

**CENTRO DE INVESTIGACION EN ALIMENTACION Y
DESARROLLO, A. C .**

•

**CARACTERIZACION QUIMICA, BIOQUIMICA Y TECNOLOGICA DEL MUSCULO DE
SARDINA (*Sardinops sagax caerulea*).**

Por

MARIA DEL REFUGIO ROBLES BURGUEÑO

Tesis Aprobada por la

**DIRECCION DE CIENCIA Y TECNOLOGIA
DE LOS ALIMENTOS**

**Como Requisito Parcial para Obtener
el Grado de**

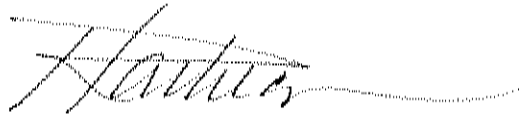
**MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD EN NUTRICION Y ALIMENTOS**

Hermosillo, Sonora.

Mayo 1991

APROBACION

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de María del Refugio Robles Burgueño, la han encontrado satisfactoria y recomiendan sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Nutrición y Alimentos.



Dr. Ramón Pacheco Aguilar
Director de Tesis



Dr. Inocencio Higuera Ciapara



Dr. Juan Pedro Camou Arriola

DECLARACION DEL AUTOR

Se permiten citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Se podrá solicitar permiso al Director del Centro o al Jefe del Departamento de Ciencia de los Alimentos del Centro de Investigación de Alimentación y Desarrollo, A.C. Apartado Postal 1735, Hermosillo Sonora. 83000. México, para para citas o consultas mas amplias o para la reproducción íntegra de este manuscrito para fines académicos. Bajo cualquier otra circunstancia, se deberá solicitar permiso del autor.

Firmado

M^o del Refugio Padilla B.

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre.

A la memoria de mi abuelita Beatriz.

A mi madre, por su amor, sacrificio, paciencia y comprensión.

A mis hermanos, Jose Luis, Dorita, Carmen Amalia y Consuelo, por su cariño, apoyo y comprensión.

A mis cuñados, Esteban, Norma y Pedro, por el amor y la felicidad que le dan a mis hermanos, sobrinos y a mi madre.

A mis sobrinos, Jose Luisito, Norma, Abdiel, Norma Elia, Claudia Berenice, Hiram Abif, Brenda Annette, Esmeralda, Esteban Alberto, Rocio, Luis Armando y Perlita.

A Jose Luisito III, por su ternura e inocencia de recién nacido y todo lo que representa para la familia.

A Gloria Elena León Paz y Enrique Rodríguez, con mi cariño, admiración y respeto.

A mis amigos, especialmente a Francisco Montes de Oca, Evelia Acedo, Rodrigo Armenta, Berenice León, Miguel Angel Martínez y Rosa Laura.

A Malena y Marcos Ortega por su amistad y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Con aprecio al Dr. Ramón Pacheco, por su excelente asesoría e interés, durante la realización de este estudio.

Con afecto a los miembros del comité de tesis, Dr. Inocencio Higuera y Dr. Juan Pedro Camou, por sus valiosas aportaciones en el manuscrito de esta tesis.

Con cariño a la Maestra en Antropología Shoko Doode Matsumoto, por su gran ayuda, apoyo y comprensión durante el desarrollo de este trabajo.

Con cariño a la Dra. Luz Vazquez, que facilitó equipo para la realización de esta tesis.

De igual manera, gracias a todo el equipo de trabajo de del departamento de marinos, especialmente a Teresa Medrano, Diana, Juan Carlos y Miguel Angel Mazorra por su gran ayuda. Así mismo a los prestadores de servicio social, Jose Luis, Claudia y Baltazar.

Con afecto a Francisco Vazquez, por su valiosa cooperación.

A Héctor, Fali y a todos los que de alguna manera colaboraron en este estudio.

A todos ustedes mi infinito agradecimiento.

Este trabajo fue financiado por DGICSA, en un convenio con CIAD A.C.

CONTENIDO

	Página
INDICE DE TABLAS	x
INDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xv
INTRODUCCION	1
REVISION BIBLIOGRAFICA	3
Taxonomía, Biología y Distribución de la Sardina monterrey	3
Pesquería de la Sardina	5
Usos de la Sardina	7
Importancia Nutricional de la Sardina	10
Composición del Músculo	13
Composición estructural del músculo	13
Composición química del músculo	14
Lípidos	15
Proteínas	15
Minerales	17
Nitrógeno no proteico	17
Cambios Bioquímicos Posmortem	20
Degradación del ATP	20

CONTENIDO (Continuación)

Disminución del pH	23
Desnaturalización de proteínas	23
Oxidación e hidrólisis de grasas	25
Deterioro por acción bacteriana	28
MATERIALES Y METODOS	31
Obtención de Muestras	31
Métodos Analíticos	32
Pruebas ponderales	32
Composición química del músculo	32
Cambios posmortem	33
pH	33
Actividad proteolítica total	33
Índice de peróxidos	34
Índice de ác. tiobarbitúrico	35
Ácidos grasos libres	36
Nitrógeno no proteico	37
Trimetilamina	37
Histamina	37
Caracterización de la fracción Proteica muscular	38
Composición proteica muscular	38

CONTENIDO (Continuación)

Capacidad de gelificación térmica del músculo	39
Análisis estadísticos	40
RESULTADOS Y DISCUSION	42
Características Ponderales	42
Composición Química del Músculo	44
Cambios Posmortem	46
pH	47
Actividad proteolítica total	51
Acidos grasos libres	56
Indice de peróxidos	59
Indice de ác. tiobarbitúrico	62
Nitrógeno no proteico	65
Trimetilamina	68
Histamina	72
Caracterización de la fracción proteica muscular	75
Fraccionación de las proteínas	75
Capacidad de gelificación térmica del músculo	79
CONCLUSIONES	81
BIBLIOGRAFIA	83

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Comparación de Contenido de Aminoácidos Esenciales de Sardina Monterrey y Carne de Res	11
2.	Valor Nutricio de la Sardina Comparada con Otros Pescados	12
3.	Peso y Talla Patrón de Sardina Monterrey y Rendimiento de su Músculo en las Estaciones de Invierno y Primavera	43
4.	Composición Química del Músculo de Sardina Monterrey en las Estaciones de Invierno y Primavera	45

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Comportamiento del pH en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera	48
2. Comportamiento de la actividad proteolítica total en músculo de sardina monterrey almacenada a 0 °C, en las estaciones de invierno y primavera	52
3. Comportamiento de los ácidos grasos libres en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera	58
4. Comportamiento del índice de peróxidos en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera	60
5. Comportamiento del índice de ácido tiobarbitúrico en músculo de sardina monterrey almacenada a 0 °C, en las estaciones de invierno y primavera	63
6. Comportamiento del nitrógeno no proteico en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera	67
7. Comportamiento de la trimetilamina en músculo de sardina monterrey almacenada a 0 °C, en las estaciones de invierno y primavera	69
8. Cromatograma de la cuantificación de histamina por HPLC	73
9. Comportamiento de las proteínas musculares de sardina monterrey almacenada a 0°C, en la estación de primavera	76

RESUMEN

Se estudiaron los procesos químicos, bioquímicos y de acción bacteriana en el músculo de sardina almacenada en hielo (0°C) por 15 días. Con el fin de eficientar el uso de la sardina como materia prima para la elaboración de productos alimentarios alternativos al enlatado. Se determinó el efecto estacional sobre la composición del músculo; se cuantificaron fracciones proteicas del mismo y se evaluó la funcionalidad de la fracción miofibrilar durante el almacenamiento.

De las pruebas ponderales y composición química del músculo, solo en peso, talla patrón y contenido de proteínas, se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre estaciones.

El pH inicial del músculo indicó que la sardina al primer día poscaptura se encontró en estado de rigor mortis, incrementando significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento de 5.8 a 6.0.

El comportamiento de la actividad autolítica total en músculo varió significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento y entre estaciones, en el rango de 10 a 50.2 μg tirosina/min/g proteína.

Los lípidos no mostraron una tendencia marcada al deterioro, detectándose valores máximos de índice de peróxidos al quinto día y ácido tiobarbitúrico decimoprimer 11vo. día, de 33.9 meq/Kg grasa y 50 mg malonaldehído/Kg muestra respectivamente, indicando un deterioro de incipiente a medio al quinto día y moderado al decimoprimer.

dfa, de 33,9 mcg/Kg grnsa y 50 mg malonaldehído/Kg muestrni rcsptictivarnctc, indicando un iktcdorn de incipicmc a medio al quinto día y mod,;rndo ;ll decimoprImcro. ●

La actividad bac1.eriana fué baja, ial como lo dcnwsu·amn hm de.1enninacion('S de nilrógcno no proléico (ü,4-0,5%), nilrógcno dl' trin1ctilamilm con un mínimo de 0.3-0.6 y un máximo de 1.5-2.7 1ng/100 g músculo e hisrnmina, cuyo valor no excedió las 151 ppb.

La fracción protcka miofibrillar mostró ser incsrnblc, al disminuir u capacidad de extracción en un 47 % ni quinto día, concmnitan1cmc11tc con un au111en10 de igual proporción de las proteínas solubles en ,íkali. rt'sultantc de 1;1 .igrccgación proteína-proteína.

El músculo de snrdina, no mos1ró capacidad de gclificndón lénnica aún en el primer día de alnH1ccn;u11icn10, Lo anterior podría reducir el uso potencial del músculo de sardina como ITI(Hcria prinrn en la elaboración de produc.IOs m,rnuf'acturndos, domle se requiere de funcion:llidad pn.ltcica.

INTRODUCCION

Sonora se encuentra en una de las zonas de mayor potencial pesquero en el mundo, el Golfo de California, cuya diversidad geográfica, climática y geológica se refleja en una gran diversidad de habitats para las especies marinas entre ellas, la sardina,

La sardina es el recurso pesquero que tradicionalmente ha ocupado el primer lugar a nivel nacional en volumen de captura. El 93.3 % del volumen es capturado en el Golfo de California, siendo Guaymas, Yavaros y Mazatlán, los principales puertos de desembarco.

A pesar de la gran disponibilidad de este recurso, caracterizado por su alto valor nutricional y bajo costo, la sardina presenta una problemática en cuanto a su uso como alimento para consumo humano: más del 80% de su captura se destina a la elaboración de harina para consumo animal, a pesar de la carencia alimenticia en un amplio sector de la población.

Existen varios factores que han favorecido esta situación, entre ellos: la gran demanda de harina por la industria agropecuaria; la obtención de mayores ganancias en la producción de harina en comparación al enlatado; bajo consumo humano y en particular las características de la especie que la adecúan mas a la reducción, como son

su talla pequeña y alto contenido de músculo oscuro. Estas influyen sobre los cambios químicos y bioquímicos posmortem que reducen su calidad y propiedades funcionales y por consecuencia, la posibilidad de aplicar nuevas tecnologías para elaborar diferentes productos para consumo humano.

Se ha reportado que la sardina japonesa pierde su frescura al tercer día de ser enhielada, mientras que la sardina del Mar Artico se mantiene en condiciones aceptables para su consumo durante 8 días en hielo. Para la sardina monterrey, una de las especies predominantes en el Golfo de California, se carece de información respecto su comportamiento posmortem en condiciones óptimas de enhielado, limitando con ello su uso mas eficiente para consumo humano directo.

Por lo anterior, se consideró de gran interés generar información que conduzca a una mejor utilización como alimento para consumo humano, mediante el estudio de los procesos químicos, bioquímicos y el estudio de deterioro bacteriano del músculo posmortem de la sardina monterrey almacenada en hielo, y determinar el efecto de la estación sobre los mismos.

REVISION BIBLIOGRAFICA

Taxonomía, Biología y Distribución de la Sardina

Las especies encontradas en el Golfo de California son: sardina monterrey Sardinops sagax caerulea, crinuda Opisthonema liberate, bocona Catengrulis mysticeatus y japonesa Etrumeus teres (Robles, 1988).

La sardina monterrey fue descrita por Girard en 1854 (Ahlstrom, 1960). Su posición taxonómica sencilla es la siguiente: orden Clupeiformes; familia Cupleidae; subfamilia Cupleinae; género Sardinops; especie Sardinops sagax caeruleus.

Esta especie la componen peces costeros, pelágicos que forman grandes cardúmenes (Whitehead, 1985); son migratorios y se alimentan de zooplacion (principalmente de pequeños crustáceos), así como de fitoplancton. Estos peces llegan a alcanzar una talla patrón de 36 cm. Sin embargo en el Golfo de California, el tamaño promedio capturado por la flota comercial en los últimos años ha sido entre los 14.5 y 17.0 cm de talla patrón (Cisneros-Mata et al., 1988). El cuerpo de la sardina monterrey es moderadamente comprimido con mandíbula superior redondeada y sin entalladuras cuando es vista de frente. La mandíbula inferior es prominente en relación a la superior y la maxila alcanza casi el centro del ojo. La aleta anal contiene de 15 a 20 radios, con

los últimos dos alargados. El cuerpo presenta escamas de igual tamaño sobre los francos y una hilera de lunares azul oscuro en los costados (Alhstrom, 1960).

