por acción bacteriana.....	24
4. Métodos Utilizados para Evaluar la Calidad de los productos marinos.....	25
4.1. Pruebas subjetivas o sensoriales.....	25

	Página
4.2. Pruebas objetivas.....	26
4.2.1. Índice K.....	27
4.2.2. Aminas biogénicas.....	28
4.2.3. Bases volátiles totales (BVT).....	29
4.2.4. Trimetilamina (TMA).....	30
4.2.5. Amoniacó.....	31
4.2.6. pH.....	32
4.2.7. Color.....	33
4.2.8. Capacidad de retención de agua (CRA).....	34
4.2.9. Textura.....	35
4.2.10. Cuenta bacteriana total.....	36
5. Temperatura y Fisiología de Organismos Acuáticos.....	36
5.1. Patrones de regulación de temperatura en organismos acuáticos.....	36
5.2. Efecto de los cambios de temperatura en la fisiología de los organismos.....	38
5.3. Efecto de la temperatura sobre las proteínas corporales.....	39
5.3.1.- Proteínas anticongelantes.....	42
5.4. Efecto de la temperatura sobre las enzimas corporales.....	43
5.5. Efecto de la temperatura sobre los lípidos corporales.....	44
5.6. Efecto de la temperatura sobre el estado reproductivo.....	46
5.7. Efecto de la temperatura sobre la calidad de los productos marinos.....	47
HIPÓTESIS.....	49
OBJETIVO GENERAL.....	50
Objetivos específicos.....	50
MATERIALES Y MÉTODOS.....	51

	Página
1.Reactivos.....	51
2.Manejo de Organismos y Muestras.....	51
2.1. Recolección y transporte de organismos.....	51
2.2. Registro y selección de las temperaturas a simular.....	53
2.3. Condiciones de aclimatación de los organismos.....	55
2.4. Aplicación de los tratamientos experimentales.....	59
2.5. Sacrificio de los organismos, muestreo y determinaciones.....	60
3. Determinaciones Analíticas.....	62
3.1. Determinaciones para evaluar la condición fisiológica..	62
3.1.1. Índice de rendimiento muscular.....	62
3.1.2. Carga energética adenilada (CEA).....	62
3.1.3. Contenido de glucógeno.....	63
3.1.4. Índice gonadal.....	63
3.2. Determinaciones para evaluar la bioquímica posmortem.	64
3.2.1. Cuantificación del ATP y sus productos de degradación.....	64
3.2.2. Índice K.....	65
3.2.3. pH.....	65
3.2.4. Trimetilamina (TMA).....	65
3.3. Determinaciones para evaluar la calidad física.....	66
3.3.1. Textura.....	66
3.3.2. Capacidad de retención de agua.....	68
3.3.3. Determinación de color.....	68
3.3.4. Calorimetría diferencial de barrido.....	68
3.4. Determinaciones para evaluar la calidad química.....	69
3.4.1. Análisis proximal.....	69

	Página
3.4.2. Determinación de colágeno.....	69
3.5. Compuestos no volátiles relacionados con el sabor.....	71
3.5.1. Aminoácidos libres.....	71
3.5.2. Contenido de carbohidratos totales.....	72
3.5.3. Contenido de carbohidratos libres.....	74
4. Análisis Estadístico.....	74
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	75
1. Biometrías de los organismos iniciales.....	75
2. Efecto del transporte en la almeja mano de león.....	75
3. Efecto del nivel de temperatura estable y oscilante, sobre los indicadores fisiológicos y en la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor de la almeja mano de león <i>Nodipecten</i> <i>subnodosus</i>	82
3.1. Efecto de la temperatura sobre la biometría y condición fisiológica de la almeja mano de león.....	83
3.2. Efecto de la temperatura sobre la calidad química del músculo abductor de la almeja mano de león.....	87
3.2.1- Composición proximal.	87
3.2.2.- Calorimetría diferencial de barrido.....	89
3.3. Efecto de la temperatura sobre la calidad física del músculo abductor de la almeja mano de león.....	90
3.3.1. pH.....	90
3.3.2. Capacidad de retención de agua.....	96
3.3.3. Textura.....	99
3.3.4. Determinación de color.....	101

	Página
3.4. Efecto de la temperatura sobre la bioquímica posmortem del músculo abductor de la almeja mano de león.....	104
3.4.1 Comportamiento del ATP y productos relacionados...	104
3.4.2.-Índice K y TMA.....	109
3.5. Efecto de la temperatura sobre sobre los compuestos relacionados con el sabor en el músculo abductor de la almeja mano de león.....	114
4.- Relación entre el estado fisiológico de la almeja mano de león con la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel de sus callos.....	128
CONCLUSIONES.....	130
BIBLIOGRAFÍA.....	131

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No.	Título	Página
1	Producción de pectínidos a nivel nacional.....	10
2	Condiciones de trabajo para la separación y cuantificación de la TMA por cromatografía de gases.....	67
3	Condiciones de gradiente utilizadas para la determinación de aminoácidos libres por HPLC.....	73
4	Dimensiones, pesos y rendimiento de los organismos al inicio y después del transporte y aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones de temperatura.....	76
5	Efecto del transporte en el contenido de carbohidratos totales, glucógeno, ATP, ADP, AMP, carga energética adenilada en el músculo abductor, e índice de rendimiento muscular de la almeja mano de león antes y después del transporte.....	79
6	Contenido de aminoácidos libres en el músculo abductor de almeja mano de león antes y después del transporte.....	81
7	Efecto de las condiciones de aclimatación térmica en el estado fisiológico de la almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).	85
8	Composición proximal del músculo abductor de almeja mano de león al momento de la recolección de los organismos, después del transporte y posterior a la aclimatación a las diferentes condiciones de temperatura.....	88
9	Entalpias de desnaturalización de la miosina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	91

Tabla No.	Título	Página
10	Temperaturas de desnaturalización de la miosina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	92
11	Entalpias de desnaturalización de la actina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	93
12	Temperaturas de desnaturalización de la actina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	94
13	Contenido de colágeno del músculo abductor de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	102
14	Concentración de TMA en músculos abductores almacenados 20 días en hielo provenientes de organismos aclimatados a diferentes condiciones de temperatura.....	113
15	Contenido de fenilalanina e isoleucina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	116
16	Contenido de leucina y lisina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	117
17	Contenido de metionina y valina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	118

Tabla No.	Título	Página
18	Contenido de alanina y tirosina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	119
19	Contenido de treonina y taurina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	120
20	Contenido de Arginina y glicina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	121
21	Contenido de serina e histidina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	122
22	Contenido de ácido aspártico y glutámico en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	123
23	Suma de aminoácidos primarios libres en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	125
24	Contenido de carbohidratos libres en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	127

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Título	Página
1	Anatomía general de los pectínidos.....	4
2	Producción mundial de pectínidos por pesquería y acuicultura.....	7
3	Sitios de captura y cultivo de pectínidos en México.....	8
4	Producción anual de músculo abductor de almeja mano de león en la Laguna Ojo de Libre, Baja California Sur, México.....	15
5	Caminos metabólicos posmortem asociados con cambios de calidad en productos pesqueros.....	18
6	Degradación aeróbica y anaeróbica del glucógeno en cefalópodos y teleósteos.....	20
7	Diagrama empleado para el empaque y transporte de organismos adultos de almeja mano de león desde su sitio de cultivo natural en Guerrero Negro hasta los laboratorios de la Universidad Autónoma de Baja California Sur, unidad Pichilingue, BCS.....	54
8	Diagrama de flujo para la aclimatación de los organismos a las temperaturas oscilantes.....	57
9	Diagrama de flujo para la aclimatación de los organismos a temperatura constante.....	58
10	pH de músculos abductores almacenados 20 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	95

Figura No.	Título	Página
11	Capacidad de retención de agua en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo, obtenido de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	98
12	Textura (esfuerzo al corte) del músculo abductor almacenado 20 días en hielo provenientes de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	100
13	Cambios de los parámetros de color a) "L", b)"a*" y c) "b*" en músculos abductores almacenados 20 días en hielo provenientes de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	103
14	Sólido de color.....	105
15	Contenido de adenosina 5' trifosfato (ATP), adenosina 5' difosfato (ADP), adenosina 5' monofosfato (AMP) y adenosina en músculos abductores almacenados 20 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	106
16	Contenido de inosina 5' monofosfato (IMP), inosina e hipoxantina en músculos abductores almacenados 20 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	107
17	Índice K de músculos abductores almacenado 20 días en hielo, provenientes de almejas mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.....	110

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó el efecto que ejerce la temperatura estable y oscilante del agua de mar a tres diferentes niveles (21, 24 y 28°C), sobre algunos indicadores fisiológicos, la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor de almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*. Asimismo, se evaluó el método de transporte y la relación entre los indicadores fisiológicos propuestos, con la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel de los mismos.

Los indicadores fisiológicos medidos en el músculo abductor antes y después del transporte y posterior a la aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones de temperatura fueron el contenido de glucógeno, índice de rendimiento muscular (IRM) y la carga energética adenilada (CEA). Por otra parte, la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel de éste mismo músculo se evaluó durante el almacenamiento en hielo mediante la cuantificación del contenido de ATP y sus productos de degradación hasta hipoxantina, índice k y timetilamina, así como por el pH, capacidad de retención de agua, textura, color, aminoácidos libres, cambios térmicos de las proteínas por calorimetría diferencial de barrido, composición proximal y carbohidratos totales y libres.

Entre los resultados se obtuvo que las concentraciones de ATP y sus productos de degradación hasta hipoxantina, aminoácidos libres carbohidratos totales, glucógeno e IRM, disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) después de la aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones térmicas. Lo anterior podría deberse al desove que presentaron los organismos durante la fase experimental. Asimismo se observó que el comportamiento de los diferentes parámetros de calidad evaluados durante el almacenamiento corresponden al comportamiento normal de la especie.

De los resultados obtenidos se encontró que la forma en que la temperatura se aplicó (oscilante o constante) no afectó significativamente ($p > 0.05$) a los indicadores fisiológicos ni a la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel de la almeja mano de león. Sin embargo, el nivel en que la temperatura se aplicó, solo afectó significativamente ($p < 0.05$), al contenido de glucógeno y a algunas determinaciones de la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel, siendo los organismos aclimatados a 28°C los afectados y de menor calidad.

león. Sin embargo, el nivel en que la l(ollpcnlnl se aplicó, solo afretó significnlltclllonle ($p < 0.05$), al contenido de glucógeno y a algunas determinaciones de la bioquímica poslllorclll, ctllldad y vhlrl (k anqucl, siendo los organismos acllmados a 28°C los afectados y de menor c;i)idad.

Asimismo, se encontró que el método ,k tninsptll'IC cmpk:l<.lo Cl el presente estudio fue excelente debido al alto porcentaje de sobrevivencia obtenido (88 %) y a la cantidad de organismos entre 0.7 cm rk alto tr:lll, portlllos (2G'.0). Lo anterior mostró el potencial comercial que puede tener esta metodología en la comercialización de organismos vivos.

En base a lo anterior se concluyó: 1) que el nivel de temperatura afectó la fisiología de los organismos y la bioquímica pDsmor(cm, calidad y vida de nnqucl de los callos (los aclimatados a 28°C los mas ,fo:ctados), 2) que no existe diferencia fisiológica y bioquímica entre los organismos acllmados a temperatura constante y oscilante, y 3) que el método de transporte de organismos es excelente. Por lo que las almejas mano de león pueden ser cosechadas cuando la temperatura del agua de mar se encuentre entre los 21 y 24°C sin presentar cambios significativos en su fisiología y calidad.

INTRODUCCIÓN

En Baja California (BC) y Baja California Sur (BCS), México, la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) es un importante recurso pesquero. La importancia de esta pesquería radica primordialmente en el tamaño que pueden alcanzar (22 cm de alto a los 5 años) estos organismos, y el sabor (Ocaño-Higuera, 1999), peso (250g a los 5 años) y precio (\$160.00) de su músculo abductor, el cual es la principal porción comestible de estos bivalvos (Chung *et al.*, 2001).

En la década de los 90's, la producción de músculo abductor de almeja mano de león se incrementó considerablemente de las 35 toneladas producidas en 1993, hasta las 157 toneladas obtenidas en 1999. Posterior a este año, en el 2000 y debido a la sobreexplotación que presentó la especie años anteriores, la producción de músculos abductores disminuyó hasta 120 toneladas (Massó-Rojas *et al.*, 2001).

Actualmente, las características de tamaño, peso, sabor y precio del músculo abductor de almeja mano de león, así como la alta tasa de crecimiento de esta especie, han despertado el interés de los acuicultores por cultivarla, contribuyendo de esta forma a elevar los niveles de producción y a mantener una producción constante de estos organismos.

En México, la empresa Maricultivo Sol Azul, S. A de C.V. y algunas organizaciones sociales están cultivando almeja mano de león en la Laguna Manuela, BC, y en la Laguna de Guerrero Negro, BCS. Asimismo, existe el interés por cultivar este organismo en otros sitios potenciales para el cultivo localizados a lo largo de la costa oeste de la Península de Baja California.

Registadores de temperatura colocados en algunos sitios potenciales de cultivo mostraron rangos de temperatura anuales entre 15 y 32°C con oscilaciones diarias de hasta 8°C. Debido a los cambios de temperatura anteriormente descritos, los organismos se ven obligados a llevar a cabo compensaciones fisiológicas con la finalidad de

mantener el buen funcionamiento de sus órganos y poder sobrevivir ante las condiciones imperantes en el medio. Para ello, emplean la energía almacenada en los tejidos en forma de sustancias de reserva como el glucógeno, las proteínas o los lípidos. En algunas ocasiones puede ser tan fuerte el estrés producido por estas temperaturas que pueden llegar a autoconsumir sus propios tejidos cuando se han agotado las reservas de energía. En consecuencia, el estado fisiológico de los animales sujetos a estos cambios es muy variable, lo cual posiblemente modifique la calidad y vida de anaquel del producto final.

A la fecha, existen evidencias de que la calidad resultante de su estado fisiológico, es seriamente afectada por las variaciones ambientales, ya que en algunas épocas del año se ha visto que el músculo abductor es de buen peso, tamaño, apariencia, textura y sabor, en contraposición a otras épocas donde éstas características son inferiores (Maeda-Martínez, 2001).

Actualmente, poco se conoce acerca de esta especie, y como la temperatura ambiental afecta la fisiología de este organismo. De igual forma, se desconoce como la condición fisiológica ante-mortem del organismo determina la calidad química, física, sensorial y vida de anaquel del callo visto como alimento. En la literatura, dentro del área de pectínidos, existen trabajos aislados y muy limitados que más que evaluar el efecto de la temperatura, hacen inferencia del efecto de la estacionalidad sobre el estado fisiológico del organismo y sobre la calidad y vida de anaquel del músculo. Por ello, el objetivo principal del presente trabajo de investigación fue establecer, en un sistema modelo, el efecto que ejerce la temperatura estable y oscilante del agua de mar a tres diferentes niveles, sobre algunos indicadores fisiológicos, la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Pectínidos.

1.1. Generalidades.

Los pectínidos son moluscos bivalvos filtradores y epibentónicos que se encuentran habitando profundidades entre los 10 y 100 m (Navarro, 2001). Estos organismos que se caracterizan por tener dos conchas planas, mas o menos circulares, de forma regular y delicada, se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo entero (Dore, 1991).

Existen alrededor de 350 especies de pectínidos, de las cuales no mas de 15 son de importancia económica, debido a que sustentan una fuerte pesquería o a que son sometidas a actividades de cultivo (González-Anavitia, 2001). De éstas especies, los géneros *Placopecten*, *Argopecten*, *Patinopecten*, *Chlamys* y *Pecten* son las de mayor interés comercial en el mercado internacional (Dore, 1991).

En la figura 1 se muestra esquemáticamente la anatomía de un pectínido. En ella se puede observar el manto, la gónada y el músculo abductor, entre otros órganos. En el caso del músculo abductor, el cual comercialmente se conoce como callo, representa dependiendo de la especie entre el 5 y el 20 % del peso vivo del animal (Dore, 1991). Este músculo que es de forma cilíndrica y normalmente de color blanco o crema y en ocasiones un poco café o rosa (Dore, 1991), esta compuesto de dos músculos aductores, el estriado y el liso (Chantler, 1991 y Marsh y Olson, 1994).

El músculo abductor estriado también conocido como rápido o fásicos, esta compuesto de numerosas fibras tubulares dispuestas paralelamente de arriba hacia abajo del músculo (Murakami, 1994). Este músculo que es considerado un producto "gourmet", es el que utiliza el animal para llevar a cabo su nado (Beninger y Lepenne, 1991; Chantler, 1991 y Dore, 1991). El otro músculo que se encuentra a un lado del anterior es un tejido duro y fibroso al que se le conoce como músculo liso o

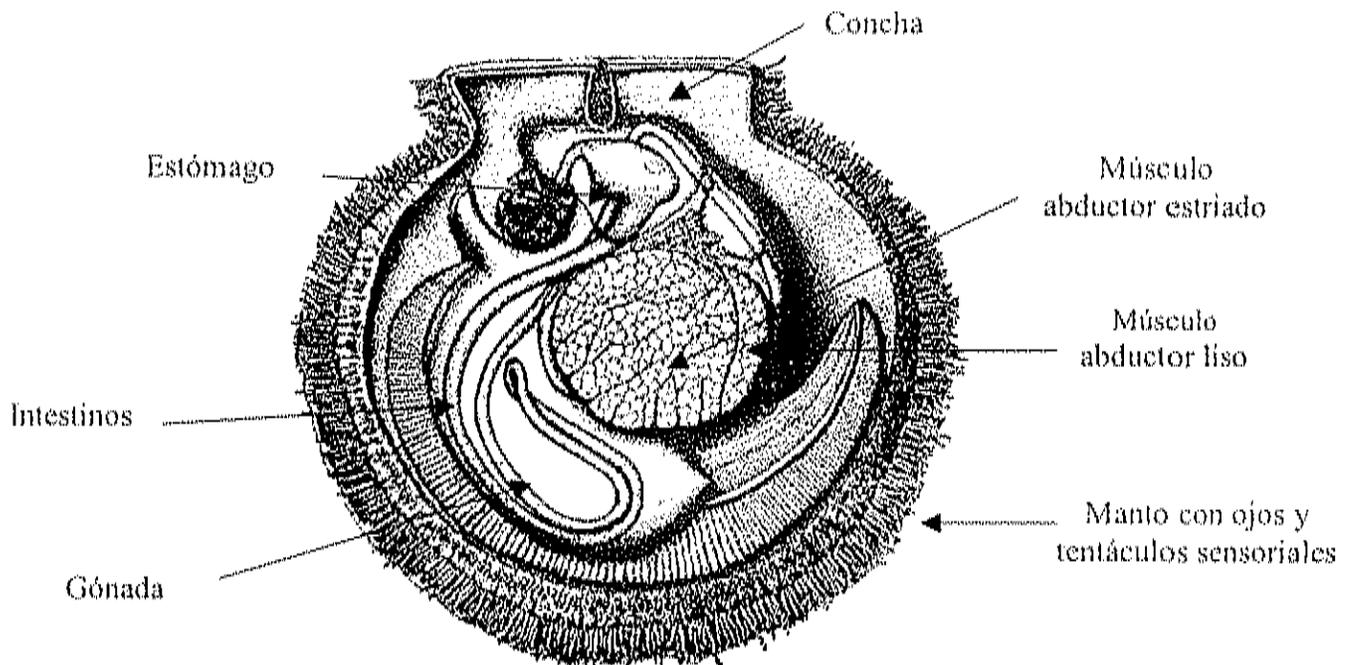


Figura 1 Anatomía general de los pectínidos (Beninger y Le Penneec 1991).

“catch”, el cual tiene la función de mantener las conchas cerradas por largos periodos. Este músculo que se caracteriza por ser duro debido posiblemente a su alto contenido de paramiosina (Chantler, 1991 y Dore, 1991), es muy notorio y en la mayoría de las ocasiones se remueve por los procesadores, debido a que reduce su aceptación por el consumidor (Dore, 1991).

La mayoría de los pectínidos son hermafroditas funcionales con una gónada con forma de media luna, la cual puede ser de color café, naranja o amarillo. Generalmente, los colores brillantes indican que se trata de una hembra, mientras que los colores pálidos de un macho. En el caso de las gónadas femeninas, el color de éstas palidece después del desove (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2001).

Entre otras características que tienen los pectínidos se encuentran una serie de ojos alrededor del borde del manto, los cuales sirven para detectar movimientos y advertir de la presencia de depredadores, particularmente estrellas de mar y cangrejos (Barbeau *et al.*, 1996 y Hatcher *et al.*, 1996). Además, sus conchas tienen unos lóbulos cerca de la parte de unión, los cuales varían en forma y tamaño, por lo que pueden ser utilizados para identificar a la especie (Dore, 1991).

1.2. Panorama Mundial de la Producción de Pectínidos.

En la década de los 90s, la producción mundial de pectínidos (peso vivo en concha) se incremento gradualmente, de 902,229 ton en 1990 a 1'775,137 ton en 1997, con un mínimo de 866,191 ton en 1991 y un máximo de 1'792,422 ton en 1996. A partir de 1997, esta producción disminuyó considerablemente hasta valores de 1'433,469 ton en 1998. Esta reducción se debió principalmente a la disminución de la producción de China, país que es el principal productor de pectínidos en el mundo (González-Anatívia, 2001).

Los valores de producción de pectínidos se integran por los provenientes de captura (pesca) y acuicultura. Datos publicados por González-Anatívia (2001), muestran una estabilidad en la producción por captura durante la década de los 90s, manteniendo valores entre las 400 y 600 mil toneladas de pectínidos en peso vivo en concha, mientras

que la producción por acuicultura se incrementó entre 1990 y 1996 de 300,000 ton hasta 1'250,000 ton, respectivamente. Sin embargo, esta última presentó un fuerte decremento en 1998 cuando se produjeron 850,000 ton (figura 2) producto de una mortandad masiva de pectínidos en los cultivos de China.

Dentro de los principales países productores de pectínidos se encuentran China, Japón, Canadá, Argentina, Estados Unidos, el Reino Unido, Chile y México. En 1998, China y Japón englobaron casi el 80% de la producción mundial, mientras que Estados Unidos aportó solo el 4.5%, Canadá el 3.7%, Argentina el 3.3%, Perú el 1.6%, Chile el 1.4% y México el 0.2% (González-Anativia., 2001).

La producción mundial anteriormente descrita se sostiene principalmente por muy pocas especies. En el caso de la pesca, las principales especies capturadas por explotación de bancos naturales son *Patinopecten yessoensis*, *Placopecten magellanicus*, *Pecten maximus*, *Zygochlamys patagónica* y *Argopecten purpuratus*; mientras que por acuicultura, las principales especies son *Chlamys farreri*, *Patinopecten yessoensis*, *Argopecten irradians* y *Argopecten purpuratus*. De todas estas especies, *Chlamys farreri*, *Patinopecten yessoensis* y *Argopecten irradians*, engloban casi el 80% de la producción total mundial de 1998 (González-Anativia, 2001).

1.3. Producción de Pectínidos en México.

Los pectínidos representan un grupo de moluscos activamente explotados en el mundo. Dentro de este grupo se encuentran *Pecten vogdesi*, *Argopecten ventricosus* y *Nodipecten subnodosus*, especies que han sido explotadas en México desde 1970. La pesquería de estas especies es una actividad tradicional importante en la Península de Baja California (Morales-Hernández y Cáceres-Martínez, 1996). Las principales zonas enfocadas a la explotación y cultivo de estas especies son: Bahía de los Ángeles y la Laguna Manuela, así como Bahía Magdalena, Bahía Concepción, La Paz, Laguna Ojo de Liebre, Guerrero Negro y San Ignacio (figura 3) (Felix-Pico, 1991).

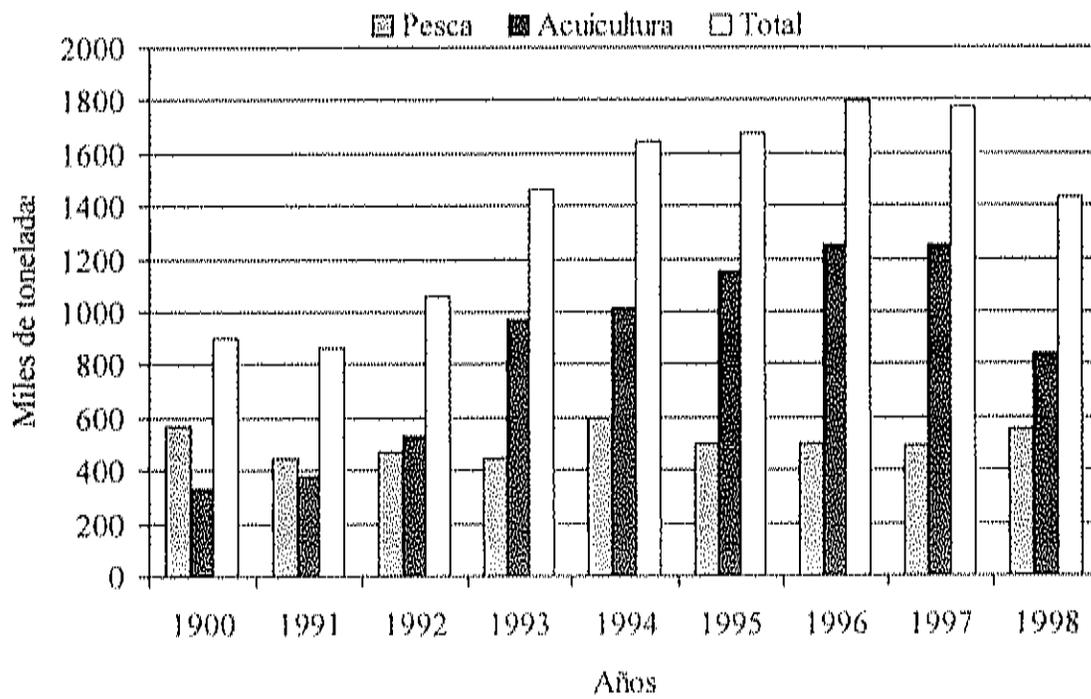


Figura 2.- Producción mundial de pectínidos por pesquería y acuicultura. (González-Anatívia, 2001).



Figura 3. Sitios de captura y cultivo de pectínidos en México (Felix-Pico, 1991).

En la década de los 80's, en Baja California Sur la captura de pectínidos fue una de las pesquerías más importantes después del abulón (Felix-Pico, 1991). En esta década, la producción nacional se incrementó de 288 ton. producidas en 1981 a 3,274 ton. en 1989 (tabla 1). Esta producción se extrajo exclusivamente de la explotación de bancos naturales en seis zonas protegidas en la península de Baja California (Maeda-Martínez *et al.*, 1993).

En cuanto a la producción de pectínidos en la década de los 90's, esta fue muy variable, alcanzando una producción máxima (pesquería + acuicultura) de 29,260 y 16,919 ton de peso vivo en concha en 1990 y 1996, respectivamente, y una producción mínima de 1,038 y 630 ton de peso vivo en concha en 1992 y 1994, en el mismo orden (González-Anatívia, 2001)

1.4. Productos Comerciales Elaborados a partir de Pectínidos.

Los pectínidos son productos marinos de excelente sabor y textura. Actualmente, a nivel mundial solo una pequeña cantidad de la producción de pectínidos se comercializa en vivo, mientras que el resto de la producción se emplea para el desarrollo de productos en los cuales se utiliza principalmente el músculo abductor o callo. Dentro de estos productos se pueden encontrar callos con gónada y el organismo entero sin la glándula digestiva, los cuales han servido de base para desarrollar productos frescos, fresco-congelados, secos, de humedad intermedia, marinados, ahumados y enlatados, presentaciones que han surgido debido a la necesidad de desarrollar nuevas alternativas de comercialización, que permitan, además de incrementar su consumo, diversificar las líneas de producción de la industria procesadora de estos organismos (Pacheco-Aguilar, 2001).

Además de los productos anteriormente mencionados, en el mercado existen productos mas elaborados, los cuales son comercializados en estado congelado. Dentro de estos, se encuentran los productos listos para consumirse como los callos empanizados y cubiertos con tocino (Pacheco-Aguilar, 2001).

Tabla 1.- Producción de pectínidos a nivel nacional.

AÑO	PRODUCCIÓN (Ton)*
1990	29,260
1991	69,620
1992	1,038
1993	1,540
1994	630
1995	1,254
1996	16,919
1997	2,064
1998	2,117

Fuente: González-Anatívia , 2001.

* Peso vivo con concha.

De igual forma, productos existentes y de gran éxito en el mercado estadounidense son los productos preformados por enlazado en frío (PPEF). Esta tecnología que consiste en ligar o adherir físicamente músculos abductores pequeños para producir uno de mayor tamaño, emplea agentes enlazantes de origen proteico como el fibrinógeno, proteína de pescado mas dextrosa, derivados de leche, etc. (Fisher, 1999 y McGovern, 1998) o bien se puede utilizar la enzima transglutaminasa de origen microbiano (MTGasa) para llevar a cabo la unión (Dondero *et al.*, 2002). El impacto de esta técnica, además de generar callos con el tamaño deseado, es que el sabor del mismo no se ve afectado durante su elaboración.

2.- Almeja Mano de León.

2.1. Aspectos generales.

La almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) es una de las especies marinas de mayor importancia económica de México (Ocaño-Higuera, 1999). Esta especie que también se conoce como *Lyropecten subnodosus* y con el nombre común de almeja garra de león, es uno de los tres pectínidos explotados comercialmente en el estado de Baja California Sur. Las otras especies son la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) y la almeja voladora (*Pecten vogdesi*) (Massó-Rojas *et al.*, 2001).

Esta especie se distribuye desde la Laguna Ojo de Liebre en Baja California Sur, México, hasta las costa de Perú (Keen, 1971), habitando lugares como las lagunas, bahías y canales profundos de mas de 6 m, donde existen fuertes corrientes de mareas. Su importancia radica principalmente en su gran tamaño, así como en el peso de su músculo abductor (callo). Los adultos llegan a medir, a los 5 años, 22 cm de altura y pueden alcanzar un peso húmedo total y de callo de 1,900 y 250 g, respectivamente (Maeda-Martínez *et al.*, 2001).

Un rasgo característico de la almeja mano de león es su concha, la cual es muy grande, fuerte, gruesa, convexa, bastante comprimida y sólida (Peña, 2001). La concha puede presentar varios colores, que van desde un púrpura opaco o un blanco con líneas púrpuras opacas, hasta matices brillantes de color naranja o

magenta (Felix-Pico, 1991). Asimismo, se caracterizan por presentar en la superficie externa una serie de 10 a 11 canales o costillas muy sobresalientes que asemejan a un abanico, algunas de ellas con grandes protuberancias o nódulos, lo cual permite identificar rápida y fácilmente a ésta especie.

2.2. Biología.

A pesar de la importancia económica que representa la almeja mano de león en la Península de Baja California, México, aún se conoce muy poco de la especie. Por consiguiente, es necesario estudiarla con la finalidad de obtener un mayor aprovechamiento de éste recurso pesquero.

Con respecto al desarrollo larval de la almeja mano de león Massó-Rojas *et al.* (2001), publicaron que estudios experimentales realizados en laboratorios de acuicultura, indicaron que el desarrollo larval tiene una duración de 22 días a una temperatura entre 23 y 25°C (García *et al.*, 1992). En el medio natural, los trabajos realizados por el mismo autor, indicaron que después de la fijación, los juveniles cultivados en un sistema de suspensión en canastas de plástico ostrícolas alcanzaron una talla promedio de 76 mm después de un año.

Reinecke (1996) describió el ciclo reproductor de *Lyropecten subnodosus* (*Nodipecten subnodosus*) en las poblaciones de la Laguna Ojo de Liebre, en donde encontró que ésta almeja presenta una talla de madurez sexual entre los 80 y 210 mm para los machos y de 93 a 215 mm para hembras. Asimismo, encontró que presenta un amplio periodo reproductivo, el cual va de agosto a enero con dos picos de desove, uno en octubre y otro en diciembre. A pesar de ello, aun falta mucha información en ésta área de estudio debido a la gran discrepancia entre autores con respecto al mismo tema (Maeda-Martínez, 2001).

Esta especie, al igual que otros pectínidos, es hermafrodita funcional (Reinecke, 1996); lo cual significa que presenta una porción de gónada hembra y otra de macho que maduran en forma simultánea y cuyos gametos son activos en ambos casos. El desove de estos organismos no rebasa las 24 horas.

2.3. Recolección de organismos.

En Baja California, los sitios de pesca de la almeja mano de león se localizan únicamente en la Laguna Ojo de Liebre, ya que su baja abundancia en otras áreas hacen imposible su captura comercial. La pesquería de la almeja mano de león es operada por cooperativas y permisionarios de Guerrero Negro, Baja California Sur, en donde éste recurso es aprovechado únicamente por pescadores de la localidad.

La extracción de los organismos se lleva a cabo por buceo. Para ello se emplea un equipo de pesca el cual está constituido por el buzo, el motorista y el cabo de vida o "jabero", quien es el que se comunica con el buzo por medio de jalones en la manguera o de un cabo sujeto al cinturón de plomos. Cada embarcación con una longitud de 23 pies de eslora con motor fuera de borda de capacidad variable (40 a 120 caballos de fuerza (CF)), está equipada con un compresor de aire para buceo semiautónomo (Hooka), el cual es operado por un motor de gasolina de 5 a 7 CF. El aire comprimido se almacena en un tanque de aluminio a una presión de 60 a 100 lb/pulg², y al tanque se le conecta una manguera para suministrar aire al buzo. La jaba en que se deposita la captura, está construida con malla de red y un aro de manguera para mantener abierto uno de los extremos. La captura se sube a la superficie y se coloca en costales para su transporte a tierra. Cada embarcación tiene capacidad para capturar entre 100 y 120 kg de almeja entera al día. Al llegar a la playa, el producto se desconcha de forma manual y generalmente por el jabero y el motorista, los cuales separan el callo de la concha y el resto de la masa visceral. Esta actividad se realiza a la orilla de la playa o en lugares denominados "mataderos", los cuales están contruidos con piso de concreto, paredes de material ligero, techos de lámina y ventanas y puertas con mosquiteros.

La pulpa de la almeja se coloca en cajas de plástico para posteriormente llevar a cabo la remoción del callo, el cual se concentra en botes de 20 litros. Las conchas y el resto de los tejidos son depositados en fosas contruidas *ex profeso* situadas a varios kilómetros de distancia de los "mataderos". La producción promedio por persona es de 15 kg/día, sin embargo los mejores matadores pueden producir hasta 25 kg/día.

Al final de la jornada que puede variar entre 8 y 12 horas, los callos se lavan con agua de mar sobre bastidores de malla metálica y se colocan en bolsas de plástico con un contenido entre 2 y 4 kg de callos. Seguidamente, se registra el peso y finalmente las bolsas se colocan dentro de hieleras con una capacidad de 1 m³, donde se enhielan en capas alternas de hielo-bolsa con callo-hielo para su posterior transporte, congelación y/o comercialización en fresco.

2.4. Producción de almeja mano de león.

En el Pacífico mexicano, la captura comercial de almeja mano de león se realiza únicamente en la costa noroccidental de BCS, concretamente en Laguna Ojo de Liebre, en donde esta especie representa una importante pesquería artesanal para la región y una considerable fuente de divisas, alimento y empleo para las comunidades ribereñas.

La pesquería de la almeja mano de león inicio en la década de los años 70's o principios de los 80's. Sin embargo, las primeras estadísticas oficiales se registraron a partir de 1991 (Morales-Hernández y Cáceres-Martínez, 1996), con una producción de 5 t de callos. A partir de 1991 y hasta 1995, se presentó el desarrollo y crecimiento gradual de la pesquería, alcanzando una producción de 35 t. A partir de 1993, las capturas se incrementaron de 35 a 157 t de callo en el 2000 (figura 4), lo cual se debió a la autorización de permisos y el esfuerzo aplicado para la extracción del recurso en función de la biomasa estimada por evaluaciones previas. Actualmente, existe una talla mínima de captura para este organismo que es de 14 cm de longitud, así como una cuota diaria de captura por equipo (Massó-Rojas *et al.*, 2001).

La comercialización de esta especie se lleva a cabo en el mercado nacional y estadounidense, siendo este último mercado quién adquiere la mayor parte de la producción. Lo anterior produjo una derrama económica de \$350,000.00 USD en 1995 y de \$2'072,081.00 USD en 1999. Estos valores se obtuvieron estimando el precio promedio indicado por permisionarios, cooperativas y algunos compradores entre \$125.00 y \$135.00 pesos por kg de callo en playa (Massó-Rojas *et al.*, 2001).

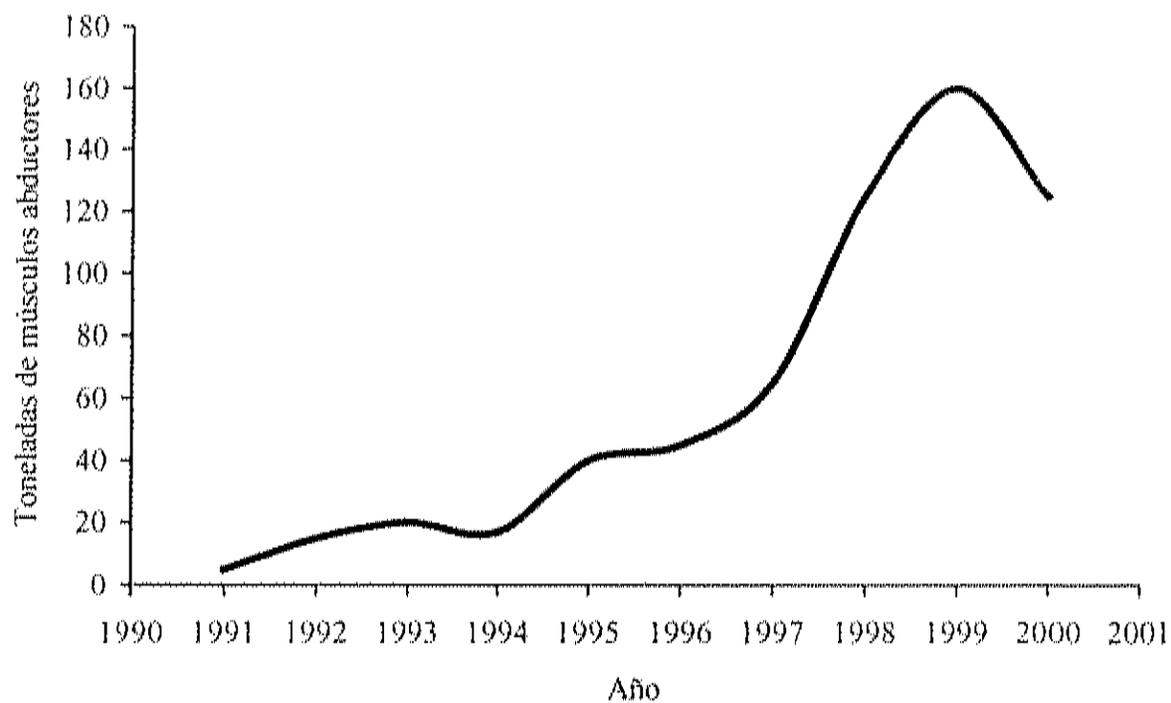


Figura 4.- Producción anual de músculo abductor de almeja mano de león en la Laguna Ojo de Libre, Baja California Sur, México (Massó-Rojas *et al.*, 2001).

Debido al valor comercial de la almeja mano de león, al gran tamaño que puede alcanzar (22 cm/5 años) y al peso de su callo, se ha despertado el interés de los acuicultores por cultivar esta especie. Esta actividad se está realizando con éxito en la Laguna Manuela, BC y la Laguna de Guerrero Negro, BCS, en donde se están cultivando alrededor de 3 millones de semillas (Macda-Martínez, 2001).