La sardina monterrey se distribuye en el Pacífico oriental desde la costa suroeste de Alaska hacia el sur hasta Cabo San Lucas B.C.S. y en todo el Golfo de California (Alhstrom, 1960). Como especie migratoria, la sardina se encuentra distribuida por el Golfo de California en diferentes estadios fisiológicos. Así, en el mes de abril se han localizados huevos de sardina monterrey en 5 zonas de mayor importancia; boca del Golfo de California; la zona costera entre Cabo San Lucas e Islas Cerralvo; desde Isla del Carmen a Punta Chivato y Bahía concepción; la zona costera entre Mazatlán y Altata y de Agiabampo hasta Bahía Kino. Sin embargo en algunos de estos lugares se ha encontrado también en los meses de febrero, junio y diciembre (SEPESCA, 1987).

Las larvas son encontradas poco mas al norte, en la costa oriental y occidental en el mismo litoral que los huevos. Por otra parte, los juveniles se han reportado principalmente en la costa oeste del golfo, desde el sur de Bahía la Ventana hasta el Canal de Ballenas y en la costa oriental, al sur de Guaymas. Estos migran hacia el norte a sitios de engorda localizados al norte de la Isla de Tiburón y alrededor de la Isla Angel de la Guarda (SEPESCA, 1987).

Una vez alcanzado el grado de madurez, la sardina monterrey se concentra desde Bahía Kino hasta Yavaros y frente a Bahía Ohuira, sitios de predesove en los meses de

septiembre a diciembre. El desove se lleva a cabo a lo largo de la zona costera de ambos litorales del golfo en los meses de noviembre a mayo, con fuertes desoves en enero y febrero, coincidiendo el predesove y desove con la temporada de pesca.

La pesquería se lleva a cabo en tres áreas principales: al frente y sur de Puerto Peñasco, desde el norte de la Isla del Tiburón hasta Agiabampo; al norte-sur de Mazatlán y al oeste del golfo desde Isla del Carmen hasta Punta Concepción (SEPESCA, 1987).

Pesquería de la Sardina

La pesca de los pelágicos menores, entre ellos la sardina, ha representado aproximadamente un tercio de la captura mundial de peces (Blaxter y Hunter, 1982). En 1982, el género Sardinops contribuyó con el 41.4% de las capturas de los cupleiformes, y con el 11.5% de las capturas mundiales totales (Whitehead, 1985).

La actividad pesquera en Sonora ha representado en los últimos años capturas del orden del medio millón de toneladas (Doode, 1990). Para la temporada 88/89 se reportó una captura récord de 420,000 t, manteniendo el Estado el primer lugar nacional en volumen total de captura (CANAINPES, 1989).

La pesquería de la sardina en el Golfo de California se incrementó a través de los años. Su inicio fue hace apenas 24 años con capturas cercanas a las 20 mil toneladas. La sardina monterrey ha experimentado en las últimas dos temporadas un descenso considerable en su captura, representando tan solo el 50% del volumen total de captura de pelágicos menores del golfo, cuando anteriormente solía ser el 85% (Doode, 1992). Aunado a lo anterior, parte de las descargas de esta especie, estuvieron por debajo de la talla mínima legal. Sus capturas en las temporadas 87/88 y 88/89 representaron aproximadamente 190,000 t; para la temporada 91/92, se estiman tan solo 100,000 t.

Lo anterior podría deberse a dos causas: a la sobreexplotación del recurso o bien a cambios hidrográficos en el golfo, siendo esta última la mas probable, puesto que se ha anunciado en este año la presencia del fenómeno del "niño" el cual produce una elevación en la temperatura del agua, cambia la salinidad y la concentración de plancton, provocando la migración de las especies en busca de aguas frías y de alimento. Por otro lado, los pescadores han reportado grandes concentraciones de sardina monterrey en estado juvenil en el golfo, por lo que la sobre explotación no parece ser la causa de esta baja en los volúmenes de captura (Doode, 1990). Actualmente, en el Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Guaymas, se está investigando la biomasa de la sardina en el golfo, localizándola en sus diferentes estadios fisiológicos.

La aparición de la sardina en el Golfo de California se debe a conductas migratorias que no se han explicado satisfactoriamente. En 1930-1940 la sardina se

capturaba en Ensenada e Islas de Cedros, desplazándose en años posteriores a Bahía Magdalena B.C.S. En 1967, se descubrieron grandes concentraciones de sardina en el Golfo de California, convirtiéndose Guaymas en el principal puerto sardinero de México (Doode, 1990).

Su captura está compuesta principalmente por organismos en fase de madurez avanzada debido a la coincidencia de desove y pesca, y varía durante todo el año, siendo los meses de noviembre a mayo los de mayor producción (SEPESCA, 1987).

La talla mínima legal de captura para la sardina monterrey es de 15.0 cm de longitud, permitiendo que un 20% de la captura total sea de talla menor; sin embargo, se ha demostrado que lo anterior no constituye una regulación eficiente ni práctica (SEPESCA, 1987). En los últimos años se ha establecido como período de veda para la captura de esta especie, los meses de agosto y septiembre.

Usos de la Sardina

Al inicio de la pesquería, el objetivo principal de su captura fue el consumo humano directo (sardina enlatada), obteniéndose como subproducto la harina de pescado. Para 1973, el 30% de la captura se destinaba a la reducción; en 1980, este porcentaje

representaba ya, más del 70% (Doode, 1990) y en 1988, sobrepasó el 80% (Doode, 1992).

La práctica de utilización anteriormente señalada, se observa a pesar de que en septiembre de 1973 la Secretaría de Industria y Comercio publicó, en el Diario Oficial de la Federación, un decreto que prohíbe utilizar las especies de sardina monterrey y crinuda para la elaboración de harina de pescado. El decreto prohíbe además su exportación, ya que estas especies deben utilizarse nacionalmente para consumo humano directo. Sin embargo, este decreto no ha sido tomado en cuenta y las partes involucradas como son el gobierno federal, armadores e industriales, establecen acuerdos sobre los volúmenes de captura y porcentaje destinado al enlatado para cada ciclo de pesca (Doode, 1992).

Son varios los factores que han influido en el cambio del uso de la sardina. El principal fue el incremento de la demanda de harina de pescado por la industria agropecuaria, que en estos años se encontraba en pleno auge (Doode, 1990); por otra parte, la reducción es económicamente más redituable que el enlatado. Las embarcaciones dedicadas a esta pesquería no cuentan con sistemas de refrigeración adecuados que garanticen la calidad de la sardina destinada al enlatado, justificando con ello su uso en el proceso de elaboración de harina.

Por otro lado, los industriales argumentan un bajo consumo de la sardina enlatada y que este producto. Actualmente la demanda registrada es de una lata de sardina per cápita al año, cifra que corresponde a las ventas anuales dividida entre la población total (Doode, 1990; Cevallos, 1982). Polanco (1987) reporta un consumo de 500 g de sardina per capita anual.

Por último, son las características propias de la especie, como su talla pequeña, lo que hace que esta requiera de un manejo muy cuidadoso ya que el músculo puede perder fácilmente su calidad, debido a contaminación con el contenido visceral, el cual es rico en actividad enzimática y bacteriana (Sonu, 1986). Lo anterior establece condiciones difíciles de lograr, dado el estado operativo y prácticas de manejo poscaptura inadecuadas de la flota sardinera.

Lo cierto es que no se ha podido regularizar o controlar el destino de la sardina y las negociaciones llevadas a cabo al respecto tienen como causa real la mayor rentabilidad de la industria reductora o elaboradora de harina (Doode, 1990).

En otros países, entre ellos Japón, la sardina es transformada en una gran variedad de productos alimentarios, alternativa que tiene nuestro país por la gran disponibilidad del recurso.

Importancia nutricional de la sardina

Nutricionalmente, las proteínas de pescado poseen un alto grado de digestibilidad y respecto a su contenido de aminoácidos, son al menos tan buenas como las de la carne roja (Tabla 1). Por esto, la función más importante del pescado en los países que lo consumen es la de proporcionar proteínas de alta calidad. Otra razón por lo que los nutricionistas enfatizan la importancia del pescado en la dieta, es por su grasa que es fácilmente digerible, rica en ácidos grasos insaturados y excelente fuente de vitamina A y D (Tabla 2). Además, el pescado marino es una excelente fuente de minerales principalmente Yodo, y cuando el pescado es enlatado con huesos, tal como el salmón y la sardina, son rica fuente de calcio y fósforo (Causeret, 1961).

La sardina es un recurso de alta disponibilidad en el Estado, de bajo costo antes y después de procesado, además de ser una fuente rica de proteínas de alta calidad, puesto que se han reportado valores de la relación de eficiencia proteica (PER) de 2.8-2.9, mientras que para carne de res se reportan valores de 1.68 (Borgstrom, 1961). Sin embargo en México, el consumo humano de sardina es exclusivamente en forma enlatada. Su consumo está limitado a los centros urbanos y grandes ciudades, siendo éste insignificante en las áreas rurales (Robles, 1988). Por otra parte, se ha encontrado que la clase media alta es la que mas demanda sardina y que la clase media baja y la baja, presenta bajos niveles de consumo (Robles, 1988).

Tabla 1. Comparación de contenido de aminoácidos esenciales de sardina monterrey y carne de res.

Aminoácidos	Sardina del Pacífico cruda	Carne de Res cruda
Arginina	5.1	5.3
Histidina	4.7	5.7
Isolucina	4.6	4.7
Leucina	7.2	7.2
Lisina	8.4	8.3
Metionina	2.8	2.8
Fenilalanina	3.7	3.5
Treonina	4.3	4.5
Triptófano	1.0	1.0
Valina	5.2	5.1

Fuente: Geiger y Borgstrom, 1962.

Lo anterior indica que no se está utilizando al nivel que debería un recurso de alto valor nutricional, disponible y de bajo costo, a pesar de la carencia alimentaria que existe en algunas regiones del País.

Composición del Músculo.

Composición estructural del músculo

La forma y estructura del músculo de pescado son parecidas a la de los animales terrestres; está dividido por un número de segmentos llamados miotomos, los cuales se encuentran separados por hojas delgadas de tejido conectivo o miomata.

Cada miotomo está compuesto por un gran número de fibras musculares paralelas y cada fibra está constituida de un número de fibrillas, las cuales están compuestas por filamentos, que son las unidades contráctiles. Los espacios entre las fibrillas contienen un sistema acuoso llamado sarcoplasma, el cual está compuesto de varias proteínas, así como sustancias de bajo peso molecular. Todo se encuentra encerrado en una cubierta denominada sarcolema.

•
Generalmente, en el pescado se observan dos tipos de músculo: el blanco y el oscuro o rojo. La proporción de éstos varía entre especies. La sardina Sardinops

melanosticta se caracteriza por contener una alta proporción de músculo oscuro que vaía de 20-30% (Watabe et al., 1989).

La coloración roja del músculo oscuro es debida a la gran cantidad de mioglobina (Dyer y Dingle 1961; Hashimoto et al., 1979). Este músculo, es rico en citocromos y mitocondrias (Watabe et al., 1991), lípidos y glucógeno; posee un alto nivel de enzimas del metabolismo aeróbico, por lo que se deduce que este músculo podría actuar como un hígado suplementario, transfiriendo metabolitos al músculo blanco adyacente (Hashimoto et al., 1979), además de proporcionar al músculo la energía necesaria para la actividad de nado. A diferencia, el músculo blanco no presenta altas concentraciones de estos componentes.

Composición química del músculo.

Al igual que la forma y la estructura del músculo, su composición química se asemeja a la de los animales terrestres (Suzuki, 1981): Los principales constituyentes son: agua 66-84%; proteína 15-24%; lípidos 0.1-22% y cenizas 0.8-2%. Además, contiene cantidades mínimas de azúcares, trazas de algunos minerales, así como algunas vitaminas solubles en agua y grasa (Jacquot, 1961).

•
La composición química muscular depende de varios factores, entre ellos: genéticos, morfológicos, fisiológicos, ambientales (estacionales) y condiciones de vida (alimentación). Por otro lado, hay variación de especie a especie y entre individuos de

la misma especie y en la localización anatómica. Así, el contenido de grasa es mayor en el tejido ventral que en otros tejidos.

Lípidos. Para la sardina del Japón, Sardinops melanostica, se ha reportado un contenido de lípidos de 17% en la estación de invierno (Cho et al., 1989), mientras que para la sardina del Atlántico se reporta mayor contenido de grasa en otoño (8.6%) que en primavera (2%). También se ha observado que la sardina en sus dos primeros años de vida es inmadura y que su contenido de grasa se mantiene alrededor de 3%, mientras que al final del tercer año, cuando se reproduce, varía entre 5 y 15% dependiendo de la estación y frecuentemente, aunque no siempre, el músculo contiene su máximo contenido de grasa antes del desove del pez. Sin embargo, para efecto de comparación en composición química, se debe considerar que esta puede variar grandemente de una especie a otra, entre la misma especie y entre los especímenes individuales (Jacquot, 1961). Sonu en 1986, reportó que el contenido de grasa en el músculo oscuro de la sardina (Sardinops melanostica) fluctúa entre 2.6 y 18.4%.