3. Cambios Bioquímicos Posmortem.

Los cambios bioquímicos posmortem se pueden definir como aquellos cambios que se generan inmediatamente después de que el organismo ha muerto. Estos cambios son producidos en dos etapas: endógena y microbiana. La primera se lleva a cabo por enzimas propias de la especie que permanecen activas aun después de la muerte del animal, mientras que la segunda se lleva a cabo por enzimas secretadas por bacterias. A partir de estos cambios que involucran la degradación de los principales constituyentes químicos del músculo (proteínas, carbohidratos, lípidos y compuestos nitrogenados), se producen metabolitos que pueden ser utilizados para evaluar la calidad.

La calidad del músculo de cualquier organismo marino (peces, crustáceos, moluscos), disminuye inmediatamente después de la captura y muerte del animal. Lo anterior se debe a que la circulación sanguínea se detiene, no hay transporte de oxígeno y las defensas naturales contra las bacterias cesan (Magdaleno y Valdés, 1994). Por consiguiente, se genera una condición anaeróbica en el músculo y el tejido se vuelve más susceptible al deterioro. A partir de ello, se desarrollan una serie de cambios bioquímicos como: el *rigor mortis*, producción de energía, autólisis por proteasas endógenas, degradación del ATP, disminución del pH muscular, desnaturalización de proteínas, oxidación de lípidos y producción de compuestos indeseables como la trimetilamina (TMA) y bases volátiles de bajo peso molecular por acción bacteriana. Todo ello provoca un incremento en la concentración de amoníaco, TMA, péptidos y otras aminas como la octopina (Ke *et al.*, 1984), así como cambios de color, textura, sabor y olor (Pérez, 1985). En la figura 5 se muestran los caminos metabólicos posmortem asociados con la calidad de productos pesqueros.

A continuación se presenta una breve descripción de los principales cambios bioquímicos posmortem que se presentan en el músculo de los productos marinos, los cuales fueron descritos por Ocaño-Higuera (2001).

3.1. *Rigor mortis*.

El *rigor mortis* es uno de los procesos posmortem más importante en el músculo de los productos marinos, el cual inicia inmediatamente después de la muerte del animal. Durante esta etapa, el músculo pasa de un estado relajado a uno rígido e inflexible debido a la ausencia de ATP. Con el inicio de rigor, se lleva a cabo una disminución en el pH muscular, lo cual se debe a la generación de ácido láctico y su consecuente disociación. Esta disminución de pH es la que produce la instauración del rigor. Cheftel y Cheftel (1976), indicaron que la resolución del *rigor mortis* no parece ser el resultado de la disociación del complejo actino-miosina generado durante el rigor, sino más bien se debe a la separación de los filamentos delgados de actina de la línea Z, debido a modificaciones iónicas del medio ambiente o por la acción de las catepsinas (enzimas endógenas) contenidas en los lisosomas y liberadas al desestabilizarse su membrana lisosomal como resultado de la caída de pH.

La literatura indica que la duración del *rigor mortis* es un fenómeno que puede durar días, debido a que su duración esta en función de la especie, condiciones de captura, temperatura y de la velocidad de enfriamiento (Medrano, 1994). Por ejemplo, el *rigor mortis* en pescados como el bacalao y la anchoveta dura 20-65 y 18 h, respectivamente (Huss, 1995), mientras que el *rigor mortis* en el músculo abductor de *Patinopecten yessoensis* lavado y sin lavar, se lleva a cabo durante 48 y 120 h, en el mismo orden (Kimura *et al.*, 1999).

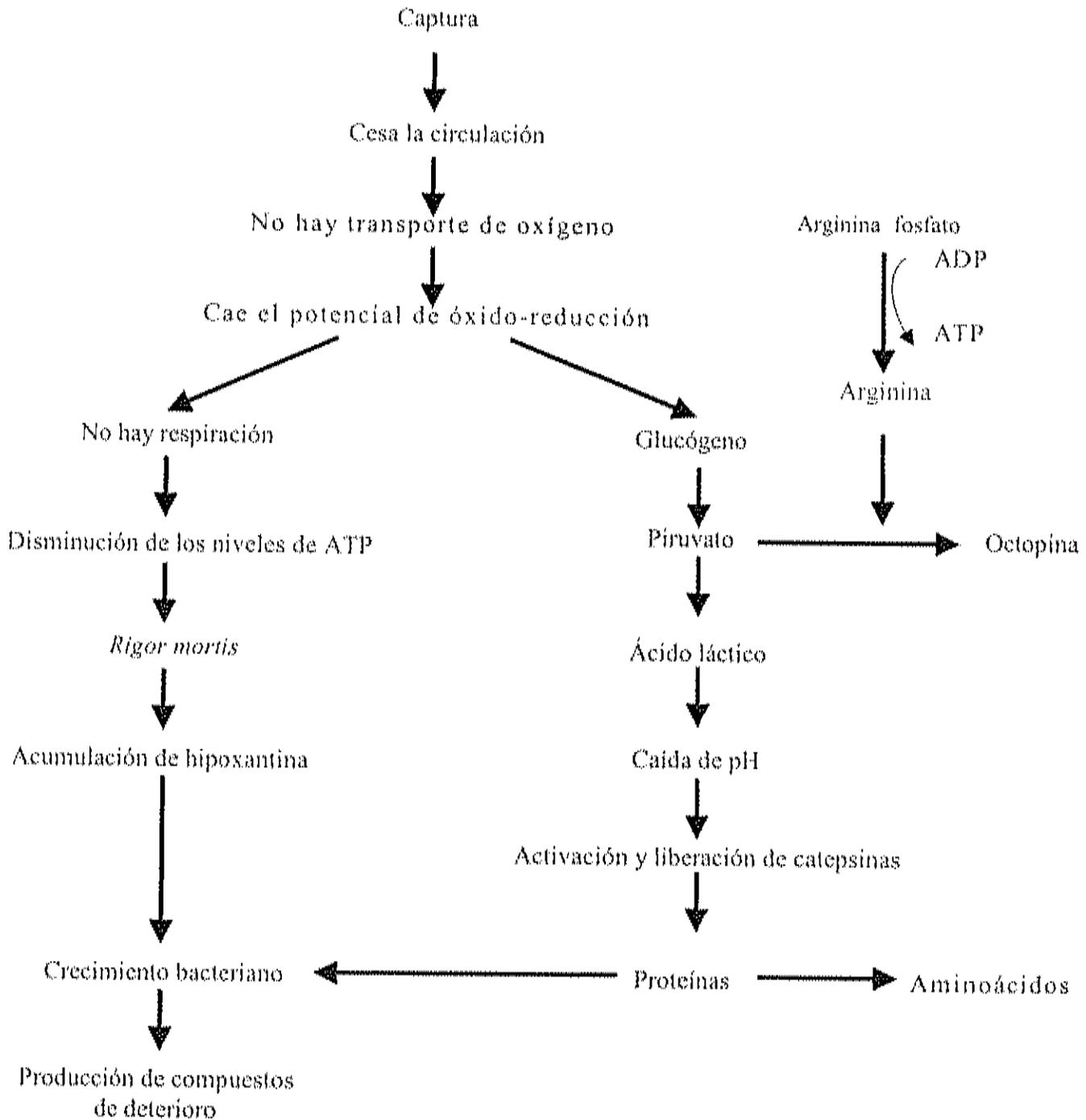


Figura 5.- Caminos metabólicos posmortem asociados con cambios de calidad en productos pesqueros. (Adaptado de Jacober y Rand, 1982).

3.2. Producción de Energía.

En el músculo vivo, el ATP es el nucleótido predominante (Sikorski *et al.* 1990a), el cual es producido en la mitocondria por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa (Lehninger, 1979). Al morir el pez o cualquier organismo, la distribución de oxígeno en el músculo cesa y por consiguiente, en éstas condiciones posmortem no hay oxígeno disponible que permita la síntesis de ATP por esta vía (Huss 1995).

En la figura 6 se muestran los caminos metabólicos de degradación aeróbica y anaeróbica del glucógeno en teleósteos y cefalópodos para la producción de energía. En primera instancia el glucógeno se oxida por medio de una serie de reacciones enzimáticas, produciendo CO₂, agua y ATP. Esta producción de energía (glucólisis) se lleva a cabo por dos vías: una aeróbica y la otra anaeróbica. La primera depende de la presencia continua de oxígeno en el sistema circulatorio y la segunda de su ausencia (Huss, 1995).

En condiciones anaeróbicas, la producción de energía se puede llevar a cabo a partir de la degradación del fosfógeno, que en el caso de los invertebrados es la arginina fosfato (Wongso *et al.*, 1998), mientras que en los teleósteos es la creatina fosfato (Konosu y Yamaguchi, 1982). En invertebrados, al momento de llevar a cabo la producción de ATP por medio de la arginina fosfato se produce una acumulación de arginina (Grieshaber y Gäde, 1976), la cual se combina con el piruvato obtenido a partir de la degradación de glucógeno para producir octopina, compuesto final del metabolismo anaerobio en cefalópodos (Huss, 1995).

Otra vía productora de ATP resulta de la acción de la enzima adenilato quinasa que convierte 2 moléculas de adenosina 5'difosfato (ADP) a una de adenosina 5'trifosfato (ATP) y otra de adenosina 5'monofosfato (AMP). Esta fuente de energía cesa durante los primeros minutos de muerto el animal, por lo que la glucólisis anaerobia resulta como la principal fuente productora de ATP (Hultin, 1976).

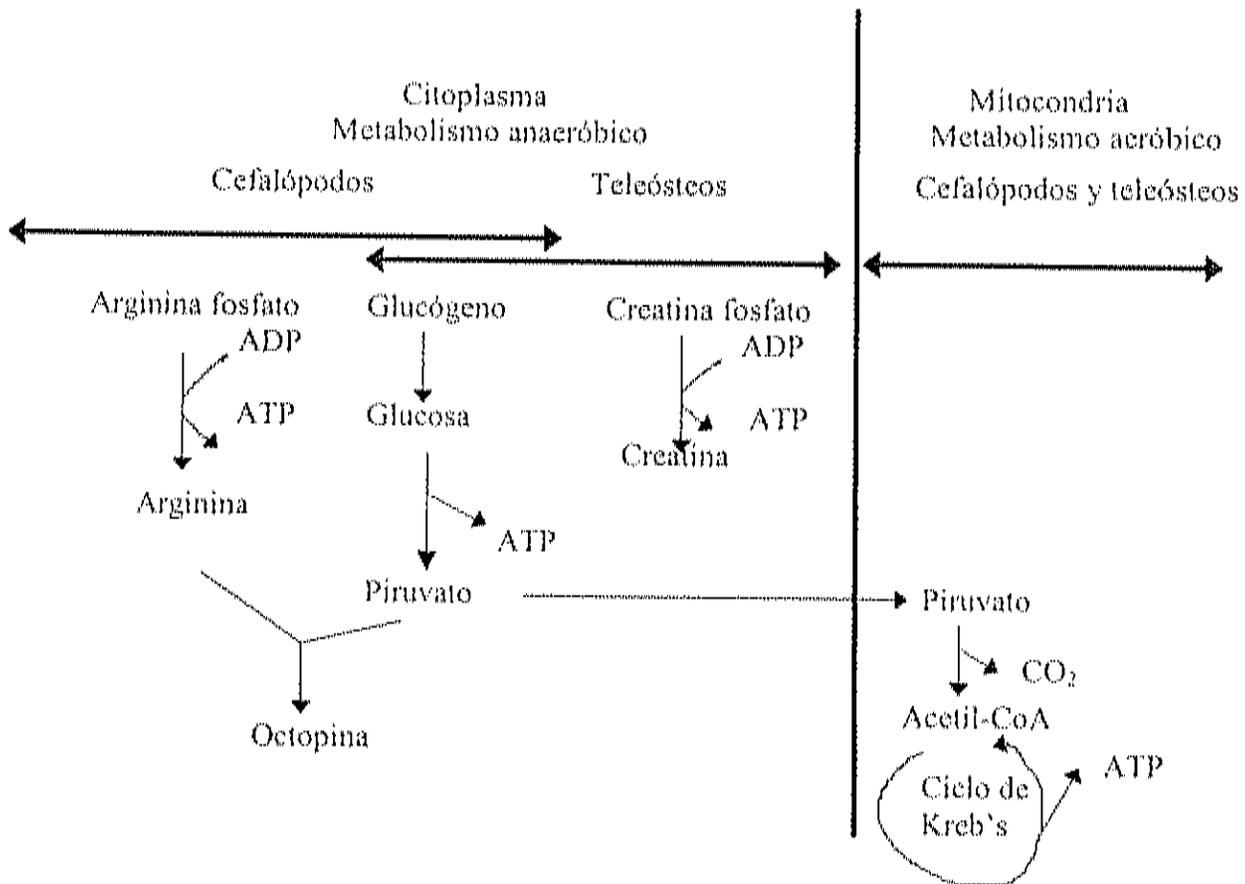


Figura 6.- Degradación aeróbica y anaeróbica del glucógeno en cefalópodos y teleósteos (Huss, 1995).

3.3. Degradación de Adenosina 5' Trifosfato (ATP) en el Músculo.

El camino de degradación de la adenosina 5' trifosfato (ATP) en el músculo se elucidó por Kassemarn *et al.* (1963) y Saito *et al.* (1959). Esta degradación se lleva a cabo por dos procesos diferentes. El primero de ellos consiste en la catálisis rápida del ATP por enzimas endógenas (Surette *et al.*, 1988), las cuales degradan el ATP a ADP para posteriormente degradarlo a AMP, inosina 5' monofosfato (IMP), inosina (HxR) e hipoxantina (Hx). Esta vía es el camino normal de degradación del ATP utilizado por los organismos vertebrados.

En el caso de invertebrados como los moluscos y crustáceos, la degradación del ATP también puede seguir la ruta de la adenosina, compuesto formado a partir de la defosforilación del AMP, para posteriormente transformarse mediante deaminación oxidativa a inosina (Sikorski *et al.*, 1990a). Konosu y Yamaguchi (1982), indicaron que los moluscos raramente tienen AMP deaminasa, por lo que la principal vía de degradación del ATP en estos organismos es por este último camino. El segundo paso en la degradación del ATP se lleva a cabo lentamente por enzimas bacterianas. Este consiste en la oxidación de la Hx a xantina y posteriormente a ácido úrico (Ashie *et al.*, 1996).

La literatura muestra que tanto el ATP como el ADP disminuyen rápidamente dentro de las primeras 24 horas posmortem del animal (Haard, 1992b; Luong *et al.*, 1992), en donde la velocidad y grado de degradación de los compuestos adenilados está en función de la especie y tipo de músculo (Sikorski *et al.*, 1990a). Ashie *et al.* (1996) y Murata y Sakaguchi (1988), indicaron que la cuantificación de los nucleótidos en el tejido, así como sus correspondientes productos de degradación están relacionados con la calidad y frescura de los productos marinos. Estos investigadores, al igual que Cox y Karahadian (1998) y Spinelli (1967), demostraron que la defosforilación de los nucleótidos y la acumulación de Hx en el tejido correlacionan bien con el tiempo de almacenamiento y pérdida de frescura del producto en hielo. De tal forma que niveles altos de ATP y ADP en el músculo indican que los productos son de excelente calidad y

frescura, mientras que niveles bajos de estos compuestos y altos valores de inosina e hipoxantina indican que la frescura se redujo y su calidad es dudosa.

Boyle *et al.* (1991), indicaron que los productos de degradación del ATP contribuyen directamente en la calidad sensorial de los productos marinos, en donde la degradación del IMP y la producción de HxR e Hx reducen el sabor dulce e incrementan el sabor amargo del músculo (Church, 1998 y Kassemarn *et al.*, 1963).

3.4. Disminución del pH.

La velocidad y grado de descenso del pH muscular se debe a la acumulación de ácido láctico y su disociación bajo condiciones anaeróbicas posmortem. Lo anterior está en función de la cantidad de glucógeno del músculo (Forrest *et al.*, 1975), así como de la especie (Pearson y Young, 1989) y de la liberación de los fosfatos inorgánicos y amoníaco provenientes de la degradación de ATP y proteínas (Sikorski *et al.*, 1990a).

La disminución posmortem del pH afecta las propiedades físicas y tecnológicas del músculo (Ashie *et al.*, 1996), produciendo con ello una pérdida de textura y una reducción de la capacidad de retención de agua y habilidad de gelificación térmica de las proteínas miofibrilares (Robles, 1993). El músculo donde el pH posmortem desciende muy rápidamente tiene problemas de exudación de líquido, lo cual genera un aspecto acuoso sobre la superficie del mismo. La literatura reporta que la caída de pH reduce la frescura de los productos marinos, ya que acelera la degradación de inosina monofosfato (IMP) por fosfomonoesterasas ácidas cuyo pH óptimo es de 6.0 (Haard, 1992). Yamanaka (1989), reportó para músculo abductor fresco de *Patinopecten yessoensis* un valor de pH de 6.67, valor similar al reportado para pescado por Robles (1993).

Una vez que el rigor ha finalizado, la actividad bacteriana produce un incremento gradual de pH debido a la producción de amoníaco y de otros compuestos básicos. De tal forma que el pH muscular primero disminuye durante el inicio del *rigor mortis* y posteriormente se incrementa progresivamente producto de la actividad microbiana.

3.5. Desnaturalización de Proteínas.

La desnaturalización de una proteína se define como la pérdida o modificación de la estructura secundaria, terciaria y/o cuaternaria (Badui, 1982), la cual provoca una disminución en la solubilidad o capacidad de extracción bajo condiciones en las que la proteína nativa es solubilizada o extraída (Dyer y Dingle, 1961). Esta desnaturalización involucra el rompimiento de enlaces de hidrógeno y de otras interacciones intra e intermoleculares como enlaces de hidrógeno entre cadenas laterales, enlaces S-S cruzados y puentes salinos (Fessenden y Fessenden, 1983).

La desnaturalización de proteínas esta influida por varios factores. Entre los cuales se encuentran los cambios en la temperatura, pH, los detergentes, la radiación y cambios en el tipo de solvente, así como también esta influenciado por los agentes oxidantes y reductores que pueden alterar las uniones S-S (Fessenden y Fessenden, 1983a). Cuando el pH desciende y se acerca al punto isoeléctrico de las proteínas, las fuerzas de repulsión son mínimas y por consiguiente las proteínas tienden a agregarse y a precipitarse (Badui, 1982), siendo entonces cuando pierden sus propiedades funcionales.

Al disminuir el pH, y a medida que el músculo se hace mas ácido, se activan y liberan catepsinas (enzimas lisosomales) localizadas en el interior de las células del músculo (Goll *et al.*, 1984). Entre estas catepsinas se encuentran la A, B, C, D y L, las cuales degradan la fracción proteica (Pearson y Young, 1989). Zeece y Katoh (1989), reportaron que la catepsina D juega un papel muy importante en la proteólisis posmortem, mientras que Huss (1995), reportó que además de la catepsina D, la L también desempeña una función importante en la degradación autolítica del tejido de pescado. El resto de las catepsinas son de menor importancia ya que su actividad proteolítica se encuentra dentro de un rango de pH muy reducido.

3.6. Oxidación e Hidrólisis de las Grasas

La oxidación lipídica de los productos marinos concierne específicamente a las especies grasas (Sikorski *et al.*, 1990b), en donde los ácidos grasos altamente insaturados

son los más susceptibles a la auto oxidación y oxidación por enzimas endógenas (Haard, 1992). Entre los factores que juegan un papel importante en la oxidación de las grasas del tejido se encuentran: el tipo de ácidos grasos, el grado de insaturación, la proporción de fosfolípidos y la distribución de la grasa; así como la presencia o ausencia de compuestos que inhiban o aceleren la oxidación, la deshidratación del tejido, la temperatura, el oxígeno ocluido en el medio y la exposición a radiaciones electromagnéticas de alta energía (Robles, 1993).

La oxidación de los lípidos es un mecanismo complejo que involucra la formación de radicales libres e hidroperóxidos, compuestos que son muy inestables y que al descomponerse producen aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos y époxis. Estos compuestos son los responsables de los cambios deteriorativos en las características organolépticas y del olor asociado con la rancidez oxidativa u auto-oxidación. Los primeros productos de la oxidación son los hidroperóxidos, los cuales pueden detectarse por métodos químicos. Generalmente, se utiliza el potencial de oxidación de estos compuestos para oxidar el yodo a yoduro o el fierro II a fierro III (Huss, 1995).

3.7. Deterioro por Acción Bacteriana

Las bacterias representan la principal causa de deterioro de los productos marinos. El deterioro por acción bacteriana comienza una vez concluido el *rigor mortis*, ya que durante este fenómeno el pH no favorece su crecimiento (Domínguez y Gutiérrez, 1993). La velocidad de deterioro del músculo depende del número y del tipo de bacterias presentes. Las bacterias se reproducen y secretan enzimas que se encargan de metabolizar proteínas, carbohidratos, lípidos y otros compuestos, generando malos olores, pérdida de textura y decoloración (Ashie *et al.*, 1996).

La carga microbiana de los productos marinos proviene del medio ambiente y del manejo posmortem del animal. La literatura reporta que los pescados y moluscos de aguas templadas tienen bacterias mesofílicas gram (+) como el *Micrococcus*, y *Bacillus*, mientras que las de aguas frías, poseen bacterias psicrófilas gram negativo (-) como

Acinetobacter, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* y *Vibrio* (Ashie *et al.*, 1996, Domínguez y Gutiérrez, 1993).

En el músculo posmortem, uno de los cambios más sensibles por acción de enzimas bacterianas es la producción de una amplia variedad de compuestos volátiles que provocan la aparición de olores y sabores desagradables. Uno de estos compuestos es la trimetilamina (TMA), que es el producto de la reducción del óxido de trimetilamina (TMAO) por enzimas bacterianas como la trimetilamina oxidasa (Kunimoto *et al.*, 1992). Otros compuestos responsables de mal olor también son: la piperidina, el ácido α -amino valérico y el aldehído α -amino valérico. Además, se desarrollan aminas como la putrescina y cadaverina provenientes de la degradación de la arginina y lisina, respectivamente. De igual forma, también se generán sulfuro de hidrógeno, sulfuro de dimetilo y metil mercaptano, los cuales son generados a partir de la degradación microbiana de aminoácidos azufrados como la cisteína. Todos estos compuestos son indicadores de descomposición (Magdaleno y Valdés, 1994; Robles, 1993).

4. Métodos utilizados para evaluar la calidad la calidad de los productos marinos.

Actualmente existen un gran número de métodos para evaluar y medir la calidad de los productos marinos. Estos métodos clasificados en físicos, químicos, bioquímicos y sensoriales, se han agrupado en dos categorías, una integrada por pruebas sensoriales o subjetivas, y la otra por determinaciones instrumentales u objetivas (Huss, 1995). A continuación se hace una breve descripción de ellas.

4.1. Pruebas Subjetivas o Sensoriales

La evaluación sensorial se define como la disciplina científica utilizada para describir, medir, analizar e interpretar las características de un alimento mediante el olfato, gusto, tacto, oído y vista. Este tipo de evaluación es el método utilizado tradicionalmente para determinar la calidad de los productos marinos (Pivarnik *et al.*, 1998). Entre las ventajas que presenta se encuentra su rapidez, no requieren equipo especial de laboratorio y se pueden realizar en cualquier lugar, sin embargo, estas tienen

la desventaja de que la respuesta al mismo nivel de estímulo varía entre individuos (Huss, 1995). A pesar de que las pruebas organolépticas empleadas para determinar el grado de frescura de los productos pesqueros son muy generales, éstas son de amplia utilización en todo el mundo (Farber, 1965).

Los análisis sensoriales se clasifican en tres grupos: a) pruebas discriminativas, las cuales indican si existe diferencia entre dos muestras, b) pruebas descriptivas, que son utilizadas para determinar la naturaleza e intensidad de las diferencias de las muestras y c) pruebas afectivas, que se basan en la preferencia o aceptación del consumidor. Las pruebas discriminativas y descriptivas son evaluaciones analíticas objetivas que involucran la utilización de panelistas entrenados, mientras que las pruebas afectivas son pruebas subjetivas de evaluación (Ólafsdóttir *et al.*, 1997).

La mayoría de las características sensoriales pueden medirse significativamente por el hombre. Sin embargo, el avance en el desarrollo de la tecnología, principalmente en el área instrumental, ha permitido medir con mayor precisión los cambios de calidad que presentan los distintos tipos de productos. Entre estos instrumentos se encuentran el instron y el reómetro, los cuales además de medir la textura, son utilizados para determinar otras propiedades reológicas (Huss, 1995).

4.2. Pruebas Objetivas

Objetivamente, la calidad y frescura de los productos marinos se puede determinar mediante métodos físicos, químicos y microbiológicos. Dentro de los métodos físicos se encuentran la resistencia eléctrica, textura, color y capacidad de retención del agua. En los métodos químicos se encuentran el pH, bases volátiles nitrogenadas (BVN), ácidos volátiles, trimetilamina (TMA) y el índice K. Cabe destacar que algunos investigadores erróneamente utilizan la determinación de pH, BVN, ácidos volátiles y TMA como índices de frescura, cuando estos parámetros son producto de actividad bacteriana o deterioro (Domínguez y Gutiérrez, 1993). Finalmente, dentro de los métodos microbiológicos se encuentran la cuenta bacteriana total y coliformes entre

otros, en donde la carga bacteriana esta en función de la zona y sistemas de captura, así como del manejo y procesamiento poscaptura.

A continuación se hace una breve descripción de los métodos objetivos más utilizados para evaluar la calidad de los productos pesqueros.

4.2.1. Índice K.

La cuantificación de la adenosina 5' trifosfato (ATP), así como sus productos de degradación (ADP, AMP, IMP, Inosina, e hipoxantina) en el músculo de organismos marinos, son utilizados como índices químicos para la determinación de frescura. La proporción en el cambio de estos compuestos correlaciona paralelamente con la pérdida de frescura en condiciones adecuadas de manejo, almacenamiento y refrigeración (Boyle *et al.*, 1991).

Boyle *et al.* (1991) y Gill *et al.* (1987), reportaron que el ATP del músculo se degrada por medio de enzimas endógenas en ADP, AMP, IMP, inosina (HxR) e hipoxantina (Hx). Estos compuestos son utilizados para medir la frescura de los productos marinos mediante el cálculo del índice K (Luong *et al.*, 1992; Saito *et al.*, 1959). Randell *et al.* (1997) y Boyle *et al.* (1991), reportaron que el índice K es un buen indicador de frescura, el cual es ampliamente utilizado en Japón como un índice comercial para estimar la frescura de los productos marinos. Domínguez y Gutiérrez (1993), reportaron que el índice K es el parámetro más adecuado para evaluar el grado de frescura, ya que este parámetro es el único que presenta una correlación lineal con respecto al tiempo de almacenamiento a 0°C.

El índice K se obtiene mediante el porcentaje de la relación de la suma de la concentración de inosina e hipoxantina entre la suma de las concentraciones de ATP y sus productos de degradación hasta hipoxantina (Haard, 1992; Paterson *et al.*, 1995). El índice K se determina mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Índice K} = \frac{\text{HxR} + \text{Hx}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}} \times 100$$

donde:

ATP = Adenosina 5'trifosfato, ADP = Adenosina 5'difosfato, AMP = Adenosina 5'monofosfato, IMP = Inosina 5'monofosfato, HxR = Inosina y Hx = Hipoxantina.

La literatura reporta que el valor de índice K de los organismos marinos inmediatamente después de su captura no excede el 10% (Sikorski *et al.*, 1990a). Cox y Karahadian (1998), Ehira y Uchiyama (1987) y Lin y Morrissey (1994), reportaron que un valor de índice K menor al 20% representa un producto marino muy fresco y de muy buena calidad; un valor de 50%, indica que el producto marino es moderadamente fresco, mientras que un valor superior al 70% indica que es un producto no fresco y de baja calidad, por lo que no deberá de ser procesado

4.2.2. Aminas Biogénicas.

En los productos marinos se lleva a cabo la formación de una amplia variedad de compuestos aminados, los cuales son producidos a partir de la descarboxilación directa de aminoácidos por microorganismos (Eerola *et al.*, 1998). La mayoría de las bacterias deteriorativas poseen actividad descarboxilasa en respuesta a pH ácidos, de tal forma que estos organismos incrementan el pH del medio mediante la producción de aminas (Huss, 1995).

Las aminas biogénicas son compuestos básicos de bajo peso molecular con actividad biológica (Halász *et al.*, 1994). Entre las aminas biogénicas se encuentran la histamina, putrescina, cadaverina y tiramina producidas a partir de la descarboxilación de la histidina, ornitina, lisina y tirosina, respectivamente. De éstas, la histamina es la de mayor interés ya que se ha asociado con intoxicaciones a partir de la ingesta de pescados escombroides como el atún y macarela, entre otros (Beljaars *et al.*, 1998). Eerola *et al.* (1998) reportaron que concentraciones superiores a los 100 mg de este compuesto por 100 g de músculo producen una intoxicación severa.

Las aminas biogénicas son estables al procesamiento térmico, de tal forma que su presencia en productos de pescado enlatado es indicativo de que la materia prima

utilizada presentaba signos de deterioro previo al calentamiento (Huss, 1995). Mietz y Karmas (1977), propusieron un índice químico para la determinación de la calidad química del atún enlatado basado en aminas biogénicas, donde :

$$\text{Índice de calidad} = \frac{\text{ppm de Histamina} + \text{ppm de putrescina} + \text{ppm de cadaverina}}{1 + \text{ppm de espermidina} + \text{ppm de espermina.}}$$

La determinación de los compuestos aminados como la histamina son implementados en los Estados Unidos con la finalidad de regular la calidad sanitaria de los alimentos (Beljaars *et al.*, 1998). Existen varios métodos analíticos para la determinación de compuestos aminados. Entre ellos se encuentran los métodos cromatográficos como los de cromatografía líquida de alta presión (Mietz y Karmas, 1977; Yamanaka, 1989) y los de cromatografía de gases (Sims *et al.*, 1992; Staruszkiewicz y Bond, 1981), los cuales son métodos rápidos, sencillos y reproducibles.

4.2.3. Bases Volátiles Totales (BVT).

La determinación de las bases volátiles totales es una de las pruebas más utilizadas para medir el deterioro de los productos marinos. Esta determinación que puede utilizarse tanto en material fresco, congelado ó seco (Gallardo *et al.*, 1990; Yeannes *et al.* 1983), se basa en la cuantificación de las bases volátiles de bajo peso molecular y compuestos aminados producidos por la descarboxilación microbiana de los aminoácidos (Woyewoda *et al.*, 1986).

Las BVT es un término general, el cual incluye la medición de trimetilamina (producida por el deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoniaco (producido por la deaminación de aminoácidos y nucleótidos), y otros compuestos nitrogenados volátiles asociados con el deterioro de los productos marinos (Woyewoda *et al.*, 1986). La cuantificación de las BVT es una determinación sencilla en comparación a otros indicadores de deterioro como la trimetilamina (Aitken, 1988); sin embargo, esta determinación que además de reflejar las

últimas etapas de deterioro, tiene la desventaja de que no indica si el deterioro se debe a enzimas endógenas ó bacterianas (Huss, 1995).

Sikorski *et al.* (1990a), reportaron que en crustáceos y moluscos las BVT se incrementan más rápidamente que en el músculo de pescado, y que su incremento coincide con el deterioro bacteriano. Ríaz y Qadri (1985), reportaron un nivel máximo de 30 mg de BVT-N/100 g de músculo para un producto marino no deteriorado y apto para consumo humano, el cual presentó buena correlación con las observaciones físicas y sensoriales. Botta *et al.* (1984), determinaron las BVT en músculo de bacalao (*Gadus morhua*) por 6 métodos distintos encontrando que el contenido de BVT se incrementó con respecto al tiempo de almacenamiento en hielo.

Para mantener un bajo contenido de BVT y prolongar la calidad de los productos marinos por mayor tiempo, resulta necesario manejar los productos adecuadamente durante su captura, procesamiento, almacenamiento y distribución. Lo anterior involucra disminuir la temperatura del animal recién capturado lo más rápidamente posible, así como también manejarlo bajo condiciones adecuadas de higiene y sanidad.

4.2.4. Trimetilamina (TMA).

La trimetilamina es una amina volátil pungente, la cual se ha asociado muchas veces con el típico olor a pescado deteriorado de los productos marinos. La TMA se produce por medio de la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina (TMAO), compuesto producido por la mayoría de las especies de peces, moluscos y crustáceos (Krzymien y Elias, 1990). Teskeredzie y Pfeifer (1987), reportaron que esta reducción que se presenta en el músculo es paralela al deterioro de los productos. El TMAO es un compuesto osmoregulador que se encuentra en los pescados de agua dulce en una concentración de 5-20 mg, mientras que en los de agua salada el valor oscila entre 1-100 mg por 100 g de músculo (Teskeredzie y Pfeifer, 1987).

Rey *et al.* (1999), reportaron que los niveles de TMA dependen del tiempo de almacenamiento y del crecimiento bacteriano. A pesar de que la TMA se produce por la acción de enzimas bacterianas sobre el TMAO (Pivarnik 1998), en algunas ocasiones no

correlaciona bien con la cuenta bacteriana. Esto se debe a la presencia de bacterias deteriorativas específicas que tienen la capacidad de producir grandes cantidades de éste compuesto, las cuales normalmente representan una baja proporción de la flora bacteriana total. Una de estas bacterias es la *Photobacterium phosphoreum*, que genera aproximadamente de 10 a 100 veces la cantidad de TMA que produce la bacteria deteriorativa *Shewanella putrefaciens* (Huss, 1995).

La determinación de TMA es un indicador de deterioro que presenta una serie de ventajas sobre la cuenta bacteriana total, entre las cuales se encuentran su rapidez; además de que refleja más exactamente el grado de deterioro que las cuentas bacterianas totales. Sin embargo, las desventajas de los análisis de TMA es que no reflejan las etapas iniciales del deterioro y su determinación es aplicable únicamente para ciertas especies de pescado (Huss, 1995). Esta medición que es objetiva del deterioro de los productos marinos (Chang *et al.*, 1976), se puede realizar por métodos colorimétricos que implican la extracción con tolueno anhidro (Woyewoda, 1986), así como por cromatografía de gases (Keay y Hardy, 1972; Krzymien y Elias, 1990).

4.2.5. Amoníaco.

El amoníaco es el producto resultante de la deaminación bacteriana de proteínas, péptidos y aminoácidos, así como del rompimiento autolítico de la adenosina 5' monofosfato (AMP) en productos marinos (Huss, 1995; Pivarnik, 1998). Aunque el amoníaco se ha identificado como un componente volátil en una gran variedad de productos deteriorados, pocos estudios se han publicado sobre su cuantificación (Huss, 1995).

La determinación del contenido de amoníaco es una prueba objetiva de calidad, la cual se ha aplicado a varias especies de pescados, crustáceos y moluscos (Vyneke, 1978). Este compuesto comprende la mayor proporción de las BVT (Pivarnik *et al.*, 1998). Wongso y Yamanaka (1996), reportaron un valor de 1.2 mg N/100g en el músculo abductor de *Chlamys nobilis* después de 11 días de almacenamiento a 0°C. Este

valor fue muy inferior al reportado en atún (*Thunnus alalunga*) por Gallardo *et al.* (1990), en donde se encontraron 25 mg N/100 g de músculo fresco previo al enlatado.

4.2.6. pH.

La determinación de pH se basa en la cuantificación del número de iones hidrógeno (H^+) presentes en el músculo o en cualquier otro medio. Los valores de pH varían en el rango de 1 a 14 dependiendo de la concentración de iones hidrógeno, siendo un valor de 1 para compuestos o soluciones muy ácidos y de 14 para compuestos o soluciones muy básicas. A partir de estos hidrógenos que están en forma ionizada o disociada se lleva a cabo el cálculo de pH mediante la siguiente fórmula:

$$pH = -\log [H^+] \quad (\text{Woyewoda } et al. 1986).$$

lo cual nos indica que un pH muscular de 5, tendrá una concentración de iones hidrógeno 10 veces superior que la de un músculo con pH de 6, y así sucesivamente.

Mattos (1975), indicó la existencia de una gran cantidad de estudios referentes a la determinación de pH, los cuales son contradictorios e inconsistentes sobre su significancia y utilidad como un indicador confiable de la calidad de los productos pesqueros. Simeonidou *et al.* (1998), reportaron que el pH del músculo de 7 especies del mediterráneo almacenadas en hielo no varió significativamente ($p > 0.05$) durante los 6 días de almacenamiento que comprendió el estudio. En otros estudios, Pastoriza y Sampedro (1994), reportaron un incremento significativo de pH en el músculo de mantarraya (*Raja clavata*) a partir del 10mo día de almacenamiento a 0°C, el cual fue paralelo con el incremento de la cuenta bacteriana total. Por otra parte, Medrano (1994) reportó en lisa almacenada durante 21 días a 0°C un incremento gradual y significativo entre el día 1 y 21 con valores de 6.1 ± 0.24 y 6.5 ± 0.17 , respectivamente. Sin embargo el valor promedio de pH obtenido para el día 21, está muy por debajo de valores que indican deterioro bacteriano, los cuales tienden a ser mayores de 7.0 (Woyewoda *et al.*, 1986). Considerando lo anterior, la determinación de pH no es concluyente por si misma

respecto al estado que guarda el músculo, por lo que no representa un indicador confiable para monitorear cambios de calidad y deberá complementarse con otros indicadores como la determinación de TMA y BVT entre otros.

4.2.7. Color.

Los productos marinos tienen la capacidad de reflejar, transmitir, absorber y dispersar la luz. Cuando un rayo de luz incide sobre un objeto provoca una respuesta visual a la percepción humana. Entre estas respuestas se encuentran el color, translucidez, opacidad y brillo (Haard, 1992a). La producción del color en los productos se debe a la presencia de cromóforos, los cuales son compuestos orgánicos con capacidad de producir color. Estos compuestos, se caracterizan por tener dentro de su estructura grupos con $-C=C-$, $-C\equiv C-$, $-N=N-$, $-NO_2$, etc. (Fessenden y Fessenden, 1983b).

En los productos marinos los cromóforos incluyen tres categorías: 1) los pigmentos biológicos que son sintetizados o acumulados en el animal vivo, entre los cuales se encuentran los carotenoides y proteínas heme, 2) los pigmentos poscaptura, los cuales son producidos en el tejido posmortem como resultado de inadecuadas condiciones de manejo y procesamiento, y 3) los aditivos, que son colorantes químicos adicionados al pescado o productos marinos (Haard, 1992b).

Pacheco-Aguilar *et al.* (1994), indicaron que el color es una característica muy importante en la apariencia, presentación y aceptación de los productos provenientes de la pesca, lo cual se debe a que el color inicial de los productos marinos cambia durante el enhielado (Haard, 1992b), afectando la calidad inicial.

El color representa el criterio de mayor importancia que utiliza el consumidor al momento de la compra de un producto (Piette *et al.*, 1997). De tal forma que a nivel industrial su determinación ha sido muy importante en el control de calidad del producto, debido a que los cambios de color que se presentan en el músculo se han relacionado con la frescura y aceptación del consumidor (Ólafsdóttir *et al.*, 1997).

La determinación del color se lleva a cabo por colorimetría de triestímulo. Para ello se utiliza un colorímetro con el cual se obtienen los parámetros de color "L"

(Luminosidad), "a" (matiz rojo-verde) y "b" (matiz-amarillo azul) de la muestra a medir. La determinación es muy sencilla de realizar, ya que solo es necesario colocar la muestra en el puerto de luz del equipo previamente calibrado con valores estandar de "L", "a" y "b" (Woyewoda *et al.*, 1986).

4.2.8. Capacidad de Retención de Agua (CRA).

La CRA es la habilidad de una muestra por retener fluidos bajo condiciones específicas definidas (Fennema, 1990). La CRA es una de las propiedades funcionales de mayor utilización en la tecnología de productos cárnicos, ya que todas las características requeridas en el producto final se encuentran influenciadas por la CRA del músculo (Magdaleno y Valdéz, 1994). La CRA esta determinada por las características del animal entre las cuales se encuentra: la especie, sexo, tipo de músculo etc.; así como también por factores físicos y químicos como el pH, presencia de cationes divalentes, cambios posmortem, temperatura y adición de sales (Dominguez y Gutiérrez, 1993).

La CRA de una proteína depende de la cantidad de aminoácidos polares y no polares, así como de la facilidad que tienen de interactuar con las moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno (Badui, 1982). Los aminoácidos polares son los grupos que ejercen una mayor influencia en las interacciones proteína-agua. Los sitios más importantes de los aminoácidos son los $-\text{COOH}$, $-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$, $-\text{OH}$ y $-\ddot{\text{N}}\text{H}-$, los cuales tienen una mayor capacidad para ligar agua cuando se encuentran en su forma ionizada, por lo que el pH del medio es de fundamental importancia (Valenzuela, 1996).

Durante la elaboración de productos a partir de músculo de especies marinas, el tipo de iones presentes y su concentración tienen un efecto significativo sobre la CRA, ya que estos producen enlaces con las proteínas. Concentraciones bajas de NaCl aumentan la CRA, ya que los iones interactúan con las cargas de las proteínas y reducen la atracción electrostática entre las cargas opuestas de grupos vecinos, fenómeno conocido como "salting-in". A concentraciones mayores de 1 M, se produce una competencia entre la proteína y los iones por el agua. Los iones se solvatan

(Luminosidad), "a" (matiz rojo-verde) y "b" (matiz-amarillo azul) de la muestra a medir. La determinación es muy sencilla de realizar, ya que solo es necesario colocar la muestra en el puerto de luz del equipo previamente calibrado con valores estandar de "L", "a" y "b" (Woyewoda *et al.*, 1986).

4.2.8. Capacidad de Retención de Agua (CRA).

La CRA es la habilidad de una muestra por retener fluidos bajo condiciones específicas definidas (Fennema, 1990). La CRA es una de las propiedades funcionales de mayor utilización en la tecnología de productos cárnicos, ya que todas las características requeridas en el producto final se encuentran influenciadas por la CRA del músculo (Magdaleno y Valdéz, 1994). La CRA esta determinada por las características del animal entre las cuales se encuentra: la especie, sexo, tipo de músculo etc.; así como también por factores físicos y químicos como el pH, presencia de cationes divalentes, cambios posmortem, temperatura y adición de sales (Dominguez y Gutiérrez, 1993).

La CRA de una proteína depende de la cantidad de aminoácidos polares y no polares, así como de la facilidad que tienen de interaccionar con las moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno (Badui, 1982). Los aminoácidos polares son los grupos que ejercen una mayor influencia en las interacciones proteína-agua. Los sitios más importantes de los aminoácidos son los $-\text{COOH}$, $-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$, $-\text{OH}$ y $-\ddot{\text{N}}\text{H}-$, los cuales tienen una mayor capacidad para ligar agua cuando se encuentran en su forma ionizada, por lo que el pH del medio es de fundamental importancia (Valenzuela, 1996).

Durante la elaboración de productos a partir de músculo de especies marinas, el tipo de iones presentes y su concentración tienen un efecto significativo sobre la CRA, ya que estos producen enlaces con las proteínas. Concentraciones bajas de NaCl aumentan la CRA, ya que los iones interaccionan con las cargas de las proteínas y reducen la atracción electrostática entre las cargas opuestas de grupos vecinos, fenómeno conocido como "salting-in". A concentraciones mayores de 1 M, se produce una competencia entre la proteína y los iones por el agua. Los iones se solvatan

rápidamente no dejando agua suficiente para interactuar con las proteínas, de tal forma que éstas se agregan y precipitan, fenómeno conocido como "salting-out" (Dominguez y Gutiérrez, 1993).

4.2.9. Textura.

Una de las propiedades más importantes en la calidad de los productos marinos es la textura, la cual está influenciada por factores como la especie, edad, tamaño, contenido de grasa y distribución; así como por la cantidad y propiedades de las proteínas y el nivel de estrés a que son sometidos previo a su sacrificio (Hultmann y Rustad, 2002). Bajo condiciones postmortem, ésta se ve influenciada por el grado de descenso del pH muscular, *rigor mortis*, proteólisis de proteínas miofibrilares y tejido conectivo y la temperatura durante el almacenamiento (Andersen *et al.*, 1997)

Esta propiedad que se emplea para determinar los cambios estructurales en los alimentos se puede medir sensorial e instrumentalmente. La primera se puede llevar a cabo por panelistas entrenados, semientrenados y no entrenados, mientras que para la segunda se requiere de instrumentos como los texturómetros, los cuales están equipados con una amplia variedad de accesorios para diferentes tipos de análisis (Huss, 1995).

La textura del músculo de especies marinas es difícil de evaluar debido a que carecen de una estructura uniforme, lo cual dificulta en gran medida la preparación de las muestras en tamaños estándares. La literatura indica que las evaluaciones objetivas o instrumentales de textura presentan buena correlación con las evaluaciones sensoriales (Ólafsdóttir *et al.*, 1997).

La firmeza de los productos marinos tiene una fuerte relación con la cantidad de colágeno presente en el músculo, el cual es el principal constituyente del tejido conectivo (Ando *et al.*, 1999). Los pescados, moluscos y crustáceos contienen una menor cantidad de tejido conectivo y un menor grado de entrecruzamiento del colágeno que los mamíferos, lo cual contribuye en gran medida en la suavidad de los productos marinos. La suavidad del músculo se considera que está asociada con la desaparición de los discos Z, la disociación del complejo actomiosina, la destrucción de conectina y la

desnaturalización del tejido colagenoso. La actividad posmortem de las proteasas endógenas sobre las proteínas miofibrilares parece ser la principal causa que produce la suavidad del músculo, debido a que algunas de ellas son totalmente activas en el pH posmortem entre 5.5 y 6.5. De las proteasas endógenas, las dependientes de Ca^{++} , colagenasas y catepsinas lisosomales, son las principales enzimas que se encargan de modificar la textura del músculo durante el almacenamiento postmortem (Ashie *et al.*, 1996).

4.2.10. Cuenta Bacteriana Total.

La cuenta bacteriana total representa el número total de bacterias capaces de formar colonias visibles sobre medios de cultivo a una temperatura dada (Huss, 1995). Los métodos utilizados para medir la cuenta bacteriana evalúan la presencia de bacterias que afectan la salud pública y proporcionan una idea de la calidad sanitaria, incluyendo el abuso de temperatura e higiene durante el manejo y procesamiento, por lo que pueden ser utilizados para predecir la vida de anaquel y la frescura del pescado o del producto marino. Pacheco-Aguilar *et al.* (2000), reportaron que a 0°C la frescura del pescado disminuye antes de que la cuenta bacteriana se incremente, mientras que Ehira y Uchiyama (1987), reportaron que el olor a deteriorado en pescado almacenado 0°C aparece hasta el día 17, en donde la cuenta bacteria se encuentra en el orden de las 10^5 UFC/g.

5.- Temperatura y fisiología de organismos acuáticos.

5.1- Patrones de regulación de temperatura en organismos acuáticos.

La mayoría de los organismos, entre ellos los invertebrados acuáticos tienen una temperatura corporal cercana a la de su medio ambiente (Schmidt-Nielsen, 1983). En general, la temperatura corporal del pescado es ligeramente superior unos 0.5°C (Fry, 1971). Por otra parte, solo una minoría de vertebrados e invertebrados pueden mantener una diferencia mayor entre su temperatura corporal con la del medio ambiente (Schmidt-Nielsen, 1983).

En función de lo anterior, los organismos se han clasificado como ectotermos y endotermos. Los ectotermos son organismos en los cuales la temperatura corporal se regula por la temperatura del medio. Las especies acuáticas por lo general son estrictos ectotermos debido a que carecen de medios anatómicos y fisiológicos para mantener un gradiente de temperatura entre el medio y su cuerpo. En estos organismos, el calor metabólico producido se pierde rápidamente en la superficie respiratoria de las branquias durante el consumo de O_2 y eliminación de CO_2 y otros productos de desecho como el amoníaco (Hochachka y Somero, 2002).

Frecuentemente, los organismos ectotermos son denominados como poikilotermos del griego poikilo que significa variación o alteración. Estrictamente, los términos ectotermos y poikilotermos no son sinónimos. En principio un ectotermo puede ser capaz de utilizar el medio conductual para seleccionar una temperatura corporal estable. Esto significa que puede evitar ser poikilotermo. Sin embargo, es muy común que se utilicen estos dos términos (Hochachka y Somero, 2002).

En contraste a los organismos ectotermos, los endotermos que como se describió anteriormente comprenden solo una minoría de organismos acuáticos, producen suficiente calor por su propio metabolismo oxidativo y dado que tienen una baja conductividad térmica, el calor generado por este metabolismo contribuye a mantener una temperatura corporal alta (Bartholomew, 1982).

Las especies difieren en el rango de temperatura que pueden tolerar, así como en la temperatura absoluta en la que pueden vivir. Algunas especies como los peces antárticos que normalmente viven en aguas entre -1.86 y $2^\circ C$, mueren a temperaturas por arriba de los $4^\circ C$. A estos organismos se les denomina estenotérmicos del griego steno que significa estrecho, debido al rango de temperatura tan estrecho que pueden soportar. En el caso contrario, los organismos euritérmicos, que incluyen algunas especies acuáticas dentro de las cuales se encuentra muchos organismos intermareales que experimentan largos periodos de emersión durante bajas mareas, pueden soportar variaciones en temperatura de $20-30^\circ C$ diariamente.

5.2- Efecto de los cambios de temperatura en la fisiología de los organismos.

Los cambios en la temperatura del agua tienen un fuerte efecto sobre muchos procesos fisiológicos de los organismos vivos. Entre los principales procesos fisiológicos afectados se encuentran el metabolismo, la alimentación, el crecimiento, el trabajo muscular, la respiración, la reproducción, etc. Sin embargo, también tiene una influencia indirecta el medio ambiente en el que viven.

Dentro de ciertos límites, un incremento en la temperatura acelera la mayoría de los procesos fisiológicos. Tal es el caso de la tasa de consumo de oxígeno, la cual es un fuerte indicador de la actividad metabólica general de un animal, en donde dentro del rango de temperatura que un animal puede tolerar, la tasa de consumo de oxígeno incrementa de manera regular con un aumento en la temperatura (Schmidt-Nielsen, 1983).

El efecto que tiene la temperatura sobre la tasa de actividad biológica se cuantifica mediante el cálculo del coeficiente de temperatura Q_{10} de los procesos. Este coeficiente se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$Q_{10} = (k_1/k_2)^{10(t_1 - t_2)}$$

Donde k_1 y k_2 son las tasas constantes de las variables a evaluar (tasa respiratoria, crecimiento, etc.), determinadas a una temperatura alta y baja, t_1 y t_2 , respectivamente (Hochachka y Somero, 2002).

Este coeficiente de temperatura nos indica el efecto que tiene un cambio de temperatura de 10°C en la variable a estudiar (tasa respiratoria, actividad enzimática, etc). Si la proporción de cambios es del doble, Q_{10} es 2; si la proporción es triple, Q_{10} es 3, y así sucesivamente. Valores de Q_{10} cercanos a 2 en procesos como la tasa respiratoria y actividad enzimática, se obtienen cuando se estudia el efecto térmico dentro de un rango de temperatura cercana a la temperatura corporal normal de las especies. Fuera de este rango de temperatura, el valor Q_{10} se desvía gradualmente del valor de 2. A altas temperaturas donde existe un efecto letal, se obtiene un valor Q_{10} de 1, lo cual indica que

el incremento en la temperatura está dañando el sistema en cuestión y podría estar causando un efecto irreversible en el funcionamiento metabólico del organismo. A bajas temperaturas, los valores de Q_{10} pueden ser mucho más altos de 2, lo cual puede ser indicativo de un cambio en las propiedades bioquímicas debido al incremento de las barreras de energía del proceso en cuestión (Schmidt-Nielsen, 1983).

5.3.- Efecto de la temperatura sobre las proteínas corporales.

Las proteínas desempeñan una gran variedad de funciones en el organismo. Unas transportan y almacenan moléculas pequeñas; otras constituyen gran parte de la organización estructural de las células y los tejidos, y otras participan en la respuesta inmune. Quizás las más importantes de todas las proteínas son las enzimas, que son los catalizadores que promueven la enorme variedad de reacciones que se llevan a cabo en el organismo (Mathews y Van Holde, 1998).

Las proteínas son polipéptidos de secuencia definida, en donde cada proteína tiene un orden definido de residuos de aminoácidos. Esta secuencia, que es lo que se conoce como estructura primaria de la proteína, es el nivel fundamental sobre el que se basan los demás niveles estructurales y su función (Mathews y Van Holde, 1998).

Un factor importante en la estabilidad de las proteínas es la temperatura. En la literatura Dahlhoff y Somero (1993) y Somero (1997) observaron respectivamente fuertes correlaciones en la estabilidad de la enzima malato deshidrogenasa y piruvato quinasa de diferentes organismos con respecto a la temperatura de adaptación. Enlaces químicos como las interacciones hidrofóbicas, interacciones iónicas, puentes de hidrógeno e interacciones de van der Waals contribuyen en la estabilidad de las proteínas (Hochachka y Somero, 2002). De las fuerzas anteriormente descritas, las interacciones hidrofóbicas contribuyen más en la estabilización de las proteínas a temperaturas altas, mientras que las interacciones iónicas y puentes de hidrógeno incrementan la estabilidad a temperaturas bajas (Hochachka y Somero, 2002).

Con la finalidad de mantener la estabilidad de las proteínas en función de la temperatura, éstas ajustan su composición de aminoácidos, así como también alteran el

tipo y número de interacciones no covalentes que estabilizan la molécula. Entre los principales tipos de sustituciones que se llevan a cabo se encuentran las siguientes:

a.- Aumento en el número de residuos cargados.

La adición de una o más interacciones iónicas entre los residuos de arginina y glutamato es un mecanismo común para aumentar la estabilidad de las proteínas a altas temperaturas. De estas interacciones, las iónicas con un ΔG negativo son las más fuertes. Lo anterior se lleva a cabo mediante la sustitución de aminoácidos no cargados por cargados, como la arginina, lisina, glutamato y aspartato. En el caso de los residuos de arginina, la estabilidad de la proteína se debe a que pueden formar múltiples interacciones iónicas producto de la resonancia de su estructura, lo cual facilita la interconexión de los puentes salinos en la proteína termofílica. Una comparación entre las regiones que codifican proteínas del genoma de *archaea termofílica* y *mesofílica* del género *Methanococcus*, reveló un incremento del 8% en los residuos cargados (arginina, lisina, glutamato y aspartato) en los organismos termofílicos (Haney *et al.*, 1999).

b.- Pérdida de aminoácidos polares no cargados.

La concentración de aminoácidos polares no cargados está determinada por la temperatura de aclimatación. En el estudio de Haney *et al.* (1999), descrito en el párrafo anterior y referente a las regiones que codifican proteínas del genoma de *archaea termofílica* y *mesofílica* del género *Methanococcus*, se observó una fuerte tendencia en la reducción de los aminoácidos polares no cargados (serina, treonina, asparagina y glutamina) en los organismos termofílicos. Aunque unos de los aminoácidos polares no cargados se sustituyeron por aminoácidos cargados, en la mayoría de los casos, los aminoácidos polares no cargados se reemplazaron por aminoácidos hidrofóbicos. De esta forma, se reduce la cantidad de puentes de hidrógeno y se incrementan las interacciones hidrofóbicas, lo cual aumenta la estabilidad de la proteína a altas temperaturas (Hochachka y Somero, 2002).

c.- Aumento del número de las cadenas laterales hidrofóbicas.

Las proteínas termofílicas tienen un mayor porcentaje de los aminoácidos hidrofóbicos y del tamaño de sus cadenas laterales. Haney *et al.* (1999), observó en las regiones que codifican proteínas del genoma de *archaea termofilico y mesofilico* del género *Methanococcus* cambios de glicina por alanina, leucina por isoleucina y metionina por leucina, los cuales son aminoácidos con una cadena lateral hidrofóbica mayor a la que sustituyeron. El incremento en el número de aminoácidos hidrofóbicos y aumento de las cadenas laterales producen un mayor compactación de los residuos hidrofóbicos en el interior de la proteína, lo cual facilita las interacciones de van der Waals y de esta forma incrementa la estabilidad de la proteína a altas temperaturas (Hochachka y Somero, 2002).

d.- Ajuste en la entropía configuracional.

El abultamiento de los aminoácidos hidrofóbicos y sus cadenas laterales en el interior de las proteínas, afectan la entropía configuracional mediante una reducción del movimiento en el estado desplegado de la proteína. El ajuste de esta entropía es un componente importante de adaptación de la proteína en estado desplegado a la temperatura.

La sustitución de un residuo de glicina por uno de alanina involucra el remplazo de un $-H$ por un grupo $-CH_3$, dirigiendo a un incremento de la masa de 14 daltons. Este simple reemplazo, produce un fuerte cambio en la estabilidad termal de la proteína (Matthews *et al.*, 1987). Un mecanismo involucra el cambio de entropía durante el plegamiento o desplegamiento de la proteína. La sustitución de un $-CH_3$ por un $-H$ reduce el número de configuraciones posibles para la proteína desplegada. Los residuos de glicina permiten libertad rotacional alrededor del enlace peptídico, debido a que presenta mucho menos impedimento estérico, lo cual permite un mayor número de estados conformacionales que otros aminoácidos. De esta forma, el incremento potencial en la entropía durante el desplegamiento es mayor cuando la glicina está presente. Un reemplazo de la glicina con otro aminoácido que reduzca el número de configuraciones

posibles en el estado desplegado disminuirá el cambio de entropía durante el desplegamiento y favorecerá la estabilización del estado plegado. El reemplazo de una glicina por una alanina incrementará el efecto hidrofóbico debido a la adición de un grupo no polar $-CH_3$ (Hochachka y Somero, 2002).

5.3.1.- Proteínas anticongelantes.

El agua es un componente esencial para la vida, sin embargo, el agua en estado congelado es letal para los organismos, especialmente si se lleva a cabo la formación de cristales dentro de la célula donde dañan severamente la estructura y actividad de macromoléculas y membranas (Hochachka y Somero, 2002).

Uno de los descubrimientos más interesantes realizados en las últimas décadas en el área de la biología, especialmente la referente a los organismos de zonas muy frías, recae en el descubrimiento de las proteínas y glicoproteínas anticongelantes en peces notothenioides del antártico (DeVries, 1971, 1982). A partir de este descubrimiento se han encontrado varias clases de macromoléculas anticongelantes en una gran variedad de familias de peces (Fletcher *et al.*, 2001) y moluscos (Cheng, 1998).

Todas las macromoléculas anticongelantes tienen características en común. Primero, estas son polipéptidos o proteínas, las cuales en algunas ocasiones tienen carbohidratos unidos a residuos de treonina o serina. A estas proteínas se les llama glicoproteínas anticongelantes (GPAC); sin embargo, cuando el carbohidrato está ausente se denominan solo proteínas anticongelantes (PAC). Segundo, todas las GPAC y PAC tienen efecto sobre la congelación y el punto de fusión de los cristales de hielo. En las soluciones donde existan estas proteínas, la temperatura en la cual se forman y crecen los cristales de hielo, será menor a la temperatura en la cual se lleva a cabo la fusión del cristal de hielo. Y tercero, la forma del cristal de hielo es muy diferente al observado donde no existen PAC (Hochachka y Somero, 2002).

La producción de las proteínas anteriormente descritas está en función de la temperatura del medio que habitan los organismos. Algunos organismos como los notothenioides sintetizan continuamente PAC, mientras que todos los peces del ártico

producen GPAC o PAC de acuerdo a la época del año, lo cual a la postre es una excelente estrategia para efficientar la energía, evitando la síntesis de estas proteínas en la épocas templadas cuando no son utilizadas (Hochachka y Somero, 2002).

5.4.- Efecto de la temperatura sobre las enzimas corporales.

Las enzimas son catalizadores específicos importantes en la regulación de la química de las células y los organismos vivos. La participación de las enzimas en la catálisis es esencial para hacer que reacciones bioquímicas de importancia crucial se lleven a cabo a una velocidad útil en condiciones fisiológicas (Mathews y Van Holde, 1998).

Las reacciones catalizadas por enzimas tienen una velocidad de reacción varios órdenes de magnitud mayor que una no catalizada, lo cual es el reflejo de la habilidad de las enzimas para disminuir la energía de activación en la conversión de reactivo a producto. La actividad de estas enzimas se ve afectada por los cambios de temperatura.

Debido a que la temperatura es una medición del nivel de energía cinética más frecuentemente ocupado por las moléculas de un sistema, cualquier cambio en la temperatura afectará la velocidad de las reacciones biológicas. Esta velocidad que es dependiente de la concentración de sustrato y enzima, así como de la temperatura y afinidad enzima-sustrato, se puede expresar por la K catalítica (K_{cat}), K de Micaelis-Menten (K_m) y la velocidad de reacción (Hochachka y Somero, 2002).

La relación entre la temperatura y la afinidad enzima-sustrato muestra 2 características importantes. La primera, indica que una disminución en la temperatura promueve un incremento en la afinidad enzima-sustrato. La segunda, muestra que muchas enzimas presentan un incremento en la K_m a temperaturas cercanas al límite inferior del rango fisiológico más bajo. Un valor bajo de K_m indica una alta afinidad por el ligando en cuestión, mientras que un alto valor indica que la unión es débil.

Hochachka y Somero (2002) indicaron que una disminución en la temperatura del rango fisiológico de poikilotermos, incrementa la afinidad enzima-sustrato y la K_{cat} . Este fenómeno se observó en enzimas lactato deshidrogenasa provenientes de peces del

antártico (*Parachaenichthys charcoti*, *lepidonotothem nudifrons*), de Suramérica (*Patagonotothem tesellata* y *Eleginops maclovinus*), así como de zonas templadas. Con lo anterior se observó que la enzima LDH de organismos que viven en aguas frías, tiene una Kcat mayor que la de los organismos de aguas calientes (Fields y Somero, 1998). Resultados similares se han descrito para la enzima citrato sintasa, una enzima de ciclo del ácido cítrico (Kawall *et al.*, 2002), así como en la acetilcolinesterasa (Baldwin y Hochachka, 1970) y en la enzima piruvato kinasa (Somero y Hochachka, 1968). Lo anterior muestra que las enzimas de organismos que viven en zonas mas frías tienden a eficientar la capacidad de convertir sustrato a producto, lo cual se debe a que estas enzimas son mas flexible que las de los organismos de zonas mas calientes (Hochachka y Somero, 2002).

5.5.- Efecto de la temperatura sobre los lípidos corporales

Los lípidos llevan a cabo múltiples funciones. Alguna de ellas, las grasas se utilizan para el almacenamiento de energía, pero una parte importante de los lípidos celulares se emplean para formar membranas lipídicas que son los tabiques que dividen los compartimentos y separan a la célula de sus alrededores (Mathews y Van Holde, 1998). Estas membranas desempeñan una serie de funciones muy importantes entre las cuales se encuentran la bioenergética y termoregulación, así como también sirven como una barrera física y participan en el transporte de iones, agua, etc. (Hochachka y Somero, 2002).

Como se describió anteriormente, en la membrana se llevan a cabo una gran cantidad de procesos bioquímicos que generalmente son altamente sensibles a los cambios de temperatura. Esta sensibilidad se debe al fuerte efecto que tiene la temperatura sobre las propiedades físicas de los lípidos y a los cambios en su composición que permiten su buen funcionamiento a diferentes temperaturas.

Entre los cambios que se llevan a cabo en los lípidos de membrana en función de la temperatura de aclimatación o de adaptación, se encuentran los cambios en el tipo de fosfolípido y su composición y posición en el esqueleto del glicerol. Referente al tipo de

fosfolípido, éstos pueden cambiar su longitud, el contenido y posición de la doble ligadura en la cadena, así como el cambio de configuración entre cis y trans de la doble ligadura (Hochachka y Somero, 2002).

El cambio más comúnmente observado en la adaptación de los lípidos de la membrana con respecto a la temperatura, es la disminución en la saturación de la cadena acilo durante la aclimatación a temperaturas bajas. Hazel (1988) observó que durante una disminución de 20°C en la temperatura de aclimatación de bacterias, plantas y animales, la composición de lípidos saturados disminuyó un 19 %. Por otro lado, Farkas (1979) indicó que existe una relación inversa en el grado de insaturación de los lípidos presentes en ectotermos y la temperatura ambiental, en donde la acumulación de ácidos grasos insaturados a baja temperatura se emplea para mantener las propiedades fisicoquímicas y función de la membrana.

El grado de insaturación y el tipo de doble ligadura modifica la temperatura de fusión de los ácidos grasos. Por ejemplo, la temperatura de fusión del ácido esteárico (18C) es 69°C, mientras que el del ácido eláidico (18C, 1 doble ligadura en trans), 45°C y del oleico (18C, 1 doble ligadura en cis) es de 12°C. Lo anterior muestra el efecto que tiene la adición de una doble ligadura y el tipo (cis o trans) en el punto de fusión de la cadena lipídica (Hochachka y Somero, 2002).

La posición de la doble ligadura también juega un papel importante en la aclimatación de los organismos a diferentes temperaturas. Por ejemplo, durante la aclimatación en frío la introducción de una doble ligadura en la posición 9 del ácido esteárico para formar oleico, confiere un mayor orden a la cadena lipídica (Hochachka y Somero, 2002), lo cual le da mayor flexibilidad al ácido graso a bajas temperaturas.

Otro cambio que se ha observado en la composición lipídica durante la aclimatación térmica, es un cambio en las cantidades relativas de las diferentes clases de lípidos presentes en la membrana. Bajo condiciones de aclimatación en frío los organismos tienden a producir un incremento en la concentración de fosfatidiletanolamina (FE) y una disminución en los niveles de la fosfatidilcolina (FC). Hazel y Carpenter (1985), observaron que la relación de FC/FE presente en las agallas

de truchas (*Oncorhynchus mykiss*) varió cuando organismos aclimatados por separado a 5 y 20°C se transfirieron a su temperatura inversa (20 y 5°C, respectivamente). Bajo estas condiciones la relación FC/FE disminuyó rápidamente en la trucha transferida a 5°C, y aumentó cuando se transfirió a 20°C (Hochachka y Somero, 2002).

5.6.- Efecto de la temperatura sobre el estado reproductivo.

El ciclo reproductivo de los moluscos bivalvos está constituido de una fase gametogénica, desove, desarrollo larval y crecimiento. Este ciclo puede ser anual, semianual o continuo dependiendo de la especie y de la localización. Varios factores ambientales pueden influenciar la reproducción. Entre ellos, la temperatura del agua, disponibilidad de alimento y la influencia de las mareas (Jaramillo *et al.*, 1993); sin embargo, la mayoría de los estudios consideran que la temperatura es el factor ambiental más importante en la regulación de la reproducción (gametogénesis y desove) (Villalejo-Fuerte *et al.*, 2002)

Los moluscos bivalvos muestran ciclos de almacenamiento y utilización de energía los cuales están muy relacionados con el ciclo gametogénico. La mayoría de las especies son capaces de almacenar reservas de nutrientes en su tejido corporal durante los periodos de alta producción de alimento, los cuales son subsecuentemente movilizados en los periodos de poca producción de alimento, disminuyendo la tasa de alimentación y/o demanda de energía (Saucedo *et al.*, 2002).

La temperatura del agua regula el desarrollo gonadal de la almeja *A. tehuelchus* y de *A. ventricosus*. En el caso de *A. Tehuelchus* los desoves coinciden con rangos de temperatura entre los 14 y 17°C (Román *et al.*, 2001). En el caso de la especie *nodipecten nodosus* de Brasil, las oscilaciones de temperatura van acompañadas por oscilaciones posteriores del índice de condición gonadal por lo que es posible que la temperatura influya en los procesos de liberación de gametos (Manzoni *et al.*, 1996). Bajo condiciones de laboratorio, Rupp *et al.* (1997), sugieren que la temperatura de 17.5°C no solo resulta en un crecimiento de la gónada sino que también incrementa la madurez sexual y sincroniza el comportamiento reproductivo, mientras que a 25°C

únicamente se obtiene crecimiento gonadal. En Perú, Wolff (1987), observó que el desove de *Argopecten purpuratus* se intensificó en altas temperaturas, 6-8°C por arriba de lo normal. Este mismo fenómeno lo reportaron Illanes *et al.* (1985), en la Bahía de Tongoy, Chile, en donde las altas temperaturas generadas por el Niño beneficiaron la reproducción, produciendo un estímulo de evacuación total de gametos.

5.7.-Efecto de la temperatura sobre la calidad de los productos marinos.

Las características de calidad de los productos marinos son dependientes de las condiciones de procesamiento. Sin embargo, también dependen de las condiciones naturales, del tipo de alimento, de la especie, y del tamaño, así como de la madurez sexual, condición fisiológica, temporada de captura y temperatura ambiental (Orban *et al.*; 2002).

Como se describió anteriormente, la temperatura ambiental influye el estado reproductivo (Martínez y Pérez, 2003; Villalejo-Fuerte *et al.*, 2002) y la condición fisiológica (Fuselli *et al.*, 1996) de los organismos marinos, lo cual genera variaciones en el contenido bioquímico del músculo (Racotta, 1998). Lowe *et al.* (1993), indicaron que la condición fisiológica influye los cambios posmortem del músculo, haciendo hincapié en que éste último no ha recibido la atención que merece.

El principal efecto de la temperatura en los organismos, consiste en la movilización de las reservas de glucógeno. Si la concentración de este carbohidrato ramificado disminuye, también se reduce la acidificación posmortem trayendo consigo un músculo de menor calidad (Beltrán *et al.*, 1997) y vida de anaquel. Esto último se debe a que a pH musculares altos, disminuye el sabor y se favorecen las reacciones de maillard y el crecimiento bacteriano, lo cual reduce la calidad y la vida de anaquel. En el caso de músculo de res, pHs altos generan carnes oscuras las cuales son rechazadas por los consumidores.

En la literatura no existen estudios referentes al efecto que tiene la temperatura sobre la calidad y vida de anaquel, sino más bien se ha evaluado el efecto estacional sobre ésta (Fuselli *et al.*, 1996; Ingólfssdóttir *et al.*, 1998; Bragadóttir *et al.*, 2002; Hatac

et al., 1995). Es bien conocido que el músculo está sujeto a variaciones estacionales, las cuales modifican el pH y el contenido de grasa, proteína y agua (Ingólfssdóttir *et al.*, 1998). En invierno, Urrutia *et al.* (2001) encontraron en el músculo del bivalvo *Tagelus dombeii* (Lamarck, 1818), un alto contenido de proteína y carbohidratos, mientras que en la primavera Ingólfssdóttir *et al.* (1998), reportaron en músculo de bacalao un alto contenido de humedad. Estas variaciones en la composición química tienen gran impacto en el valor nutricional, las propiedades funcionales y en la estabilidad de los productos durante su almacenamiento.

En un estudio realizado por Fuselli *et al.* (1996), donde evaluaron el efecto de la estación sobre la calidad y la vida de anaquel de la merluza argentina (*Merluccius hubbsi*), encontraron que los organismos capturados en verano (temperatura alta) tienen una menor calidad y la vida de anaquel que los organismos capturados en invierno (temperatura baja). Finalmente, en un estudio realizado por Hatae *et al.* (1995), se indicó que sensorialmente la mejor época del año para el consumo de abulón es la de verano y la peor la de invierno. Generalmente, en la mayoría de las especies, esto coincide con el alto contenido lipídico.

HIPÓTESIS

Las variaciones en la temperatura del agua de mar afectan al índice de rendimiento muscular, contenido de glucógeno y carga energética adenilada de el músculo abductor de la almeja mano de león, modificando su bioquímica posmortem calidad y vida de anaquel.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que ejerce la temperatura estable y oscilante del agua de mar a tres diferentes niveles, sobre algunos indicadores fisiológicos, la bioquímica posmortem y la calidad y vida de anaquel del músculo abductor en la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus*.

Objetivos específicos

1.-Evaluar el método de transporte de la almeja mano de león mediante el monitoreo de la supervivencia y de las variaciones en el índice de rendimiento muscular, contenido de glucógeno y carga energética adenilada.

2.- Comparar el efecto de la temperatura estable vs. el de la temperatura oscilante, sobre el índice de rendimiento muscular, contenido de glucógeno y carga energética adenilada, así como en la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor de la almeja mano de león *N. subnodosus*.

3.- Establecer la relación entre los indicadores fisiológicos propuestos, con la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor de la almeja mano de león.

4.-Identificar el rango de temperatura óptima para la cosecha de almeja mano de león, en función de las características fisiológicas óptimas que generen un producto de mejor calidad y vida de anaquel.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- REACTIVOS.

Los reactivos utilizados fueron de las siguientes casas comerciales: de Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Química, Toluca México) se obtuvo el cloruro de amonio (NH_4Cl), la trimetilamina hidrociorada, metanol, acetato de sodio, sulfato de cobre, sulfato de potasio, 2-mercaptoetanol, brij 35, O-phthaldialdehído (OPA), éter de petróleo, n-propilamina, ácido clorhídrico (HCl) y glucosa. Así como también se obtuvieron la adenosina-5'trifosfato (ATP), adenosina-5'difosfato (ADP), adenosina-5' monofosfato (AMP), adenosina (ADO), inosina-5'monofosfato (IMP), hipoxantina, inosina, antrona, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, glutamina, prolina, glicina, alanina, valina, cisteína, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, alanina, triptofano, lisina, histidina, arginina, hidroxiprolina, ácido cítrico, tolueno y tetrahidrofurano.

De Merk (Merek, S.A. México) se adquirió el ácido sulfúrico (H_2SO_4), ácido perclórico, ácido tricloroacético, hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), ácido bórico, sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), fosfato dipotásico (K_2HPO_4) y ortofosfato dihidrogenado de potasio (KH_2PO_4). Para todas las soluciones se utilizó agua grado HPLC producida dentro de las instalaciones del CIAD, AC.

2.- MANEJO DE ORGANISMOS Y MUESTRAS.

2.1.- Recolección y transporte de organismos.

Se utilizaron organismos maduros de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) con una altura de 6 - 7 cm. Los organismos se adquirieron comercialmente en septiembre del 2002 directamente del sitio de cultivo de la Empresa Acuagrón S. de R.L., localizado en la Laguna de Guerrero Negro (B.C.S.). Los organismos se

recolectaron por buceo de canastas suspendidas en el sitio de cultivo desde las 10:00 AM hasta las 6:30 PM. La profundidad en el sitio de recolección de los organismos y la temperatura superficial del agua al momento de la recolección fue de 9 m y 23° C (10 A.M.).

Los organismos recolectados se tallaron superficialmente con cepillos de cerda de plástico con la finalidad de remover el material orgánico adherido a la concha. Este lavado se realizó dentro de la laguna con agua de mar. Una vez lavados se acomodaron 100 organismos en una canasta, formando columnas de 7 canastas amarradas entre sí. Cada columna de canastas se colocó de nuevo en el mar, donde permanecieron toda la noche (12 h) con la finalidad de que los organismos se recuperaran del estrés al que fueron sometidos.

Al día siguiente las columnas con organismos se removieron del agua. Inmediatamente, se congelaron 20 organismos vivos en nitrógeno líquido (N₂), los cuales se utilizaron para determinar las biometrías, condición fisiológica y calidad de las almejas al inicio del experimento. Estas almejas se transportaron a La Paz, B.C.S. en el interior del tanque con N₂ donde se realizó la congelación.

Los organismos restantes se empacaron en el lugar de cultivo (Laguna de Guerrero Negro), para su transporte a la ciudad de La Paz, B.C.S. Para ello se utilizó la metodología publicada por Maeda-Martínez *et al.* (2000), específica para el transporte de semillas de moluscos bivalvos, la cual se llevo a cabo a mayor escala (figura 7). Para el transporte se elaboraron 2 bloques tipo sandwich; uno de 7 camas y el otro de 2. Para desarrollar cada bloque, inicialmente se colocó una cama base de madera de 100 x 110 cm, sobre la cual se colocaron camas alternas de un material esponjoso y organismos. Cada cama de organismos se humedeció con agua de mar para disminuir el estrés por desecación. El material esponjoso utilizado estuvo recubierto por el lado inferior de plástico, lo cual aumenta la capacidad para retener mas la humedad que el velero empleado en la metodología original descrita por Maeda-Martínez *et al.* (2000).

Por cada cama se colocaron ordenadamente cerca de 290 individuos (almejas), en donde los organismos situados en los extremos (orilla) de la cama, se acomodaron con la

parte posterior de la concha hacia afuera. Seguidamente, sobre la cama superior, se colocó una base de madera con una serie de perforaciones de 0.5 cm de diámetro, las cuales, posteriormente facilitaron el paso del agua de mar adicionada desde la superficie al interior del bloque. Finalmente, cada bloque se sujetó fuertemente con cuerda. El tiempo de empaque de ambos bloques fue de aproximadamente 1.5 h.

Una vez desarrollados los bloques, estos se transportaron en lancha a la orilla de la playa, en donde se introdujeron a una hielera hermética de 1 m³ aproximadamente (1 m por cada lado, aprox.). Para controlar y mantener la temperatura interna de la hielera a aproximadamente 19° C, sobre los bloques de organismos se colocaron 4 bolsas de hielo. Lo anterior tuvo la finalidad de reducir el metabolismo de los organismos. Además a la hielera se le conectó un termómetro digital, un oxímetro y un sistema alimentador de oxígeno. Finalmente, la hielera se cerró herméticamente.

El tiempo de traslado de los organismos desde Guerrero Negro La Paz, BCS, fue de 11 h aproximadamente. Durante el trayecto, cada media hora se suministró oxígeno al interior de la hielera hasta un nivel de 54-60 ppm y revisar la temperatura del interior de la hielera (19°C). A la mitad del trayecto (5 horas de transporte aproximadamente), se abrió la hielera para adicionar agua de mar en la superficie de los bloques y así humedecer los organismos. Los orificios hechos en la base superior de madera, permitieron el paso del agua de mar al interior de los bloques.

Al llegar a La Paz, B.C.S, los organismos se trasladaron a las instalaciones de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS), Unidad Pichilingue, sitio donde se realizó el estudio. En este lugar inmediatamente después del transporte, se congelaron 20 organismos enteros en nitrógeno líquido, los cuales se utilizaron para evaluar el efecto del transporte y determinar las biometrías, condición fisiológica y calidad de las almejas después del transporte.

2.2.- Registro y selección de las temperaturas a simular.