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

Las proteínas sarcoplasmáticas o miogénico, consisten principalmente de enzimas particularmente glucolíticas y mioglobina. Estas proteínas son solubles en soluciones

salinas de fuerza iónica débil y constituyen en promedio el 20-30% del total de las proteínas musculares (Hultin, 1984). Se ha reportado un contenido de estas proteínas en músculo oscuro y blanco de sardina, Sardinops melanosticta, de 23-29% y 33-37% respectivamente (Hashimoto et al., 1979).

Las proteínas miofibrilares o contráctiles, conforman aproximadamente un 66-77% del total de las proteínas del músculo (Suzuki, 1981). Están compuestas principalmente por miosina que constituye aproximadamente el 50% del total de las proteínas miofibrilares.

El peso molecular (PM) de la miosina es de 460,000 Dalton (D). Esta formada por dos cadenas polipeptídicas idénticas al final de las cuales tiene dos cabezas globulares, cada una de las cuales está asociada a dos cadenas ligeras de PM de 16,000- a 25,000 D.

La actina F, otra de las proteínas miofibrilares, comprende de un 15-30% del total de las proteínas, su PM es de 43,000-48,000 D. Cada monómero de actina F se une a una cabeza de miosina. La miosina tienen actividad de ATPasa. El ATP Y ADP actúan como plastificante, y previenen la interacción actina-miosina.

Otras proteínas miofibrilares, denominadas reguladoras del proceso de contracción muscular, son la troponina y la tropomiosina, cada una de ellas comprende un 5% del

total (Hultin, 1984). El contenido de proteínas miofibrilares reportado en músculo oscuro y blanco para Sardinops melasnosticta es de 62-66% y 59-61% respectivamente (Hashimoto et al., 1979).

Las proteínas del estroma o insolubles, están formadas por colágeno, reticulina y elastina. El colágeno es una proteína cilíndrica de 3 cadenas helicoidales, cuya solubilidad está en función de su entrecruzamiento. Esta proteína está compuesta en una tercera parte por glicina, 10% de hidroxiprolina y su cuantificación en los alimentos se lleva a cabo determinando este último aminoácido (Hultin, 1984).

Hashimoto y colaboradores (1979), reportaron un contenido de estroma en músculo oscuro y blanco de Sardinops melanosticta de 2-3% y 1-2% respectivamente.

Minerales. Con respecto a minerales, la sardina muestra un mayor contenido de calcio, fósforo y hierro, en comparación a otras especies como: macarela, bonito y bacalao (Seno, 1974). La concentración de calcio en pescado, se ve afectada por las condiciones ecológicas tales como la cantidad de calcio en el agua, la estación y la edad. El contenido de fósforo en el músculo ha sido relacionado con la cantidad de proteínas presentes, edad, sexo, madurez sexual (Da Costa y Stern, 1955).

Nitrógeno no proteico. El NNP, incluye: aminoácidos libres (que se transforman en compuestos aminos volátiles olorosos), bases volátiles nitrogenadas (amoníaco, óxido

de trimetilamina, mono-di y trimetilamina, etc.), creatinina, taurina, betainas (glicilbetainas), ácido úrico, anserina y carnosina e histamina (Jacquot, 1961). Estos compuestos se encuentran en mayor cantidad en el músculo oscuro, varían estacionalmente y entre especies. Los de mayor importancia en la producción de alimentos para consumo humano, son el óxido de trimetilamina (TMAO), trimetilamina (TMA) e histamina (Simidu, 1961).

El TMAO, un compuesto osmorregulador, es producido en el proceso digestivo de la mayoría de las especies de peces marinos. En pescado congelado, el TMAO es reducido por enzimas endógenas a dimetilamina y formaldehído, mientras que en pescado fresco o enhielado es reducido por enzimas bacterianas a TMA (Krzymien y Elias, 1990). Este compuesto ha sido correlacionado con el olor pungente del pescado (Wong *et al.*, 1988).

Por otra parte, la histamina es un compuesto psicoactivo o vasoactivo, potencialmente peligroso (Yen y Hsieh, 1991) que puede causar envenamiento tipo alérgico. Es formada a partir de la descarboxilación de la histidina por una gran variedad de bacterias (Yamanaka *et al.*, 1986). Proteus morganii ha sido frecuentemente relacionada con la formación de histamina en el músculo. Otras bacterias aisladas en pescado conteniendo grandes cantidades de histamina son Hafnia alvei y Klebsiella pneumoniae (Morii *et al.*, 1986). Okuzumi y Awano, (1983), aislaron bacterias psicrófilicas incluyendo Photobacterium sp. Morii y colaboradores (1986) consideran

a la bacteria Photobacterium phosphoreum como la responsable principal de la formación de histamina cuando los scombroides son almacenados a temperaturas bajas, en las cuales las bacterias de la familia enterobacteriaceae no son activas. Además, observaron que la actividad de la P. phosphoreum en músculo de pescado enhielado, proviene de contaminación visceral, mientras que a 10°C proviene de vísceras y piel.

La concentración a la que la histamina puede causar el envenenamiento es de 100 mg/100g (1000 ppm), produciendo enrojecimiento de la cara y cuello, dolor de cabeza, palpitaciones, vértigo, desmayo, hinchazón de la boca y en algunos casos trastornos intestinales.

Este envenenamiento involucra un mal manejo del pescado y los niveles tóxicos de la histamina se puede alcanzar aunque la apariencia del pescado no esté dañada (Yamanaka et al., 1986).

Se han reportado concentraciones de histamina de 0, 4.4 y 147 mg/100g en sardina, Sardinops melanosticta, clasificada como fresca, ligeramente deteriorada y putrefacta respectivamente (Toyama et al., 1982).

Cambios Bioquímicos Posmortem

Es necesario entender los cambios que ocurren en el músculo después de la muerte del pescado, los cuales contribuyen a la calidad comestible de éste.

Una vez que muere el pescado, para la circulación, no hay transporte de O_2 , se desarrolla una condición anaeróbica en el músculo y con esto, una serie de cambios bioquímicos como son: la autólisis, que involucra la degradación del ATP, disminución del pH y desnaturalización de proteínas; la oxidación e hidrólisis de grasas y la producción de compuestos indeseables por acción bacteriana.

Una de las características del músculo de sardina, Sardinops melanosticta, es su rápida pérdida de frescura, pronta disminución del pH y desnaturalización de proteínas (Sonu, 1986).

Degradación del ATP

En el músculo vivo, el ATP es obtenido en la mitocondria por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa (Lehninger, 1984); después de la muerte, no hay oxígeno disponible que permita producir más ATP por este medio, por lo que obtiene a partir de la creatinina fosfato y la adenilato quinasa que convierte 2ADP en una molécula ATP y una de AMP. Esta fuente de energía cae en los primeros minutos posmortem. La mayor fuente anaeróbica de ATP es la glucólisis que convierte glucógeno a ácido láctico,

pero ésta cesa cuando el pH cae a niveles que inhiben la actividad de las enzimas glucolíticas (Hultin, 1984).

El ATP por su parte, sufre una serie de degradaciones produciendo ADP, AMP, IMP, Inosina e Hipoxantina. El ATP previenen la interacción entre los filamentos de miosina y actina F, los cuales pierden su extensibilidad natural en la ausencia de este compuesto, es decir el músculo se pone rígido fenómeno denominado "rigor mortis". El tiempo de inicio del rigor mortis, depende de la especie, el manejo después de la captura y la temperatura de almacenamiento (Hultin, 1984). Se ha reportado (Watabe et al., 1989), que el inicio del rigor mortis en sardina Sardinops melanosticta almacenada en hielo, se presenta a las 2 hrs posmortem.

Watabe et al., 1989, siguieron el proceso del rigor mortis junto con la degradación de ATP y acumulación de lactato, durante el almacenamiento a 0°C y 10°C de sardina, Sardinops melanosticta, y macarela, Pneumatophorus japonicus japonicus, encontrando que el desarrollo del rigor mortis es muy rápido y que alcanzan el estado de rigor completo en unas cuantas horas después de su muerte. Aunque el rigor mortis mostró una gran variación individual, su velocidad fue mas lenta a 10°C que a 0°C. En cuanto al contenido de ATP, Watabe y colaboradores observaron una rápida disminución de 6 a 0.2 $\mu\text{mol/g}$ en 10 horas de almacenamiento a 0°C.

Obatake y Tomita (1988), estudiando la degradación del ATP en filetes de músculo blanco y mezclados con músculo oscuro de macarela, Scomber japonicus, almacenados en hielo por 8 días, encontraron una disminución de ATP, ADP, AMP, IMP y hipoxantina (Hx) mientras que la inosina (HxR) tendió a incrementar. Por otra parte, la mezcla de músculo blanco y oscuro aceleró la degradación del IMP.

Se han utilizado muchos métodos para evaluar objetivamente la calidad del pescado durante su almacenamiento entre ellos: TMA, DMA, hipoxantina (Hx) (Jahns et al., 1976), inosina 5' monofosfato (IMP) e índice K (Price et al., 1991). Este último es una relación expresada en porcentaje, de la suma de los productos finales de la degradación del ATP, llamados inosina (HxR) y Hx, a la suma de ATP, ADP, adenosina 5' monofosfato (AMP), IMP, HxR y Hx (Ryder, 1985). Este índice ha demostrado ser uno de los indicadores químicos más adecuados para frescura (Ehira, 1976).

Muchos métodos se han utilizado para determinar cuantitativamente el ATP y sus productos de degradación, tales como cromatografía de intercambio iónico (Nishimoto et al., 1985), técnicas enzimáticas (Jahns et al., 1976; Watanabe et al., 1984), y más recientemente cromatografía líquida de alta presión, HPLC, (Ryder, 1985; Watabe et al., 1991).

•

Disminución del pH

La velocidad y el grado en que baja el pH muscular, depende de la especie, del estado de alimentación y del manejo del recurso. El pH del músculo de pescado es de 6.6 a 6.7.

A pH bajos, las proteínas se desnaturalizan, formando precipitados y agregados. Por otra parte, se destruye la actividad mitocondrial; el O₂ se combina con la mioglobina formandose la oximioglobina; se pierde la capacidad de enlace de agua; la textura se daña y las catepsinas se liberan y son activadas.

El pH de la sardina fresca se ha reportado ser 5.8, el cual es el pH óptimo de síntesis y actividad de la histidina descarboxilasa de origen bacteriano, la cual trasforma la histidina en histamina (El Marrakchi *et al.*, 1990).

Desnaturalización de Proteínas

Se ha dado especial atención al deterioro autolítico del músculo de pescado, aunque la mayor fuente de deterioro es de origen bacteriano; sin embargo, se ha encontrado actividad autolítica en músculo de lenguado del pacífico (*Solea sp*), la cual es capaz de hidrolizar más de 10 mg de proteína/hora/g de músculo (Geist y Crawford, 1974). Se ha reportado que al bajar el pH del músculo se liberan las catepsinas, que son proteinasas lisosomales, de las cuales las tipo A, B, C, D, H, L y la carboxipeptidasa B son localizadas dentro del las células del músculo (Goll *et al.*, 1984). La literatura

reporta que la catepsina D juega un papel importante en la proteólisis posmortem y que las proteínas miofibrilares son muy susceptibles a la actividad de esta catepsina. Se ha encontrado que la catepsina D degrada más rápidamente a la miosina que a la actina. El pH para la actividad máxima de esta enzima es de 3.0-4.5, sin embargo muestra un amplio rango de actividad a pH de 3.0-6.0, rango en que cae el pH que presenta el músculo posmortem de sardina (Zeece y Katoh, 1989).

Otro tipo de sistema proteolítico del músculo es el de las proteinasas dependientes de Ca^{++} , a las cuales son atribuidas la mayoría de los cambios proteolíticos que llevan a la tenderización que ocurre en el músculo almacenado entre 0 - 4°C (Goll *et al.*, 1984).

En un estudio de la degradación autolítica del tejido visceral de la anchoveta a diferentes temperaturas de almacenamiento, se encontró que a 18°C el estallamiento de vísceras fue en un 80% a los dos días, mientras que a 0°C fue cerca del 25%. Además, se reportó que los pHs de mayor actividad proteolítica en los tejidos viscerales fue entre 3 y 9.5-10. Esta actividad a pH 5.5 -6 fue de aproximadamente de 170-230 μmoles de tirosina/g/h (Martínez y Gilberg, 1988).

La mejor manera de reducir la degradación autolítica, representada por la acción de enzimas musculares, y viscerales, promovida por malos manejos poscaptura de peces como la anchoveta, es utilizar el agua de mar enfriada a 0°C disminuyendo rápidamente la temperatura del pescado (Martínez y Gilberg, 1988).

Otro factor importante involucrado en la desnaturalización de proteínas es la baja de pH. En estas condiciones, las fuerzas de repulsión son mínimas por lo que las proteínas tienden a agregarse con su consecuente precipitación final (Badui, 1981), perdiendo su capacidad de retención de agua, afectando sus propiedades funcionales y la textura del músculo. Esta agregación será más severa conforme el músculo se aproxime al punto isoelectrico de sus proteínas miofibrilares, el cual ha sido reportado ser, en promedio 5.5.