Las fluctuaciones de temperatura en el agua de mar de los sitios potenciales para el cultivo (Rancho Bueno y Laguna Manuela) de la almeja mano de León en la costa

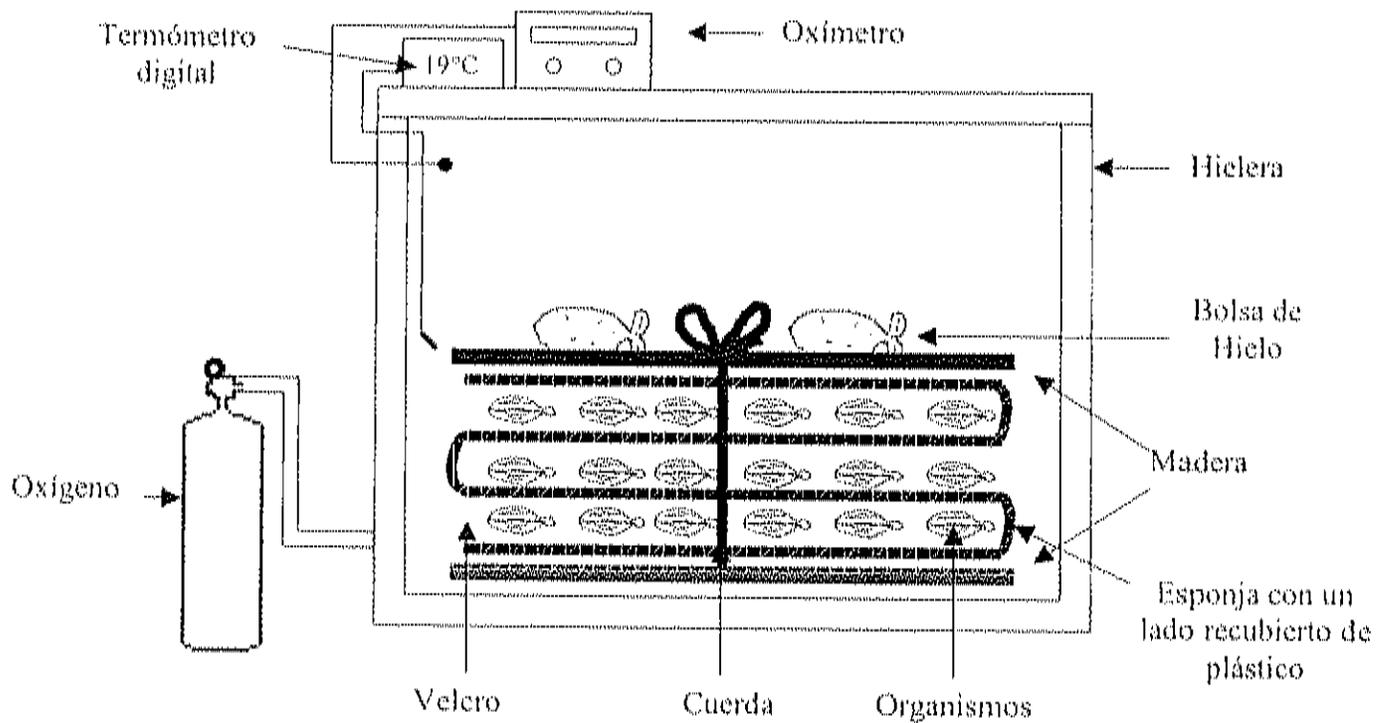


Figura 7.- Diagrama empleado para el empaque y transporte de organismos adultos de almeja mano de león desde su sitio de cultivo natural en Guerrero Negro hasta los laboratorios de la Universidad Autónoma de Baja California Sur, unidad Pichilingue, BCS. Basado en Maeda-Martínez *et al.* (2000).

oeste de la península de Baja California, México, se obtuvo con registradores de temperaturas Onset Optic Slow Away Temp. Modelo WRA32-5+37 (Onset Computer Corporation, Bourne, MA, USA).

En función de las temperaturas registradas en los sitios potenciales de cultivo, y con la finalidad de evaluar el rango de temperatura obtenido, en el presente estudio se evaluó el efecto de tres diferentes niveles de temperatura (alta, media y baja) que se presentaron en estos sitios, sobre algunos indicadores fisiológicos, bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor de almeja mano de león.

La selección de los tratamientos de temperatura alta, baja e intermedia se realizó en función de la temperatura registrada por los termógrafos en los sitios potenciales de cultivo y de las condiciones experimentales obtenidas. La temperatura máxima promedio registrada durante el año fue de 32°C; sin embargo, dado que este nivel de temperatura podría ser mortal para la almeja mano de león, la temperatura máxima experimental se estableció en 28°C. En el caso de la temperatura mínima registrada fue de 15°C, sin embargo, a nivel laboratorio la temperatura mínima generada fue de 21°C. Por consiguiente, esta última fue la seleccionada para el experimento. Finalmente, se fijó una temperatura intermedia entre la temperatura mínima y máxima que fue de 24°C.

Cada uno de los diferentes niveles de temperatura (21, 24 y 28°C), se aplicaron en forma oscilante y constante. En el caso de las temperaturas oscilantes, éstas se oscilaron $\pm 2^\circ\text{C}$; éste tipo de simulación de temperatura representa el comportamiento normal del medio natural; sin embargo, la amplitud de la oscilación es menor a la real que fue de $\pm 4^\circ\text{C}$, lo cual se realizó con la finalidad de no traslapar efectos entre temperaturas. En el caso de las temperaturas constantes, estas se simularon sin variación y representan la línea base para evaluar el efecto de la temperatura oscilante.

2.3.- Condiciones de aclimatación de los organismos.

La aclimatación de los organismos se llevó a cabo en las instalaciones de la UABCS campus pichilingue. Para ello, los organismos se dividieron en 12 lotes de 220 almejas cada uno. Cada lote se introdujo inmediatamente a una tina de fibra de vidrio de

150 L, la cual contenía agua de mar filtrada a 23°C, aireación constante, un termómetro digital para monitorear la temperatura y una bomba sumergible para homogeneizar el alimento y la temperatura del agua. A cada tina se le realizaron 3 recambios de agua de mar (flujo de 0.3 L/min) por día conteniendo 50,000 células/mL de una mezcla de microalgas de las especies *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis*.

Seis de las 12 tinas totales se introdujeron a un cuarto frío, las seis restantes a un cuarto a temperatura ambiente. La temperatura del agua de mar de las tinas del cuarto frío se controló por medio de un aire acondicionado y calentadores de inmersión calibrados, mientras que la temperatura del segundo cuarto se reguló con enfriadores y calentadores sumergidos, los cuales se controlaron por computadora utilizando el programa SITMA desarrollado por personal del CIBNOR S.C. (figura 8 y 9). Bajo estas condiciones, las tinas de ambos cuartos se mantuvieron a 23° C durante 14 días, periodo en el cual se removieron los organismos muertos y aquellos que presentaron signos de estrés agudo (manto retraído). Posteriormente y dado que la cantidad de los organismos por tina varió como resultado de la muerte de los organismos, se procedió a igualar la cantidad de organismos por tina. Finalmente, cada tina contuvo 160 organismos.

Después de igualar la cantidad de organismos por tina, las almejas permanecieron en el agua a la misma temperatura (23° C) durante una semana más. Lo anterior permitió que los organismos se recuperaran del estrés generado por el manejo, ya que algunos de ellos desovaron. En las tinas en donde se presentó el desove se suprimió inmediatamente el alimento, se vació por completo el agua y se adicionó de nuevo agua de mar filtrada, manteniendo un alto flujo durante media hora. Esto con la finalidad de remover rápidamente los gametos de la tina. La adición de agua de mar filtrada con flujo fuerte incrementó la temperatura del agua de la tina, por lo que el enfriador controlado por computadora y la refrigeración no fue suficiente para enfriarla. Debido a lo anterior se procedió a disminuirla adicionando a las tinas bloques de hielo embolsado.

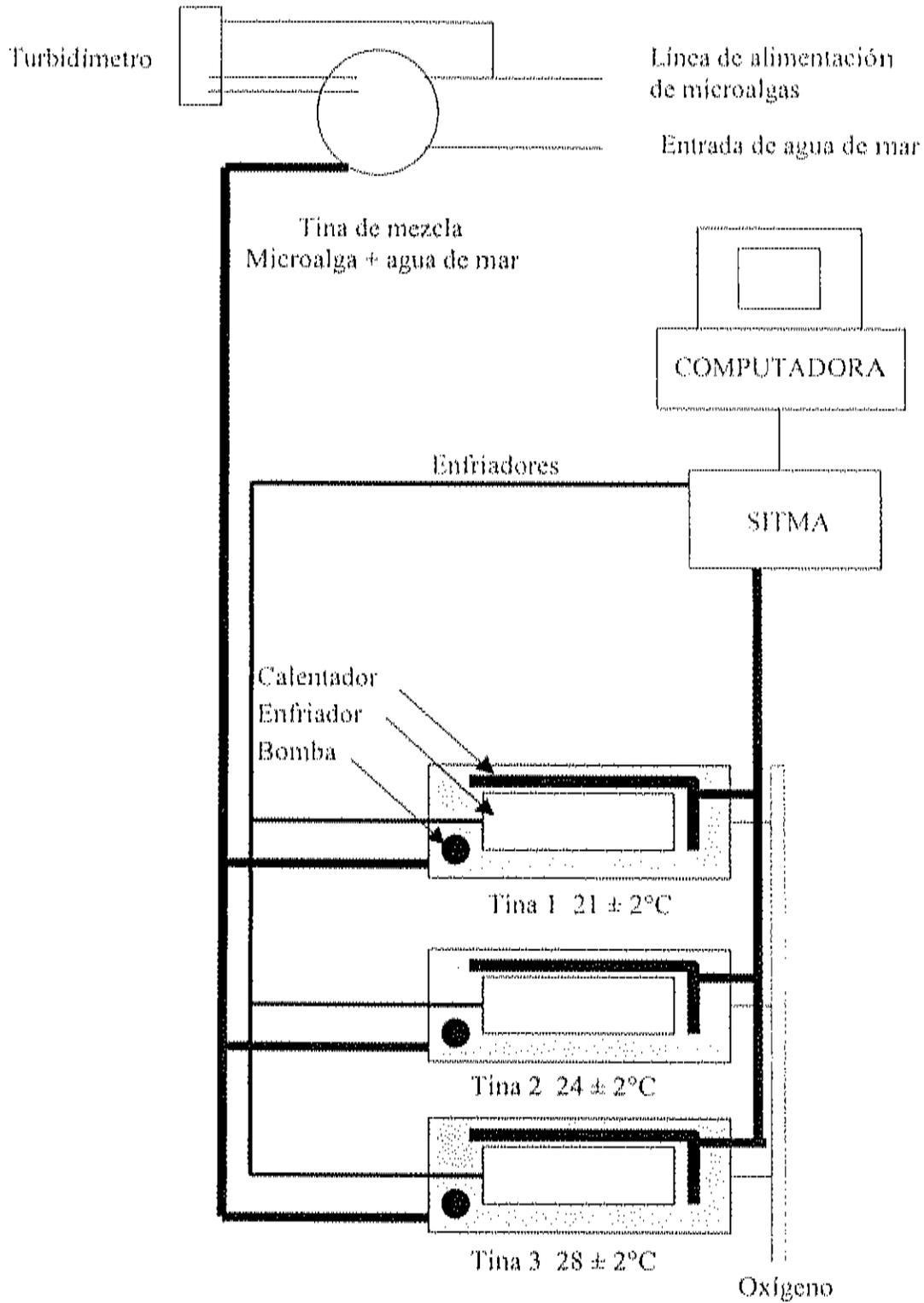


Figura 8.- Diagrama de flujo para la aclimatación de los organismos a las temperaturas oscilantes.

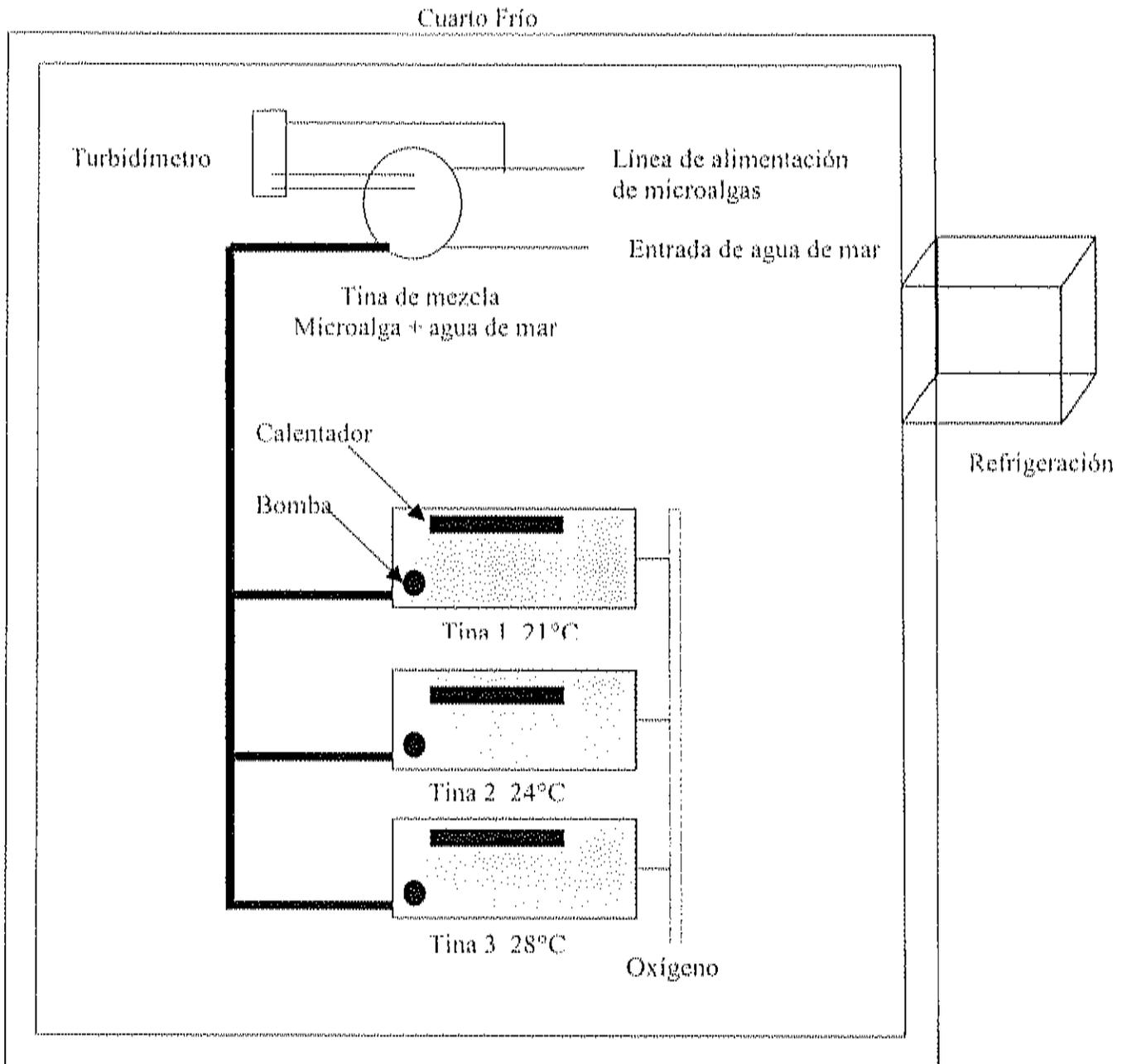


Figura 9.- Diagrama de flujo para la aclimatación de los organismos a temperatura constante.

Es importante destacar que el experimento estuvo siempre supervisado por personal profesional que estuvo revisando constantemente los organismos de las tinas. Lo anterior fue con la finalidad de detectar y remover los organismos muertos y estresados, así como de hacer que todo el equipo necesario para el experimento funcione eficazmente y que los tratamientos de temperatura aplicados se lleven a cabo a la perfección. De igual forma es necesario hacer hincapié que semanalmente, todo el sistema (turbidímetro, tina de mezclado, tinas de los organismos, calentadores, enfriadores y mangueras) se lavó perfectamente.

2.4.- Aplicación de los tratamientos experimentales.

Al inicio del experimento y durante la aclimatación de los organismos a 23°C, se utilizaron dos tinas por temperatura y tratamiento (constante u oscilante), sin embargo, la reducción en el número de organismos por tina, lo cual fue producto de la mortandad natural, permitió reunir las dos tinas en una. Es decir de las dos tinas iniciales de donde se aclimataron los organismos a 28°C constantes se juntaron en una.

Seguidamente, después de mantener todos los organismos en aclimatación en agua de mar a 23°C, se procedió a homogeneizar el número de almejas por tina, para posteriormente incrementar o disminuir la temperatura del agua de las tinas de ambos cuartos 1°C por día según el tratamiento (21, 24 y 28°C). Para ello, los calentadores de las tinas del cuarto frío se recalibraron diariamente a la temperatura deseada, mientras que en el caso de las tinas del cuarto a temperatura ambiente (SITMA), se generó un archivo donde se especificó el incremento o decremento gradual de la temperatura y sus tiempos, en donde con ayuda del programa computacional SITMA se llevo a cabo la simulación de las temperaturas.

Posteriormente, se aplicaron los tratamientos de temperatura que fueron 21, 24 y 28°C, tanto constante como oscilante. Cada uno de estos tratamientos se aplicó durante 16 días, periodo en el cual se observó y determinó la aclimatación de los organismos en función de la tasa respiratoria, balance energético y excreción de amoníaco. Esta etapa del estudio fue realizada por investigadores del CIBNOR y no

forma parte de la estructura analítica de ésta tesis, por lo cual no se describen los procedimientos empleados para su determinación, así como los resultados generados.

2.5.- Sacrificio de los organismos, muestreo y determinaciones.

Posterior a la aclimatación de los organismos y aplicación de los tratamientos anteriormente descritos, se procedió a congelar en nitrógeno líquido 6 organismos vivos por cada tratamiento de temperatura. A estos organismos se les determinó la biometría que consistió en medir su peso, alto, ancho y grosor, así como el peso de los músculos húmedos, músculo abductor (callo) y gónada, los cuales se separaron manualmente en estado congelado.

De igual forma, estos organismos se utilizaron para evaluar algunos indicadores del estado fisiológico final de los organismos al momento de la muerte, lo cual se llevo a cabo mediante la determinación de la carga energética adenilada, el índice de rendimiento muscular (IRM) y el contenido de glucógeno. A estos organismos también se les separó la gónada, la cual se depositó en una solución de formaldehído neutro al 10 % para determinar el grado de madurez de los organismos.

El resto de los organismos de cada tratamiento se desconchó manualmente por personal especializado en esta actividad. Seguidamente, los músculos abductores de cada tratamiento se enjuagaron rápidamente con agua fría, se escurrieron y se empacaron en bolsas de polietileno. Posteriormente se almacenaron en hielo dentro de una hielera de poliestireno para su traslado por vía aérea a el laboratorio de productos pesqueros del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD, AC) en Hermosillo, Sonora, México. Una vez en el CIAD, AC, los músculos abductores (callos) de cada uno de los tratamientos de temperatura se sometieron a un periodo de almacenamiento en hielo (0°C) por 20 días. Durante este periodo se monitorearon los principales

cambios en la bioquímica posmortem, calidad física y química, así como los principales metabolitos relacionados con el sabor.

De las determinaciones anteriormente descritas, las de bioquímica posmortem y color se determinaron al día 0, 3, 6, 9, 12, 15 y 20 de almacenamiento en hielo. Las determinaciones de textura (corte), CRA, perfil de aminoácidos libres y monosacáridos libre se realizaron al día 0, 6, 12 y 20 de almacenamiento, mientras que la calorimetría diferencial de barrido se realizó al día 0, 6, 12 y 19 de almacenamiento en hielo, y las determinaciones de contenido de colágeno y análisis proximal solo al inicio del experimento.

En el caso de las determinaciones de CRA, textura, color, pH y calorimetría diferencial de barrido, las mediciones se realizaron el día programado, mientras que para el resto de las determinaciones el callo se congeló en nitrógeno líquido para después almacenarse a -86°C hasta su análisis. Cada determinación por tratamiento tuvo 6 repeticiones (cada repetición por organismo) por día de muestreo.

Para obtener la información de las determinaciones bioquímicas y compuestos relacionados con el sabor al tiempo 0, se utilizaron los callos congelados en nitrógeno líquido de los organismos aclimatados, mientras que para las determinaciones físicas se utilizaron organismos con 6 h posmortem. Esto último se debió a la indisponibilidad del equipo en y durante el desconche, ya que los organismos se sacrificaron en las instalaciones de la UABCS, campus Pichilingue. El tiempo de 6 h representó el tiempo mínimo requerido para trasladar los callos desde este lugar al Laboratorio de Productos Pesqueros en Hermosillo, Sonora, México.

3.- DETERMINACIONES ANALÍTICAS.

3.1.- Determinaciones para evaluar la condición fisiológica.

3.1.1. Índice de rendimiento muscular.

Para la determinación del índice de rendimiento muscular (IRM) de la almeja mano de león se utilizó el procedimiento descrito por Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez (1996). El procedimiento consistió en desconchar, remover y pesar los tejidos húmedos, para posteriormente, extraer y pesar el músculo abductor (callo).

El IRM se expresó en porcentaje a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{IRM} = \frac{\text{Peso del músculo abductor (g)}}{\text{Peso de los tejidos húmedos}} \times 100$$

3.1.2. Carga energética adenilada (CEA).

La determinación de la CEA del músculo abductor de la almeja mano de león se llevo a cabo de acuerdo a la ecuación descrita por Maguire *et al.* (2002):

$$\text{CEA} = \frac{[\text{ATP}] + 1/2[\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

Donde:

ATP = Adenosina 5' trifosfato

ADP = Adenosina 5' difosfato

AMP = Adenosina 5' monofosfato

La extracción, identificación y cuantificación de ATP, ADP y AMP se realizó según la metodología descrita por Ryder (1985), como se describe mas adelante (ver determinación de índice K).

3.1.3. Contenido de glucógeno.

La cuantificación del contenido de glucógeno en el músculo abductor se llevo a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Racotta *et al.* (1998). Esta metodología consistió en homogeneizar en un homogenizador Ultra-turrax T25 Basic (IKA Works Inc. Wilminaton NC), 1 g de músculo abductor con 5 mL de ácido tricloroacético (TCA) frío al 10 % durante 1 min a una velocidad de 22,000 RPM. El homogenado se centrifugó en una centrífuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc. Palo Alto, CA), a 3000 x g a -5°C durante 15 min. Una alícuota de 0.1 mL del sobrenadante se colocó en un vial de 1.5 mL al cual se le adicionó 1 mL de etanol frío al 95% para precipitar el glucógeno. Posteriormente, el vial se agitó en un vortex, para después centrifugarse de nuevo bajo las condiciones anteriormente descritas. Finalmente, el sobrenadante se decantó y los viales con las bolitas de glucógeno se secaron en vacío a 75°C durante 15 min.

El precipitado (glucógeno) se resuspendió en 0.1 mL de agua destilada con agitación en un vortex. Posteriormente, se adicionó 1mL del reactivo de antrona (0.1% de reactivo disuelto en ácido sulfúrico al 76%) para después incubarse durante 5 min a 90°C en baño maría. Inmediatamente después al calentamiento, los viales se enfriaron en agua fría (agua + hielo) para detener la reacción. Se midió absorbancia a 620 nm contra un blanco en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 3B (The Perkin Elmer Corporation, Connecticut, USA). El glucógeno se cuantificó como unidades glicosil usando una solución de glucosa como estándar (0.0156 – 4 mg de glucosa/mL). Los resultados se reportaron como mg de glucógeno por g de tejido.

3.1.4. Índice gonadal.

Para la determinación del índice gonádico de la almeja mano de león se utilizó el procedimiento descrito por Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez (1996). El cual se estimó como el porcentaje de la relación entre el peso de la gónada con respecto al peso húmedo de las partes blandas.

3.2.- Determinaciones para evaluar la bioquímica posmortem.

3.2.1. Cuantificación del ATP y sus productos de degradación.

La identificación y cuantificación de los nucleótidos, nucleósidos y bases nitrogenadas (ATP, ADP, AMP, adenosina, IMP, inosina e hipoxantina) se llevo a cabo por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) según la metodología descrita por Ryder (1985), en un extracto neutralizado de músculo abductor de almeja mano de león elaborado con ácido perclórico. El extracto se elaboró homogeneizando 1g de músculo con 5 mL de ácido perclórico 0.6 M a 0°C, con un homogeneizador Ultra-turrax T25 Basic (IKA Woeks Inc., Wilminaton, NC) durante 1 min. El homogenado se centrifugó a 3000 x g a 0°C en una centrifuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc. Palo Alto, CA), por un tiempo de 10 min. Una alícuota de 2 mL del sobrenadante se neutralizó a un pH de 6.5-6.8 con KOH 1M, dejándose reposar por 30 min a 0°C. Posteriormente, el perclorato de potasio se removió por filtración con papel Whatman No. 4. El sobrenadante se diluyó a 5 mL con agua destilada y se almacenó a -86°C hasta su utilización.

Para la separación y cuantificación de los compuestos por HPLC se inyectaron 20 µL del sobrenadante neutralizado y diluido a un cromatógrafo Hewlett Packard Modelo GmbH (Hewlett-Packard Co. Waldbrom, Alemania), utilizando una columna Beckman de fase reversa C18 Ultrasphere ODS de 5 µM y de 4.6 mm de diámetro interno x 250 mm de largo (Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA). La fase móvil consistió de un buffer de fosfatos compuesto de 0.04 M de KH_2PO_4 y 0.06 M de K_2HPO_4 . El flujo utilizado fue de 2 mL/min. Los nucleótidos y nucleósidos se detectaron a 254 nm con un detector ultravioleta Hewlett Packard 1100 GmbH. El equipo se calibró diariamente inyectando 20 µL de una solución 0.166 mM de cada compuesto de referencia.

3.2.2. Índice K.

A partir de la cuantificación del ATP, ADP, AMP, adenosina (ADO), inosina (HxR) e hipoxantina (Hx) en el músculo abductor, se procedió a calcular el índice K a partir de ecuación descrita por Sagedhal *et al.* (1997), presentada a continuación:

$$\% \text{ de Índice K} = \frac{([HxR] + [Hx])}{([ATP] + [ADP] + [AMP] + [ADO] + [IMP] + [HxR] + [Hx])} \times 100$$

en donde

ATP = Adenosina 5' trifosfato

ADP = Adenosina 5' difosfato

AMP = Adenosina 5' monofosfato

IMP = Inosina 5' monofosfato

HxR = Inosina

Hx = Hipoxantina

ADO = Adenosina

3.2.3. pH.

La determinación de pH se llevo a cabo utilizando un potenciómetro de punta Hanna HI 90140 (Hanna Instruments, Inc. Woonsocket, RI), introduciendo el electrodo en la parte interna del callo. El equipo se calibró diariamente con soluciones estándares de pH.

3.2. 4. Trimetilamina (TMA).

La determinación de TMA-N se llevó a cabo de acuerdo a la metodología reportada por Veciana-Nogues *et al.* (1996), en la cual se modificaron los pesos de la muestra y los volúmenes de extracción. En un tubo de ensaye se homogeneizaron 1 g de músculo con 5 mL de ácido perclórico 0.6N, utilizando un homogeneizador Ultra-turrax T25 Basic (IKA Works Inc. Wilminaton NC). El homogenado se centrifugó en una centrífuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc. Palo Alto, CA), a 3000 x g durante 10 min a 0°C. Una alícuota de 0.5 mL del extracto de las muestras o estándar se colocó en un tubo de ensaye con tapón de rosca, al cual se le adició 0.1 mL del estándar interno de n-propilamina (10 mg de n-propilamina en 100

ml. de ácido perclórico 0.6 M), 0.5 mL de tolueno y 0.5 mL de KOH al 65% (w/w). Posteriormente, los tubos se agitaron 15 min en un baño maria con agitación. Finalmente, se tomaron alícuotas de la capa de tolueno, las cuales se transfirieron a viales cerrados para su posterior inyección (1 μ L de cada alícuota) a un cromatógrafo de gases (CG).

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases 6890N Network GC System (Agilent Technologies Inc, USA) equipado con un inyector modelo 7683 G2613A (Agilent Technologies Inc. USA), una columna de vidrio HP-20M (30m x 0.535mm x 1.33 μ m) y un detector de ionización de flama (FID). Previo a los análisis, la columna se pre-acondicionó toda la noche a 220°C. Las áreas y tiempos de retención de los picos se registraron en una computadora utilizando el programa CHEM STATION (Agilent Technologies Inc. USA). Las condiciones cromatográficas y el gradiente de temperatura empleado se muestra en la tabla 2. Para realizar los cálculos, se preparó una curva estándar en el rango de 0.20- 22.00 mg de trimetilamina.

3.3.- Determinaciones para evaluar la calidad física.

3.3.1. Textura.

La evaluación de textura del músculo abductor se llevo a cabo utilizando una máquina universal de evaluación de textura Instrón Modelo 1130 (Instron Corp., Canton, MA). Se empleó la prueba de corte Warner-Bratzler para determinar el esfuerzo máximo (kg) requerido para el corte de las muestras. El equipo se calibró previo a la medición del esfuerzo al corte. Se utilizó una celda de compresión de 50 kg con una velocidad de cabezal de 20 cm/min. Para cada determinación se utilizaron secciones de geometría uniforme del músculo estriado del callo (1 cm de ancho x 1 cm de grosor x 2 cm de largo), las cuales se colocaron perpendicularmente al sentido de la ranura de corte.

Tabla 2.- Condiciones de trabajo para la separación y cuantificación de la TMA por cromatografía de gases.

Flujo del gas transportador (columna)	Helio, 23mL/min
Temperatura del inyector	190°C
Temperatura del detector (FID)	190°C
Temperatura del horno	
Temperatura 1 (tiempo)	75°C (5min)
Gradiente (75-150°C)	2.5 min
Temperatura 2 (tiempo)	150°C (10 min)
Flujo de Hidrógeno en el FID	30 ml/min
Flujo de aire en el FID	430 ml/min

FID = Detector por ionización con flama.

3.3.2. Capacidad de Retención de Agua (CRA).

Para determinar la CRA del músculo se utilizó la metodología descrita por Cheng *et al.* (1979). Esta metodología consistió en centrifugar 2-5 g de músculo abductor en tubos para centrifuga de 50 mL en una centrífuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc., Palo Alto, CA) a 28,000 x g a 2° C por 30 min. El líquido liberado después de la centrifugación se eliminó por decantación y la superficie del músculo se seco con papel absorbente. El peso perdido se expresó como porcentaje de pérdida de la capacidad de retención de agua.

Para calcular el porcentaje de CRA se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ CRA} = 100 - \left[\frac{(P_i - P_f)}{P_i} \times 100 \right]$$

donde:

P_i= peso inicial

P_f= Peso final después de decantar el agua del tubo y secar la superficie del músculo.

3.3.3. Determinación de color.

La evaluación de color se llevo a cabo por colorimetría de triestímulo utilizando un colorímetro Minolta CR-300 (Minolta Co., New York, NY). El colorímetro se ajustó en su modo de reflectancia con una abertura en el puerto de lectura de 0.5 cm. Se obtuvieron los parámetros de color "L" (luminosidad), "a*" (matiz rojo-verde) y "b*" (matiz amarillo-azul).

Para realizar la determinación de los parámetros de color, el colorímetro se calibró siguiendo las indicaciones del fabricante.

3.3.4. Calorimetría diferencial de barrido.

La determinación de las transiciones térmicas de las proteínas del músculo abductor se llevó a cabo en un calorímetro diferencial de barrido Perkin Elmer DSC-7

(Perkin Elmer Instruments, CN, USA). Previo al análisis de las muestras, el equipo se calibró con dos cápsulas de iridio. 20-30mg de músculo abductor se colocaron en una cápsula calorimétrica de acero inoxidable, asegurándose un buen contacto entre la muestra y el fondo de la cápsula. La cápsula se selló herméticamente y se introdujo al calorímetro. El barrido de temperatura fue de los 26 a 120° C, incrementando la temperatura 10° C por min. Durante la corrida se utilizó una cápsula de iridio como referencia. La integración de los picos se realizó con el mismo calorímetro y se obtuvieron los cambios de entalpía y temperatura de transición de la miosina y actina.

3.4.- Determinaciones para evaluar la calidad química.

3.4.1. Análisis proximal.

La composición proximal del músculo abductor incluyó humedad, proteínas, nitrógeno no proteico (NNP), lípidos y cenizas. Las determinaciones de humedad, proteína y cenizas, se realizaron según las metodologías descritas en el manual de la AOAC (1993); las determinación de NNP y lípidos se llevaron a cabo de acuerdo a las metodologías reportadas por Woyewoda *et al.* (1986).

3.4.2. Determinación de colágeno

Para llevar a cabo la cuantificación de colágeno en el músculo abductor de almeja mano de león se utilizó la metodología descrita por Vázquez-Ortiz *et al.* (1995). Esta metodología se basa en la cuantificación de hidroxiprolina en músculo, la cual mediante un factor de conversión se extrapola a colágeno.

La técnica consistió en pesar aproximadamente 3 mg de músculo abductor seco y molido dentro de un tubo para hidrólisis (Pierce Biotechnology Inc. Illinois USA). Posteriormente, se adicionó en partes iguales a la cantidad de muestra pesada, el antioxidante ácido tioglicólico (Sigma Chemical Co.). A estos tubos se les adicionó 2.0 ml de HCl 6N, se les aplicó vacío y se cerraron. Seguidamente, los tubos se calentaron

durante 6 h a 150°C en un sistema de reacción (Pierce Biotechnology Inc. Illinois USA), para posteriormente enfriarse y evaporarse bajo vacío a 65°C en un rotavapor Buchi (Brinkmannen RE 121). El precipitado se resuspendió en aproximadamente 5 ml de agua grado HPLC y se realizó una segunda evaporación con la finalidad de eliminar el remanente de ácido presente. Finalmente, el precipitado se resuspendió en 1 mL de Buffer de citrato de sodio 0.2M (pH 2.2) (Pierce Biotechnology Inc. Illinois USA) y se almacenó en viales de 1.5 mL a temperatura ambiente.

La concentración de hidroxiprolina se cuantificó por HPLC. Una alícuota de 125 µL del sobrenadante hidrolizado se transfirió a un vial de vidrio al cual se le adicionó 0.5 mL de buffer de borato 0.4M pH 10.4 (Pierce Biotechnology Inc. Illinois USA). Una alícuota de 250 µL de ésta solución se transfirió a una jeringa provista con filtro 0.22 micras, a la cual se le adicionó 250 µL de una solución de 2.0 mg/mL de NBD-Cl (7-Cloro-4-Nitrobenzo-2-Oxa-1,3-Diazol, $C_6H_2ClN_3O_3$) en metanol. La mezcla se calentó por 5 min a 60°C dentro de un vial de 1.5 mL. La reacción de derivatización se detuvo adicionando 50 µL de HCl 1M y enfriando a 0°C.

Para el análisis, 10 µL del extracto final se inyectaron a un cromatógrafo Varian Modelo 9012 (Varian, Palo Alto, CA). La separación de la hidroxiprolina se llevo a cabo en una columna RP C18 octa-decil dimetilsilano de 10cm x 4.6 mm I.D. y un tamaño de partícula de 3 µm (Varian, Cat No. R0089200E3). Para ello se utilizó un flujo de gradiente de 2 mL/min de 2 eluyentes [(A: metanol al 100% y B: buffer de acetato de sodio 0.1M (pH 7.23), metanol y tetrahidrofurano (900:95:5 v/v) (SIGMA Chemical Co.)]. En la tabla 3 se muestra el gradiente utilizado en la corrida (mismas condiciones cromatográficas a la determinación de aminoácidos libres). La fluorescencia de la hidroxiprolina se midió a 330 and 418 nm de emission y excitación, respectivamente, con un detector de fluorescencia Varian II (Varian Fluorichrom II), la cual se registró e integró con el software cromatográfico Varian Star versión 4.0. La hidroxiprolina se identificó y cuantificó en base al tiempo de retención y área, comparándolos con un estándar. El contenido de colágeno total (mg/g) se determinó por multiplicar el contenido de hidroxiprolina por 10.2 de acuerdo a Hatae *et al.* (1995).

3.5.- Compuestos no volátiles relacionados con el sabor.

3.5.1. Aminoácidos libres.

La determinación del perfil de aminoácidos libres se llevo a cabo de acuerdo a la metodología reportada por Vázquez-Ortiz *et al.* (1995) con ligeras modificaciones. El método de extracción consistió en homogeneizar en baño de hielo 1 g de músculo abductor con 5 mL de ácido perclórico (TCA) al 6% en un homogeneizador Ultra-turrax T25 Basic (IKA Woeks Inc. Wilminaton NC), durante 2 min. Posteriormente, el extracto se centrifugó a 10,000 X g durante 15 min a 4°C. El sobrenadante se utilizó para la determinación de aminoácidos.

La concentración de aminoácidos se cuantificó en un cromatógrafo de líquidos de alta presión (HPLC) Hewlett Packard Modelo GmbH (Hewlett-Packard Co. Waldbrom, Alemania), acoplado a un detector de fluorescencia. Se utilizó el método de derivatización en precolumna descrito por Lindroth y Mopper (1979). Para ello, 300 µL del sobrenadante se transfirieron a un frasco de vidrio al cual se le adicionó 2.7 mL de agua HPLC. Se tomaron 100 µL de esta dilución y se le adicionaron 100 µL del estándar interno (ácido L- α -amino n-butírico) y 800 µL de agua HPLC. De esta dilución se tomaron 250 µL, los cuales se colocaron a una jeringa provista con filtro de 0.22 micras, para después adicionar 250 µL de una solución de OPA (O-Phthaldialdehído) (10mg de OPA + 250 µL metanol + 37.5 µL de sol. Brij 35 + 25 µL β -mercaptoetanol, aforada a 10 mL con buffer de Borato de potasio (pH 10.4)). La mezcla se filtró y el líquido filtrado se recibió en un tubo eppendorf ámbar de 1.5 mL. La muestra se derivatizó durante 2 min a temperatura ambiente (20°C), para posteriormente después inyectar la mezcla derivatizada a un cromatógrafo de líquidos con un loop de 20 µL. La separación de los aminoácidos libres se llevo a cabo en una columna de fase reversa C18 octa-decíl dimetilsilano de 10cm x 4.6 mm I.D. y un tamaño de partícula de 3 µm (Varian, Cat No. R0089200E3) conectada a una precolumna (3 cm x 4.6 mm de diámetro) empacada con el mismo material.

Para la separación cromatográfica se utilizó un gradiente con un flujo de 2 mL/min de 2 eluyentes (A: metanol al 100% y B: 10% de metanol, 90% de buffer de acetato (pH 7.23)). En la tabla 3 se presenta el gradiente utilizado en la corrida. El área producida por la fluorescencia de los aminoácidos se registró e integró por el programa CHEM STATION (Agilent Technologies Inc. USA). Los aminoácidos libres se identificaron y cuantificaron de acuerdo al tiempo de retención y área comparados con un estándar de aminoácidos.

3.5.2. Contenido de carbohidratos totales.

La cuantificación del contenido de carbohidratos totales se llevo a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Racotta *et al.* (1998). Esta metodología consistió en homogeneizar en un homogeneizador Ultra-turrax T25 Basic (IKA Works Inc. Wilminaton NC) 1 g de músculo abductor con 5 mL de ácido tricloroacético (TCA) frío al 10 % durante 1 min a una velocidad de 22,000 RPM. El homogenado se centrifugó en una centrifuga refrigerada Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc. Palo Alto, CA), a 3000 x g a -5°C durante 15 min. Una alícuota de 0.1 mL del sobrenadante se colocó en un vial de 1.5 mL al cual se le adicionó 1mL del reactivo de antrona (0.1% de reactivo disuelto en ácido sulfúrico al 76%) para después incubarse durante 5 min a 90°C en baño María. Inmediatamente después al calentamiento, los viales se enfriaron en agua fría (agua + hielo) para detener la reacción. Se midió la absorbancia a 620 nm contra un blanco en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 3B (The Perkin Elmer Inc., Connecticut, VA). La cantidad de carbohidratos totales se cuantificaron como unidades glicosil usando una solución de glucosa como estándar (0.0156 – 4 mg de glucosa/mL). Los resultados se reportaron como mg de glucosa por g de tejido.

Tabla 3.- Condiciones de gradiente utilizadas para la determinación de aminoácidos libres por HPLC.

Tiempo (Min)	%A	%B
0	80	20
5	70	30
10	50	50
18	20	80
25	80	20

A= Metanol al 100%.

B = Solución compuesta de 10% de metanol y 90% de buffer de acetato (pH 7.23).

3.5.3. Contenido de carbohidratos libres.

La concentración de carbohidratos libres durante el almacenamiento en hielo se cuantificó por diferencia entre la concentración de carbohidratos totales y el contenido de glucógeno, las cuales fueron descritas previamente.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el presente estudio se utilizó un diseño factorial con 2 efectos principales, los cuales fueron 1) nivel de temperatura (21, 24 y 28°C) y 2) la forma en que ésta se aplicó (constante y oscilante). Estos efectos se estudiaron con respecto al tiempo de almacenamiento en hielo (0, 3, 6, 9, 12, 15 y 20 días según sea el caso). Con ello se evaluó el impacto de los dos efectos sobre los indicadores fisiológicos propuestos y en la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor.

Para evaluar la condición fisiológica se empleo el contenido de glucógeno, carga energética adenilada e índice de rendimiento muscular. Para evaluar la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel, se emplearon las determinaciones de índice K, pH, TMA-N, calorimetría diferencias de barrido (CDB) contenido de colágeno, perfil de aminoácidos libres y monosacáridos, así como color, textura, capacidad de retención de agua (CRA) y análisis proximal. Cada determinación por día por tratamiento tuvo una n = 6, en donde cada callo se consideró como unidad experimental. Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el programa estadístico NCSS (Versión 6.0.22) (Kaysvill, Utah) con un nivel de significancia del 5 %.

El establecimiento de la correlación entre el estado fisiológico de la almeja mano de león con la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel de sus callos, se llevo a cabo mediante una matriz de correlación y un análisis de regresión múltiple.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.- Biometrías de los organismos iniciales.

En el presente estudio se utilizaron almejas mano de león *Nodipecten subnodosus* cosechadas en la laguna de Guerrero Negro, BCS, durante el mes de Septiembre del 2002. En la tabla 4 se presentan las biometrías obtenidas de los organismos al inicio del experimento, así como después del transporte y de la aplicación de los tratamientos de temperatura. Las biometrías consistieron en determinar las dimensiones y pesos de los organismos y sus principales constituyentes. Los organismos al inició tuvieron un tamaño promedio de 6.3 ± 0.4 , 6.2 ± 0.4 y 2.6 ± 0.3 cm de largo, ancho y grosor, respectivamente; así como un peso entero con concha de 61.0 ± 12.2 g, y un peso de los tejidos húmedos, callo y gónada de 21.6 ± 4.5 , 7.0 ± 1.9 y 2.5 ± 0.7 g en el mismo orden.

2.-Efecto del transporte en la almeja mano de león.

A nivel mundial el transporte de organismos vivos ha tomado mucha importancia comercial, lo cual se debe a la alta y creciente demanda por adquirir productos pesqueros de mayor calidad, lo cual se logra mediante el empleo de eficientes sistemas de transporte desde los sitios de captura o cosecha hasta el mercado que lo demanda (APEC, 1999).

A pesar de la importancia que representa el transporte de los organismos vivos, a la fecha se han desarrollado pocos estudios entre los cuales se puede citar el de Morris y Oliver (1999), Speed *et al.* (2001) y Gómez-Jiménez *et al.* (2000) para langosta, los de Maeda-Martínez *et al.* (2000) y Maguire *et al.* (1999a) para moluscos pectinidae y por Erikson *et al.* (1997) para salmón.

Tabla 4. Dimensiones, pesos y rendimiento de los organismos al inicio y después del transporte y aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Largo (cm)	Ancho (cm)	Grosor (cm)	Peso del Organismo Entero (g)	Tejidos Húmedos (g)	Caño (g)	Gonada (g)
Organismos Iniciales	6.3±0.4 ^a	6.2±0.4 ^a	2.6±0.3 ^a	61.0±12.2 ^a	21.6±4.5 ^a	7.0±1.8 ^a	2.5±0.7 ^a
Organismos Pos-transporte	6.5±0.4 ^{ab}	6.5±0.5 ^{ab}	2.8±0.3 ^{abc}	60.5±9.8 ^a	17.9±3.2 ^a	7.2±1.5 ^a	2.0±1.3 ^a
21°C Constante	6.9±0.3 ^b	6.8±0.4 ^b	2.9±0.07 ^{ab}	79.0±7.5 ^{ab}	30.2±3.5 ^b	7.8±1.1 ^b	2.8±0.3 ^a
21°C Oscilante	6.8±0.4 ^{ab}	6.8±0.3 ^b	3.0±0.3 ^{ab}	84.7±15.7 ^b	32.2±6.5 ^b	8.1±1.9 ^a	4.9±0.8 ^b
24°C Constante	7.0±0.2 ^b	7.0±0.3 ^b	2.9±0.1 ^b	86.6±8.6 ^b	30.8±4.2 ^b	7.7±1.1 ^a	2.5±0.6 ^a
24°C Oscilante	6.9±0.3 ^b	7.0±0.3 ^b	3.0±0.3 ^{bc}	87.6±16.7 ^b	31.4±5.7 ^b	8.2±2.0 ^a	2.7±0.6 ^a
28°C Constante	6.8±0.4 ^{ab}	6.7±0.3 ^{ab}	3.0±0.3 ^{bd}	82.0±12.7 ^b	29.5±5.4 ^b	7.2±1.2 ^a	2.5±0.9 ^a

Los valores son la media y la desviación estándar de n = 6.
Cifras en la misma columna y con el mismo superíndice son estadísticamente iguales ($p > 0.05$)

Normalmente, el transporte de organismos vivos se lleva a cabo en tanques con agua aireada o bajo condiciones de humedad. De estos métodos, Maeda-Martínez et al. (2000), indicó que el transporte en agua es mas caro, debido al gran costo que involucra transportar agua. Sin embargo, el método bajo condiciones húmedas tiene un mayor costo fisiológico para los organismos, lo cual resulta en una alta mortalidad si no se utilizan las condiciones adecuadas. En este estudio se observó que las condiciones de empaque fueron excelentes considerando el tiempo de traslado y la baja mortalidad postransporte como a continuación se describe.

Los resultados de transporte de organismos obtenidos en el presente experimento indicaron que el método empleado fue exitoso, lo cual es reflejo de la alta tasa de sobrevivencia obtenida que fue del 88% y de la alta cantidad de organismos transportados (2630 individuos de un tamaño entre los 6-7cm de alto). A pesar de que los pectínidos son organismos submariales, la elevada tasa de sobrevivencia se puede deber a una alta capacidad de la almeja mano de león por respirar fuera del agua, comportamiento que ya se ha descrito en la literatura para semillas de almeja catarina por Maeda-Martínez et al. (2000) y en otras especies submarcales como el camarón *Penaeus japonicus* y *monodon* por Paterson (1993), y la langosta *Jasus edwardsii* por Taylor y Waldrom (1997) y Morris y Oliver (1999), así como para *Modiolus demissus* y *Cardium edule* por Boyden (1972) y Bayne et al. (1975).

La literatura indica que el transporte de organismos vivos puede exponerlos a condiciones inferiores que aquellas que prevalecen en su medio natural (Gómez-Jiménez et al., 2000). Estas condiciones generan distintas condiciones de estrés y una serie de respuestas fisiológicas compensatorias en los organismos (Erikson et al., 1997 y Gómez-Jiménez et al., 2001), las cuales pueden evaluarse mediante la determinación de diferentes metabolitos musculares. En la tabla 5 se muestra el contenido promedio de carbohidratos totales, glucógeno, contenido de ATP, ADP, AMP y carga energética adenilada (CEA) en el músculo abductor de almejas mano de león antes y después del transporte, así como también se presenta el índice de rendimiento muscular (IRM) de

estos organismos. Los resultados obtenidos indicaron un efecto significativo ($p < 0.05$) del transporte en los metabolitos anteriormente descritos y en el IRM. En el caso de la concentración de los carbohidratos totales, glucógeno, ATP y CEA, se obtuvo una disminución significativa ($p < 0.05$), mientras que los niveles de ADP, AMP e IRM se incrementaron significativamente ($p < 0.05$). Estos cambios que obedecen al comportamiento normal de un organismo estresado fueron producto del estrés generado por las condiciones de transporte.

En primera instancia, el estrés disminuyó el nivel de ATP de 7.4 ± 2.2 a 3.7 ± 1.8 $\mu\text{Moles/g}$ de músculo e incrementó los niveles de ADP y AMP de 2.3 ± 1.0 y 0.6 ± 0.4 $\mu\text{Moles/g}$ de músculo a 3.7 ± 1.1 y 3.9 ± 2.0 $\mu\text{Moles/g}$ de músculo, respectivamente. Esta es la ruta normal de degradación del ATP y acumulación de sus productos de degradación, la cual se ha descrito ampliamente en la literatura para organismos transportados (Maguire *et al.*, 1999a, Taylor y Waldrom, 1997; Morris y Oliver, 1999) y posmortem.

Para mantener los niveles normales de ATP en el músculo, los moluscos e invertebrados primeramente consumen a su fosfógeno arginina fosfato (Wongso *et al.* 1998), produciendo ATP a partir de ADP. Una vez agotada las reservas de éste compuesto, el aporte de energía se produce a partir de la degradación del glucógeno, el cual constituye cerca del 93% del total de los carbohidratos presentes en el músculo abductor (De Vido de Mattio *et al.*, 2001). En el presente trabajo, los niveles de glucógeno y carbohidratos totales pos-transporte disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) de 230.1 ± 24.7 y 243.4 ± 25.6 mg/g de músculo en peso seco, a 12.6 ± 6.6 y 15.4 ± 7.1 mg/g de músculo, respectivamente. La disminución de estos componentes en el músculo abductor, indicó que estas reservas fueron utilizadas para producir la energía necesaria para sobrevivir ante las condiciones de transporte.

Asimismo, se encontró que la CEA disminuyó significativamente ($p < 0.05$) después del transporte de 0.8 ± 0.1 a 0.5 ± 0.2 . Los valores de CEA varían entre 0 y 1; un valor de 0 indica que todos los nucleótidos son AMP (moléculas deficientes de energía), mientras que un valor de 1 indica que todos los nucleótidos son ATP (moléculas ricas en

Tabla 5.- Efecto del transporte en el contenido de carbohidratos totales, glucógeno, ATP, ADP, AMP, carga energética adenilada en el músculo abductor, e índice de rendimiento muscular de la almeja mano de león antes y después del transporte.

Lotes	Carbohidratos Totales* (mg/g)	Glucógeno* (mg/g)	Contenido de ATP (µMoles/g de músculo)	Contenido de ADP (µMoles/g de músculo)	Contenido de AMP (µMoles/g de músculo)	Carga Energética Adenilada	Índice de rendimiento muscular (%) ²
Organismos Iniciales	243.4±25.6 ^a (203.6-268.5)	230.1±24.7 (201.4-253.0)	7.4±2.2 ^a (4.9-10.6)	2.3±1.0 ^a (1.5-4.1)	0.6±0.4 ^a (0.17-1.3)	0.8±0.1 ^a (0.70-0.91)	32.2±5.7 ^a
Organismos Pos-transporte	15.4±7.1 ^b (8.0-24.5)	12.6±6.6 ^b (6.1-22.4)	3.7±1.8 ^b (0.8-5.6)	3.7±1.1 ^b (2.6-5.54)	3.9±2.0 ^b (1.64-5.89)	0.5±0.2 ^b (0.2-0.7)	40.4±5.8 ^b

Los valores son la media y la desviación estándar de n = 6.

Cifras en la misma columna y con el mismo superíndice son estadísticamente iguales ($p > 0.05$).

Cifras entre () indican el rango de variación.

* se calculó en base seca.

energía). En nuestro estudio, el valor de CEA inicial fue de 0.8 ± 0.1 , indicando con ello una almeja en buenas condiciones fisiológicas en función de los descrito por Maguire *et al.* (1999b), quienes indicaron valores entre 0.8 y 1 para organismos saludables. Por otra parte, el bajo valor de CEA obtenido después del transporte, muestra el estrés al que fueron sometidos, lo cual concuerda con los estudios reportados por estos mismos autores quienes revelaron valores de CEA entre 0.3 y 0.5 para almejas sometidas a un estrés agudo.

Con respecto al IRM, se encontró un incremento significativo ($p < 0.05$) de 32.2 ± 5.7 a 40.4 ± 5.8 %. El incremento en este índice se debió a la pérdida de humedad que presentaron las almejas durante el transporte (tabla 4), debido a que no cierran fuertemente la concha como lo hacen la mayoría de los bivalvos (Macda-Martínez *et al.*, 2000), por lo que se recomienda que estos organismos no se mantengan por periodos prolongados fuera del agua (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2001). De igual forma, con el transporte las concentraciones de la mayoría de los aminoácidos y su suma total se incrementaron significativamente ($p < 0.05$) (tabla 6). Este incremento se debió a que los aminoácidos, los cuales son compuestos importantes en el mantenimiento de las funciones biológicas y fisiológicas normales, son empleados junto con otros compuestos como los bicarbonatos y fosfatos como efectores osmóticos (Wongso y Yamanaka, 1998), lo cual contribuye a reducir el estrés en los organismos por la desecación.

Finalmente, en la tabla 4 se presentan los resultados de las biometrías de los organismos después del transporte de Guerrero Negro a La Paz, BCS. Como era de esperarse, se observó que las medidas y pesos no cambiaron significativamente ($p > 0.05$) con el transporte. Sin embargo, se observó una disminución del peso de los tejidos húmedos de 21.6 ± 4.5 a 17.9 ± 3.2 g, lo cual es producto de la pérdida de humedad, debido a que como se mencionó anteriormente, las almejas no cierran fuertemente sus conchas cuando se encuentran fuera del agua.

Tabla 6.- Contenido de aminoácidos libres en el músculo abductor de almeja mano de León antes y después del transporte.

Aminoácidos	Músculo abductor (mg/ 100 g de músculo)	
	Antes	Después del transporte
	Glicina	1454.8±310.3 ^a
Taurina	761.1±163.8 ^a	764.6±65.4 ^a
Arginina	337.0±82.2 ^a	797.6±94.9 ^b
Alanina	225.1±81.3 ^a	129.1±45.0 ^b
Ac. Glutámico	141.0±27.1 ^a	138.6±28.0 ^a
Histidina	110.3±49.7 ^a	126.4±57.7 ^a
Ac. Aspártico	72.1±25.1 ^a	76.2±33.7 ^a
Treonina	61.1±15.5 ^a	201.6±36.7 ^b
Serina	25.8±11.4 ^a	127.6±33.6 ^b
Lisina	25.4±7.3 ^a	137.6±50.2 ^b
Valina	23.9±7.4 ^a	112.9±36.8 ^b
Fenilalanina	13.3±3.5 ^a	111.7±37.5 ^b
Tirosina	12.8±4.3 ^a	111.2±26.8 ^b
Leucina	10.8±2.8 ^a	137.1±47.7 ^b
Metionina	8.4±4.1 ^a	46.2±16.7 ^b
Isoleucina	8.2±1.9 ^a	93.9±51.9 ^b
Suma	3637.7±919.6	4353.2±459.1

Los valores son la media y la desviación estándar de n = 6.

Cifras en la misma fila y con el mismo superíndice son estadísticamente iguales.
($p > 0.05$)

3.- Efecto del nivel de temperatura estable y oscilante, sobre los indicadores fisiológicos y en la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor de la almeja mano de león *Nodipecten submodosus*.

El presente estudio pretendía establecer la correlación entre los diferentes índices fisiológicos de los organismos vivos, con los índices bioquímicos posmortem y de calidad del músculo abductor de la almeja mano de león durante el periodo de almacenamiento. Para ello, el diseño experimental inicial incluyó un diseño factorial de tres efectos principales (nivel de temperatura x forma de aplicación de la temperatura (tratamiento) x periodo de almacenamiento), donde se evaluaría el impacto de los diferentes niveles de cada uno de estos efectos principales en la significancia ($p < 0.05$) o no de su interacción triple. Durante el desarrollo experimental, y de forma preliminar, se evaluó la significancia de la interacción doble (nivel de temperatura x forma de aplicación de la temperatura) que involucra a los índices fisiológicos. En este análisis se obtuvo que dicha interacción no fue significativa ($p > 0.05$), por lo que se concluyó que estos efectos principales son independientes. Complementando lo anterior, se obtuvo que los efectos principales analizados por separado tampoco fueron significativos ($p > 0.05$), con excepción del derivado de la temperatura de 28°C.

Al introducir en el análisis estadístico el tercer efecto principal (periodo de almacenamiento del músculo abductor) y derivado del comportamiento clásico de los indicadores bioquímicos y de calidad involucrados, la interacción triple resultó significativa ($p < 0.05$). Este hecho complica innecesariamente el análisis global de los resultados, mas si se considera que la interacción doble de los efectos principales (temperatura y forma en que la temperatura se aplicó (oscilante o constante)) y los efectos principales por separado que involucran los índices fisiológicos no lo fue, como se mencionó en el párrafo precedente. Derivado de este hecho, se decidió considerar que la condición fisiológica de todos los organismos al finalizar el periodo de aclimatación, y previo a su sacrificio para dar inicio al periodo de almacenamiento en hielo era el mismo, con excepción de los organismos provenientes del tratamiento con temperatura de 28°C. Lo anterior permitió analizar el comportamiento posmortem de los músculos abductores

fuera del diseño factorial triple, como si cada condición experimental fuera un tratamiento independiente, facilitando así el análisis de resultados del periodo de almacenamiento como se presentan a continuación.

3.1. Efecto de la temperatura sobre la biometría y condición fisiológica de la almeja mano de león.

En la tabla 4 se muestran las dimensiones y pesos de organismos enteros de almeja mano de león, así como sus principales constituyentes después de la aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones de temperatura. Como resultado del tiempo que duró el experimento, las almejas crecieron significativamente ($p < 0.05$) de 6.3 ± 0.4 , 6.2 ± 0.4 y 2.6 ± 0.3 cm de largo, ancho y grosor, respectivamente, hasta alcanzar valores máximos de 7.0 ± 0.2 , 7.0 ± 0.3 y 3.0 ± 0.3 cm en el mismo orden. La tasa de crecimiento observada durante el periodo de estudio fue de 0.16 mm/día, valor que se calculó considerando solo lo largo de la almeja y el tamaño inicial y final de los organismos. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las biometrías de los organismos aclimatados por efecto del nivel de temperatura y la forma en que esta se aplicó.

Inicialmente, el diseño experimental inicial se planteó desarrollarlo con organismos juveniles de 6-7 cm, lo cual permitiría no introducir variables extras al estudio. No obstante lo anterior, las condiciones experimentales promovieron el temprano desove de los mismos, lo cual afectó la condición fisiológica de los organismos. Lo anterior se debió a que los organismos utilizados en el presente estudio muy probablemente estaban en un estado maduro al momento de su recolección, actividad que se realizó en el mes de septiembre del 2002, lo cual concuerda con lo descrito por Moráles-Hernández y Cáceres-Martínez (1996), quienes reportaron un estadio de madurez y desove para la almeja mano de león durante los meses de septiembre y octubre, respectivamente, y con lo descrito por Racotta *et al.* (2003), quienes reportaron que este mismo fenómeno se ha observado de julio a septiembre. Por

consecuente, dado que los organismos muy probablemente se encontraban en un estado maduro al momento de la recolección, cualquier condición de estrés motivó el desove.

En la tabla 7 se presentan los indicadores (contenido de glucógeno, CEA e IRM) utilizados para evaluar la condición fisiológica en la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) después de la aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones de temperatura. Asimismo, se presentan el contenido de ATP e índice gonádico (IG).

En cuanto al contenido de glucógeno en el músculo abductor de las almejas aclimatadas a los diferentes niveles y tipos de aplicación de temperatura (oscilante o constante), se encontró que en todos los casos, la concentración fue significativamente ($p < 0.05$) menor a la encontrada en los organismos provenientes directamente de la laguna (organismos iniciales) (tabla 5). Este hecho que puede ser efecto del desove presentado concuerda con los resultados descritos por Racotta *et al.* (1998) para *Argopecten ventricosus*.

Posterior a la aclimatación, la interacción doble (nivel de temperatura y la forma en que esta se aplicó), no afectó significativamente ($p > 0.05$) el contenido de glucógeno en los músculos abductores aclimatados a las diferentes condiciones de temperatura. Sin embargo, la concentración de glucógeno varió significativamente ($p < 0.05$) con respecto a la temperatura. Los valores más altos se encontraron en los organismos mantenidos a 28°C, los cuales fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) a los organismos aclimatados a 21 y 24°C tanto constante como oscilante. Maguire *et al.* (2002) describieron un comportamiento similar para el pectínido *Pecten maximus*, donde encontraron que a temperaturas más bajas, la concentración de glucógeno es menor debido a los altos requerimientos de energía que conlleva la maduración gonadal, la cual se favorece a bajas temperaturas. De igual forma, en la tabla 7 se puede observar que a pesar de que no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las almejas aclimatadas a temperatura constante y oscilante, existe una tendencia de los valores promedios de los organismos sometidos a temperatura oscilante a ser mayores que los de temperatura constante, lo cual puede ser producto de una mejor aclimatación de los

Tabla 7.- Efecto de las condiciones de aclimatación térmica en el estado fisiológico de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*).

Lotes	Glucógeno* (mg/g)	Contenido de ATP Inicial (μ Moles/g de músculo)	Carga Energética Adenilada	Índice de rendimiento muscular (%)	Índice gonádico (%)
21°C Constante	1.2 \pm 1.6 ^b (0.00-4.0)	3.3 \pm 1.1 ^a (2.2-4.9)	0.88 \pm 0.01 ^a (0.86-0.90)	26.0 \pm 4.79 ^a (19.2-32.1)	9.3 \pm 0.5 ^a (8.4-10.1)
21°C Oscilante	2.6 \pm 2.2 ^b (0.6-6.2)	2.6 \pm 0.9 ^{ad} (1.5-3.8)	0.84 \pm 0.10 ^a (0.64-0.92)	25.02 \pm 2.0 ^a (22.5-27.3)	15.3 \pm 1.7 ^b (13.7-18.5)
24°C Constante	0.5 \pm 0.7 ^b (0.0-1.49)	1.6 \pm 0.6 ^{bcde} (0.7-2.4)	0.87 \pm 0.02 ^a (0.84-0.92)	24.9 \pm 1.7 ^a (23.5-27.6)	8.0 \pm 1.0 ^a (6.1-6.7)
24°C Oscilante	1.6 \pm 0.9 ^b (0.6-2.9)	2.5 \pm 0.4 ^{ac} (1.7-2.9)	0.86 \pm 0.03 ^a (0.80-0.90)	26.1 \pm 2.2 ^a (22.9-28.3)	8.6 \pm 1.1 ^a (7.4-10.3)
28°C Constante	6.2 \pm 3.7 ^b (1.7-10.7)	2.6 \pm 1.0 ^{ac} (1.3-4.4)	0.83 \pm 0.03 ^a (0.77-0.87)	24.5 \pm 2.2 ^a (21.0-27.0)	8.3 \pm 1.7 ^a (6.5-10.8)

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos.

Los valores entre paréntesis representan los valores mínimos y máximos obtenidos de cada determinación.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p > 0.05$).

* se calculó en base seca.

organismos sometidos a temperaturas oscilantes, sin embargo, es necesario desarrollar mas estudio que comprueben este hecho.

En el caso de la carga energética adenilada (CEA), la cual se calcula mediante la relación entre la suma de ATP + $\frac{1}{2}$ ADP entre la suma de la concentración de ATP+ADP+AMP y que Maguire *et al.* (1999b) describieron como un indicador confiable para evaluar el estrés de los pectínidos, no se encontró un efecto significativo ($p>0.05$) entre los valores de CEA en el músculo abductor de los organismos iniciales con respecto a los organismos aclimatados a las diferentes condiciones de temperaturas. Asimismo, no se encontró un efecto significativo ($p>0.05$) por separado de la temperatura ni de la forma en que esta se aplicó. A pesar de que en nuestro estudio, la concentración de ATP muscular se afectó por la temperatura ($p<0.05$), los valores de CEA no lo hicieron. La invariabilidad de la CEA se debió a que la concentración de ADP y AMP se modificó en la misma proporción que lo hizo la concentración de ATP manteniendo de esta forma, la misma relación en la concentración de estos compuestos y por consiguiente de CEA.

En lo que respecta a el IRM y en comparación a los organismos iniciales, se encontró un afectó significativo ($p<0.05$) del tiempo de aclimatación, sin embargo, no se encontró un efecto significativo ($p>0.05$) de la interacción doble nivel de temperatura – forma de aplicación (constante u oscilante), ni de los efectos principales por separado. En el caso del índice gonádico (IG), solo se encontró un efecto significativo ($p<0.05$) del nivel de temperatura, en donde los organismos aclimatados a 21°C presentaron un índice gonadal mayor, el cual fue estadísticamente ($p<0.05$) superior a los de 24 y 28°C. Este hecho concuerda con lo descrito en la literatura, en donde se especifica que el periodo de crecimiento gonadal y gametogénesis en varias especies de bivalvos, ha sido positivamente correlacionada con los cambios de temperatura estacional, la cual en algunos casos parece existir con una disminución en la temperatura (Martínez y Pérez, 2003).

3.2. Efecto de la temperatura sobre la calidad química del músculo abductor de la almeja mano de león.

3.2.1- Composición proximal.

Un parámetro importante en la calidad de cualquier producto marino es su composición química. Los principales componentes del músculo de pescado, crustáceos y moluscos son el agua, las proteínas y los lípidos, los cuales influyen en las propiedades nutricias, funcionales y sensoriales, así como en la estabilidad del producto durante el almacenamiento (Sikorski *et al.*, 1990b). La importancia de determinar la concentración de estos componentes es que las variaciones en su contenido pueden ocasionar cambios en el sabor, color, textura y apariencia superficial (Ocaño-Higuera, 1999), así como también pueden repercutir en la vida de anaquel de los productos, ya que altas humedades favorecen el crecimiento bacteriano y el desarrollo de reacciones deteriorativas (Badui, 1982).

En la tabla 8 se muestran los resultados de la composición química del músculo abductor de almeja mano de león al inicio del experimento, después del transporte y posterior a la aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones de temperatura. Los valores de humedad, proteína, NNP, lípidos y cenizas concuerdan con los resultados reportados por Webb *et al.* (1969), para *Aequipecten irradians*, *Aequipecten gibbus*, y *Placopecten magellanicus*; con los de Phleger *et al.* (1978), para *Hinnities multirugosus* y con los obtenidos por Ansell (1974), para *Chlamys septemradiata*. Asimismo, concuerdan con los descritos por Taylor y Venn (1979), para *C. opercularis*, y con los de Comely (1974) y Vázquez-Baanante y Rosell-Pérez, (1979), para *Pecten maximus*.

El transporte de los organismos desde la Laguna de Guerrero Negro a La Paz, BCS, no afectó significativamente ($p>0.05$) la composición química de los músculos abductores. Sin embargo, el tiempo de aclimatación de los organismos a las diferentes condiciones de temperatura, disminuyó significativamente ($p<0.05$) el contenido de proteína y humedad con respecto a los organismos iniciales. La literatura indica que ésta

Tabla 8.- Composición proximal del músculo abductor de almeja mano de león al momento de la recolección de los organismos, después del transporte y posterior a la aclimatación a las diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Humedad (%)	Proteínas (%)	NNP (%)	Lípidos (%)	Conizas (%)
Organismos Iniciales	78.2±0.4 ^{bc}	19.3±0.6 ^{bc}	0.7±0.1 ^a	1.4±0.4 ^a	2.0±0.5 ^a
Organismos Pos-transporte	77.0±0.4 ^b	19.7±0.6 ^b	0.7±0.17 ^a	1.3±0.6 ^a	1.9±0.2 ^a
21°C Constante	80.5±1.1 ^{ac}	17.2±1.0 ^{ab}	0.6±0.2 ^a	1.2±0.2 ^a	1.8±0.1 ^a
21°C Oscilante	79.9±0.2 ^{ac}	16.5±0.1 ^{ac}	0.7±0.0 ^a	1.1±0.0 ^a	1.9±0.0 ^a
24°C Constante	79.9±0.3 ^{ac}	16.8±0.3 ^{ac}	0.7±0.0 ^a	1.0±0.0 ^a	1.9±0.0 ^a
24°C Oscilante	79.9±0.3 ^{ac}	15.9±0.1 ^a	0.7±0.0 ^a	1.0±0.1 ^a	2.0±0.0 ^a
28°C Constante	81.2±0.9 ^a	15.7±0.4 ^a	0.7±0.0 ^a	0.8±0.1 ^a	1.7±0.1 ^a

Los valores son la media y la desviación estándar de al menos 2 repeticiones (n=2).

Los porcentajes son en base húmeda.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

disminución en el contenido de proteínas y lípidos en el músculo abductor se debe a la transferencia de estos compuestos de reserva a la gónada durante la maduración gonadal y desove (Brokordt *et al.*, 2000), fenómenos que se presentaron durante la aclimatación y aplicación de los tratamientos.

En lo que respecta a los niveles de temperatura (21, 24 y 28°C) aplicados y la forma en que ésta se aplicó (oscilante o constante), entre ellos no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$), sin embargo, se puede observar que a mayor temperatura la concentración de proteínas y lípidos disminuyó. Este mismo comportamiento fue descrito por Martínez y Pérez (2003) quienes obtuvieron un menor contenido de proteínas y lípidos en el músculo abductor de *Argopecten purpuratus* sometido a 19°C en comparación a los obtenidos a 15°C. Posiblemente, el menor nivel de estos componentes en el músculo abductor de almeja mano de león sometidas a altas temperaturas, se pueda deber a que los organismos se encuentren cerca de su temperatura letal, donde el nivel de estrés es alto. Por consiguiente, es necesario desarrollar nuevos estudios que determinen el efecto que tienen las altas temperaturas durante el proceso de aclimatación, en los componentes del músculo abductor, ya que muy posiblemente éstos compuestos están siendo utilizados para la producción de energía.

3.2.2.- Calorimetría diferencial de barrido

Los resultados de los análisis de CDB realizados a los músculos abductores almacenados en hielo, los cuales se obtuvieron de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura, mostraron 2 transiciones endotérmicas bien definidas a una tasa de calentamiento de 10°C/min. La primera de ellas presentó una temperatura de transición T_{max} entre los 53 y 55°C que correspondió a la miosina; mientras que la segunda, con una temperatura de transición T_{max} entre los 78 y 80°C, correspondió a la actina. Resultados similares fueron reportados por Paredi *et al.* (2003), para el músculo abductor de *Chlamys tehuelchus* y *Zygochlamys patagónica*.

En las tablas 9 y 10, y 11 y 12, se presentan las entalpías de desnaturalización y temperaturas de transición de la miosina y actina, respectivamente, en músculos abductores almacenados durante 19 días en hielo. En esta medición no se encontró un efecto significativo ($p>0.05$) de la interacción doble entre el nivel de temperatura (21, 24 y 28°C) y la forma en que ésta se aplicó (oscilante o constante), ni tampoco se obtuvieron variaciones significativas ($p>0.05$) de los efectos por separado. Los resultados del presente estudio difieren de lo descrito por Howell *et al.* (1991), quienes encontraron variaciones termales entre la miosina de organismos tropicales y de agua fría. Estos autores relacionaron la estabilidad de la miosina de diferentes especies de pescado con la temperatura ambiental en la cual viven. Nuestros resultados indicaron que muy posiblemente, el rango de los niveles y forma de aplicación de la temperatura fueron muy estrechos, por lo que no influenciaron cambios en las proteínas miofibrilares de estos organismos, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en la composición química e indicadores fisiológicos, lo cual es de gran importancia debido al impacto tecnológico y funcional que tiene la miosina.

3.3. Efecto de la temperatura sobre la calidad física del músculo abductor de la almeja mano de león.

3.3.1. pH

En la figura 10 se presentan los valores promedios de pH para el músculo abductor almacenado 20 días en hielo, proveniente de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura. En ella se puede observar que los valores iniciales fluctuaron en un rango entre 6.6 y 6.7. Estos valores de pH concuerdan con el descrito por Yamanaka (1989), de 6.67 para el músculo abductor de *Patinopecten yessoensis*. De igual forma, concuerda con el valor de 6.5 descrito por Maxwell-Miller *et al.* (1982), para el músculo abductor de *Hinnites multirugosus* y con el rango de pH muscular entre 6.7 y 7.0 reportado por Love (1975) para los productos marinos después de su captura.

Tabla 9. Entalpías de desnaturalización de la miosina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) acimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Entalpia (H) Joules/g de músculo			
	Dias de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	19
21°C Constante	0.36±0.03 ^{a1}	0.33±0.02 ^{a1}	0.33±0.02 ^{a1}	0.40±0.10 ^{a1}
21°C Oscilante	0.29±0.11 ^{a1}	0.34±0.05 ^{a1}	0.32±0.00 ^{a1}	0.33±0.04 ^{a1}
24°C Constante	0.36±0.02 ^{a1}	0.32±0.06 ^{a1}	0.37±0.05 ^{a1}	0.35±0.02 ^{a1}
24°C Oscilante	0.35±0.02 ^{a1}	0.39±0.02 ^{a1}	0.35±0.05 ^{a1}	0.35±0.04 ^{a1}
28°C Constante	0.32±0.02 ^{a1}	0.37±0.02 ^{a1}	0.34±0.04 ^{a1}	0.30±0.02 ^{a1}

Los valores son la media y la desviación estándar de al menos 2 repeticiones (n=2).

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 10. Temperaturas de desnaturalización de la miosina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Temperatura de transición T max (°C)			
	Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	19
21°C Constante	54.26±0.03 ^{a1}	54.89±0.11 ^{a2}	54.65±0.30 ^{a12}	54.86±0.24 ^{a2}
21°C Oscilante	53.65±1.30 ^{a1}	53.91±0.75 ^{a1}	54.49±0.76 ^{a1}	54.55±1.13 ^{a1}
24°C Constante	54.49±0.58 ^{a1}	54.88±0.13 ^{a1}	54.30±0.57 ^{a1}	54.02±0.47 ^{a1}
24°C Oscilante	54.21±0.57 ^{a1}	54.83±0.28 ^{a1}	54.83±0.54 ^{a1}	55.17±0.20 ^{a1}
28°C Constante	53.65±1.06 ^{a1}	54.49±0.00 ^{a1}	54.48±0.27 ^{a1}	54.33±0.02 ^{a1}

Los valores son la media y la desviación estándar de al menos 2 repeticiones (n=2).

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$)

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 11. Entalpías de desnaturalización de la actina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Entalpia (H) Joules/g de músculo			
	Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	19
21°C Constante	0.48±0.05 ^{a12}	0.53±0.02 ^{a2}	0.43±0.04 ^{a12}	0.40±0.02 ^{a1}
21°C Oscilante	0.50±0.06 ^{a1}	0.51±0.02 ^{a1}	0.47±0.05 ^{a1}	0.37±0.06 ^{a1}
24°C Constante	0.58±0.01 ^{a1}	0.44±0.12 ^{a12}	0.42±0.09 ^{a12}	0.33±0.02 ^{a2}
24°C Oscilante	0.52±0.01 ^{a1}	0.50±0.03 ^{a13}	0.40±0.07 ^{a23}	0.32±0.03 ^{a2}
28°C Constante	0.47±0.14 ^{a1}	0.46±0.07 ^{a1}	0.31±0.03 ^{a1}	0.30±0.01 ^{a1}

Los valores son la media y la desviación estándar de al menos 2 repeticiones (n=2).

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$)

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 12. Temperaturas de desnaturalización de la actina de músculos abductores almacenados 19 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Temperatura de transición T max (°C)			
	Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	19
21°C Constante	79.70±0.30 ^{a1}	80.33±0.31 ^{a1}	79.17±0.54 ^{a1}	79.41±0.46 ^{a1}
21°C Oscilante	79.35±0.48 ^{a1}	79.61±0.18 ^{a1}	78.32±0.53 ^{a12}	77.82±0.45 ^{a2}
24°C Constante	80.06±1.27 ^{a1}	80.66±0.09 ^{a1}	79.14±0.86 ^{a1}	78.73±0.02 ^{a1}
24°C Oscilante	79.88±0.77 ^{a1}	79.79±0.89 ^{a1}	79.62±0.22 ^{a1}	79.25±0.25 ^{a1}
28°C Constante	80.11±1.41 ^{a1}	80.21±0.32 ^{a1}	79.84±0.34 ^{a1}	78.95±0.64 ^{a1}

Los valores son la media y la desviación estándar de al menos 2 repeticiones (n=2).

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

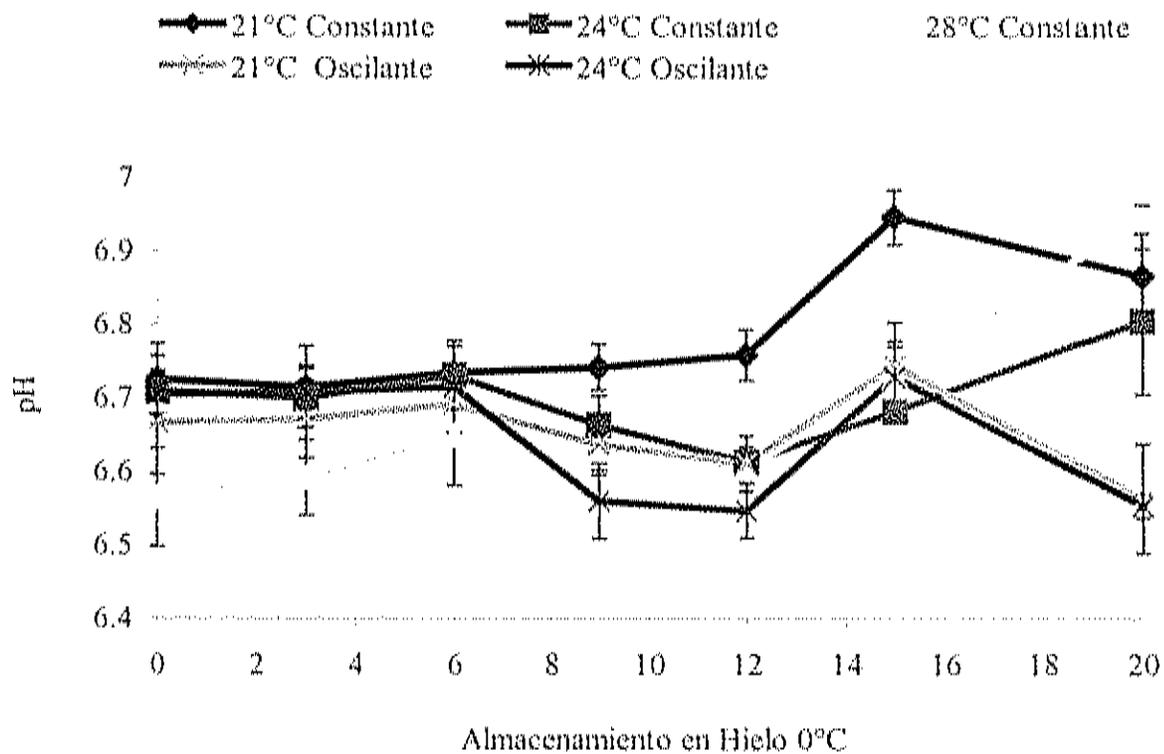


Figura 10. pH de músculos abductores almacenados 20 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura. Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).

Durante el almacenamiento en hielo, el pH de los músculos abductores de todos los tratamientos presentó un comportamiento normal, similar a los descritos en la literatura para productos marinos (Fletcher y Statham, 1988; Love, 1975 y Sikorski, 1990a). En esta figura se observó que de todos los tratamientos, los músculos abductores de los organismos sometidos a una temperatura de aclimatación de 28°C presentaron el pH inicial mas bajo, lo cual concuerda con el alto contenido inicial de glucógeno obtenido para este tratamiento (6.2 ± 3.7 mg/g de en base seca). La literatura indica que organismos con un mayor contenido de glucógeno durante el sacrificio, tiene un mayor descenso de pH muscular.

En vertebrados, la caída del pH muscular se debe a disociación del ácido láctico producido bajo condiciones anaeróbicas a partir de la producción de ácido pirúvico. En el caso de los invertebrados como el pectínido *Placopecten magellanicus*, Hiltz y Dyer (1971), relacionaron los cambios de pH del músculo abductor con un incremento en el contenido de ácido láctico y octopina; sin embargo éstos metabolitos no se cuantificaron en el presente estudio por no ser objetivo del mismo.

De igual forma, los organismos aclimatados a 28°C fueron los que presentaron el valor de pH mas alto al final del almacenamiento, alcanzando un pH de 6.9. Este incremento superior a las 0.3 unidades de pH, si bien no es crítico, debe ser estudiado con más detalle para deslindar la posible actividad bacteriana (Simeonidou *et al.*, 1998; Ryder *et al.*, 1984) de algún otro proceso metabólico posmortem, ya que precisamente los callos provenientes del tratamiento de 28°C mostraron un incremento mas pronunciado en los valores iniciales de índice K, lo cual indica una tendencia mas acelerada a reducir su frescura. Los valores de pH obtenidos para los diferentes tratamientos fueron apenas inferiores a los valores que indican deterioro bacteriano, los cuales tienden a ser mayores de 7.0 (Woyewoda *et al.*, 1986).