Oxidación e hidrólisis de grasas

Una de las principales causas de los cambios de aroma, sabor, textura, consistencia y apariencia que ocurre durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos marinos, es la oxidación de lípidos (Cho *et al.*, 1989), por lo que la vida media del pescado o productos marinos está limitado por el desarrollo de rancidez (Mc Donald y Hultin, 1987). Este proceso deteriorativo es debido no solo a un alto contenido de lípidos con alto grado de insaturación, sino también a la actividad de biocatalizadores, como compuestos hemáticos y metales de transición libres, los cuales se encuentran naturalmente en pescado (Cho *et al.*, 1989). Por otra parte, existen evidencias de actividad enzimática de oxidación lipídica en tejido de pescado, incluyendo piel y órganos (Yamagushi y Toyomizu, 1984; Mc Donald y Hultin, 1987). pero se desconoce el grado en que estas enzimas están involucradas en el desarrollo de la rancidez (Mc Donald y Hultin, 1987).

En los pescados grasos la oxidación empieza en los depósitos de grasa, los cuales están compuestos de triglicéridos. La velocidad de oxidación varía en sujetos de la misma especie sometida a idénticas condiciones (Hardy, 1980).

Debido al gran número de diferentes ácidos grasos presentes en las moléculas de triglicéridos, algunos muy insaturados y altamente reactivos, estos pueden ejercer un efecto en la velocidad de oxidación de los otros ácidos grasos con un número menor de insaturaciones (Hardy, 1980).

La oxidación de lípidos involucra la formación de radicales libres e hidroperóxidos, los cuales son inestables y que al descomponerse producen aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos y epóxidos. Estos compuestos son los responsables de los cambios deteriorativos en las características organolépticas del olor asociada con la rancidez oxidativa o auto-oxidación.

Los factores que juegan un papel importante en la oxidación de las grasas en el tejido son: naturaleza y tipo de ácidos grasos, grado de insaturación y proporción de fosfolípidos; distribución de la grasa; presencia o ausencia de compuestos que inhiben o aceleran la oxidación; deshidratación del tejido; temperatura; oxígeno disuelto u ocluído en el medio; y exposición a radiaciones electromagnéticas de alta energía. Se ha reportado que la sardina en refrigeración se oxida a los 2-3 días (Hardy, 1980).

La oxidación lipídica en pescado ha sido generalmente atribuida a reacciones no enzimáticas, sin embargo, ha sido reportada la peroxidación de los componentes lipídicos de una fracción de la membrana aislada del músculo esquelético, la cual fue catalizada por la presencia de NADH y hierro. De igual forma, se determinó que este sistema es muy activo a bajas temperaturas (Mc Donald y Hultin, 1987).

Por otra parte, la lipólisis se presenta en músculo posmortem de pescado, sobre todo en músculo congelado. Se ha establecido que la lipólisis en bacalao es autolítico y no de origen bacteriano (Shewfelt, 1981).

En macarela se han encontrado lipasas capaces de hidrolizar triglicéridos de cadenas cortas, las cuales fueron más activas en músculo oscuro que en el blanco. Se han reportado lipasas que hidrolizan lípidos de cadena larga en el músculo rojo de trucha, cuyo pH óptimo fue de 7.0 (Shewfelt, 1981).

Se han propuesto un número de métodos objetivos y subjetivos para monitorear el desarrollo de la autoxidación en pescado, como son el índice de ácido tiobarbitúrico (TBA), índice de peróxidos (POV) e índice de carbonilos. El POV es el método más usado, sin embargo, tiene la desventaja de que no siempre da valores altos para aceites rancios debido a que los hidroperóxidos altamente insaturados son extremadamente inestables (Danopoulos y Ninni 1972).

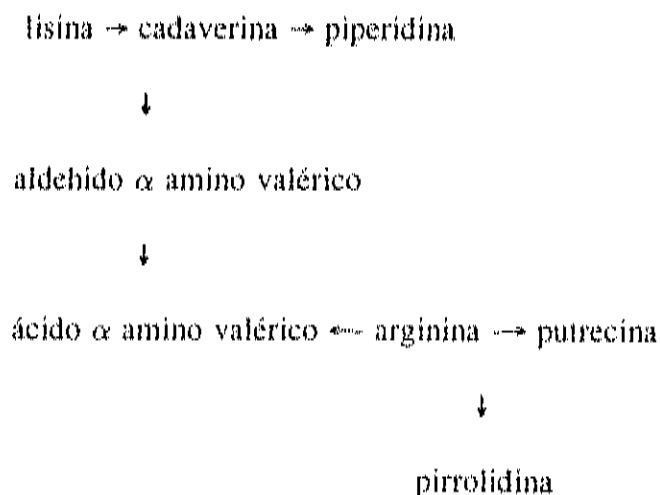
Deterioro por acción bacteriana

Después de los procesos de autólisis, oxidación e hidrólisis de grasas, se presenta el deterioro por acción bacteriana en pescado almacenado en hielo (0°C). Su desarrollo depende del número y del tipo de bacterias presentes, ya que algunos tipos son deterioradores más efectivos que otros (Ronsivalli y Charm, 1975)

Tomiyasu y Zetani (1957), considera difícil establecer un patrón consistente del deterioro del pescado, dependiendo su complejidad de la especie, método de captura, estación, temperatura de almacenamiento y de la carga bacteriana.

En el deterioro bacteriano, los generos predominantes son *Acromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* y *Micrococcus*, así como *Sarcina*, *Proteus* y *Bacillus* son encontrados en menor grado. Las agallas del pescado son las partes que más se infectan con bacterias (Tomiyasu y Zetani, 1957).

Uno de los cambios más sensibles por acción de las bacterias es la aparición de olores debido a la formación de aminas entre ellas: trimetilamina, piperidina, ácido α amino valérico, α amino valérico aldehído . Estos tres últimos compuestos son formados a partir de lisina o arginina mediante el siguiente proceso bacteriano:



Otras aminas producidas durante el deterioro bacteriano son las aminas biogénicas, entre ellas putrecina, cadaverina e histamina, siendo esta última la de mayor importancia fisiológica y sanitaria (Tomiyasu y Zetani, 1957; Yen y Hsieh, 1991). Estas aminas han sido consideradas buenos índices de calidad para descomposición de pescado (Mietz y Karmas, 1978; Yamanaka *et al.*, 1986).

El deterioro bacteriano también puede ser monitoreado por el incremento de la concentración de varios compuestos como son las bases volátiles totales (VTB), nitrógeno no proteico (NNP), trimetilamina (TMA) e histamina. Estos parámetros han sido ampliamente utilizados como indicadores de deterioro en una amplia variedad de productos marinos, Riaz y Qadri (1985), han reportado los cambios que ocurren en el músculo de langosta, por acción autolítica y/o bacteriana durante el almacenamiento en hielo (0°C).

De igual forma, se han realizado varios estudios para determinar los efectos del manejo a bordo y de los métodos de enfriamiento sobre la calidad y la vida media de los productos pesqueros, con el fin de determinar los indicadores de la vida de anaquel apropiados para varias especies de pescados (Price et al., 1991; Ehira y Uchiyama, 1986).

MATERIALES Y METODOS

Obtención de Muestras de Sardina

La especie utilizada en el presente estudio fue la sardina monterrey Sardinops sagax caerulea, que para los fines de este trabajo se tomó recién capturada siendo inmediatamente enhielada. Para ello se contó con la colaboración de las empresas sardineras del Puerto de Guaymas, Sonora, "Pesquera Samil, S.A." y "Sardinias y Derivados S.A.", las cuales permitieron que se realizaran viajes de muestreo en los recorridos normales de pesca de sus embarcaciones.

Las tomas de muestra se realizaron en los meses representativos de invierno y primavera de 1990, con dos repeticiones por estación. Para cada repetición se realizó un viaje de muestreo y se tomaron aproximadamente 40 kg de sardina al pasar de la red al el secador, antes de caer en la bodega. La muestra fue enhielada inmediatamente, formando capas de hielo y de sardina en forma alternada, manteniéndose en estas condiciones hasta llegar al Puerto de Guaymas, para ser inmediatamente transportadas al laboratorio del CIAD A.C. en Hermosillo, Son., período que en promedio no excedió de 16 horas después de su captura.

Una vez llegada la muestra al laboratorio se les cambió el hielo, repitiéndose esta operación cuantas veces fue necesario durante el almacenamiento, manteniendo estas condiciones por los 15 días de estudio.

En cada repetición se tomaron 10 sardinas para determinar la composición química. Los cambios posmortem fueron analizados los días 1-7, 11 y 15, de almacenamiento. Para cada día de análisis, se tomaron 30 sardinas y se realizaron las determinaciones que a continuación se describen.

Métodos Analíticos

Composición química del músculo

Se llevó a cabo de acuerdo a los métodos oficiales de la AOAC (1984) para grasa, proteínas, humedad, y cenizas.

Pruebas Ponderales (Peso, Talla Patrón y Rendimiento del Músculo)

Treinta sardinas fueron pesadas en una balanza digital; posteriormente, a cada una de ellas se les determinó la talla patrón midiendo con una regla de 30 cm desde la cabeza hasta el inicio de la cola. Enseguida, cada una de las sardinas fueron fileteadas, se separó el músculo de la piel manualmente y se determinó el rendimiento del músculo en porcentaje, dividiendo el peso del músculo obtenido de los dos filetes, entre el peso de la sardina multiplicado por 100.

Cambios Posmortem en sardina almacenada a 0°C

De las treinta sardinas se obtuvieron aproximadamente 2Kg del músculo, del cual 0.5 Kg fueron mantenidos a 0°C, para horas más tarde, preparar el sol requerido para la determinación de la actividad proteolítica total de acuerdo a Groninger (1985). El 1.5 Kg restante fue homogenizado en un procesador de alimentos Cousinart 8 Plus (Greenwich CT, USA), para realizar los siguientes análisis: pH, índice de peróxidos (POV), índice de ácido tiobarbitúrico (TBA), ácidos grasos libres (AGL), nitrógeno de trimetilamina (TMA-N) y nitrógeno no proteico (NNP), por los métodos de "Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality" (Woyewoda *et al.*, 1986) e histamina de acuerdo a Gouygou *et al.*, (1987).

pH. Se licuaron 20 g del homogenado de sardina con 40 mL de agua destilada por 1 minuto a temperatura ambiente. Para la medición del pH se utilizó un potenciómetro digital Corning Modelo 240 (Corning Science Products, New York, USA), con electrodo de combinación. Los análisis se hicieron por triplicado.

Actividad Proteolítica Total. Se preparó un sol pesando 400 g de pescado molido, al cual se le añadió 2.5% de sal y la cantidad de agua (hielo) necesaria para ajustar su humedad a 80%. Los ingredientes se mezclaron en un procesador de alimentos Cuisinart 8 Plus (Cuisinart Inc, Greenwich, CT), por 2-3 min manteniendo la temperatura por debajo de 4°C . La formación de una pasta pegajosa y brillante indicó la obtención del

sol. El sol fue utilizado para la determinación de la actividad proteolítica total de acuerdo a Pacheco Aguilar (1989).

Cuatro muestras de 3.0 g de sol fueron pesadas en viales de 25 mL; se les agregó a cada una 3 mL de NaCl 0.1 M (2-4°C) y se mezclaron manualmente. Tres de las muestras se colocaron en un baño con agitación a 60°C por un período de incubación de 30 minutos. La cuarta muestra (control) se mantuvo en hielo. Al terminar el período de incubación se les agregó 6 mL de ácido tricloroacético al 10 % a cada uno de los viales y se mantuvieron por 30 minutos a 2-4°C. Posteriormente fueron filtrados a través de papel whatman No. 1. Al filtrado se le determinó la cantidad de tirosina liberada, usando el reactivo de Folin Ciocalteu de acuerdo al procedimiento descrito por Ceriotti y Spandrio (1957). La actividad proteolítica se expresó como μg tirosina liberada/min/g proteína.