3.3.2. Capacidad de retención de agua

La CRA se puede describir como la capacidad que tiene la carne para retener fuertemente el agua propia durante la aplicación de fuerzas externas (Hamm, 1986). Esta

propiedad funcional del músculo está influenciada por el tipo de animal (especie, sexo, tipo de músculo, etc), así como por factores físicos y químicos tales como el pH, cationes divalentes, cambios posmortem, adición de sales y temperatura (Ocaño-Higuera *et al.*, 2001).

En la figura 11 se presentan los valores promedios de la capacidad de retención de agua de los músculos abductores almacenados en hielo obtenidos de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperaturas. Se observó que los músculos abductores correspondientes a 28°C presentaron los más bajos valores de CRA durante el tiempo almacenamiento en hielo, obteniendo un valor inicial y final de 96.8 ± 1.58 % y 94.4 ± 2.3 %, respectivamente. Estos resultados concuerdan con el bajo pH muscular obtenido para este grupo de organismos, debido a que a mas bajo pH muscular, las proteínas se acercan mas a su punto isoeléctrico (pH de 5.5), que es el pH en el cual existe la mínima solubilidad de la proteína, y como consecuencia de ello, tienden a perder una mayor cantidad de humedad y a tener una menor CRA.

En este estudio se encontró que los valores iniciales fluctuaron entre 96.8 ± 1.58 y 98.8 ± 0.4 %, los cuales concuerdan con los reportados en la literatura por Ocaño (1999) para esta misma especie. Estos valores de CRA son muy superiores al 80% reportado por Gómez-Guillén *et al.* (2000) para salmón; sin embargo, la variación en la CRA entre el músculo abductor y el músculo del salmón se puede deber a las diferencias entre especies (Schut, 1976).

Durante el almacenamiento en hielo, la CRA de los músculos abductores disminuyó ligera pero significativamente ($p < 0.05$). Nuestros resultados concuerdan con los reportados por Paredi y Crupkin (2002), para músculo abductor estriado de la escalopa *Zygochlamys patagónica*. La literatura indica que la disminución en la capacidad de retención de agua en el músculo abductor puede deberse a que la proteína miofibrilar, responsable de la CRA y propiedades tecnológicas del músculo (Flores y Bernell, 1984), sufre cierto grado de desnaturalización durante el almacenamiento en frío. Este fenómeno fue reportado por Paredi *et al.* (1992) en el músculo abductor del molusco bivalvo *Aulacomya ater ater* (Molina). Asimismo, la reducción en la CRA también se

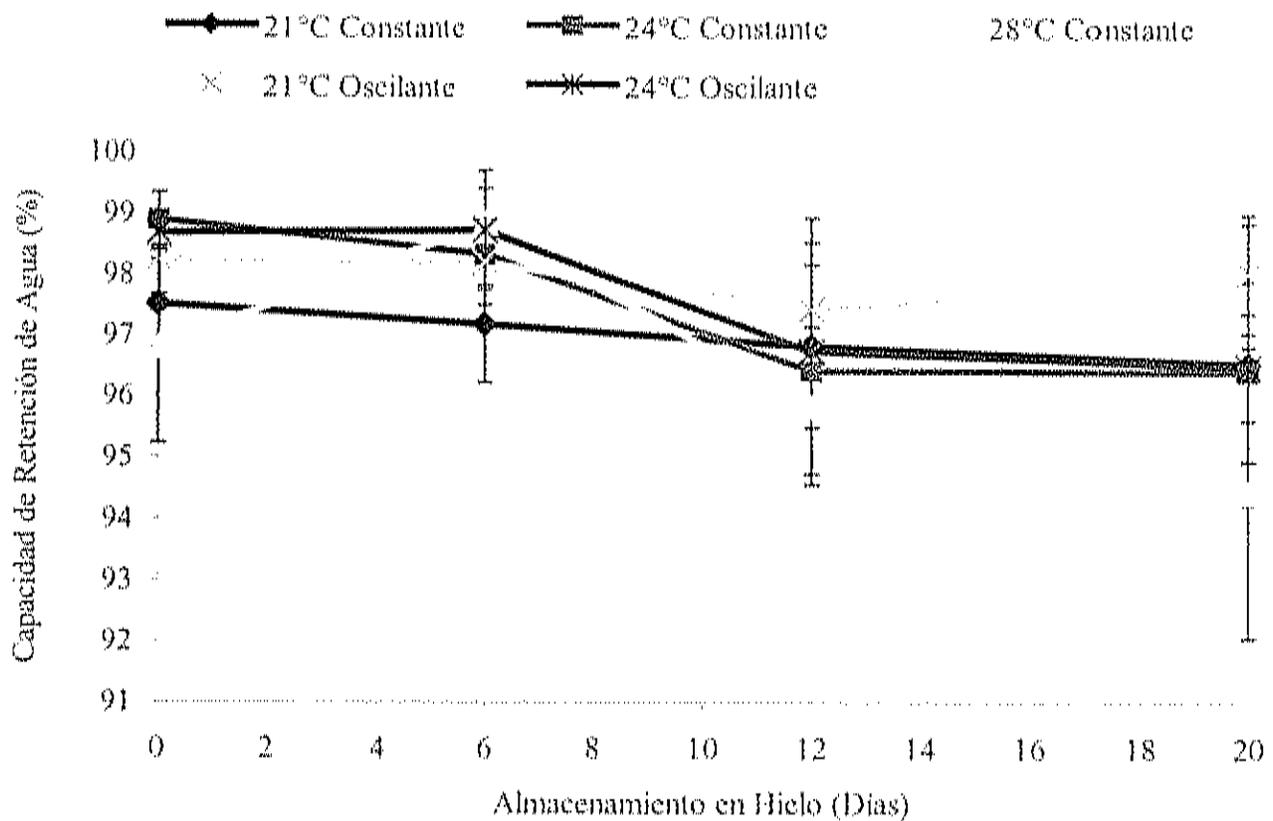


Figura 11. Capacidad de retención de agua en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo, obtenido de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura. Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).

puede deber a cambios en la carga y estructura de éstas proteínas (Hamm, 1986). Sin embargo, en el presente estudio, la disminución en la CRA de los músculos abductores durante el almacenamiento en hielo se consideró mínima en comparación a los cambios obtenidos en otras especies. Estos resultados concuerdan con los estudios de CDB, donde no se encontraron cambios en la estabilidad de la miosina durante el tiempo de almacenamiento en hielo

3.3.3.- Textura

La textura es uno de los parámetros mas importantes que determinan la calidad de los productos pesqueros (Sato *et al.* 1991). En la figura 12 se presentan los valores promedios obtenidos de la determinación de textura de los músculos abductores de almeja mano de león almacenados en hielo, provenientes de la aclimatación a diferentes condiciones de temperatura.

En el presente estudio, los valores iniciales de esfuerzo al corte para el músculo abductor de los diferentes grupos de organismos aclimatados a las diferentes condiciones de temperatura, fluctuaron entre 0.56 ± 0.26 y 0.83 ± 0.26 kg_f. Estos valores fueron superiores al valor inicial de 0.30 ± 0.05 kg_f descrito por Ocaño-Higuera (1999) para el músculo abductor de almeja mano de león adulta. Sin embargo, estos valores pueden considerarse como similares debido a que son valores muy pequeños en comparación a los 1.5-1.9 kg_f obtenidos por Magdaleno y Valdéz (1994) para bolonia de tilapia, de los 1.5 kg_f reportado por Ando *et al.* (1999) para músculo de calamar y de los 6 kg_f reportados por Jonsson *et al.* (2001) para filetes de salmón.

Los valores iniciales de esfuerzo al corte fueron superiores en los organismos aclimatados a 28 y 24°C, lo cual concuerda con los bajos valores de pH (figura 10) y CRA (figura 11) obtenidos al inicio del almacenamiento en hielo para este grupo de almejas. Pastoriza y Sampedro (1994), indicaron que el pH del músculo es un factor determinante en la textura de los productos marinos. Músculos con pHs bajos son mas duros que aquellos de pH mas altos, debido a que a pH's musculares mas bajos la proteína se encuentra mas cerca del punto isoeléctrico. Por consiguiente, la carga neta

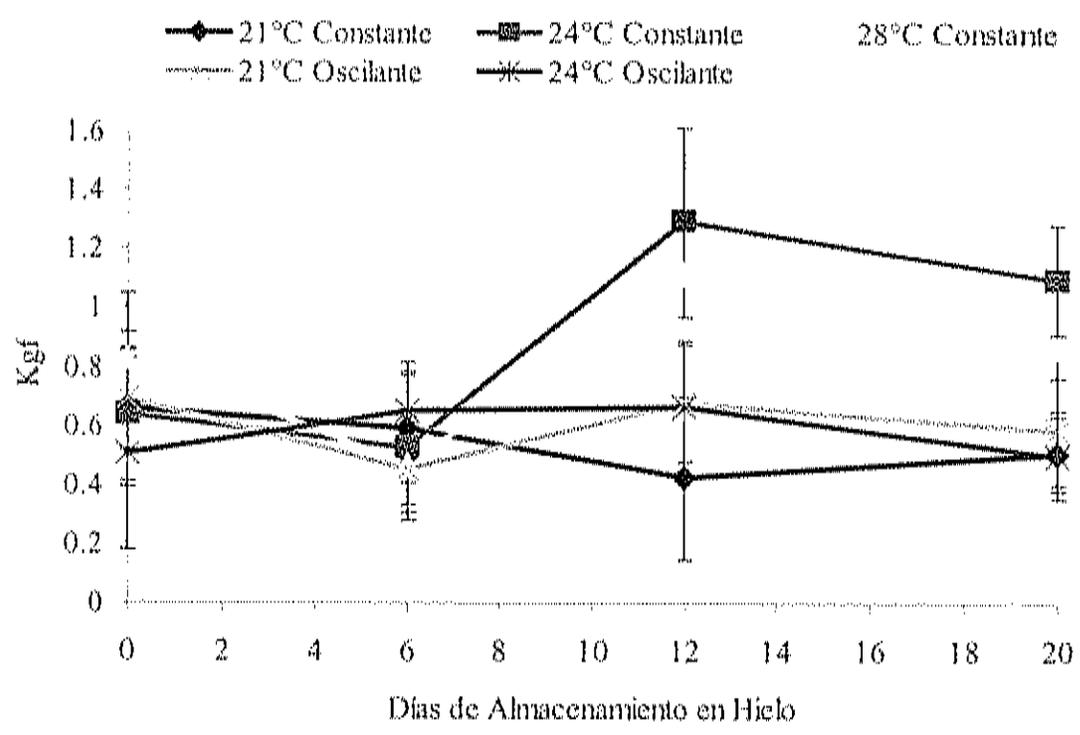


Figura 12.- Textura (esfuerzo al corte) del músculo abductor almacenado 20 días en hielo provenientes de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura. Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).

tiende a ser cero. Lo anterior trae como consecuencia que las proteínas estén más agregadas y liberen una mayor cantidad (baja CRA), lo cual ocasiona que el músculo se vuelva más seco y duro.

La textura de los productos marinos disminuye durante el almacenamiento en hielo. Lo anterior se ha observado en músculo de calamar por Ando *et al.* (1999) y en músculo de pescado por Ashie *et al.* (1996), entre otros. En el presente estudio (figura 12) se observó una tendencia creciente del esfuerzo al corte de los músculos abductores de organismos sometidos a una temperatura de aclimatación de 28 y 24°C (constantes) después de 12 días de almacenamiento en hielo, lo cual concuerda con los comportamientos de pH (figura 10) y CRA (figura 11) descritos anteriormente en este estudio.

Ando (1999), Ando *et al.* (1999), Sato (1999) y Sato *et al.* (1994), describieron que la firmeza del músculo de pescado tiene una relación directa con el contenido de colágeno, el cual en los músculos abductores de las almejas aclimatadas a las diferentes condiciones de temperatura no varió significativamente ($p > 0.05$) (tabla 13). Estos resultados indican que la textura del músculo abductor, más que afectarse por el contenido de colágeno, se afectó por los ligeros cambios de pH y CRA.

3.3.4.- Determinación de color

El color es uno de los parámetros más importantes para evaluar la calidad de los productos pesqueros (Pacheco-Aguilar *et al.*, 1994), el cual además determina la aceptación o rechazo del producto por el consumidor. En la figura 13, se presentan los cambios de color expresados en los parámetros "L" (luminosidad), "a"* (rojo-verde) y "b"* (amarillo-azul), de los músculos abductores almacenados en hielo provenientes de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Los valores promedios para los parámetros de color L, a* y b* del músculo abductor de los organismos provenientes de todos los tratamientos, permanecieron constantes ($p > 0.05$) durante los 20 días de almacenamiento en hielo, fluctuando entre 45.6 ± 2.2 y 50.3 ± 2.3 , -0.4 ± 0.12 y 0.8 ± 0.5 y 5.2 ± 2.1 y 9.9 ± 2.8 , respectivamente. Estos

Tabla 13.- Contenido de colágeno del músculo abductor de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lote	% colágeno
21°C constante	2.80±1.61 ^a
21°C oscilante	5.83±1.20 ^b
24°C constante	5.16±3.82 ^a
24°C oscilante	4.82±2.86 ^a
28°C constante	3.81±0.81 ^a

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos.
Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

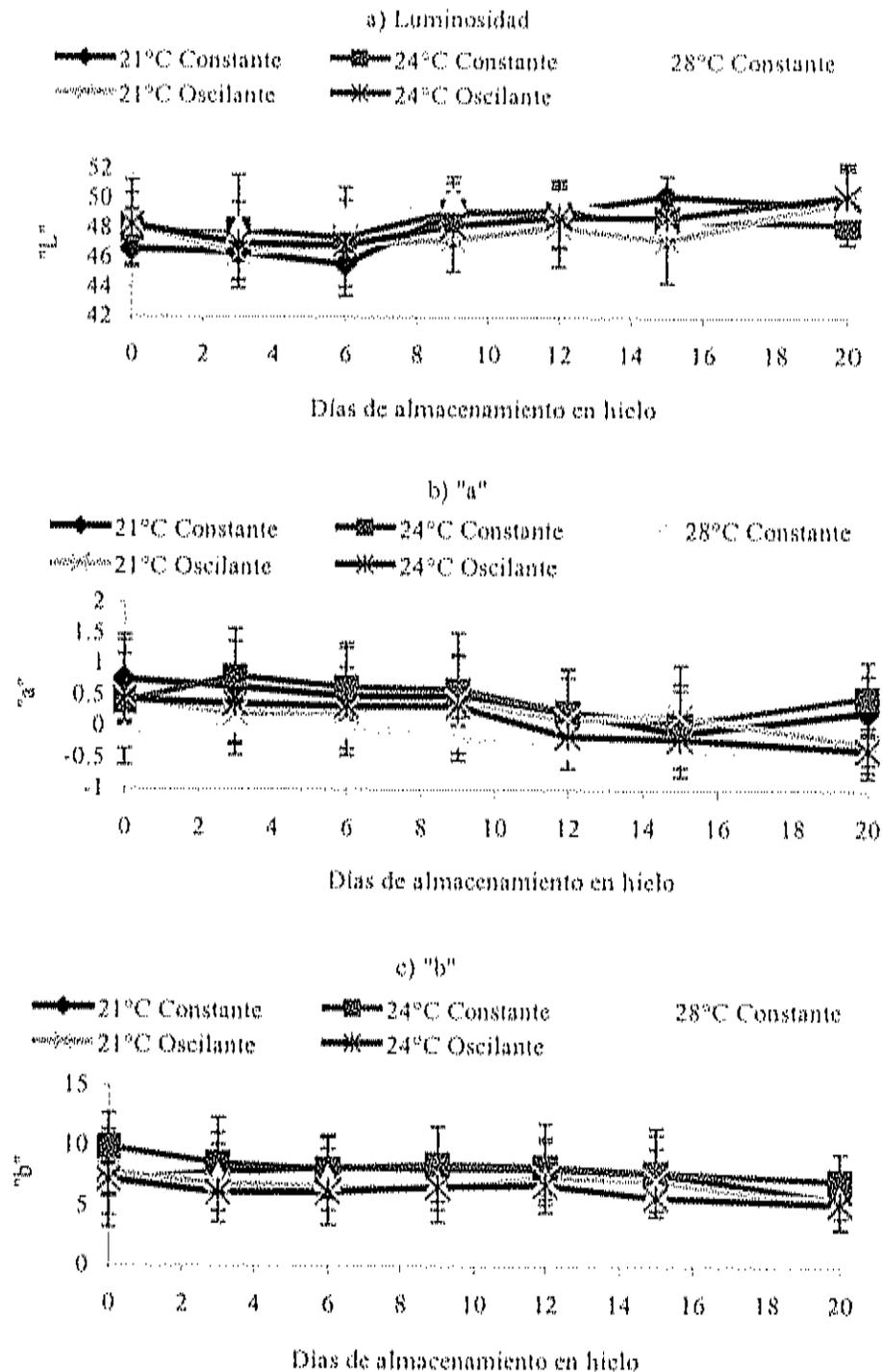


Figura 13.- Cambios de los parámetros de color a) "L", b) "a*" y c) "b*" en músculos abductores almacenados 20 días en hielo provenientes de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura. Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos.

resultados concuerdan con los publicados por Ocaño-Higuera (1999), para el músculo abductor de la misma especie, donde se obtuvieron valores para "L", "a*" y "b*", de 51.4 ± 0.0 , -3.4 ± 0.0 y 6.0 ± 0.0 , en el mismo orden, durante un periodo de almacenamiento de 15 días. Los valores para estos parámetros, así como su comportamiento durante el tiempo de almacenamiento en hielo, fueron similares a los obtenidos por Pastoriza y Sampedro (1994), en el músculo de mantarraya (*Raja clavata*). De acuerdo a los valores obtenidos para "L", "a*" y "b*", el color de los músculos abductores de los diferentes grupos de organismos aclimatados a las diferentes temperaturas, se encontró dentro de la zona grisácea (centro) del sólido de color (figura 14), lo cual concuerda con los resultados descritos anteriormente por Ocaño-Higuera (1999).

3.4. Efecto de la temperatura sobre la bioquímica posmortem del músculo abductor de la almeja mano de león.

3.4.1 Comportamiento del ATP y productos relacionados.

En el músculo, el ATP se degrada enzimáticamente a ADP, AMP, IMP, HxR (inosina) e Hx (hipoxantina) (Church 1998; Ehira y Uchiyama, 1987; Perez-Villareal y Pozo 1990). La concentración de estos compuestos se ha relacionado con la calidad de los productos marinos (Jones y Murray, 1961; Kassemarn *et al.*, 1963; Saito *et al.*, 1957); y se ha utilizado como un indicador de frescura en algunas especies pesqueras (Church 1998; Cox y Karahadian, 1998; Ehira y Uchiyama, 1987; Murata y Sakaguchi, 1988; Ohashi *et al.*, 1991).

En las figuras 15 y 16, se presentan las concentraciones de la adenosina 5' trifosfato (ATP) y sus productos de degradación de los músculos abductores almacenados 20 días en hielo, provenientes de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperaturas. Posterior a la aclimatación de los organismos, la suma de nucleótidos, nucleósidos y base nitrogenada disminuyó significativamente ($p < 0.05$) en el músculo abductor de todos los grupos de organismos; de valores de 10.8 ± 1.5 y $12.2 \pm 2.5 \mu\text{Mol/g}$ de músculo obtenidos antes y después de transporte, a valores que fluctuaron entre 3.9 ± 0.8 y $6.1 \pm 2 \mu\text{Mol/g}$ para todos

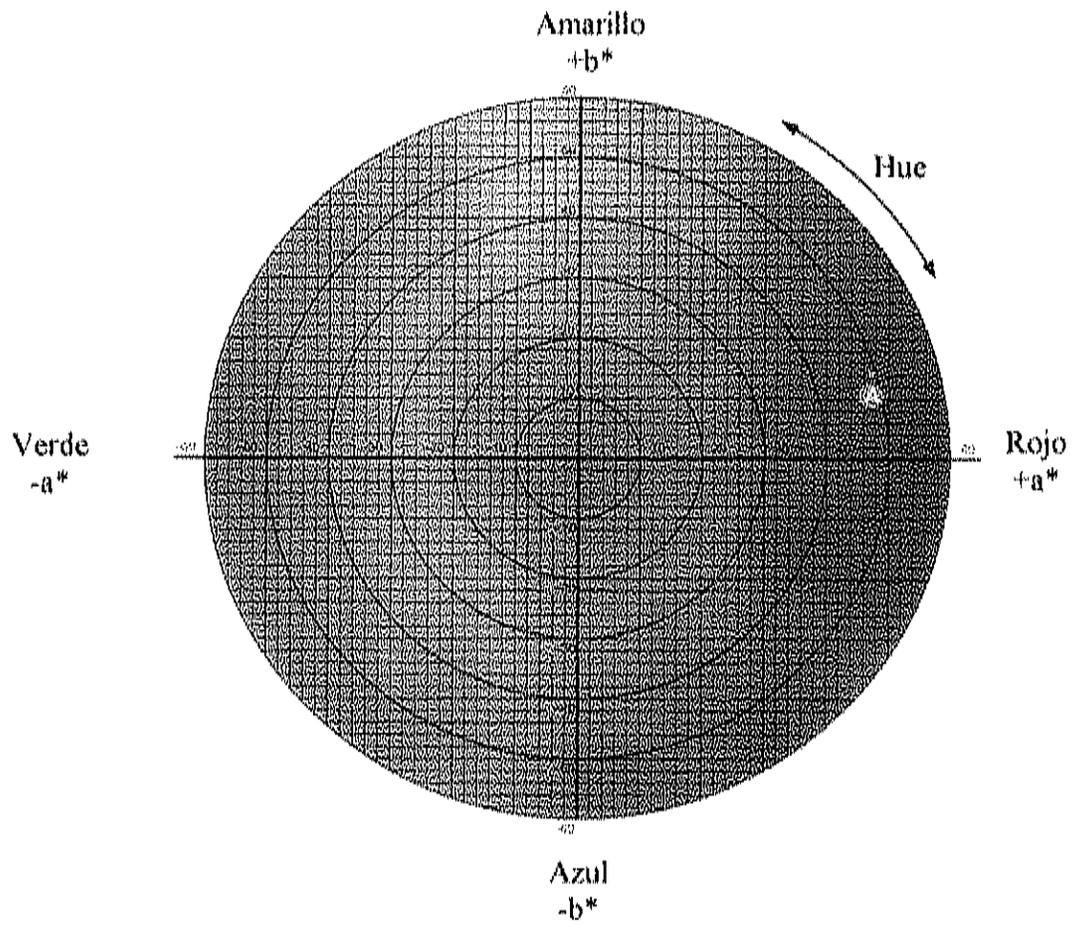


Figura 14. Sólido de color (Minolta, 1994).

—●— 21°C Constante —■— 24°C Constante —●— 28°C Constante -○- 21°C Oscilante -x- 24°C Oscilante

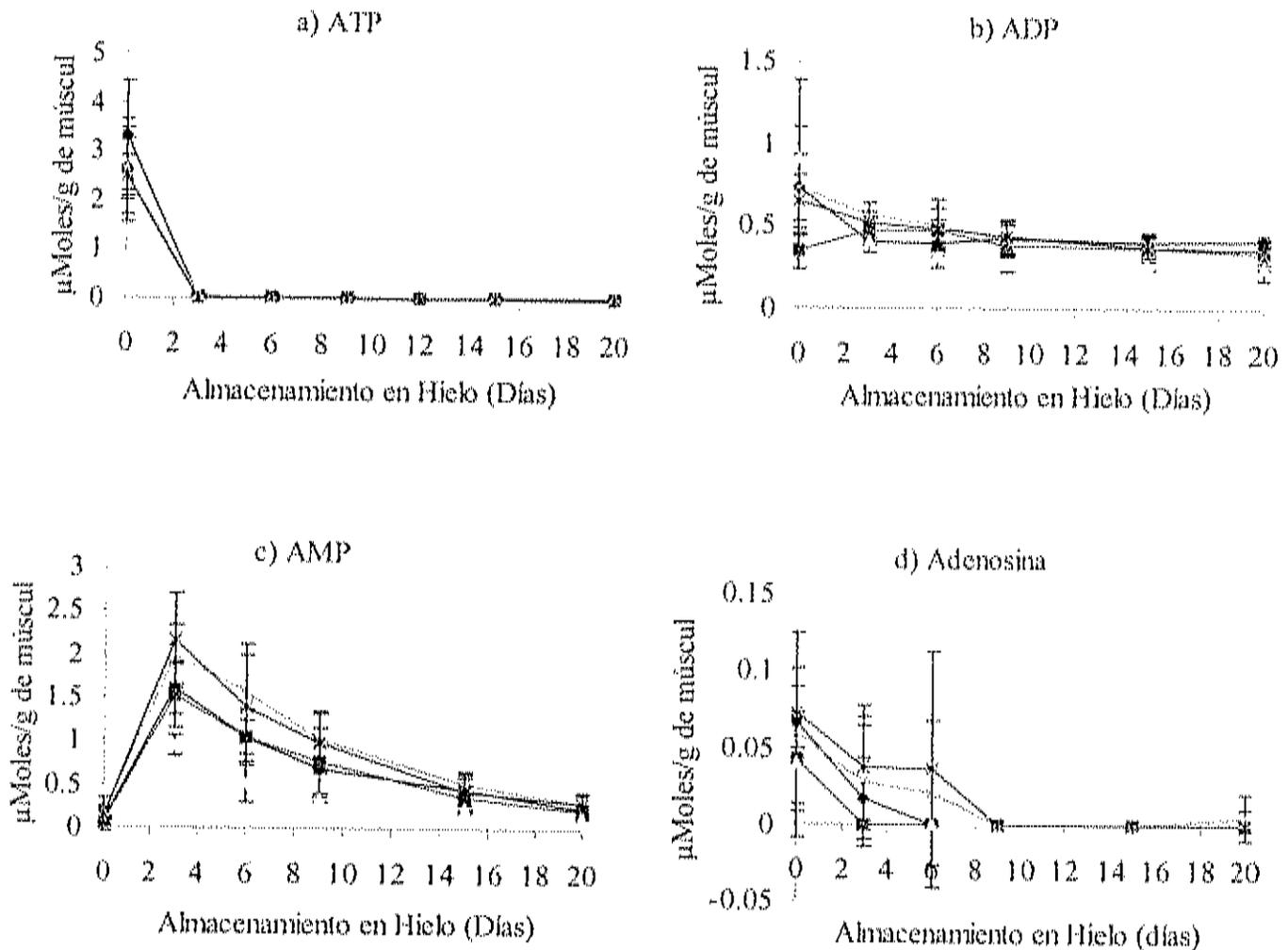


Figura 15.- Contenido de adenosina 5' trifosfato (ATP), adenosina 5' difosfato (ADP), adenosina 5' monofosfato (AMP) y adenosina en músculos abductores almacenados 20 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura. Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos.

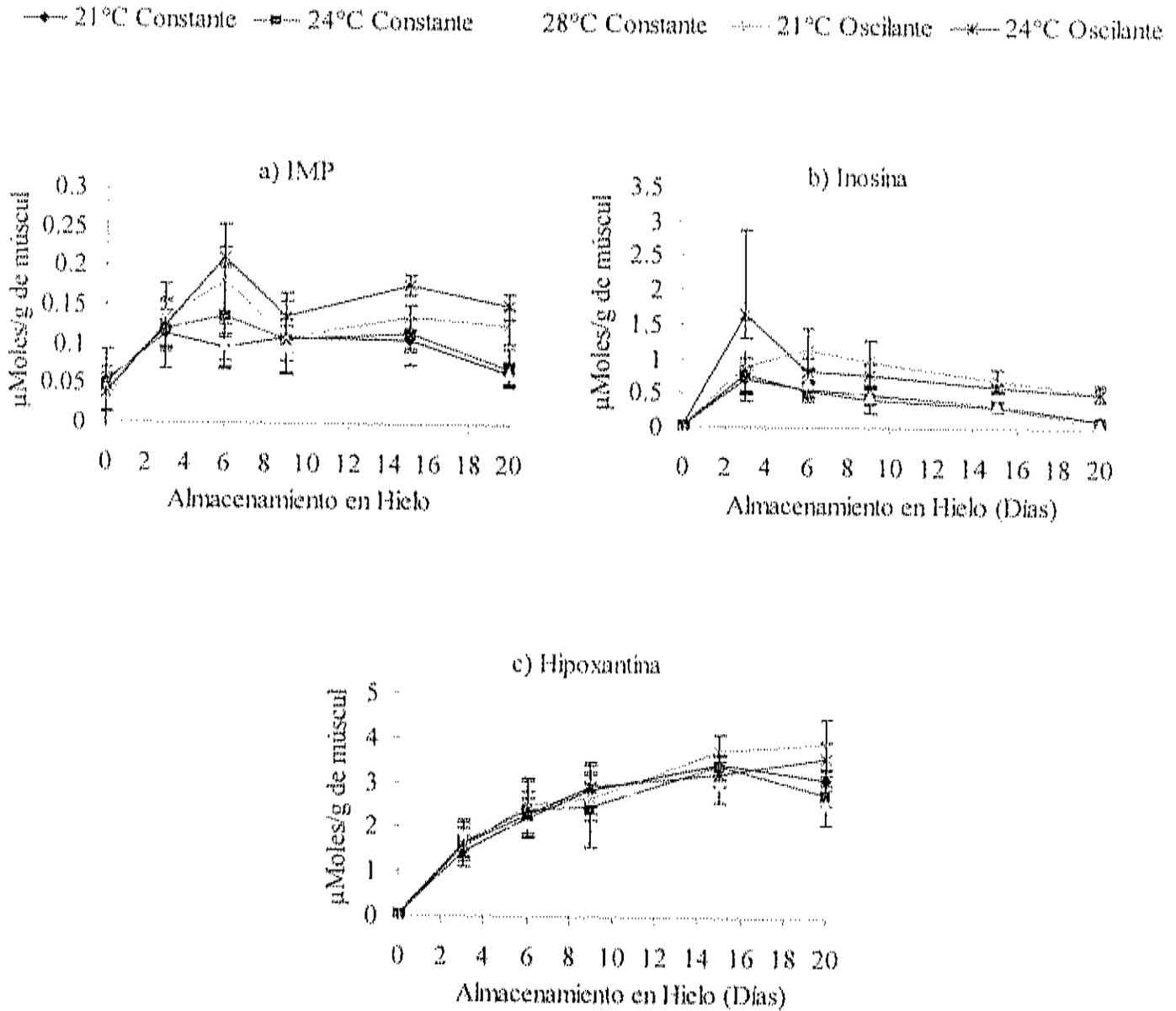


Figura 16.- Contenido de inosina 5' monofosfato (IMP), inosina e hipoxantina en músculos abductores almacenados 20 días en hielo, obtenidos de almejas mano de león

los grupos al tiempo 0 y durante el tiempo de almacenamiento en hielo (datos no tabulados). Estos resultados concuerdan con los descritos por De Vido De Mattio *et al.* (2001), quienes observaron un comportamiento similar en el músculo abductor del pectínido *Aequipecten tehuelchus*. La disminución en la sumatoria del ATP y sus productos de degradación se debió posiblemente al desove que presentaron los organismos durante la aplicación de los tratamientos térmicos, lo cual concuerda con lo descrito por De Vido De Mattio *et al.* (2001), quienes encontraron que organismos pos-desove presentaron una concentración de ATP 4 veces menor a la obtenida al inicio del ciclo reproductivo.

La concentración de los nucleótidos, nucleósidos y bases nitrogenadas de los músculos abductores provenientes de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura cambiaron significativamente ($p < 0.05$) con el tiempo de almacenamiento en hielo. Este mismo comportamiento que se ha reportado para pectínidos como *Placopecten magellanicus* (Hiltz *et. al.*, 1974), *Pecten albicans* (Wongso y Yamanaka, 1998) y organismos adultos de *Nodipecton subnodosus* (Ocaño-Higuera, 1999), es el comportamiento normal de degradación del ATP. Asimismo, las concentraciones y el comportamiento obtenido para el ATP y sus productos de degradación durante el almacenamiento en hielo de los músculos abductores provenientes de las almejas aclimatadas a los diferentes tratamientos de temperatura, son muy similares a las reportadas por Ocaño-Higuera (1999), para el músculo abductor de organismos adultos de la misma especie en estudio.

En este estudio, la concentración de ATP en el músculo abductor proveniente de las almejas aclimatadas a las diferentes condiciones térmicas, disminuyó considerable y significativamente ($p < 0.05$) hasta valores cercanos a $0 \mu\text{Mol/g}$ de músculo después de 3 días de almacenamiento en hielo, lo cual concuerda con lo observado en la literatura donde se indica que el ATP se degrada dentro de las primeras 24 horas posmortem (Haard, 1992a; Luong *et al.*, 1992; Ocaño-Higuera, 2001 y Watabe *et al.*, 1989). A los 3 días de almacenamiento en hielo, paralelamente se llevó a cabo un incremento ($p < 0.05$) en los niveles de AMP, inosina e hipoxantina. Ocaño-Higuera (1999), encontró para

almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y catarina (*Argopecten ventricosus*) que el nucleótido predominante en el músculo abductor posmortem es el AMP, lo cual concuerda con los resultados publicados por Hatae *et al* (1995) para el abulón *Haliotis discus*. La alta concentración de este compuesto se debe a una actividad reducida o no existente de la AMP deaminasa (Sagedhal *et al.*, 1997) la cual concuerda con los bajos niveles de IMP encontrados en el presente estudio. El incremento de Hx en el músculo de todos los tratamientos, sugiere que este metabolito puede ser utilizado para monitorear la reducción de frescura en este producto.

3.4.2. Índice K y TMA

La cuantificación de la concentración del ATP y sus productos de degradación hasta Hx, sirvieron de base para calcular el índice K o índice de frescura (Villegas, 1996) en el músculo abductor de almeja mano de león almacenado en hielo. Este índice se define como la relación entre la sumatoria de las concentraciones de inosina e hipoxantina y la suma total de las concentraciones del ATP y sus productos de degradación hasta Hx (Ehira y Uchiyama, 1987; Lin y Morrissey, 1994; Perez-Villarreal y Pozo, 1990; Randell *et al.* 1997; Ryder *et al.* 1984 y Vázquez-Ortiz *et al.* 1997).

En la figura 17 se muestran los porcentajes de índice K de músculos abductores de almejas mano de león almacenados 20 días en hielo, provenientes de organismos aclimatados a diferentes condiciones de temperatura. Los músculos abductores de los organismos aclimatados a la temperatura de 28°C fueron los mas afectados, debido a que estos presentaron un incremento mas pronunciado de los valores iniciales de índice K. Los altos valores de % de índice K de estos músculos podrían indicar una alta actividad de las enzimas participantes en la degradación de ATP; sin embargo, los altos porcentajes de índice K mas que deberse a lo anterior, pueden deberse al estrés generado en los organismos por esta temperatura, lo cual coincide con el alto nivel de ADP inicial obtenido para este tratamiento. Lo anterior concuerda con lo descrito en la literatura para pargo (*Pagrus auratus*) (Lowe *et al.*, 1993), esturión (*Acipenser transmontanus*) (Izquierdo-Pulido *et al.*, 1992) y salmón del atlántico (Sigholt *et al.*, 1997 y Erikson *et*

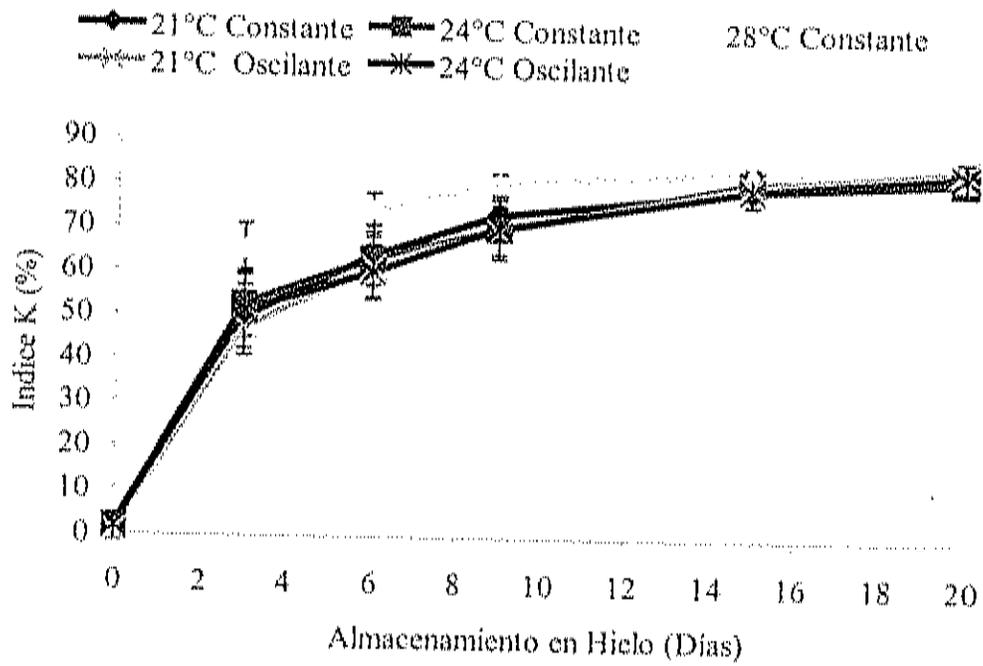


Figura 17.- Índice K de músculos abductores almacenado 20 días en hielo, provenientes de almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

al., 1997), donde se indica que organismos estresados presentan un incremento más pronunciado de índice K.

Cox y Karahadian (1998), reportaron para productos pesqueros en general una clasificación de calidad basada en el % de índice K. En ella establecieron un índice K menor al 20 %, para un producto muy fresco; un índice K entre 20 y 50%, para un producto moderadamente fresco, y un valor mayor al 70 % para un producto no fresco o con signos de deterioro. Utilizando esta clasificación, los callos de almeja mano de león del tratamiento a 28°C constante fueron de calidad no apta para su consumo después del 6to día de almacenamiento, mientras que para el resto de los músculos abductores, se presentaron valores superiores al 70% hasta el 12° día de almacenamiento en hielo. Sin embargo, dado que el comportamiento del índice K es dependiente de la especie, la clasificación descrita por Cox y Karahadian (1998), pudiera no ser aplicable a esta especie, ya que para ninguno de los casos se detectaron olores desagradables que pudieran indicar estados incipientes de deterioro.

Wongso y Yamanaka (1998), reportaron para callo de escalopa *Chlamys nobilis*, un incremento lineal del índice K hasta el 7 día de almacenamiento a 0°C, alcanzando un valor de $63 \pm 3.5\%$. En este día, los músculos abductores de la especie estudiada por estos autores presentaron olores pútridos, indicando un producto deteriorado. En el presente estudio, las evaluaciones sensoriales realizadas por el grupo de trabajo, y no por un panel entrenado o semientrenado, indicaron que para los músculos abductores del tratamiento de 28°C la aparición de olores extraños (no pútridos) se presentaron al día 15 y amoniacales al día 20 de almacenamiento en hielo, mientras que para el resto, los olores extraños se presentaron al día 20. Los resultados sugieren que los músculos abductores de las almejas mano de león aclimatadas a 28°C tuvieron una vida de anaquel de 15 días, mientras que para el resto de los lotes, esta fue de 20 días de almacenamiento en hielo. En base a lo anterior, es necesario desarrollar estudios en detalle que relacionen las características organolépticas, con indicadores microbiológicos y bioquímicos, que nos permitan definir con más precisión la vida de anaquel de estos productos bajo las condiciones experimentales del presente estudio.

De igual forma, a los músculos abductores de la almeja mano de león provenientes de las diferentes condiciones de aclimatación se les determinó el contenido de TMA, la cual se considera un indicador de deterioro bacteriano en el músculo de los productos marinos (Ryder *et al.*, 1984). Woyewoda *et al.* (1986), reportaron que las fluctuaciones estacionales tienen un efecto en la correlación entre la concentración de TMA y la calidad comestible. Estos mismos autores indicaron que los pescados capturados en verano y después del otoño, presentan una mayor velocidad de deterioro que aquellos capturados en primavera invierno.