Índice de Peróxidos (IP). Se extrajo la grasa del músculo con un sistema de solventes cloroformo, metanol y agua en una relación 2:2:0.8. El extracto ya filtrado se pasó a un embudo de separación donde se dejó reposar toda la noche. La capa de cloroformo conteniendo los lípidos, se pasó por sulfato de sodio anhidro y se evaporó en un rotavapor Büchi RE 121A (Buchi Inc. Schweiz). De los lípidos obtenidos, se tomaron de 2.5 - 5.0 g y se determinó IP de acuerdo al procedimiento yodométrico del AOAC (1984), el cual se basa en la reducción de peróxidos en medio ácido por el yoduro de potasio. El yodo liberado es titulado con tiosulfato de sodio 0.01 N, utilizando almidón

como indicador. El índice de peróxido se expresó como meq de peróxido/1000 g de lípido calculándose mediante la siguiente fórmula:

$$IP = \frac{V_2 \times N \times 1000}{W}$$

Donde:

- V_2 = mL de tiosulfato gastados
 N = Normalidad del tiosulfato
 W = Peso de lípido en g

Índice de TBA. Este procedimiento se basa en la destilación de las sustancias reactivas al TBA en un medio ácido, en presencia de agentes quelantes y antioxidantes. Resultado de la reacción con el TBA, se producen complejos de color rojo los cuales absorben luz a 535 - 538 nm. Para ello, 10 g de músculo sin descongelar fueron licuados con 35 mL de agua destilada por 2 minutos. El licuado fue transferido cuantitativamente a un vaso de precipitado hasta obtener un peso final de licuado más lavados de 110 g, ajustando su pH a 1.5 con HCl 4N. La muestra se transfirió cuantitativamente a un matraz de destilación conteniendo 100 mg de propilgalato y la misma cantidad de EDTA además de perlas de ebullición. A la mezcla se le adicionó 3 gotas de alcohol octílico (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) como antiespumante y la destilación se realizó bajo atmósfera de nitrógeno. Se colectaron 50 mL de destilado. Para el desarrollo de color se añadieron a un tubo de ensaye, 5 mL de destilado y 5 mL de reactivo TBARS (Sigma Chemical Co., St Louis, Mo). Los tubos se taparon y se agitaron vigorosamente en un vortex (Scientific Industries Inc., Bohemia, NY) para proceder a su calentamiento

por 45 min en un baño de agua hirviendo. Una vez enfriados los tubos, se midió la absorbancia de la solución a 538 nm. Se corrió una curva utilizando el 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) como estándar.

Acidos Grasos Libres (AGL). Este método se basa en la titulación de los ácidos carboxílicos libres de los lípidos extraídos con cloroformo:metanol:agua, con una solución de hidróxido de sodio, utilizando púrpura de meta-cresol como indicador. Se extrajo la grasa del músculo con cloroformo: metanol:agua (1:1:1). El extracto se filtró y se pasó a un embudo de separación; al siguiente día, la capa clorofórmica se pasó a través de un filtro de sulfato de sodio anhidro y se aforó a 100 mL con cloroformo. La muestra se transfirió a un matraz erlenmeyer, se le agregó isopropanol, metanol y púrpura de metacresol como indicador e inmediatamente después se tituló con NaOH 0.05N. Los AGL son calculados como μ moles por gramo de tejido mediante la fórmula:

$$AGL = \frac{1000 \times N_1 \times (V_4 - V_5)}{V_2 \times W_2 \times P} \times \frac{V_3}{V_1}$$

donde:

N_1 = la normalidad del hidroxido de sodio •

V_2 = vol (mL) de alícuota para determinar grasa

V_3 = vol (mL) del volúmetrico

V_4 = mL de NaOH usados en la muestra

V_5 = mL de NaOH usados en el blanco

W_2 = peso (g) de la muestra

P = # de alícuotas extraídas del matraz volumétrico

Nitrógeno no Proteico (NNP). En esta técnica se extrajo el NNP homogenizando 50 g de músculo con 100 mL de ácido tricloroacético al 10 %. Las proteínas precipitadas fueron separadas por centrifugación a 2200 x g a 4°C por 15 minutos y se filtraron a través de fibra de vidrio. El NNP soluble en el filtrado, se determinó por el método del micro-Kjeldahl de acuerdo al método de AOAC, 1984.

Nitrógeno de Trimetilamina (TMA-N). Se obtuvo un extracto de ácido tricloroacético al 7.5%, el cual se hizo reaccionar con ácido pícrico para producir picratos altamente coloridos. Para inhibir la reacción con amoníaco y monometilamina, se adicionó formaldehído en la mezcla de reacción. La adición de KOH al 25 % facilita la extracción de las aminas a la fase del tolueno con la subsecuente formación del picrato. El TMA-N fue cuantificado midiendo la absorbancia a 410 nm con una curva estándar de TMA-N expresada en mg de TMA-N/100 g músculo.

Histamina. Se utilizó una alícuota del extracto obtenido para NNP, la cual fue concentrada 10 veces para posteriormente ser analizada por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), en fase reversa de acuerdo a Gouygou *et al.*, 1987. Se utilizó un sistema

HPLC que consistió en una bomba Varian 9010 (Varian Instrument, Walnut GreeK, CA) y una válvula de inyección Rheodyne con un "loop" de 50 μ L de capacidad. Se usó un detector Fluorichrom II con lampara de deuterio de un rango de excitación de 210-400 nm (Varian Instrument, Walnut Greek, CA). La columna utilizada fue una Lichrosorb RP 18 de 4.6 X 300 mm, empacada con un tamaño de partícula de 5 μ m. La fase móvil isocrática fue acetonitrilo al 40% en buffer de fosfato 50 mM, a un flujo de 0.7 mL/min. La histamina se derivó con o-phtalaldialdehido (OPA) (Pierce Chemical Co., II.) y se detectó por fluorescencia a 350 nm de emisión y 400 nm de exitación. La cuantificación se llevó a cabo con una curva de estándar externo de histamina-HCl (Sigma Chemical Co., St Louis, MO). Los cromatogramas fueron graficados y calculados en una computadora GRID G-52 (GRID, Greenwich, Ca.) utilizando el paquete computacional PE NELSON serie 900 (Perkin Elmer Nelson Systems Inc. Cupertino CA)

Caracterización de la Fracción Proteica Muscular

Fraccionación de las proteínas del músculo. Se llevó a cabo de acuerdo a Hashimoto et al., 1989. Las proteínas del músculo fueron fraccionadas en base a su solubilidad. Todas las operaciones se realizaron a 3-4 °C utilizando un baño de hielo. A 20 g de músculo se le añadieron 200 mL de buffer fosfato (Na_2PO_4 y KH_2PO_4 3.5 mM) de $I=0.05$ y pH 7.5. Se homogenizó en un homogenizador de tejido Tissumizer Modelo SDT 1810 (Tekmar Co. W. Germany), por 3 min a intervalos de 30 segundos. El homogenizado se centrifugó a 5400 X g por 15 min, en una centrífuga refrigerada

Beckman Modelo J2-21 (Beckman Instrument Inc. Palo Alto, CA). Al precipitado se le añadieron 200 mL del mismo buffer, y se homogenizó y centrifugó nuevamente. Los dos sobrenadantes juntos corresponden a NNP y proteínas sarcoplásmicas, se midió el volumen. En seguida se le añadió ác. tricloroacético para hacer la solución al 5%, para precipitar las proteínas sarcoplásmicas, se centrifugó. El sobrenadante resultante fue colectado por decantación, utilizándose como fracción de NNP. El precipitado fue solubilizado en 200 mL del mismo buffer fosfato y se tomó una alícuota para la determinación de proteína (sarcoplásmica). El precipitado obtenido de la primera centrifugación se homogenizó con 10 volúmenes de buffer fosfato-KCL (KCl 0.45 M; Na_2PO_4 15.6 mM y KH_2PO_4 3.5 mM) de $I=0.5$ y pH 7.5 y se centrifugó bajo las mismas condiciones. El precipitado se homogenizó y centrifugó de la misma manera que el anterior. Se combinaron los dos sobrenadantes y se midió el volumen y se tomó una alícuota para la determinación de proteína miofibrilar. El precipitado obtenido se extrajo exhaustivamente durante toda la noche en agitación con 200 mL NaOH 0.1N. La mezcla se centrifugó y el sobrenadante se utilizó como fracción soluble en álcali, probablemente conformada principalmente por actomiosina desnaturalizada. El precipitado final se utilizó como la fracción proteica estroma. La concentración de proteína de cada fracción fue determinada por el método Macrokjeldahl de la A.O.A.C (1984).

•
Capacidad de gelificación térmica. 300 g de músculo se le adicionó 2.5% de NaCl, se agregó hielo molido para ajustar la humedad final del sol a 80%, y se mezcló, a intervalos, por un tiempo total de 2 min, en un procesador de alimentos Cuisinart

DLC-8 plus (Cuisinart Inc. Greenwich, CT.). Durante el mezclado la temperatura no excedió los 10°C. Se empacó en plásticos de polietileno resistentes al calor, las cuales fueron selladas al vacío utilizando una empacadora al vacío SuperVac Smith (Smith Equipment Co. Clifton, N.J.).

Los soles fueron sometidos a un proceso térmico, utilizando un baño maría a 90°C por 90 minutos. Inmediatamente después, los geles fueron enfriados a 0 °C al ser sometidos a un baño de hielo.

La prueba de doblado se realizó tomando una rodaja de gel de 3 mm de grosor y 2.5 cm de diámetro, entre los dedos índice y pulgar, sometiendola a los doblados descritos por la metodología de Kudo *et al.*, (1973).

Análisis Estadístico

El efecto de la estación en el comportamiento poscaptura del músculo, fue analizado bajo un diseño de parcelas divididas, teniendo dos parcelas grandes (dos estaciones), 9 parcelas chicas (días de almacenamiento a 0°C) y 2 subparcelas (2 repeticiones).

El efecto de los días de almacenamiento fue analizado por estación, en un diseño completamente al azar, teniendo como tratamiento los días de almacenamiento.

Las pruebas ponderales y la composición química muscular, se analizaron mediante la prueba "t" de Student. Todas las estadísticas se manejaron con un nivel de significancia del 5%. El análisis estadístico fue llevado a cabo en el paquete computacional SAS.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características Ponderales

Los resultados en la Tabla 3 muestran que durante la temporada de invierno, la sardina presentó mayor peso y talla patrón, detectándose diferencias significativas ($p < 0.05$) en ambos parámetros respecto a las capturas de primavera. Lo anterior se puede explicar en base a que las capturas fueron realizadas en diferentes áreas de pesca por lo que los especímenes pudieron tener diferentes edades y/o alimentación. No obstante las diferencias encontradas, las muestras tomadas fueron bastante homogéneas, ya que el coeficiente de variación, tomando en consideración ambas estaciones, no excedió del 6% y 2% para peso y talla patrón, respectivamente. En particular, la talla patrón cumplió con el ordenamiento de la Secretaría de Pesca, en donde se establece que la talla mínima legal para la especie es de 15 cm.

El rendimiento de la fracción comestible, obtenido mediante fileteado manual, no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las estaciones. Los resultados son superiores a los valores reportados por Susuki (1981), de 35% - 40% para especies de forma alargada.

Tabla 3. Peso y Talla Patrón de Sardina Monterrey y Rendimiento de su Músculo en las Estaciones de Invierno y Primavera.

	Invierno	Primavera
PESO (g)	120.84 ^a ±5.58	102.98 ^b ±6.01
TALLA PATRON (cm)	18.59 ^a ±0.44	17.99 ^b ±0.41
RENDIMIENTO (%)	42.44 ^a ±3.33	43.59 ^a ±0.93

Medias en el mismo renglón con diferente superíndice indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

La uniformidad en las capturas de estas tres características ponderales, representa una ventaja tecnológica desde el punto de vista del control de proceso industrial de la especie.

Composición Química del Músculo de Sardina

La composición química muscular de la sardina, así como la variación observada en la misma (Tabla 4), coincide con la información reportada por Jacquot (1961) para peces. No se observó diferencia significativa ($p > 0.05$) en la composición química del músculo de sardina proveniente de ambas estaciones, excepto para proteína. La variación observada entre estaciones en la composición muscular, pudo deberse a diferencias en el estado fisiológico entre los especímenes y/o a la alimentación de los mismos, la cual pudo estar influenciada por factores ambientales.

El contenido de lípidos concuerda con los resultados de Jacquot (1961), donde reporta una variación entre 5% y 15% para especímenes sexualmente maduros, los cuales presentan una talla de al menos 15 cm. En base a lo anterior, y tomando en consideración de que la talla patrón de la muestra en el presente estudio excedió esta longitud, se concluye que la sardina utilizada fue adulta.

•

Los valores estadísticamente menores ($p < 0.05$) observados en el contenido de proteína en los muestreos de invierno, pueden deberse a que la sardina haya desovado

Tabla 4. Composición Química del Músculo de Sardina Monterrey en las Estaciones de Invierno y Primavera.

%	Invierno	Primavera
HUMEDAD	75.64 ^a ±4.46	66.52 ^a ±2.10
GRASA	8.37 ^a ±2.66	11.12 ^a ±2.47
PROTEINA	13.96 ^b ±1.49	20.26 ^a ±0.84
CENIZAS	1.37 ^a ±0.13	1.36 ^a ±0.02

Medias en el mismo renglón con diferente superíndice indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

antes de su captura, coincidiendo con los reportes de Sepesca (1987), donde se establece que esta especie realiza fuertes desoves durante el invierno, lo cual se manifiesta en una disminución en el contenido muscular de proteínas y lípidos.

Se observó una mayor variación en la composición química muscular entre las dos repeticiones de la estación de invierno. La variación en humedad no fue apreciable ya que el coeficiente de variación no excedió del 6.0%; sin embargo, el coeficiente de variación en el contenido de lípidos fue de 32.1%, el de proteína de 10.7% y el de cenizas de 9.5%. Este comportamiento pudo deberse a que las sardinas de cada repetición fueron capturadas en diferentes áreas de pesca y a que se encontraran, como se mencionó anteriormente, en diferentes periodos de desarrollo fisiológico.

La variación observada en esta estación, pudo implicar que la diferencia encontrada en algunos componentes al comparar ambas estaciones, resultara no significativa ($p < 0.05$). Por otro lado, es importante considerar que la composición del músculo de pescado puede variar ampliamente de una especie a otra, entre la misma especie y entre especímenes individuales (Jacquot, 1961).

Cambios Posmortem

•

El comportamiento posmortem en músculo de pescado incluye los procesos de autólisis, los cuales pueden ser monitoreados mediante la determinación del índice K, pH

y actividad proteolítica total; procesos de desnaturalización de proteínas, los cuales resultan principalmente de agregación lípido-proteína y proteína-proteína; la oxidación e hidrólisis de grasas, en los que se forman compuestos como los peróxidos y ácidos grasos libres y por último, los procesos de deterioro por acción bacteriana, cuantificados mediante las determinaciones de nitrógeno no proteico (NNP), bases volátiles totales (BVT-N), trimetilamina (TMA) y aminas biogénicas como putrecina, cadaverina e histamina.

pH

El pH del músculo de pescado puede presentar variaciones durante el año, debido a diferencias en la alimentación de los peces y al grado de actividad durante la captura. Después de la muerte, el glucógeno almacenado es degradado por la glucólisis produciendo ác. láctico, lo que ocasiona una caída en el pH intracelular debida a la ionización de este ácido y a la generación de iones de hidrógeno producidos durante la hidrólisis posmortem del ATP a ADP (Watabe *et al.*, 1991). El pH del músculo de la sardina (*Sardinops melanostica*) viva es de 7.2, el cual disminuye a 6.8 a las 2 hrs posmortem (inicio del rigor mortis), a 6.2 a las 8 hrs (rigor completo) y a 5.8 a las 24 hrs (inicio de la resolución del rigor) (Watabe *et al.*, 1991).

La Figura 1 muestra el comportamiento posmortem del pH del músculo de sardina en ambas estaciones. El análisis estadístico de los resultados por estación, mostró una tendencia significativa ($p < 0.05$) del pH a aumentar durante el período de

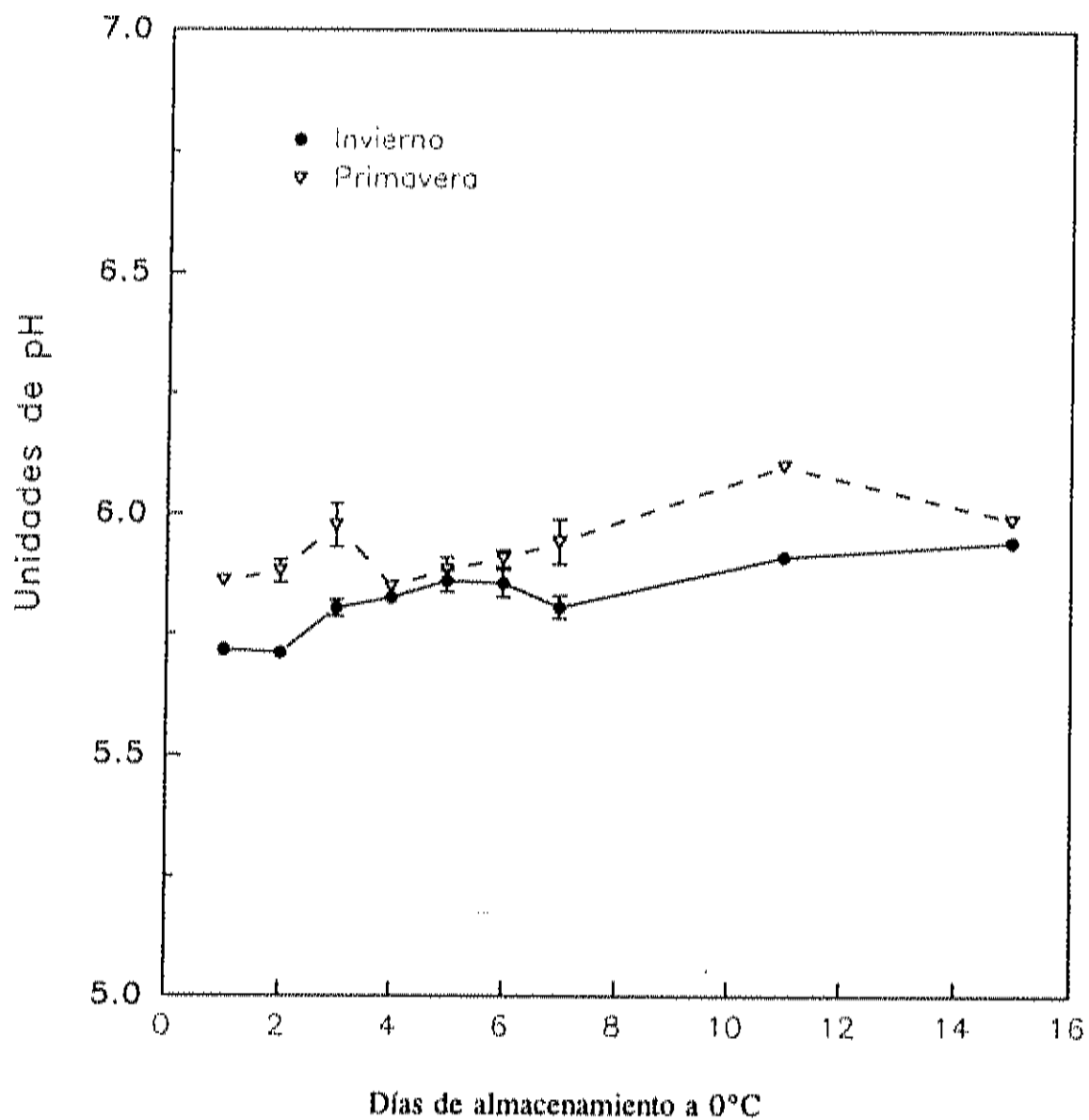


Figura 1. Comportamiento del pH en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera.

almacenamiento. La magnitud de este aumento no excedió de 0.1 unidades de pH durante los primeros tres días de almacenamiento; de 0.2 unidades, al séptimo y decimoprimer día en primavera e invierno respectivamente, y de 0.25 al decimoquinto día en las dos estaciones. Riaz y Quadri (1985), al evaluar los cambios en la calidad del músculo de langosta (Panulirus poliphagus) almacenado en hielo, encontraron que incrementos menores o iguales de 0.1 unidades de pH indican músculo de primera calidad; incrementos mayores de 0.1 a 0.2, de calidad aceptables y mayores de 0.2 como deteriorados.

De acuerdo a lo anterior, y en base a los resultados obtenidos en el presente estudio, el músculo de sardina tendría un grado de primera calidad hasta el tercer día de almacenamiento; de calidad aceptable, hasta el séptimo y decimoprimer día en primavera e invierno respectivamente, y deteriorado al decimoquinto día de almacenamiento. La extrapolación directa de los datos obtenidos en langosta para su aplicación al músculo de sardina se debe tomar con precaución, ya que se trata de especies muy diferentes, donde el músculo de langosta se caracteriza por tener un contenido elevado de aminoácidos libres cuya deaminación origina el incremento del pH.

El pH inicial del músculo indicó que la sardina al primer día poscaptura se encontraba en estado de rigor. Los procesos responsables del aumento del pH durante la resolución del "rigor mortis", pueden ser tanto endógenos, principalmente actividad autolítica, como bacterianos. Ambos procesos generan compuestos aminados los que al

ionizarse retiran H^+ del medio, con el subsecuente incremento en el pH. El control de la temperatura a $0^{\circ}C$ durante el período de almacenamiento de la sardina, inhibió las reacciones enzimáticas retardando el incremento en este parámetro.

Al comparar el comportamiento del pH entre ambas estaciones, se observó que las interacciones de los efectos principales repetición x estación (r x e) y día x estación (d x e) fueron significativas ($p < 0.05$), lo que implica que el comportamiento del pH durante el almacenamiento dependerá tanto de la estación de captura como del área donde se realizó la misma.

Los efectos principales "estación" y "repetición" no fueron significativos ($p > 0.05$), mientras que el efecto principal "día" mostró significancia. En la estación de invierno se encontraron valores de pH menores durante todo el período de almacenamiento. Lo anterior se pudo deber a diferencias en contenido de glucógeno en el músculo y/o al estrés al que fue sometida la especie por el mal manejo en la captura, en una repetición de la estación de invierno.

Los bajos valores iniciales del pH del músculo de sardina monterrey obtenidos en este estudio, fueron similares a los reportados por El Marrakchi *et al.* (1990), para sardina de Marruecos (*Sardina pilchardus*), almacenada bajo las mismas condiciones. Sin embargo, el incremento del pH fue más acelerado en esta última especie, ya que al tercer

día de almacenamiento los valores de pH excedieron de 6.0. Este comportamiento pudo deberse a una carga bacteriana inicial mayor en la sardina de Marruecos.

Actividad Autolítica Total

La actividad autolítica presente en el músculo puede ser de origen endógeno, representada por actividad de catepsinas y proteinasas neutras y alcalinas, de contaminación de enzimas del tracto digestivo (contaminación visceral), y/o de enzimas secretadas por parásitos que invaden dicho músculo (Pacheco-Aguilar, 1989).

La Figura 2 muestra los resultados obtenidos en la determinación de la actividad autolítica total en el músculo de sardina. No obstante se observó una tendencia significativa ($p < 0.05$) a aumentar, la diferencia entre ambas estaciones fué marcada, obteniéndose valores superiores durante la estación de invierno. Esta diferencia en el comportamiento fue consecuencia del mal manejo en una de las repeticiones durante la estación de invierno, en la cual la sardina fue retenida en la red por aproximadamente 12 hrs.

Durante este tiempo las sardinas estuvieron nadando en un espacio tan limitado como es la bolsa de la red, por lo que además del estrés, la sardina estuvo sometida a golpes continuos y presiones, lo cual pudo conducir al estallamiento de vísceras y su muerte. Lo anterior trajo como consecuencia la contaminación del músculo por proteinasas de la cavidad visceral, con el consecuente aumento de la actividad enzimática

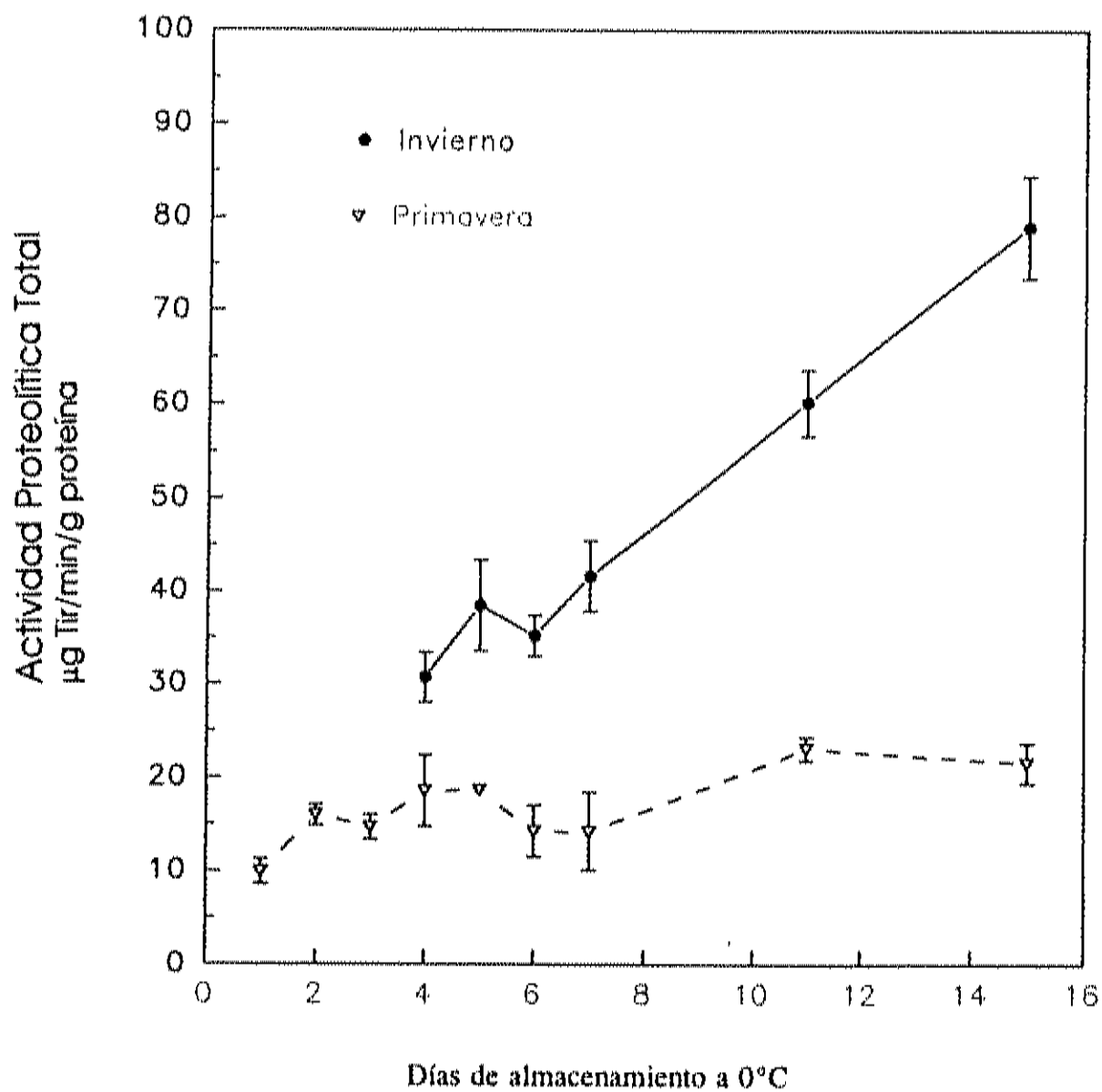


Figura 2. Comportamiento de la actividad proteolítica total en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera.

detectada en esa repetición. De la misma forma, la magnitud de la actividad autolítica en la cavidad visceral y su invasión al músculo, pudo ser influenciada por el estado de alimentación de los especímenes al momento de su captura, tal como lo reportaron Martínez y Gilberg (1968), ya que si hubo una alimentación fuerte hay una alta secreción de proteinasas digestivas.