En la tabla 14 se presentan los valores promedio de la concentración de TMA-N en los músculos abductores de almejas mano de león provenientes de organismos sometidos a diferentes condiciones de aclimatación, almacenados durante 20 días en hielo. Los valores iniciales de TMA-N obtenidos en todos los grupos de organismos, fluctuaron entre 4.1 ± 1.3 y 5.8 ± 0.5 mg TMA-N/g de músculo abductor. Estos valores fueron similares a los 4 mg reportados por Murata y Sakaguchi (1986), en el músculo abductor del ostión *Crassostrea gigas*, pero fueron superiores a los 0.4 mg TMAN/100g de músculo, reportados por Yamanaka (1989), para el músculo abductor de *Patinopecten yessoensis*, así como de los 2.64 ± 0.42 mg de TMA-N/100g de músculo abductor de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) y de los 1.33 ± 0.44 mg de TMA-N/100g de músculo abductor en almeja mano de león reportados por Ocaño-Higuera (1999). La literatura indica que estas variaciones entre los valores de TMA, se deben principalmente a las diferencias entre especies, área y época de captura (Woyewoda *et al.* 1986).

Con respecto al tiempo de almacenamiento en hielo, el contenido de TMA de los músculos abductores provenientes de los organismos aclimatados a las diferentes condiciones de temperatura presentó un incremento significativo ($p < 0.05$) con respecto al tiempo de almacenamiento, alcanzando al final de los 20 días de almacenamiento valores entre los 6.6 ± 1.3 y 9.5 ± 2.3 mg de TMA/100 g de músculo. En la misma tabla se puede observar que los organismos sometidos a la temperatura de aclimatación de 28°C , presentaron el incremento más pronunciado en la concentración de este compuesto. Sin

Tabla 14.- Concentración de TMA en músculos abductores almacenados 20 días en hielo provenientes de organismos aclimatados a diferentes condiciones de temperatura.

Lote	mg de TMA-N/100g de músculo (Días de almacenamiento en hielo)			
	0	6	12	20
21°C Contante	5.8±0.5 ^{a1}	5.4±1.5 ^{ac1}	5.5±0.9 ^{a1}	9.4±1.0 ^{ac2}
21°C Oscilante	5.1±0.8 ^{a1}	7.1±1.5 ^{bc12}	7.6±1.1 ^{ac2}	8.7±1.5 ^{ac2}
24°C Constante	4.3±1.8 ^{a1}	6.7±1.5 ^{ac1}	9.6±1.2 ^{bc2}	6.6±1.3 ^{bc12}
24°C Oscilante	4.6±1.4 ^{a1}	6.5±2.8 ^{ac1}	6.7±1.8 ^{ac1}	6.7±1.7 ^{bc1}
28°C Constante	4.1±1.3 ^{a1}	3.7±0.9 ^{a1}	-	9.5±2.3 ^{ac2}

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p > 0.05$)

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p > 0.05$).

- No medido

embargo, estos valores son menores a los 10 mg de TMA-N/100g de músculo descritos como el límite máximo permitido para productos que van a ser comercializados (Martín *et al.* 1978). Por consiguiente, estos valores indicaron que los músculos abductores fueron de calidad apta para consumo humano hasta el día 20 de almacenamiento. Sin embargo, es bien sabido que el comportamiento y la correlación del valor de TMA con la calidad del pescado es controversial, por lo que es necesario, como se describió anteriormente, desarrollar estudios en detalle que relacionen las características organolépticas, con indicadores microbiológicos y bioquímicos, que nos permitan definir con más precisión la vida de anaquel de estos productos bajo las condiciones experimentales del presente estudio.

3.5- Efecto de la temperatura sobre los compuestos relacionados con el sabor en el músculo abductor de la almeja mano de león.

Laing y Jinks (1996), definieron al sabor como la sensación generada de la integración de las señales producidas por el olor y gusto. En los mariscos (crustáceos y moluscos), los principales contribuyentes en el sabor se clasifican en componentes volátiles y no volátiles (Taylor y Linforth, 1996). De estos, los componentes no volátiles que son compuestos de bajo peso molecular solubles en agua, son los de mayor impacto en el sabor (Spurvet *et al.*, 1998).

La literatura describe que los componentes no volátiles más importantes son los aminoácidos libres, péptidos, nucleótidos, sales inorgánicas y bases cuaternarias de amonio, las cuales se han asociado al sabor distintivo de cada molusco y crustáceo (Spurvet *et al.*, 1998; Metusalach *et al.*, 2000).

Particularmente, los aminoácidos libres son los compuestos más importantes en el sabor de moluscos y crustáceos (Wongso y Yamanaka, 1996, 1998). De la tabla 15 a la 22, se presentan los valores promedios de la concentración de cada aminoácido libre en músculos abductores almacenados en hielo, obtenidos de almeja mano de león aclimatados a diferentes temperaturas. Se puede observar que la taurina, glicina y

arginina, fueron los aminoácidos libres más abundantes en el músculo abductor. Únicamente la suma de estos tres aminoácidos representó un porcentaje promedio entre el 85-90% con respecto al total de aminoácidos libres presentes. Estos valores concuerdan con lo reportado por Wongso y Yamanaka (1998, 1996), para la especie *Patinopecten yessoensis* (91%) y *Chlamys nobilis* (85%). Asimismo, se puede observar, que la concentración de taurina y alanina incrementaron significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento, mientras que arginina y glicina incrementaron al día 6 y después disminuyeron. En el caso del incremento de la arginina, esta se pudo deber a la degradación del fosfógeno arginina fosfato para producir ATP, con la consecuente acumulación de arginina, mientras que la disminución de ambos aminoácidos se puede deber a la formación de opinas como la estrombina y octopina, respectivamente (Murata y Sakaguchi, 1988; Hiltz y Dyer 1971; Simidu 1961).

En el caso de los aminoácidos libres serina, fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, valina, treonina y tirosina, se observó un ligero incremento en la concentración de estos compuestos durante el almacenamiento en hielo, mientras que las concentraciones del ácido aspártico, glutámico e histidina permanecieron constantes. El comportamiento obtenido en el presente estudio es muy similar a los descritos por Wongso y Yamanaka, (1996, 1998), para músculos abductores de otras especies de pectínidos.

La literatura reporta el marcado efecto que tienen los aminoácidos y péptidos de bajo peso molecular en la impartición de sabores dulces o amargos en alimentos. Glicina, arginina, alanina, serina y treonina imparten un sabor dulce, mientras que, leucina, valina, metionina, fenilalanina, histidina e isoleucina presentan un sabor amargo (Metusalach *et al.*, 2000; Wongso y Yamanaka 1998). En función de lo anterior y de lo descrito en la literatura, y solo considerando los aminoácidos libres, los resultados del presente estudio sugieren que en los músculos abductores predomina un mayor sabor dulce al día 6 de almacenamiento, disminuyendo posteriormente. Este adecuado y característico sabor se podría deber a la alta concentración de glicina, arginina y alanina, aminoácidos que producen un sabor dulce en los productos marinos (Wongso y

Tabla 15.- Contenido de fenilalanina e isoleucina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león acimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Fenilalanina (mg/100g de músculo)				Isoleucina (mg/100g de músculo)			
	Días de almacenamiento en hielo				Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	20	0	6	12	20
21°C Constante	4.8±0.7 ^{a2}	6.0±0.8 ^{a1}	8.5±1.3 ^{b1}	12.3±2.2 ^{c1}	3.4±0.5 ^{a1}	5.1±0.8 ^{b1}	8.4±1.0 ^{c1}	7.1±0.3 ^{c2}
21°C Oscilante	4.7±1.5 ^{a2}	7.3±2.0 ^{b1}	8.9±3.0 ^{b1}	17.6±9.3 ^{b1}	4.7±1.9 ^{a1}	6.6±1.5 ^{a1}	9.5±2.9 ^{ab2}	11.8±5.1 ^{b1,2}
24°C Constante	9.3±4.2 ^{a1,2}	20.1±4.0 ^{b2}	20.1±4.6 ^{b2}	18.4±6.5 ^{b1}	7.6±4.4 ^{a1}	16.4±3.3 ^{b2}	17.4±3.8 ^{b1}	12.8±4.6 ^{ab1}
24°C Oscilante	16.7±11.0 ^{a1}	13.5±5.7 ^{a3}	15.1±3.8 ^{a2}	22.3±12.3 ^{a1}	8.5±5.6 ^{a1}	11.9±5.2 ^{a2}	17.5±12.1 ^{a1}	19.6±9.9 ^{a1}
28°C Constante	3.1±0.7 ^{a2}	5.6±0.5 ^{a1}	-	15.2±5.9 ^{b1}	3.2±5.7 ^{a1}	5.7±0.7 ^{b1}	-	5.9±1.8 ^{b2}

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 16.- Contenido de leucina y lisina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león acimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Leucina (mg/100g de músculo)					Lisina (mg/100g de músculo)						
	Días de almacenamiento en hielo						Días de almacenamiento en hielo					
	0	6	12	20	20	0	6	12	20			
21°C Constante	4.3±0.9 ^{a1}	6.6±1.0 ^{b2}	9.8±1.3 ^{c1}	8.4±0.7 ^{bc2}	13.2±4.5 ^{a2}	7.5±1.2 ^{bc1}	11.6±1.9 ^{ac1}	12.4±0.4 ^{a1}				
21°C Oscilante	5.5±1.9 ^{a1}	8.6±1.8 ^{a2}	11.8±4.0 ^{a^{b1},2}	18.8±5.7 ^{b1,2}	10.6±6.3 ^{a2}	23.6±4.2 ^{a2}	21.8±3.1 ^{a1,3}	20.1±19.0 ^{b2}				
24°C Constante	7.1±1.1 ^{a1}	20.1±4.1 ^{b1}	20.9±4.7 ^{b2}	12.9±1.3 ^{ab1,2}	21.2±4.4 ^{a1,2}	43.0±7.7 ^{b3}	49.3±14.7 ^{b2}	24.1±8.4 ^{a1,2}				
24°C Oscilante	7.2±3.6 ^{a1}	16.9±5.6 ^{b1}	15.5±4.7 ^{b1,2}	27.4±10.8 ^{c1}	37.4±23.0 ^{a1}	38.4±15.1 ^{a3}	38.4±21.1 ^{a2,3}	48.6±21.7 ^{a2}				
28°C Constante	3.8±1.2 ^{a1}	7.2±0.7 ^{b2}	-	7.0±2.0 ^{b2}	6.3±1.8 ^{a2}	16.5±2.0 ^{b1,2}	-	27.3±4.0 ^{c1,2}				

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).

- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 17.- Contenido de metionina y valina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Metionina (mg/100g de músculo)					Valina (mg/100g de músculo)				
	Días de almacenamiento en hielo					Días de almacenamiento en hielo				
	0	6	12	20	20	0	6	12	20	
21°C Constante	3.8±1.1 ^{a1}	5.8±1.0 ^{b2}	8.1±1.6 ^{c1}	9.2±0.5 ^{c1,2}	9.2±0.5 ^{c1,2}	5.9±0.7 ^{a2}	10.1±1.8 ^{b2}	11.5±1.7 ^{b1}	11.2±1.5 ^{b1,3}	
21°C Oscilante	4.2±1.7 ^{a1}	6.3±0.7 ^{b2}	8.8±1.7 ^{b1}	8.2±3.7 ^{b1}	8.2±3.7 ^{b1}	5.9±2.3 ^{a2}	10.0±3.0 ^{ab2}	14.0±5.1 ^{b1,3}	15.6±5.9 ^{b2,3}	
24°C Constante	4.4±0.9 ^{a1}	10.6±1.9 ^{b1}	15.2±2.5 ^{c2}	12.3±2.2 ^{b1,2}	12.3±2.2 ^{b1,2}	10.4±2.6 ^{a1,2}	25.8±5.2 ^{b1}	26.8±8.3 ^{b2}	27.7±8.5 ^{b1}	
24°C Oscilante	5.5±2.1 ^{a1}	7.7±1.8 ^{ab2}	10.5±2.7 ^{b1}	12.5±2.0 ^{c2}	12.5±2.0 ^{c2}	13.0±6.9 ^{a1}	23.8±8.0 ^{ab1}	23.4±5.4 ^{ab1,3}	36.4±15.7 ^{b1,3}	
28°C Constante	3.6±1.2 ^{a1}	6.2±0.2 ^{b2}	-	8.4±1.0 ^{c1,2}	8.4±1.0 ^{c1,2}	4.8±1.6 ^{a2}	8.5±0.9 ^{b2}	-	9.1±1.2 ^{b2}	

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 18.- Contenido de alanina y tirosina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de León aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Alanina (mg/100g de músculo)					tirosina (mg/100g de músculo)				
	Días de almacenamiento en hielo					Días de almacenamiento en hielo				
	0	6	12	20	0	6	12	20		
21°C Constante	1.4±6.15 ^{a2}	45.5±7.7 ^{b1}	41.3±8.2 ^{b1}	35.6±1.8 ^{b2}	7.2±1.8 ^{a2}	8.2±1.4 ^{a1}	12.1±1.6 ^{b1}	10.1±1.4 ^{ab2}		
21°C Oscilante	22.4±10.5 ^{a2}	48.0±15.7 ^{b1}	49.5±8.1 ^{b1}	55.4±8.1 ^{b1,2}	7.8±2.0 ^{a2}	12.3±2.6 ^{a1}	13.2±5.1 ^{a1,2}	22.7±9.0 ^{b1,2}		
24°C Constante	22.66±4.2 ^{a2}	71.6±14.0 ^{b2}	69.7±13.9 ^{b2}	64.0±6.1 ^{b1,2}	11.7±2.7 ^{a1,2}	32.0±5.6 ^{b3}	29.1±6.9 ^{b2}	32.7±14.1 ^{b1}		
24°C Oscilante	43.3±21.3 ^{a1}	64.5±12.4 ^{b1,2}	60.0±14.9 ^{ab} _{1,2}	74.5±22.4 ^{b1}	18.9±8.2 ^{a1}	21.6±8.0 ^{a2}	21.7±6.9 ^{b1,2}	23.6±11.0 ^{a1,2}		
28°C Constante	32.1±6.0 ^{a1,2}	49.4±5.4 ^{b1}	-	47.5±12.0 ^{b2}	10.8±2.9 ^{a2}	8.4±1.1 ^{a1}	-	7.0±1.5 ^{a2}		

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 19.- Contenido de treonina y taurina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de León acimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Treonina (mg/100g de músculo)					Taurina (mg/100g de músculo)				
	Días de almacenamiento en hielo					Días de almacenamiento en hielo				
	0	6	12	20	20	0	6	12	20	
21°C Constante	12.6±2.8 ^{a1}	19.6±4.1 ^{b1}	23.4±2.7 ^{b1}	21.4±5.1 ^{b2,3}	21.4±5.1 ^{b2,3}	891.0±113.6 ^{a2,3}	1013.4±139.3 ^{a1}	1124.1±299.0 ^{a1}	1124.8±92.7 ^{a1,2}	
21°C Oscilante	13.6±3.7 ^{a1}	20.5±6.1 ^{ab1}	25.0±6.6 ^{b1}	27.0±5.3 ^{b1}	27.0±5.3 ^{b1}	890.6±203.1 ^{a2,3}	1099.0±152.8 ^{a1}	1659.1±279.7 ^{b2}	1520.6±91.6 ^{b2}	
24°C Constante	16.9±3.2 ^{a1}	48.2±7.5 ^{b2}	49.9±10.7 ^{b2}	38.8±1.5 ^{b2,3}	38.8±1.5 ^{b2,3}	706.6±118.7 ^{a3}	1445.3±261.0 ^{b2}	1730.2±366.0 ^{b2}	1416.9±191.0 ^{b2,3}	
24°C Oscilante	31.7±22.2 ^{a1}	37.8±11.7 ^{a2}	35.1±11.2 ^{a1,2}	55.7±16.2 ^{a1}	55.7±16.2 ^{a1}	990.0±123.6 ^{a2}	1573.4±273.0 ^{b2}	1605.7±137.7 ^{b2}	1541.5±187.5 ^{b3}	
28°C Constante	27.4±10.7 ^{a1}	20.0±3.9 ^{ab1}	-	13.5±2.6 ^{b2}	13.5±2.6 ^{b2}	1311.8±272.2 ^{a1}	1321.3±158.2 ^{a1,2}	-	1105.8±158.0 ^{a1}	

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).
Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 20.- Contenido de Arginina y glicina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león acimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Arginina (mg/100g de músculo)					Glicina (mg/100g de músculo)				
	Días de almacenamiento en hielo					Días de almacenamiento en hielo				
	0	6	12	20	20	0	6	12	20	
21°C Constante	415.4±31.8 ^{a1}	629.0±89.1 ^{b2}	655.9±131.0 ^{b1}	586.6±61.4 ^{b2,3}	496.0±143.8 ^{a1,3}	870.8±146.1 ^{b1}	681.2±130.7 ^{a1}	589.1±57.9 ^{a1,3}		
21°C Oscilante	324.7±75.9 ^{a1}	687.6±630.2 ^{b1,2}	644.4±82.2 ^{b1}	415.4±31.8 ^{b3}	607.5±244.8 ^{a1,3}	803.7±152.4 ^{a1}	783.2±110.7 ^{a1}	663.9±68.3 ^{a2,3}		
24°C Constante	294.8±64.5 ^{a1}	743.5±125.4 ^{b1,2}	704.5±68.6 ^{b1}	681.2±120.5 ^{b3}	271.0±176.0 ^{a1}	696.6±101.4 ^{b1}	640.8±121.8 ^{b1}	612.7±30.5 ^{b1,2}		
24°C Oscilante	428.0±97.8 ^{a1}	833.0±170.7 ^{b1,2}	963.1±94.2 ^{b2}	856.8±105.7 ^{b1}	665.1±13.3 ^{a2,3}	838.1±144.7 ^{a1}	843.2±124.2 ^{a1}	760.9±112.7 ^{a2,3}		
28°C Constante	670.3±143.5 ^{a2}	556.1±81.9 ^{b1}	-	412.7±50.1 ^{b2}	819.5±132.4 ^{a2,3}	780.2±153.5 ^{a1}	-	453.4±63.3 ^{b1}		

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).
Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 21.- Contenido de serina e histidina en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Serina (mg/100g de músculo)				Histidina (mg/100g de músculo)			
	Días de almacenamiento en hielo				Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	20	0	6	12	20
21°C Constante	27.8±9.5 ^{a1,3}	21.6±5.2 ^{a2}	32.5±7.9 ^{a1}	27.6±5.7 ^{a1,3}	19.6±6.9 ^{a1}	15.7±3.2 ^{ab1}	12.3±2.4 ^{ab3}	7.2±2.2 ^{a1,2}
21°C Oscilante	18.3±7.8 ^{a1}	32.0±8.5 ^{ab2}	41.7±12.0 ^{bc1}	52.0±7.8 ^{c1,2}	27.6±15.8 ^{a1}	30.2±7.5 ^{a2}	10.3±2.1 ^{b3}	26.2±5.9 ^{a2,3}
24°C Constante	54.4±14.4 ^{a2}	127.3±28.0 ^{b1}	104.1±32.7 ^{b2}	118.8±26.3 ^{b2,3}	26.9±5.5 ^{a1}	52.2±10.2 ^{b1}	42.7±8.5 ^{bc1}	34.6±9.2 ^{ab3}
24°C Oscilante	43.4±16.9 ^{a2,3}	87.5±47.2 ^{a1}	67.5±32.9 ^{a1,2}	131.3±74.5 ^{a2}	29.2±8.8 ^{a1}	34.7±11.3 ^{a2}	29.0±10.7 ^{a2}	40.2±14.3 ^{a3}
28°C Constante	29.1±7.7 ^{a1,3}	18.1±3.0 ^{b2}	-	21.2±7.5 ^{ab1}	20.6±5.8 ^{a1}	6.3±1.0 ^{b3}	-	12.2±5.1 ^{b1}

Los valores son la media y la desviación estandar de 6 organismos (n=6).

- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Tabla 22.- Contenido de ácido aspártico y glutámico en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Ácido aspártico (mg/100g de músculo)					Ácido glutámico (mg/100g de músculo)				
	Días de almacenamiento en hielo					Días de almacenamiento en hielo				
	0	6	12	20	20	0	6	12	20	
21°C Constante	22.9±10.8 ^{a1}	30.0±3.4 ^{a1,2}	25.1±9.2 ^{a1}	16.4±0.9 ^{a2,3}	28.3±10.7 ^{a1}	54.6±6.1 ^{b1}	26.3±7.7 ^{a1}	13.3±4.1 ^{a1}		
21°C Oscilante	20.5±5.0 ^{a1}	15.3±2.5 ^{a1}	24.6±6.3 ^{ab1}	42.5±11.5 ^{b2,3}	23.1±5.3 ^{a1}	29.6±5.8 ^{a2}	24.8±27.6 ^{a1}	27.6±5.1 ^{a2}		
24°C Constante	33.4±4.8 ^{a1,2}	47.5±10.4 ^{a2}	59.5±13.5 ^{ab2}	73.0±7.5 ^{b1}	44.4±7.6 ^{a2,3}	62.9±8.1 ^{b1}	47.4±10.5 ^{ab2}	34.5±40.1 ^{ac2}		
24°C Oscilante	60.4±34.0 ^{a2}	44.1±22.4 ^{a2}	45.2±15.2 ^{a2}	59.8±24.6 ^{a1,3}	40.1±10.5 ^{ab2,3}	38.4±4.9 ^{ab2}	44.±11.1 ^{a2}	28.8±6.7 ^{b2}		
28°C Constante	53.0±9.8 ^{a2}	13.8±2.0 ^{a1}	-	10.4±2.3 ^{b2}	48.3±6.8 ^{a2,3}	30.6±10.1 ^{b2}	-	110.10±2.8 ^{a1}		

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Yamanaka 1998; Kato *et al.* 1989). Sin embargo, para corroborar lo anterior es necesario desarrollar estudios que incluyan evaluaciones sensoriales.

Los resultados del presente estudio indicaron, en forma general, que para cada uno de los aminoácidos se encontró una concentración mayor en los organismos aclimatados a 24°C que aquellos aclimatados a 21 y 28°C. Considerando la abundancia de los aminoácidos glicina, arginina y alanina, se puede inferir un mejor sabor en los músculos abductores provenientes de la aclimatación a 24°C.

La literatura indica que el contenido de aminoácidos libres es mas alto en especies acuáticas que en los organismos terrestres (Metusalach *et al.*, 2000). En el presente estudio, el contenido total de aminoácidos libres en los músculos abductores provenientes de organismos sometidos a diferentes temperaturas de aclimatación, fue menor a los obtenidos antes y después del transporte (tabla 23). En función de lo anterior y considerando que los niveles de glicina, ácido glutámico y alanina, disminuyeron considerablemente después de la aclimatación, muy posiblemente los músculos abductores después de la aclimatación posean un menor sabor, el cual es necesario corroborar con estudios posteriores.

La disminución en el contenido de aminoácidos libres después de la aclimatación de los organismos con respecto a los valores iniciales, se puede deber al desove que presentaron los organismos durante el experimento, lo cual involucra un gran gasto energético y empleo de biomoléculas durante la maduración gonadal. De igual forma, se puede deber al efecto producido por el cautiverio de estos organismos, lo cual coincide con lo descrito por Metusalach *et al.* (2000), quienes indicaron que los pescados cultivados tienden a contener menos aminoácidos libres que su contraparte silvestre. Hatae *et al.* (2000), reportaron un contenido de aminoácidos libres de 3150 µg/g en el músculo de salmón cultivado, valor inferior al obtenido para salmón silvestre de 4390 µg/g de músculo

Otro compuesto de gran importancia en el sabor de los moluscos son los nucleótidos y compuestos relacionados, los cuales producen un sabor palatable conocido como umami. En el músculo vivo predomina el ATP; sin embargo, después de la muerte

Tabla 23.- Suma de aminoácidos primarios libres en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Suma de aminoácidos (mg/100g de músculo)			
	Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	20
21°C Constante	1958.6±260.7	2748.06±273.0	2696.4±579.9	2489.1±171.2
21°C Oscilante	2167.6±510.6	2830.6±346.9	3348.9±268.8	3257.7±253.1
24°C Constante	1535.8±249.1	3299.9±288.3	3391.77±107.2	3066.8±156.0
24°C Oscilante	2550.4±466.7	3555.3±582.5	3709.3±403.5	3335.5±88.4
28°C Constante	3097.5±752.3	2841.3±285.1	-	2268.9±402.6

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Tabla 23.- Suma de aminoácidos primarios libres en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Suma de aminoácidos (mg/100g de músculo)			
	Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	20
21°C Constante	1958.6±260.7	2748.06±273.0	2696.4±579.9	2489.1±171.2
21°C Oscilante	2167.6±510.6	2830.6±346.9	3348.9±268.8	3257.7±253.1
24°C Constante	1535.8±249.1	3299.9±288.3	3391.77±107.2	3066.8±156.0
24°C Oscilante	2550.4±466.7	3555.3±582.5	3709.3±403.5	3335.5±88.4
28°C Constante	3097.5±752.3	2841.3±285.1	-	2268.9±402.6

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).
- no medido.

Tabla 23.- Suma de aminoácidos primarios libres en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Suma de aminoácidos (mg/100g de músculo)			
	Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	20
21°C Constante	1958.6±260.7	2748.06±273.0	2696.4±579.9	2489.1±171.2
21°C Oscilante	2167.6±510.6	2830.6±346.9	3348.9±268.8	3257.7±253.1
24°C Constante	1535.8±249.1	3299.9±288.3	3391.77±107.2	3066.8±156.0
24°C Oscilante	2550.4±466.7	3555.3±582.5	3709.3±403.5	3335.5±88.4
28°C Constante	3097.5±752.3	2841.3±285.1	-	2268.9±402.6

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).

- no medido.

del organismo, éste compuesto se degrada enzimáticamente a hipoxantina y ribosa, de acuerdo a la vía de degradación descrita anteriormente. Durante esta degradación, el músculo de pescado acumula IMP, mientras que el de los moluscos acumula AMP, debido a la lenta actividad de la IMP y AMP deaminasa, respectivamente (Spurvey *et al.*, 1998).

La literatura indica que el IMP y al AMP son los responsables del sabor placentero de los productos marinos frescos (Church, 1998; Kassemam *et al.*, 1963; Sagedhal *et al.*, 1997); mientras que la HxR e Hx son los compuestos responsables del sabor amargo (Sagedhal *et al.*, 1997 y Spurvey *et al.*, 1998). En el caso del AMP, la literatura indica que no tiene sabor, y que el sabor a umami que produce se debe al sinergismo con el ácido glutámico. En el presente estudio, se encontró una alta acumulación de AMP al 6 día de almacenamiento, el cual posteriormente disminuyó con el tiempo de almacenamiento con el consecuente incremento de la concentración de hipoxantina. Lo anterior indicó que posiblemente los músculos abductores de todos los tratamientos tuvieron un mejor sabor durante los primeros 6 días de almacenamiento en hielo, lo cual concuerda con el comportamiento descrito anteriormente en los aminoácidos.

Finalmente, se evaluó el contenido de carbohidratos libres en el músculo abductor de la almeja mano de león durante el almacenamiento en hielo de los mismos. En la tabla 24 se presentan los resultados obtenidos para esta determinación en el músculo abductor de organismos de almeja mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura. En esta se puede observar que el contenido de carbohidratos no fue superior a los 12.0 ± 1.3 mg/g de músculo para los diferentes grupos de organismos sometidos a diferentes condiciones de aclimatación. Estos valores son superiores a los descritos por Hayashi *et al.* (1979), para el músculo de cangrejo y de los reportados por Spurvey *et al.* (1998) para almeja y pepino de mar.

Durante el almacenamiento en hielo la concentración de los carbohidratos libres en el músculo abductor se incrementó significativamente ($p < 0.05$), obteniendo un marcado incremento al día 6 de almacenamiento. Este mismo comportamiento que fue

Tabla 2.4.- Contenido de carbohidratos libres en el músculo abductor almacenado 20 días en hielo proveniente de almejas mano de león aclimatadas a diferentes condiciones de temperatura.

Lotes	Contenido de Carbohidratos libres (mg/g)			
	Días de almacenamiento en hielo			
	0	6	12	20
21°C Constante	4.4±1.1 ^{a2} (2.5-5.5)	8.4±0.6 ^{b2,4} (7.5-9.1)	7.6±1.1 ^{b1} (5.9-8.7)	5.0±0.6 ^{b1,2} (3.9-5.5)
21°C Oscilante	3.5±0.7 ^{a2} (2.5-4.4)	9.9±2.0 ^{b3,4} (7.4-13.0)	10.7±1.0 ^{b3} (8.9-11.9)	9.6±1.3 ^{b3} (8.0-11.5)
24°C Constante	1.0±0.7 ^{a1} (0.1-2.2)	3.4±0.5 ^{b1} (2.8-4.3)	3.9±0.5 ^{b2} (3.5-4.6)	3.1±0.7 ^{b1} (2.5-4.3)
24°C Oscilante	3.4±0.4 ^{a2} (0.6-2.9)	12.0±1.3 ^{b2} (9.9-13.4)	10.9±1.4 ^{b3} (9.7-13.5)	10.5±1.8 ^{b3} (8.3-13.2)
28°C Constante	0.9±1.0 ^{a1} (0.00-2.2)	7.3±1.1 ^{b1} (5.7-8.5)		5.8±0.4 ^{b2} (5.3-6.4)

Los valores son la media y la desviación estándar de 6 organismos (n=6).

Los valores entre paréntesis representan los valores mínimos y máximos obtenidos de cada determinación.

- No medido.

Valores dentro de la columna con la misma letra son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

Valores dentro de la fila con el mismo número son estadísticamente iguales ($p>0.05$).

descrito por Wongso y Yamanaka (1998) para la escalopa *Pecten albicans*, se atribuye a la degradación del glucógeno durante los primeros días de almacenamiento, con la consecuente acumulación de glucosa.

En función de los resultados obtenidos, se puede inferir que los organismos sometidos a una temperatura de aclimatación de 21°C tienen el mejor sabor; sin embargo, esto no concuerda con lo obtenido para aminoácidos libres, donde se infirió que los músculos abductores provenientes de la temperatura de aclimatación a 24°C podrían ser los de mejor sabor. Sin embargo, dado que la literatura indica que las concentraciones de azúcares libres en el músculo de pescados, moluscos y crustáceos son bajas, este hecho no tiene relevancia debido al bajo impacto que tienen los carbohidratos libres en el sabor.

4. Relación entre el estado fisiológico de la almeja mano de león con la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel de sus callos.

En el presente estudio, inicialmente se planteó relacionar cada uno de los indicadores fisiológicos propuestos (índice de rendimiento muscular, carga energética adenilada y contenido de glucógeno) con la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor. Sin embargo, debido a que como se describió anteriormente, los indicadores IRM y CEA no se afectaron significativamente ($p > 0.05$) por la temperatura de aclimatación ni por su forma de aplicación (oscilante y constante), éstos no pueden ser utilizados para relacionar las dos áreas de estudio anteriormente señaladas, ya que lo anterior indicó que los organismos presentaron la misma condición fisiológica.

A pesar de que en los índices anteriormente descritos no se encontraron variaciones fisiológicas, en el contenido de glucógeno si se encontró un afectó significativo ($p < 0.05$) del nivel de temperatura, sin embargo, el comportamiento de los valores de glucógeno con respecto a la temperatura de aclimatación no correlacionaron (-0.043, $p = 0.81$) con la determinación del índice K, que es la determinación mas importante de calidad en el presente estudio. Esta falta de correlación que se pudo deber

a los bajos valores de glucógeno obtenidos en comparación a los organismos iniciales, y a la pequeña variación entre ellos con respecto a la temperatura, mostró que con este indicador no existe relación entre ambas áreas de estudio.

De acuerdo a los resultados obtenidos por los tres indicadores propuestos en el presente estudio, se determinó que bajo las condiciones experimentales manejadas no existe relación entre la fisiología del organismo y la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel de su músculo abductor. De tal forma que para poder establecer la relación es necesario: 1) ampliar los rangos de temperatura que permitan generar variaciones en la condición fisiológica y/o 2) proponer indicadores fisiológicos más sensibles.

CONCLUSIONES

El tipo de temperatura aplicada (constante u oscilante) no afectó a los indicadores fisiológicos de los organismos, ni a la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor; sin embargo, el nivel en que ésta se aplicó, si afectó la fisiología y la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor, siendo los organismos aclimatados a una temperatura de 28°C (constante) los mas afectados.

Entre los organismos sometidos a las temperaturas de 21 y 24°C no se encontraron diferencias significativas entre los indicadores fisiológicos, bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel, por lo que los organismos pueden ser cosechados entre estas temperaturas sin presentar cambios en la condición fisiológica, bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor.

Por otra parte, las condiciones de aclimatación empleadas en el experimento resultaron ser eficientes medios motivadores para el desove de los organismos. Por consiguiente, las presentes condiciones experimentales representan una alternativa viable para utilizarse en el desove de reproductores sin la necesidad de utilizar hormonas o químicos.

La disminución en la concentración de ATP y productos de degradación, así como de aminoácidos libres, carbohiratos totales y libres, obtenida en los organismos después de la aplicación de los tratamientos motiva a nuevas investigaciones que determinen la alimentación óptima, el efecto del desove sobre estos metabolitos e indicadores y el porque de la precocidad de estos organismos que la literatura manifiesta como juveniles.

Finalmente, se encontró que con el método de transporte empleado en el presente experimento, se pueden transportar grandes volúmenes de organismos con una alta eficiencia, lo cual favorece el mercadeo de organismos vivos y el acceso a organismos de buena condiciones fisiológica con fines experimentales.

BIBLIOGRAFÍA

- Aitken, A. 1988. TVB - A quality index ?. INFOFISH International 3:43.
- Andersen, U.B., Thomassen, M.S. y Rora, A.M.B. 1997. Texture properties of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects of diet, muscle fat content and time of storage in ice. J. Sci. Food Agric. 74(3): 347-353.
- Ando, M. 1999. Correspondence of collagen to the softening of fish meat during refrigeration. pp: 69-79. Ed. Kenji Sato, Morihiko Sakaguchi and Allan Bremner. In: Extracellularmatrix of Fish and Shellfish.
- Ando, M., Ando, M. Tsukamasa, Y., Makinodan, Y. y Miyoshi, M. 1999. Muscle firmness and structure of raw and cooked arrow squid mantle as affected by freshness. J. Food Sci. 64(4): 659-662.
- Ansell, A.D. 1974. Seasonal changes in biochemical composition of the bivalve *Chlamys septemradiata* from the Clyde Sea area. Mar. Biol. 25: 85-99.
- AOAC. 1993. Official Methods of Análisis of the Association of Official Analytical Chemist, 15th ed. Arlington Virginia, USA. Vol II. Asociation of Official Analytical Chemist.
- APEC. 1999. Air shipment of live and fresh fish and seafood guidelines. A Manual on preparing, packaging and packing live and fresh fish & seafood air shipments along with customs and inspection guidelines for six APEC member economies. APEC Fisheries Working Group. Singapore. ISBN # 0-9669316-0-2. 190 p.
- Ashie, I. N. A., Smith, J. P. y Simpson. B. K. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Crit. Rev. Food Sci. Nut. 36(1, 2): 87-121.
- Baduí, D. S. 1982. Proteínas. pp. 105-158. En: Química de los Alimentos. Alhambra, S.A. México.
- Baldwin, J. y Hoehachka, P. W. 1970. Functional significance of isoenzymes in thermal acclimation: acetylcholinesterase from trout brain. Biochem. J 116 (5): 883-887.
- Barbeau, M. A., Hatcher, B. G., Scheibling, R. E., Henningar, A. W., Taylor, L. H. y Risk, A. C. 1996. Dynamics of juvenile sea scallop (*Placopecten magellanicus*) and their predators in bottom seeding trials in Lunenburg Bay, Nova Scotia. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53: 2494-2512.
- Bartholomew, G. 1982. Body temperature and energy metabolism. pp. 333-406. En: Gordon, M.S. (ed.). "Animal physiology. Principles and Adaptations", Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. N.Y. USA:
- Bayne, B. L., Bayne, J., carefoot, T. C. y Thompson, R. J. 1975. The physiological ecology of *Mytilus californianus* Conrad.2. Adaptations to exposure to air. Oecologia, 22: 211-228.
- Beljaars, P., Van Dijk, R. Jonker, K. M. y Schout. L. J. 1998. Liquid chromatographic determination of histamine in fish, sauerkraut, and wine: Interlaboratory study. J. AOAC International 81(5): 991-998.
- Beltrán, J.A., Jaime, I., Santolaria, P., Sañudo, C., Albertí, P. y Roncalés, P. 1997. Effect of stress-induced high post-mortem pH on protease activity and tenderness of beef. Meat Sci. 45(2): 201-207.

- Beninger, P. y Lepennee, M. 1991. Functional Anatomy of Scallops. In "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture". Developments in Aquaculture and Fisheries Science. S. Shumway (Ed). Elsevier Sci. Publishing Co. Inc. Amsterdam, Holanda. 21: 133-223.
- Botta, J., Lauder, J. T. y Jewer, M. A. 1984. Effect of methodology on total volatile basic nitrogen (TVB-N) determination as an index of quality of fresh atlantic cod (*Gadus morhua*) J. Food Sci. 49(3):734-736, 750.
- Boyden, C.R. 1972. The behaviour, survival and respiration of the cockles *Cerastoderma edule* and *C. Galucum* in air. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 52: 661-680.
- Boyle, J. L., Lindsay, R. C. y Struiber, D. A. 1991. Adenine nucleotide degradation in modified atmosphere chill-stored fresh fish. J. Food Sci. 56(5): 1267-1270.
- Bragadóttir, M., Pálmadóttir, H. y Kristbergsson, K. 2002. Seasonal changes in chemical composition and quality parameters in capelin (*Mallotus villosus*). J. Aq. Food Prod. Technol. 11(3/4): 87-103.
- Brökordt, K.B., Himmelman, J.H., Nusetti, O. A. y Guderley, H.E. 2000. Reproductive investment reduces recuperation from exhaustive escape activity in the tropical scallop *Euvola zizac*. Marine Biology. 137: 857-865.
- Comely, e.a. 1974. Seasonal variations in the flesh weights and biochemical content of the scallop *Pecten maximus* (L.) in the Clyde Sea Area. J. Cons. Int. Explor. Mer. 35: 281-295.
- Cox, D. H. y Karahadian. C. 1998. Evaluation of microbial counts, nucleotide degradation, and sensory attributes of cultured and wild yellow perch (*Perca flavescens*) during refrigerated storage. J. Aq. Food Prod. Technol. 7(1): 5-26.
- Chang, G. W., Chang, W. L. y Lew, K. B. K. 1976. A research note: trimethylamine-specific electrode for fish quality control. J. Food Sci. 41(4): 723-724.
- Chanler, P. 1991. The structure and function of scallop adductor muscle. In "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture". Developments in Aquaculture and Fisheries Science. S. Shumway (Ed). Elsevier Sci. Publishing Co. Inc. Amsterdam, Holanda. 21: 225-304.
- Chestel, J. C. y Chestel, H. 1976. Carne y pescado. pp. 65-97. En: Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los alimentos. Vol. I. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- Cheng, C. H. C. 1998. Evolution of the of the diverse antifreeze proteins. Curr. Opin. Genet. Dev. 8: 715-720.
- Cheng, C. S., Hamann, D. D. y Webb, N. B. 1979. Effect of species and storage time on minced fish gel texture. J. Food Sci. 44: 1087-1092.
- Church, N. 1998. MAP fish and crustaceans~sensory enhancement. Food Sci. Technol. Today 12 (2): 73-83.
- Chung, H. Y., Shing, Y. I. y Joo-Shim, K. 2001. Comparison of volatile components in dried scallops (*Chlamys farreri* and *Patinopecten yessoensis*) prepared by boiling and steaming methods. J. Agric. Food Chem. 49: 192-202.
- Dahlhoff, E. y Somero, Y. 1993. Kinetic and structural adaptations of cytoplasmic malate dehydrogenases of easterb Pacific abalones (genus *Haliotis*) from different thermal habitats: biochemical correlates off biogeographical patterning. J. Exp. Biol. 185: 137-150.

- De Vido De Mattio, N. A. Paredi, M.E. y Crupkin, M. 2001. Influence of the gonadal cycle and food availability on postmortem changes in glycogen, adenosine triphosphate, hypoxanthine, and the 260/250 absorbance ratio in adductor muscle from scallop *Aequipecten tehuelchus* (D'Orbigny, 1846). *J. Shellfish Res.* 20(1): 111-115.
- DeVries, A. L. 1971. Glycoproteins as biological antifreeze agents in Antarctic fishes. *Science*. 172: 152-155.
- DeVries, A. L. 1982. Biological antifreezeagents in coldwater fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* 73: 627-640.
- Domínguez G. T. y Gutiérrez. V. 1993. Elaboración y evaluación de la estabilidad de salchichas ahumadas de tilapia. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora. Hermosillo, Son., México. 142 p.
- Dondero, M., Curotto, E. y Figueroa, V. 2002. Transglutaminase effects on gelation of jack mackerel surimi (*Trachurus murphyi*). *Food Sci. Tech. Int.* 8(1): 49-54.
- Dore, I. 1991. Scallops. pp. 131-173. En: *Shellfish. A Guide to Oysters, Mussels, Scallops, Clams and Similar Products for the Commercial User*. Ed. Van Nostrand Reinhold. N. Y. USA.
- Dyer, W. J. y Dingle. J. R. 1961. Fish proteins with special reference to freezing. pp. 275-327. En: G. Borgstrom (Ed.). *Fish as Food. Vol I. Production, Biochemistry and Microbiology*. Academic Press. N.Y. USA.
- Eerola, H., Roig Sagués, A. X. y Hirvi, T. K. 1998. Biogenic amines in finfish dry sausages. *J. Food Safety.* 18(2): 127-138.
- Ehira, S. y Uchiyama. H. 1987. Determination of fish freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. pp. 198-207. En: D. E. Kramer, J. Liston (Eds.). *Seafood Quality Determination. Proceedings of an International Symposium Coordinated by the University of Alaska Sea Grant College Program, Anchorage, Alask. USA., 10-14 November 1986*. Ed. Elsevier Science Publisher B. V. Holanda.
- Erikson, U., Sigholt, T. y Seland, A. 1997. Handling stress and water quality during live transportation and slaughter of atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture.* 149: 243-252.
- Farber, L. 1965. Freshness test. pp 65-125. En: G. Brogstrom (Ed.). *Fish as Food. Vol IV. Processing Part 2*. Ed. Academic Press Inc. N. Y. USA.
- Farkas, T. 1979. Adaptation of fatty acid compositions to temperatura – A study on planktonic crustaceans. *Comp. Biochem. Physiol.* 64B: 71-73.
- Felix-Pico. 1991. México. pp. 943-980. In "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture". *Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol. 21*. Editor Shumway, S. Ed. Elsevier Science Publisher, B.V. NY, USA.
- Fennema, O. 1990. Comparative water holding properties of various muscle foods. *J. Muscle Food.* 1: 363-381.
- Fessenden, R. J. y Fessenden. J. S. 1983a. Aminoácidos y proteínas. pp. 858-894. En: *Química Orgánica*. Grupo Editorial Iberoamérica. México.
- Fessenden, R. J. y Fessenden. J. S. 1983b. Espectroscopía II: Espectros de ultravioleta, color, visión, espectros de masas. pp. 924-958. En: *Química Orgánica*. Grupo Editorial Iberoamérica. México.

- Fields, P. A. y Somero, G. N. 1998. Hot spot in cold adaptation: localized increases in conformational flexibility in lactate dehydrogenase A4 orthologs of Antarctic notothenioid fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 95:11476-11481.
- Fisher, R. A. 1999. Seafood restructuring using cold-set binding technology. Virginia Sea Grant Marine Advisory Program, No. 70. VSG-99-04. Virginia Institute of Marine Science. College of William and Mary. USA, 18 p.
- Fletcher, G., Hew, C. L. y Davies, P. L. 2001. Antifreeze proteins of teleost fishes. *Annu. Rev. Physiol.* 63: 359-390.
- Fletcher, G. y Statham, J. 1988. Shelf-life of sterile yellow-eyed mullet (*Aldrichetta forsteri*) at 4°C. *J. Food Sci.* 53(4): 1030-1035.
- Flores, J. y Bermell S. 1984. Propiedades funcionales de las proteínas miofibrilares: Capacidad de retención de agua. *Agroquím. Technol Aliment.*, 24(2): 151-158.
- Forrest, J. C., Aberle, E. D., Hedrick, H. B., Judge, M. D. y Merkel, R. A. 1975. Conversion of muscle to meat. pp. 145-156. En: *Principles of Meat Science*. W. H. Freeman and company. San Francisco, USA.
- Fuselli, S., Almandós, M., Ciarlo, A., Boeri, R. y Giannini, D. 1996. The influence of sexual maturity, sex and size on quality aspects of frozen argentine hake (*Merluccius hubbsi*). *J. Aq. Food Prod. Technol.* 5(1): 81-94.
- Gallardo, J. M., Perez, R. I. Franco, J. M. Aubourg, S. y Sotelo, C. G. 1990. Changes in volatile bases and trimethylamine oxide during the canning of albacore (*Thunnus alalunga*). *Intl. J. Food Sci. Technol.* 25(1): 78-81.
- García, D. F. A., Moroyoqui, P. C. y Felix-Pico, E. F. 1992. Spat settlement and early growth of *Liropecten subnodosus* (Sowerby, 1835) in Laguna Ojo de Liebre, BCS, México. 1989-1990. *Abs. World Aquacult. Ann. Conf.*
- Gill, T. A., Thompson, J. W., Gould, S. y Sherwood, D. 1987. Characterization of quality deterioration in yellowfin tuna. *J. Food Sci.* 52: 580-583.
- Goll, D. E., Oztuka, Y., Nagainis, P. A., Shannon, J. D., Sathe, S. K. y Muguruma, M. 1984. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. *J. Food Biochem.* 7(3): 173-178.
- Gómez-Guillén, M. C., Monterio, P., Hurtado, O. y Borderías, A. J. 2000. Biological characteristics affect the quality of farmed salmon and smoked muscle. *J. Food Sci.* 65(1): 53-60.
- Gómez-Jiménez, S., Uglow, R. F., Pacheco-Aguilar, R. y Noriega-Orozco, L. O. 2001. Using HACCP principles and physiological studies to improve marketing practices for live crustaceans. *Marketing and shipping live aquatic products*. University of Alaska Sea Grant. Ak-SG-01-03. pp. 271-282.
- Gómez-Jiménez, S., Uglow, R. F. y Gollas-Galvan, T. 2000. The effects of cooling and emersion on total haemocyte count and phenoloxidase activity of the spiny lobster *Panulirus interruptus*. *Fish and Shellfish Immunology*. 10: 621-635.
- González-Anavítia, C. R. 2001. "Mercados y comercialización de pectínidos", pp. 451-468. En: Macda-Martínez, A.N. (Ed.). *Los moluscos pectínidos de iberómerica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa S.A. de C.V. México.
- Grieshaber, M. y Gäde, G. 1976. The biological role of octopine in the squid, *Loligo vulgaris* (Lamarek). *J. Com. Physiol. B.* 108: 225-232.

- Haard, N. 1992a. Technological aspects of extending prime quality of seafood: A review. *J. Aqu. Food Prod. Technol.* 1(3/4): 9-27.
- Haard, N. 1992b. Biochemistry and chemistry of color and color change in seafood. *Advances in seafood biochemistry, composition and quality. Papers from the American Chemical Society. Annual Meeting NO, Louisiana.* Editado por Flinck, G. Ed. Technomic Publishing Co; Inc. Pennsylvania, USA. p. 305-360.
- Halász, A., Baráth, Á., Simon-Sarkadi, L. y Holzapfel, W. 1994. Biogenic amines and their production by microorganism in food. *Trends in Food Sci. Technol.* 5(2): 42-49.
- Hamm, R. 1986. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. pp. 135-199. En: P. J. Bechtel (Ed). *Muscle as Food: Food Sci. and Technol. A Series of Monographs.* Academic Press Inc. Orlando Florida, USA.
- Haney, P. J., Badger, J. H., Buldak, J. L., Reich, C. I., Woese, C. R. y Olsen, G. L. 1999. Thermal adaptation analyzed by comparison of protein sequences from mesophilic and extremely thermophilic *Methanococcus* species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96: 3578-3583.
- Hatae, K., Nakai, H., Shimada, A., Murakami, T., Takada, K., Shirojo, Y. y Watabe, S. 1995. Abalone (*Haliotis discus*): seasonal variations in chemical composition and textural properties. *J. Food Sci.* 60(1): 32-35, 39.
- Hatcher, B. G., Scheibling, R. E., Barbeau, M. A., Hennigar, A. W., Taylor, L. H. y Windustm A. J. 1996. Dispersion and mortality of a population of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) seeded in tidal channel. *Can.J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 38-54.
- Hayashi, T., Asakawa, A., Yamaguchi, K. y Konosu, S. 1979. Studies on flavor components in boiled crabs. III: Sugars, organic acids and minerals in the extract. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 45: 1325-1329.
- Hazel, J. R. 1988. Homeoviscous adaptation in animal cell membranes. In: *Advances in membrane fluidity. Physiological regulation of membrane fluidity.* pp. 149-188. Ed. R.C. Aloia, C.C: Curtain, and L.M. Gordon. NY: Liss.
- Hazel, J. R. y Carpenter, R. 1985. Rapid changes in the phospholipid composition of gill membranes during thermal acclimation of the rainbow trout *Salmo gairdneri*. *J. Comp. Physiol., B.* 155: 597-602.
- Hiltz, D. F., Bishop, L. J. y Dyer, W. 1974. Accelerated nucleotide degradation and glycolysis during warming to and subsequent storage at -5°C of prerigor, quick-frozen adductor muscle of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*). *J. Fish. Res. Board Can.* 31: 1181-1187.
- Hiltz, D. F. y Dyer, W. 1971. Octopine in postmortem adductor muscle of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*). *J. Fish. Res. Board Can.* 28: 869-874.
- Hoehachka, P. W. y Somero, G. N. 2002. *Biochemical adaptation. Mechanism and process in physiological evolution.* Oxford University Press. NY, USA. 466 pp.
- Howell, B. K., Matthews, A. D. y Donnelly, A. P. 1991. Thermal stability of fish myofibrils: a differential scanning calorimetric study. *International J. Food. Technol.* 26: 283-295.
- Hultin, H. O. 1976. Characteristics of muscle tissue. pp. 577-617. En: O. R. Fennema (Ed.). *Food Chemistry.* Marcel Dekker, Inc., NY. USA .

- Hultmann, L. y Rustad, T. 2002. Textural changes during iced storage of salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*). *J. Aq. Food Prod. Technol.* 11(3/4): 105-123.
- Huss, H. H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO. Fisheries Technical Paper. 348. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Italy. 202 p.
- Illanes, J. E., Akaboshi, T. y Uribe, E. 1985. Efectos de la temperatura en la reproducción del ostión del norte (*Chlamys (Argopecten) purpuratus*) en la Bahía Tongoy durante el fenómeno del Niño 1982-83. *Invest. Pesq. (Chile)*. 32: 167-173.
- Ingólfssdóttir, S., Stefánsson, G. y Kristbergsson, K. 1998. Seasonal variations in physicochemical and textural properties of north atlantic cod (*Gadus morhua*) mince. *J. Aq. Food Prod. Technol.* 7(3): 39-61.
- Izquierdo-Pulido, M. L. Hatae, K y Haard, N. F. 1992. Nucleotide catabolism and changes in texture indices during ice storage of cultured sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *J. Food Biochem.* 16: 173-192.
- Jacober, L. y Rand. Jr. 1982. Biochemical evaluation of seafood, pp. 347-365. En: R. Martín (Ed.). *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, USA.
- Jaramillo, R., Winter, J., Valencia, J. y Rivera, A. 1993. Gametogenic cycle of the chiloe scallop (*Chlamys amandi*). *J. Shellfish Res.* 12(1): 59-64.
- Jones, N. R. y Murray, J. 1961. Nucleotide concentration in cod (*Gadus callarias*) muscle passing through rigor mortis at 0°C. *Z. Vergleich. Physiol.* 44: 174-178.
- Jonsson, A., Sigurgísladóttir, S., Hafsteinsson, H. y Kristbergsson, K. 2001. Textural properties of raw atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets measured by different methods in comparison to expressible moisture. *Aquacult. Nutr.* 7 (2) 81-90.
- Kassemsarn, B., Sanz, B., Murray, J. y Jones, N. R. 1963. Nucleotide degradation in the muscle of iced haddock (*Gadus aeglefinus*), lemon sole (*Pleuronectes microcephalus*), and plaice (*Pleuronectes platessa*). *J. Food Sci.* 28(1): 28-37.
- Kato, H., Rhue, M. R. y Nishimura, T. 1989. Role of free amino acids and peptides in food taste, pp. 158-174. In: *Flavor Chemistry; Trends and developments*. R. Teranishi (Ed.). American Chemistry Society. USA.
- Kawall, H. G., Torres, J. J., Sidell, B. D. y Somero G. N. 2002. Metabolic cold adaptation in antarctic fishes: Evidence from enzymatic activities of brain. *Mar. Biol.* 140: 279-286.
- Ke, P. J., Burns, B. G. y Woyewoda, A. D. 1984. Recommended procedures and guidelines for quality evaluation of atlantic short-fin squid (*Illex illecebrosus*). *Food Sci. Technol. Lebensm. Wiss. Technol.* 17: 276-281.
- Keay, J. N. y Hardy, R. 1972. The separation of aliphatic amines in dilute aqueous solution by gas chromatography and the application of this technique to the quantitative analysis of tri- and dimethyl-amine in fish. *J. Sci. Food Agric.* 23:9-13.
- Keen, A. M. 1971. *Sea shells of tropical West America*. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 1064 p.
- Kimura, M., Narita, M., Nomata, H., Ushio, H. y Yamanaka, H. 1999. Effects of washing methods on the rigor of scallop adductor muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 65(1): 103-107.

- Konosu, S. y Yamaguchi, K. 1982. The flavor components in fish and shellfish. pp. 367-404. En: R Martin (Ed.). Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products. Ed. The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, USA.
- Krzymien, M. E. y Elias, L. 1990. Feasibility study on the determination of fish freshness by trimethylamine headspace analysis. *J. Food Sci.* 55: 1228-1232.
- Kunimoto, M., Terao, K. y Kaneniwa, M. 1992. Consumption of trimethylamine and trimethylamine N-oxide by *Aspergillus oryzae*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 58(8): 1471-1476.
- Laing, D. G. y Jinks, A. 1996. Flavor perception mechanisms. *Trends Food Sci. Technol.* 7: 387-389.
- Lehninger, A. L. 1979. Oxidative phosphorylation, mitochondrial structure, and the compartmentation of respiratory metabolism. pp. 509-542. *Biochemistry. The Molecular Basis of Cell Structure and Function*. 2da. Ed. Worth Publishers, Inc. N.Y. USA.
- Lin, D. y Morrissey, M. T. 1994. Iced storage characteristics of northern squawfish (*Ptychocheilus oregonensis*). *J. Aq. Food Prod. Technol.* 3(2): 25-43.
- Lindroth, P y Mopper, K. 1979: High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthalaldehyde. *Anal. Chem.*, 51 (11): 1667-1674.
- Love, M. 1975. Variability in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) from northeast atlantic a review of seasonal and environmental influences on various attributes of the flesh. *J. Fish. Res. Board Can.* 32: 2333-2342.
- Lowe, T. E., Ryder, J.M., Carragher, J. F. y Wells, R. M. 1993. Flesh quality in snapper, *Pagrus auratus*, affected by capture stress. *J. Food Sci.* 58(4): 770-773, 796.
- Luong, J. H. T., Male, K. B., Masson, C. y Nguyen, A. L. 1992. Hypoxanthine ratio determination in fish extract using capillary electrophoresis and immobilized enzymes. *J. Food Sci.* 57(1): 77-81.
- Maeda-Martínez, A. N. 2001. Comunicación personal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. La Paz, BCS.
- Maeda-Martínez A.N. Lombocida, P., Freitas, L., Lodecorps, C. y Sicard, M.T. 2001. "Cultivo de pectínidos en fondo y estanque". pp.213-231. En: Maeda-Martínez, A.N. (Ed.). Los moluscos pectínidos de iberómerica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa S.A. de C.V. México.
- Maeda-Martínez, A. N., Reynoso-Granados, T., Solis-Marin, F., Leija-Tristan, A., Auriolles-Gamboa, D., Salinas-Zavala, C., Lluch-Cota, D. y Ormart-Castro, O. 1993. A Model to explain the formation of catarina scallop *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) beds, in Magdalena Bay, México. *Aquaculture and Fisheries Management*. 24: 323-339.
- Maeda-Martínez, A. N., Sicard, M. T. y Reynoso-Granados, T. 2000. A shipment method for scallop seed. *J. Shellfish Res.* 19(2): 765-770.
- Magdaleno, P. J. y Valdéz, R. B. 1994. Elaboración de colonia a partir de músculo de tilapia (*Tilapia sp*) y evaluación de vida de anaquel. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Hermosillo, Sonora México. 153 p.
- Maguire, J., Cashmore, D. y Burnell, G. 1999a. The effect of transportation on the juvenile scallop *Pecten maximus* (L). *Aquaculture Research*. 30: 325-333

- Maguire, J., Flury, P. y Burnell, G. 1999b. Some methods for quantifying quality in the scallop *Pecten Maximus*. *J. Shellfish Res.* 18(1): 56-66.
- Maguire, J. A., O'Donoghue, M., Jenkins, S., Brand, A y Burnell, G. M. 2002. Temporal and spatial variability in dredging induced stress in the great scallop *Pecten maximus* (L.). *J. Shellfish Res.* 21(1): 81-86.
- Manzoni, G. C., Polo, C. R. y Rupp, G. S. 1996. Período reproductivo del pectínido *Nodipecten nodosus* (Mollusca: Bivalvia) en los alrededores de la Isla Do Arvoredo. (27°17'S-48°22'W) – Santa Catarina Brasil, pp. 197-201. En: A. Silva y G. Merino (Eds). 2do Simposio Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile. Universidad Católica del Norte. Asociación Latinoamericana de Acuicultura. Coquimbo, Chile, 1996.
- Marsh, R. L. y Olson, J. 1994. Power output of scallop adductor muscle during contractions replicating the in vivo mechanical cycle. *J. Exp. Biol.* 193: 139-156.
- Martin, R. E., Rodney, J. H. y Pierson, M. D. 1978. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. *Food Technol.* 188-192.
- Martínez, G. y Pérez, H. 2003. Effect of different temperature regimes on reproductive conditioning in the scallop *Argopecten purpuratus*. *Aquaculture*. In Press.
- Massó-Rojas, J. A., Morales-Bojórquez, E., Talavera-Mayer, J., Fajardo-León, M. y Hernández-Valenzuela, R. 2001. Almeja mano de león, pp. 349-366. En: Cisneros-Mata, M. A., Beléndez-Moreno, L. F., Zárate-Becerra, E., Gaspar-Dillanes, M. T., López-González, L., Saucedo-Ruiz, L. y Tovar-Avila, J. (Eds). *Sustentabilidad y pesca responsable en México. Evaluación y manejo. 1999-2000*. Editorial Instituto Nacional de la Pesca, México.
- Mathews, C. K. y Van Holde, K. E. 1998. *Bioquímica*. 2da edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid España. 1283 p.
- Matthews, B. W., Nicholson, H. y Becketl, W. J. 1987. Enhanced protein thermostability from site-directed mutations that decrease the entropy of unfolding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 6663-6667.
- Mattos, S. 1975. Evaluación de la calidad. Métodos objetivos y subjetivos. Curso Regional FAO/OEA de Capacitación en Inspección y Regulación del Pescado. Junta Nacional de Pesca- Laboratorio de Análisis y Ensayos (LAE). Uruguay.
- Maxwell-Miller, G., Joseohson, R., Spindler, A. A., Holloway-Thomas, D. Avery, M. y Phleger, C. 1982. Chilled (5°C) and frozen (-18°C) storage stability of purple-hinge rock scallop, *Hinnites multirugosus* Gale. *J. Food Sci.* 47: 1654-1661.
- McGovern, D. 1998. Shapin up. Formed scallops are winning buyers and redefining the the industry. *Seafood Business.* 17(7): 21, 26, 28 y 30.
- Medrano, T. C. 1994. Caracterización química, bioquímica y nutricional de algunas especies de pescado del Golfo de California. Tesis de Maestría. Dirección de Tecnología de Alimentos de Origen Animal. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora México. 72 p.
- Metusalach, J., Brown A. y Shahidi, F. 2000. Variations in the contents of crude protein, total and free amino acids of arctic charr (*Salvelinus alpinus*) reared at different stocking densities. *J. Aquatic Food Product Technol.* 9(3): 39-56.

- Mietz, J. L. y Karmas, E. 1977. Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography. *J. Food Sci.* 42(1): 155-158.
- Minolta. 1994. Precise color communication. Color control from feeling to instrumentation. Metrolab Internacional. Minolta Co. Ltd, 50p
- Morales-Hernández, R. y Cáceres-Martínez, C. 1996. Pesquería de la almeja mano de león *L. subnodosus*. pp. 87-100. En M. Casas y G. Ponce (Eds.). Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Vol. I SEMARNAP. FAO. INP. UABCS. CIBNOR. CICIMAR. UECYTM. La Paz, B.C.S., México
- Morris, S. y Oliver, S. 1999. Circulatory, respiratory and metabolic response to emersion and low temperature of *Lysius edwardsii*: simulation studies of commercial shipping methods. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A.* 122: 299-308.
- Murakami, E. G. 1994. Thermal processing affects properties of commercial shrimp and scallops. *J. Food Sci.* 59: 237-241.
- Murata, M. y Sakaguchi, M. 1986. Changes in contents of free amino acids, trimethylamine, and nonprotein nitrogen of oyster during ice storage. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries.* 52(11): 1975-1980.
- Murata, M. y Sakaguchi, M. 1988. Changes on free aminoacids and adenine nucleotides in boiled muscle extracts of yellowtail (*Seriola quin queradiata*) stored in ice. *J. Agric. Food Chem.* 36(3): 595-599.
- Navarro, J.M. 2001. "Fisiología energética de pectínidos iberoamericanos". pp.61-76. En: Maeda-Martínez, A.N. (Ed.). Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa S.A. de C.V. México.
- Ocaño-Higuera, V. M. 1999. Caracterización parcial del comportamiento bioquímico posmortem y desarrollo de productos a partir del callo de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) y almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) de Baja California México. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Hermosillo, Sonora México. 111pp.
- Ocaño-Higuera, V. M., Pacheco-Aguilar, R. y Maeda-Martínez, A. N. 2001. "Bioquímica posmortem en pectínidos". pp. 405-429. En: Maeda-Martínez, A. N. (Ed.). Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Editorial Limusa S.A. de C.V. México.
- Ohashi, E., Okamoto, M., Ozawa, A., Fujita, T. 1991. Characterization of common squid using several freshness indicators. *J. Food Sci.* (56): 161-163, 174.
- Ólafsdóttir, G., Lutén, J., Dalgaard, P., Careche, M., Verrez, B., Martinsdóttir, E. y Heia, K. 1998. Methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the final meeting of the concerted action "Evaluation of fish freshness" AIR3CT94 2283. Institut International du Froid, Paris, Francia. p366.
- Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I. M., Henehan, G., Nielsen, J. y Nilsen, H. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends Food Sci. Technol.* 8(8): 258-365.
- Orban, E., Di Lena, G., Nevigato, T., Casini, I., Santaroni, G., Marzett, A. y Caproni, R. 2002. Quality characteristics of sea bass intensively reared and from lagoon as affected by growth conditions and the aquatic environment. *J. Food Sci.* 67(2): 542-546.

- Pacheco-Aguilar, R. 1994. Efectos del lavado y ciclos de congelación en el color del músculo molido de bacalao del pacífico (*Gadus macrocephalus*). *Rev. de Ciencias Alim.* 2 (1):18-21.
- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M. E. y Robles-Burgueño, R. 2000. Postmortem biochemical and functional characteristic of monterrey sardine muscle stored at 0°C. *J. Food Sci.* 65(1): 40-47.
- Pacheco-Aguilar, R., Ocaño-Higuera, V. M. y Maeda-Martínez, A. N. 2001. "Manejo y procesado de pectínidos". pp.431-450. En: Maeda-Martínez, A. N. (Ed.). *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa S.A. de C.V. México.
- Paredi, M. E., De Vido De Mattio, N. y Crupkin, M. 1992. Biochemical properties of actomyosin and expressible juice of cold stored adductor muscle of *Aulacomys ater ater* (Molina); effect of ionic solutes. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 1(3/4): 133-145.
- Paredi, M. E. y Crupkin, M. 2002. Physicochemical and biochemical properties of actomyosin from striated adductor muscle of scallop (*Zygochlamys patagonica*) stored at 2-4°C. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 11(1): 79-87.
- Pastoriza, L. y Sampedro, G. 1994. Influence of ice storage on ray (*Raja clavata*) wing muscle. *J. Sci. Food Agric.* 64: 9-18.
- Paterson, B. D. 1993. The rise inosine monophosphate and L-lactate concentrations in muscle of live penaeid Prawns (*Penaeus japonicus*, *Penaeus monodon*) stressed by storage out of water. *Comp. Biochem. Physiol.* No. 2: 395-400.
- Paterson, B. D., Goodrick, G. B. y Grauf, S. G. 1995. Inosine monophosphate (IMP) concentration in shrimp flesh cannot be used as an index of "freshness" when comparing shrimp that have been harvested in different ways. *J. Aq. Food Prod. Technol.* 4(3):59-74.
- Pearson, A. M. y Young, R. B. 1989. Postmortem changes during conversion of muscle to meat. pp. 391-444. En: *Muscle and Meat Biochemistry*. Ed. Academic Press, Inc. San Diego, CA. USA.
- Peña, J. 2001. Taxonomía, morfología, distribución y hábitat de los pectínidos iberoamericanos. pp.1-25. En: Maeda-Martínez, A.N. (Ed.). *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. Editorial Limusa S.A. de C.V. México.
- Pérez, S. L. A. 1985. *Higiene y Control de los Productos de la Pesca*. Editorial Compañía Editorial Continental S. A. de C. V. México, D. F.
- Pérez-Villarreal, B. y Pozo, R. 1990. Chemical composition and ice spoilage of albacore (*Thunnus alalunga*). *J. Food Sci.* 55(3): 678-682.
- Phleger, C. F., Holtz, R. B., Grimes, P. W., Leighton, D. L. y Jacobsen, F. 1978. Chemical and sensory analysis of the purple-hinge rock scallop *Hinnites multirugosus* gale. *J. Food Sci.* 43(6): 1793-1796.
- Piette, J. P. G., Fortin, L., Hok J. R. y Durand, N. C. 1997. Use of digitalized images to visually assess color of cooked sausages. *J. Muscle Foods.* 8(4): 357-371.
- Pivarnik, L. F., Thiam, M. y Ellis, P. C. 1998. Rapid determination of volatile bases in fish by using an ammonia ion-selective electrode. *J. AOAC Intl.* 81(5): 1011-1022.
- Racotta, I. S., Ramírez, J. L., Avila, S. e Ibarra, A.M. 1998. Biochemical composition of gonad and muscle in the catarina scallop, *Argopecten ventricosus*, after reproductive conditioning under two feeding systems. *Aquaculture.* 163: 111-122.

- Racotta, I. S., Ramírez, J. L., Ibarra, A. M., Rodríguez-Jaramillo, M. C., Carreño, D. y Palacios, E. 2003. Growth and gametogenesis in the lions-paw-scallop *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*. *Aquaculture*. 217: 335-349.
- Randell, K., Hattula, T. y Ahvenainen, R. 1997. Effect of packaging method on the quality of rainbow trout and baltic herring fillets. *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 30(1): 56-61.
- Reinecke, M. A. 1996. Madurez y desove de la almeja mano de león *Lyropecten subnodosus*, Sowerby, 1835. (Bivalvia: Pectinidae) en Laguna Ojo de Liebre, BCS, México. Centro Regional de Investigación Pesquera, La Paz. *Ins.Nal. de Pesca. Bol. Pesq.* 3: 17-20.
- Rey, M. M., Sotelo, C. G. y Gallardo, J. M. 1999. Decomposition of trimethylamine oxide during iced storage of blue whiting (*Micromesistius poutassou*). *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und -forschung A*. 208(4): 267-269.
- Riaz, F. y Qadri. R. B. 1985. Quality changes in lobster (*Panulirus poliphagus*) muscle during storage in ice. *J. Agric. Food Chem.* 33(1): 117-122.
- Robles, B. M. 1993. Caracterización química, bioquímica y tecnológica del músculo de sardina monterrey (*Sardinops sagax caerulea*). Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. A. C. Hermosillo, Son., México. 90p.
- Román G., Martínez, G., García, O. y Sicard, M. T. 2001. Reproducción. pp. 27-59. En: Maeda-Martínez, A. N. (ed.) *Los moluscos pectínidos de iberoamérica: ciencia y acuicultura*. Editorial limusa, México.
- Rupp, G. S., Vélez, A., De Bem, M. M. y Poli, C. R. 1997. Effect of temperature on conditioning and spawning of the tropical scallop *Nodipecten nodosus* (Linnaeus 1758) pp. 132-133. En: *Book Abstracts 11th International Pectinid Workshop*. La Paz. B.C.S. 10-15 April.
- 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.
- Ryder, J. M., Buisson, D. H., Scott, D. N. and Fletcher, G. C. 1984. Storage of New Zealand jack mackerel (*Trachurus novaezelandiae*) in ice: Chemical, microbiological and sensory assessment. *J. Food Sci.* 49: 1453-1456, 1477.
- Sagedhal, A., Busalmen, J.P., Roldán, H.A., Paredi, M.E. y Crupkin, M. 1997. Post-mortem changes in adenosine triphosphate and related compounds in mantle of squid (*Illex argentinus*) at different stages of sexual maturation. *J. Aquatic Food Product Technol.* 6(4): 43-56.
- Saito, T., Arai, K. y Matuyoshi, M. 1959. A new method for estimating the freshness of fish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 24:749-750.
- Sato, K. 1999. Minor collagen in fish and their post-harvest changes in fish muscle. pp: 15-29. Ed. Kenji Sato, Morihiko Sakaguchi y Allan Brenner. En: *Extracellularmatrix of Fish and Shellfish*.
- Sato, K., Ohashi, C., Ohtsuki, K. y Kawabata, M. 1991. Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. *J. Agric. Food Chem.* 37(7): 1222-1225.
- Sato, K., Sakuma, A., Ohtsuki, K. y Kawabata, M. 1994 Subunit composition of eel (*Anguilla japonica*) type V collagen: evidence for existence of a novel fourth $\alpha 4(V)$ chain. *J. Agric. Food Chem.* 42(3): 675-678.

- Saucedo, P., Racotta, I., Villarreal, H. y Monteforte, M. 2002. Seasonal changes in the histological and biochemical profile of the gonad, digestive gland, and muscle of the calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856) associated with gametogenesis. *J. Shellfish Research*, 21(1): 127-135.
- Schmidt-Nielsen, K. 1983. *Animal physiology: Adaptation and environment*. 3ra ed. Ed. Cambridge University Press. Ny. USA. 619 pp.
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordtvedt, T. S. y Seland, A. 1997. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Sci.* 62(4): 898-904
- Sikorski, Z. E., Kolakowska, A. y Burt, J. R. 1990a. Postharvest biochemical and microbial changes. pp. 55-75. En: Z. E. Sikorski (Ed.). *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. Ed. CRC Press. FI, USA.
- Sikorski, Z. E. Kolakowska, A. y Pan, B. S. 1990b. The nutritive composition of mayor groups of marine food organism. pp. 29-54. En: Z. E. Sikorski (Ed.). *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. Ed. CRC Press. FI, USA.
- Simeonidou, S., Govaris, A. y Varelziz, K. 1998. Quality assessment of seven mediterranean fish species during storage on ice. *Food Res. Intl.* 30(7): 479-484.
- Simidu, W. 1961. Nonprotein nitrogenous compounds. pp. 353-384. En: G. Borgstrom (Ed.). *Fish as Food*. Vol. 1. Production, Biochemistry, and Microbiology. Ed. Academic Press. N. Y. USA.
- Sims, G. G., Farn, G. y York. R. K. 1992. Quality indices for canned skipjack tuna: correlation of sensory attributes with chemical indices. *J. Food Sci.* 57(5): 1112-1115.
- Somero, G. N. 1997. Temperatura relationships: from molecules to biogeography. *Handbook of Physiology*, Section 13. Comparative Physiology, Vol II, pp. 1391-1444, ed. W.H. Dantzler. Oxford: Oxford University Press.
- Somero, G. N. y Hochachka, P. W. 1968. The effect of the temperature on catalytic and regulatory functions of piruvate kinases of the rainbow trout and the antarctic fish *Trematomus bernacchii*. *Biochem. J.* 110: 395-400.
- Speed, S.R., Baldwin J, Wong R.J. and Wells R.M.G. 2001. Metabolic Characteristic of Muscle in the Spiny Lobster, *Jasus edwardsii*, and Responses to Emersion During Simulated Live Transport. *Comp. Biochem. Physiol. Part B.* 128:435-444.
- Spinelli, J. 1967. Degradation of nucleotides in ice-stored halibut. *J. Food Sci.* 32(1): 38-41.
- Spurvey, S., Pan, B. S. y Shahidi, F. 1998. Flavour of shellfish. pp. 159-197. En: Shahidi, F. (Ed.). *Flavor of meat, meat products and seafood*. Editorial Blackie Academic and Professional. 2da ed. Gran Bretaña, Inglaterra.
- Staruszkiewicz, W. F., y Bond, J. F. 1981. Gas chromatographic determination of cadaverine, putrescine and histamine in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 64: 584-591.
- Surette, M. E., Gill, T. A. y LeBlanc, P. J. 1988. Biochemical basis of postmortem nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *J. Agric. Food Chem.* 36(1):19-22.
- Taylor, A. C. y Venn, T. J. 1979. Seasonal variations in weight and biochemical composition of tissues of the queen scallop, *Chlamys opercularis*, from the Clyde Seas Area. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 59: 605-621.

- Taylor, A. J. y Linforth, R. S. T. 1996. Flavor release in the mouth. *Trends Food Sci. Technol.* 7: 444-447.
- Taylor, H. H. y Waldron, F. M. 1997. Respiratory responses to air-exposure in the southern rock lobster, *Jasus edwardsii* (Hutton) (Decapoda: Palinuridae. *Mar. Freshw. Res.* 48: 889-897.
- Teskeredzic, Z. y Pfeifer, K. 1987. Determining the degree of freshness of rainbow trout (*Salmon gairdneri*) cultures in brackish water. *J. Food Sci.* 52(4): 1101-1102.
- Urrutia, G. X., Navarro, J. M., Clasing, E. y Stead, R. A. 2001. The effects of environmental factors on the biochemical composition of the bivalve *Tagelus dombeii* (Lamarck, 1818) (*Tellinacea: solecurtidae*) from the intertidal flat of coihuin, Puerto Montt, Chile. *J. Shellfish Res.* 20(3): 1077-1087.
- Valenzuela, M. 1996. Funcionalidad de las proteínas solubles en solución salina de la carne de pavo deshuesada mecánicamente. Tesis de Maestría del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Hillo., Son. México. 98p.
- Vázquez-Baanante, Y. y Rosell-Pérez, M. 1979. Variaciones estacionales del glucógeno y relación de las actividades enzimáticas glucógeno fosforilasa y glucógeno sintetasa del músculo abductor central de *Pecten maximus*. *Inv. Pesq.* 42: 409-416.
- Vázquez-Ortiz, Caire, F.A., Higuera-Ciapara, G. y Hernández, G. I. 1995. High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *J. Liquid Chromatography.* 18(10): 2059-2068.
- Vázquez-Ortiz, F. A., Pacheco-Aguilar, P., Lugo-Sánchez, M. E. y Villegas, O. R. 1997. Application of the freshness quality index (K value) for fresh fish to canned sardines from Northwestern Mexico. *J. Food Comp. Anal.* 10: 158-165.
- Veciana-Nogues, M. T., Albala-Hurtado, M. S., Izquierdo-Pulido, M. y Vidal-Carou, M.C. 1996. Validation of a gas-chromatographic method for volatile amine determination of fish samples. *Food Chem.* 57(4): 569-573.
- Villalejo-Fuerte, M., Arellano-Martínez, M., Ceballos-Vázquez, B.P. y García-Domínguez, F. 2002. Reproductive cycle of *Spondylus calcifer carpenter*, 1857 (Bivalvia: Spondylidae) in the "Bahía de Loreto" national park, Gulf of California. *J. Shellfish Research.* 21(1): 103-108.
- Villalejo-Fuerte, M. y Ceballos-Vázquez, V. P. (1996). Variación de los índices de condición general, gonádico y de rendimiento muscular en *Argopecten circularis* (Bivalvia: Pectinidae). *Rev. Biol. Trop.* 44(2): 591-594.
- Villegas, O. R. 1996. Estudio comparativo de la calidad de la sardina enlatada en salsa de tomate. Tesis de Maestría del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México, 89p.
- Vyncke, W. 1978. Determination of ammonia in dressed thornback ray (*Raja clavata* L.) as a quality test. *J. Food Technol.* 13(1):37-44.
- Watabe, S., Ushio, H., Iwamoto, M., Kamal, M., Ioka, H. y Hashimoto, K. 1989. Rigor-mortis progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 55(10): 1833-1839.
- Webb, N. B., Thomas, F. B., Busta, F. F. y Monroe, R. J. 1969. Variations in proximate composition of North Carolina scallop meats. *J. Food Sci.* 34(6): 471-474

- Wolff, M. 1987. Populations dynamics of the peruvian scallop *Argopecten purpuratus* during the El Niño phenomenon of 1983. *Can. J. Fish Aquat. Soc.* 44: 1684-1691.
- Wongso, S., Ushio, H., Ohshima, T. y Yamanaka, H. 1998. Changes in content of octopine, acidic opines, related amino acids and phosphoarginine in the adductor muscle of three species of scallop during storage. *J. Food Biochem.* 22(1): 65-81.
- Wongso, S. y Yamanaka, H. 1996. Changes in content of noble scallop during storage. *Fisheries Sci.* 62(5): 815-820.
- Wongso, S. y Yamanaka, H. 1998. Extractive components of the adductor muscle of japanese baking scallop and changes during refrigerated storage. *J. Food Sci.* 63(5): 772-776.
- 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. Nova Scotia, Canada.
- Yamanaka, H. 1989. Changes in poliamines and aminoacids in scallop adductor muscle during storage. *J. Food Sci.* 54(5): 1133-1135.
- Yeannes, M., 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.* 23: 585-590.
- Zeece, M. G. y Katoh, K. 1989. Cathepsin D and effects on myofibrillar proteins: a review. *J. Food Biochem.* 13(3):157-178.

- Wolff, M. 1987. Populations dynamics of the peruvian scallop *Argopecten purpuratus* during the El Niño phenomenon of 1983. *Can. J. Fish Aquat. Soc.* 44: 1684-1691.
- Wongso, S., Ushio, H., Ohshima, T. y Yamanaka, H. 1998. Changes in content of octopine, acidic opines, related amino acids and phosphoarginine in the adductor muscle of three species of scallop during storage. *J. Food Biochem.* 22(1): 65-81.
- Wongso, S. y Yamanaka, H. 1996. Changes in content of noble scallop during storage. *Fisheries Sci.* 62(5): 815-820.
- Wongso, S. y Yamanaka, H. 1998. Extractive components of the adductor muscle of japanese baking scallop and changes during refrigerated storage. *J. Food Sci.* 63(5): 772-776.
- 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. Nova Scotia, Canada.
- Yamanaka, H. 1989. Changes in poliamines and aminoacids in scallop adductor muscle during storage. *J. Food Sci.* 54(5): 1133-1135.
- Yeannes, M., 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.* 23: 585-590.
- Zeece, M. G. y Katoh, K. 1989. Cathepsin D and effects on myofibrillar proteins: a review. *J. Food Biochem.* 13(3):157-178.