Dentro de los factores importantes que determinan la actividad autolítica en el músculo, son el pH y la temperatura de almacenamiento. Martínez y Gilberg (1988), reportaron picos de actividad máxima para las enzimas responsables de la actividad proteolítica en anchoveta a pH 3.0 y 9.5-10. Sin embargo, en el músculo posmortem de esta especie, cuyo valor de pH oscila entre 5.5 y 6, la actividad proteolítica reportada fue entre 3-6 μg tir/g/min en el músculo ventral del la anchoveta a las 30-80 hrs poscaptura.

Se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) en la actividad autolítica durante el tiempo de almacenamiento en la estación de primavera. En la estación de invierno se realizó únicamente una repetición de esta determinación, por lo que los datos en la Figura 2 representan las medias de triplicados para cada uno de los días durante el período de almacenamiento. No obstante los valores iniciales y finales, al comparar ambas estaciones fueron muy disímiles, debido a lo mencionado en párrafos anteriores, la magnitud del aumento durante el período de almacenamiento en la actividad autolítica fue similar, siendo de 2.6 para la estación de invierno y de 2.4 para la de primavera.

Los resultados de actividad autolítica total en músculo de sardina encontrados en este estudio, con un mínimo de 10.0 y máximo de 50.2 $\mu\text{g Tyr/g proteína/min}$, fueron bajos al compararlos con los reportados por Pacheco Aguilar (1989), en sus estudios con merluza del pacífico (Merluccius productus) infestada con parásitos del género Kudoa. En dicho estudio se detectó una actividad proteolítica de 231.8 $\mu\text{g Tyr/g proteína/min}$, la cual fue el resultado directo de las enzimas proteolíticas secretadas por el parásito, tal como lo reportaron Tsuyuki et al., (1982), Patashnik et al., (1982) y Dassow et al., (1970). Por otro lado, los valores iniciales encontrados en el presente estudio para la estación de primavera de 10.0 $\mu\text{g Tyr/g proteína/min}$, concuerdan con los reportados por Guzmán-Partida y Soto-Córdova (1991), de 10.2 y 10.0 $\mu\text{g Tyr/g proteína/min}$ en músculo de lisa (Mugil cephalus) y corvina (Atractoscion nobilis) respectivamente, donde establecen la ausencia de actividad enzimática ajena a la endógena.

De investigaciones sobre el deterioro del músculo de pescado durante su almacenamiento en hielo, se asume que los pasos iniciales del deterioro consisten de reacciones hidrolíticas catalizadas por enzimas endógenas, las cuales producen nutrientes que permiten la proliferación bacteriana (Busconi et al., 1989).

Si se descarta la presencia de parásitos en el músculo de la sardina utilizada en el presente estudio, el aumento en la actividad autolítica detectada durante el período de almacenamiento para la estación de primavera, se explica principalmente en términos de

la actividad de enzimática endógena, tanto de proteinasas ácidas, neutras y alcalinas, como lo establecen los estudios de Makinodan *et al.*, (1983).

Dado que el pH del músculo de sardina durante el período de almacenamiento fluctuó entre 5.7 y 6.1 (Figura 1), los resultados concuerdan con los estudios de Lugo Sanchez (1993), donde reporta para la misma especie, picos de actividad enzimática a pH de 2.5 y 9.5, y donde dicha actividad enzimática mostró un rango de estabilidad al pH de 5.5 a 7.5. Otro aporte en la actividad autolítica total en el músculo de sardina durante los muestreos de la estación de primavera, pudo provenir de acción bacteriana, no obstante, se concluye que éste es bajo o insignificante en base a la temperatura de almacenamiento y a los comportamientos del TMA-N (Figura 7), histamina (Figura 8) y NNP (Figura 6) utilizados como índices de deterioro bacteriano.

Por lo que respecta a la estación de invierno, el mayor aporte en la actividad autolítica total detectada provino, probablemente, por la contaminación del músculo con enzimas del tracto digestivo, como resultado del estallamiento de vísceras por el mal manejo al que se sometió la especie durante su captura.

Entre las enzimas hidrolíticas, las proteinasas son las de especial interés debido a su influencia sobre los cambios estructurales que sufre el músculo de pescado durante el almacenamiento en frío Busconi *et al.*, (1989). La actividad autolítica en el músculo es un factor importante ya que las proteinasas tiene como sustrato a las proteínas

miofibrilares, las cuales son esenciales para mantener las propiedades de textura y funcionalidad del músculo de pescado (Lin y Lanier, 1980).

Ácidos Grasos Libres

Los ácidos grasos son liberados durante el almacenamiento por enzimas lipolíticas, especialmente fosfolipasas, las cuales presentan una actividad considerable incluso a temperaturas de congelación. Estos ácidos no tienen efectos directos sobre la calidad del pescado; su efecto es indirecto sobre las propiedades texturales y organolépticas, por la promoción de desnaturalización de proteínas y por el aumento de la oxidación lipídica, ya que los ácidos grasos libres son más susceptibles a la oxidación que los esterificados (Barassi *et al.*, 1987; Toyomizu *et al.*, 1981).

Los ácidos grasos libres y los productos derivados de su oxidación, interaccionan con las proteínas promoviendo su agregación, lo cual podría resultar en cambios en la textura del músculo; por otro lado, como se mencionó anteriormente, los productos resultantes de la descomposición de los ácidos grasos oxidados (hidroperóxidos), generan compuestos volátiles que alteran las características de sabor, olor y color. Barassi *et al.*, (1987), encontraron una relación inversa entre la producción de ácidos grasos libres y la pérdida de frescura de la merluza (Merluccius hubbsi), y proponen que la determinación de estos ácidos pudiera ser utilizada en la determinación del deterioro del pescado almacenado en hielo, como una alternativa a la evaluación sensorial. Por otro lado, Botta y Shaw (1987), no encontrarán correlación alguna entre ambos parámetros.

En ambas estaciones, la generación de ácidos grasos libres mostró un aumento significativo ($p < 0.05$) durante el período de almacenamiento (Figura 3). Se observó un incremento pronunciado en los primeros siete días, para después mantenerse prácticamente sin cambio. Este rápido incremento coincidió con el aumento observado en el índice de peróxidos en los primeros cinco días de almacenamiento. En la Figura 3 se observa el comportamiento irregular, en ambas estaciones, de la producción de ácidos grasos libres durante el período de almacenamiento; este mismo comportamiento fue observado por Botta y Shaw (1987) en *Macrourus berlax*, una especie magra del atlántico norte, almacenada en hielo por 18 días, donde reportan que la producción de ácidos grasos libres no incrementa significativamente ($p > 0.05$) después del día 12.

Toyomizu *et al.*, (1981), reportaron valores iniciales de ácidos grasos libres de aproximadamente $2.4 \mu\text{moles/g}$ tejido, en macarela del pacífico la cual fue congelada a -5°C . Los valores iniciales obtenidos en el presente estudio fueron superiores a los anteriormente citados, ya que estuvieron en el rango de 5.5 a $7.1 \mu\text{moles/g}$ tejido. Esta diferencia en los valores iniciales, pudo ser debida a las diferencias propias entre especies o a un posible efecto del método de captura y el subsecuente manejo poscaptura de la misma.

Al analizar estadísticamente el efecto de la temporada de captura, se observaron interacciones significativas ($p < 0.05$) entre los efectos principales "repetición x estación" y "día x estación", lo que implica que la liberación de ácidos grasos libres en el músculo

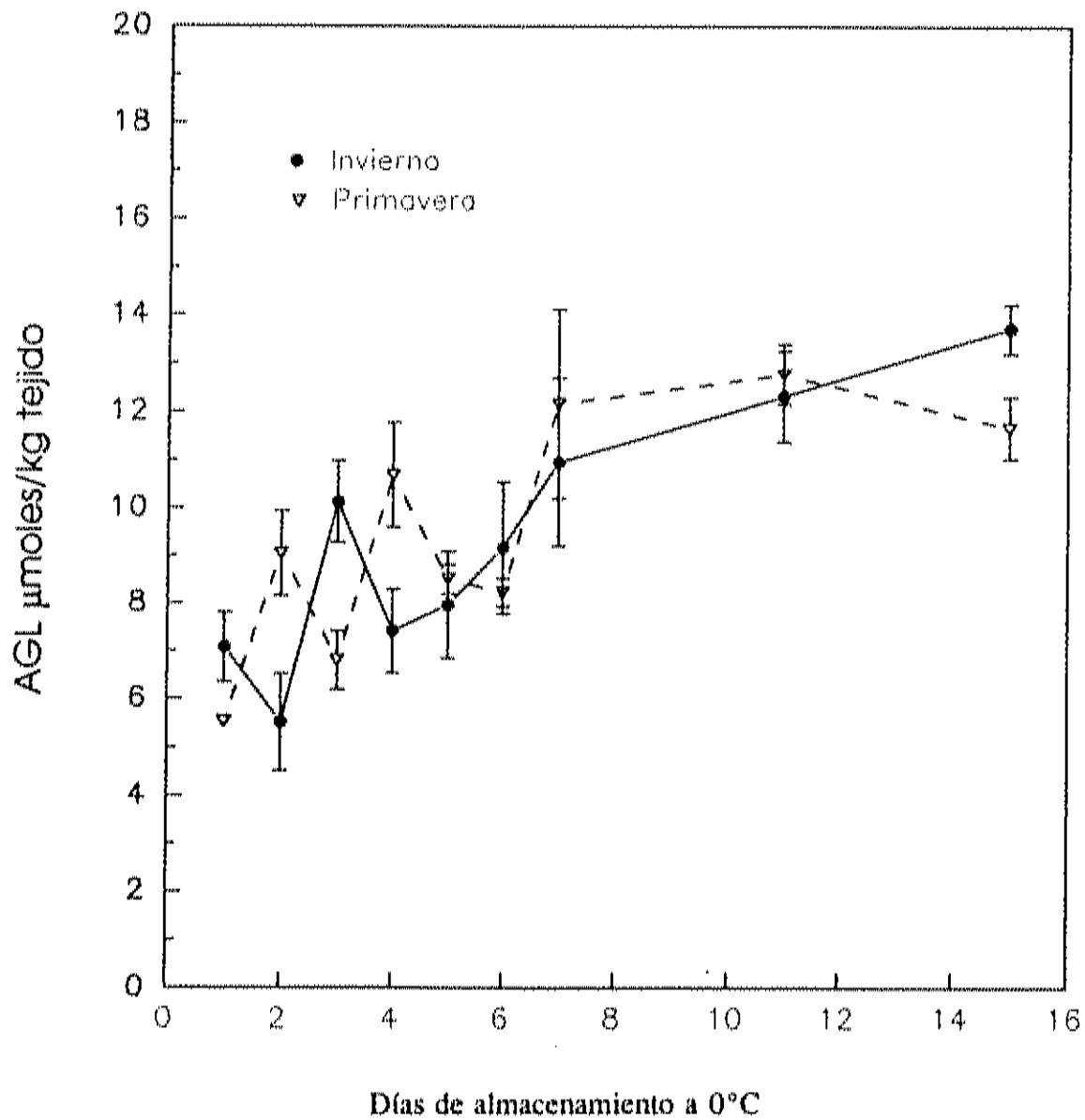


Figura 3. Comportamiento de los ácidos grasos libres en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C , en las estaciones de invierno y primavera.

de sardina durante el almacenamiento, dependerá tanto de la estación de captura como del área donde se realizó la misma.

Como consecuencia del mal manejo de la especie durante una de las repeticiones en la estación de invierno, se detectó una mayor variación en esta estación. El valor inicial en esta repetición fué de 7.07 $\mu\text{moles/g}$ tejido y al decimoquinto día de 13.70 $\mu\text{moles/g}$ tejido, mientras que en primavera fueron 5.53 y 11.65 $\mu\text{moles/g}$ tejido, respectivamente.

Indice de Peróxidos (IP)

La oxidación lipídica durante el almacenamiento y procesamiento de alimentos marinos, es una de las principales causas de los cambios en la calidad que involucra aroma, sabor, textura, consistencia y apariencia. La vida media de estos productos, se limita por la rancidez (Cho *et al.*, 1989; McDonald y Hultin, 1987).

En el presente estudio se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de IP durante los días de almacenamiento (Figura 4). El comportamiento de este parametro fue similar en ambas estaciones, mostrando valores iniciales de 8.86 meq/Kg grasa y 2.91 meq/Kg grasa para las estaciones de invierno y primavera respectivamente, y un aumento pronunciado hasta alcanzar un valor máximo al quinto día de 31.88 meq/Kg grasa en invierno y de 33.92 meq/Kg grasa en primavera. El IP disminuyó

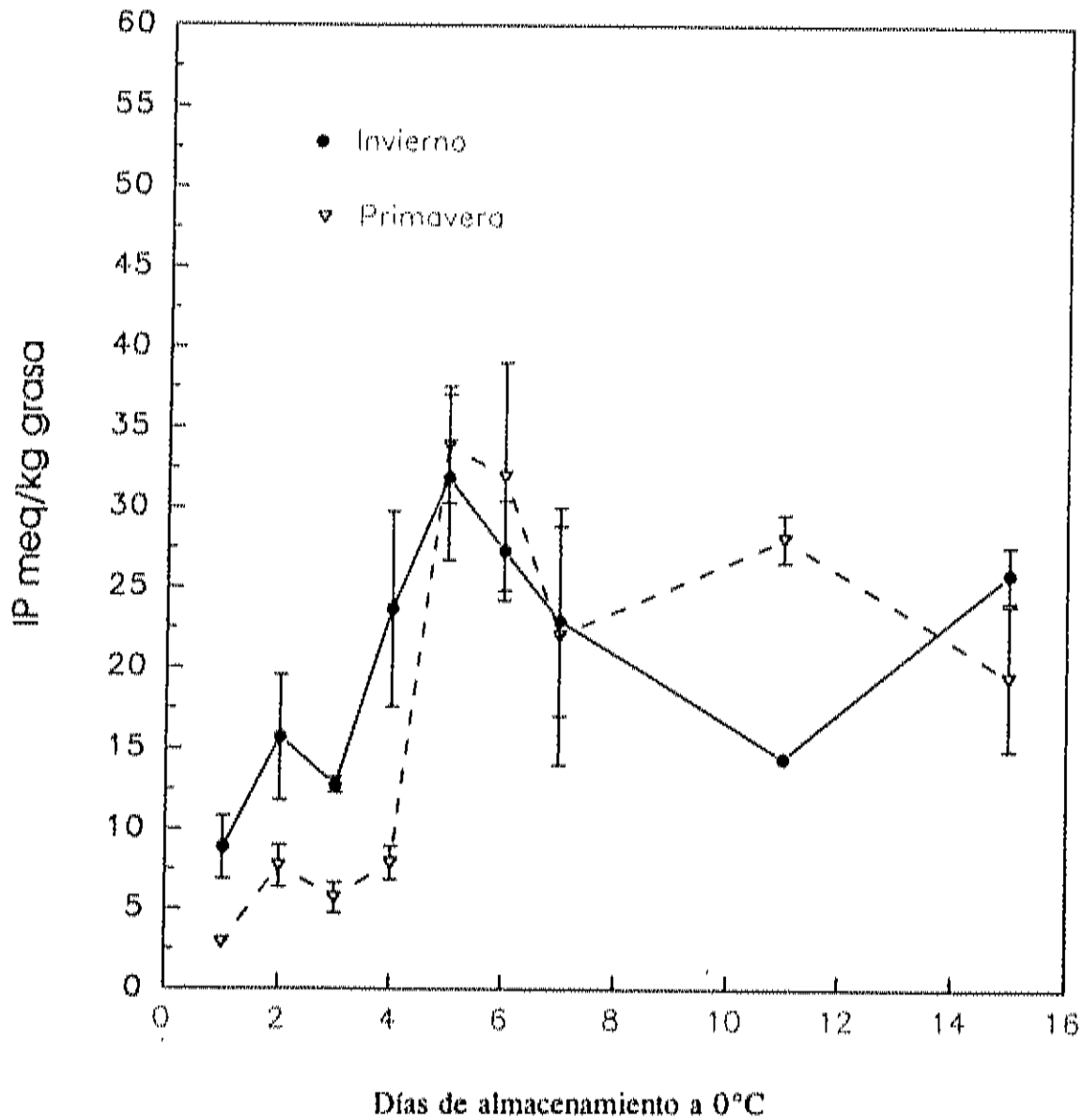


Figura 4. Comportamiento del índice de peróxidos (IP) en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera.

posteriormente, detectándose al decimoquinto día valores de 25.87 meq/Kg grasa para invierno y 19.43 meq/Kg grasa para primavera.

El comportamiento irregular observado para este índice de calidad, principalmente en lo referente a la variación por día, se debe a la complejidad de la reacción y a la facilidad con que los productos de la misma reaccionan con otros componentes presentes en el medio (Cho et al., 1989). Este comportamiento variable en los valores de IP, también ha sido reportado por Pizzocaro et al., (1984), en músculo de sardina pilchardus almacenada a -20°C y -30°C .

Los valores iniciales de IP en este estudio, indicaron que el grado de oxidación de los lípidos del músculo de la sardina fue reducido. McCallum et al., (1956), reportó valores iniciales de IP para sardina (Culpea pilchardus) recién capturada, de aproximadamente 10 meq/Kg grasa, mientras que Smith et al., (1980), de 0.8 a 1.2 para arenque (Culpea harengus). Cho et al., (1989), reportaron valores iniciales de IP de 27.6 meq/Kg grasa para sardina fresca (Sardinops melanostica); por otro lado, Awad et al. (1969), al estudiar el deterioro lipídico del músculo de pescado blanco (Caulolatilus princeps) almacenado a -10°C , detectó, mediante evaluación sensorial, el inicio de la rancidez en músculo, presentando un IP de 19.6 meq/Kg grasa y de 26.2 meq/Kg grasa para estados moderadamente rancios.

El comportamiento del IP observado en el presente estudio indicó, que al quinto día de almacenamiento donde se alcanzaron valores máximos en el rango 31.88 a 33.92, concluye, para ambas estaciones, la primera etapa del proceso de autooxidación, por lo que el nivel de deterioro lipídico en este periodo sería de incipiente a medio. La tendencia del IP a descender a partir del quinto día, indica el inicio de la segunda etapa del proceso de autooxidación, donde la degradación de los hidroperóxidos genera compuestos volátiles responsables de las manifestaciones organolépticas de deterioro.

Al comparar el comportamiento del IP entre ambas estaciones, se observó que las interacciones "repetición x estación" (r x e) y "día x estación" (d x e) fueron significativas ($p < 0.05$), lo que implica que el comportamiento del IP durante el almacenamiento dependerá tanto de la estación de captura como del área donde se realizó la misma.

Indice de Acido Tiobarbitúrico

Este parámetro es uno de los indicadores de oxidación lipídica mas ampliamente usado (Nishimoto *et al.*, 1985; Martín *et al.*, 1978). En la Figura 5 se muestra el comportamiento del TBA para la estación de primavera, donde se observó una tendencia significativa ($p < 0.05$) a incrementar, encontrándose valores iniciales de 4.3 mg malonaldehído/Kg músculo y máximos de 37.25 al decimoprimer día de almacenamiento. Durante el período de almacenamiento no se detectaron olores rancios en las agallas.

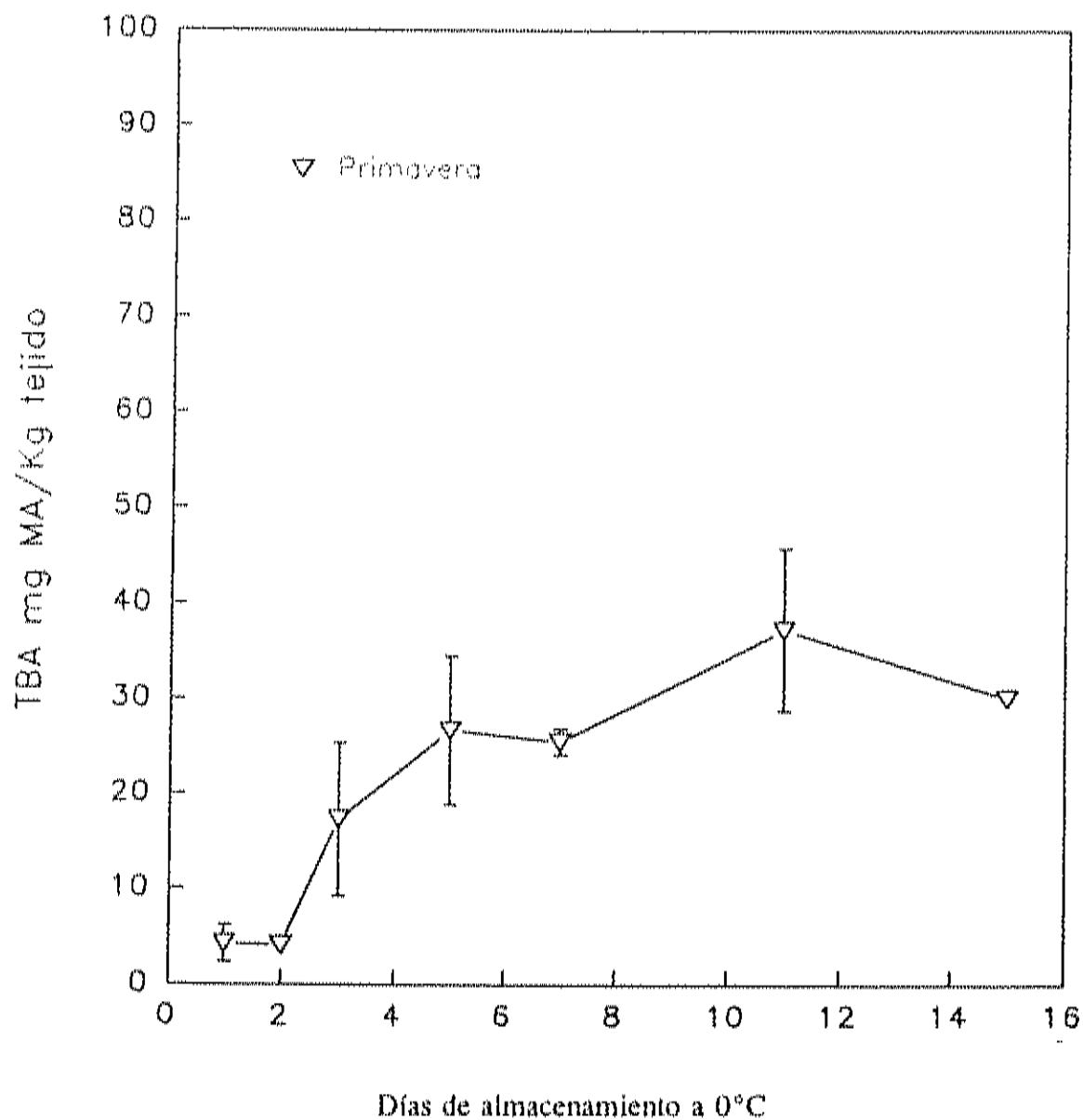


Figura 5. Comportamiento del Índice de ácido tiobarbitúrico en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en la estación de primavera.

Se observó un incremento marcado en la producción de malonaldehído después del segundo día de almacenamiento, lo cual coincidió con lo reportado para macarela por Ryder *et al.*, (1984). Los valores iniciales encontrados en este trabajo (4.3 mg malonaldehído/Kg músculo) fueron ligeramente superiores a los citados por estos investigadores (2.3 mg malonaldehído/Kg músculo) y por Nishimoto *et al.*, (1985), para pescado de buena calidad (3 mg malonaldehído/Kg músculo).

El comportamiento del índice de TBA se complementó perfectamente con el observado para el índice de peróxidos mostrado en la Figura 4, ya que en este último parámetro se observó un valor máximo al quinto día de 31.8 - 33.9 meq/Kg grasa, el cual coincidió con el segundo incremento marcado, observado en el mismo día (26.69 mg malonaldehído/Kg músculo) para el TBA. Lo anterior indica el inicio de la segunda fase o etapa del proceso de autooxidación.

Según reportes de Nishimoto *et al.*, (1985), valores para pescado crudo y productos marinos congelados que oscilan entre 4 y 27 mg malonaldehído/Kg músculo, denotan baja calidad. En el presente estudio, valores iguales al límite máximo del rango anteriormente mencionado, se observaron después del séptimo día de almacenamiento.

Por otra parte, Ryder *et al.*, (1984), en su estudio de almacenamiento de macarela (*Trachurus novaezelandiae*) a 0°C, encontró que el incremento del TBA coincidió con la aparición de olores y sabores aceitosos en pescado cocinado y al desarrollo de olores

rancios en las agallas, detectados mediante evaluación sensorial. Este incremento se observó a partir del segundo día (1.70 mgMA/Kg tejido), alcanzando el máximo valor al día 7 (8.3 mg MA/Kg tejido). Estos investigadores concluyeron que los olores y sabores aceitosos no fueron indicadores de deterioro durante el período inicial de almacenamiento y que el incremento en el índice de TBA no implicó una pérdida de aceptabilidad, por lo que este parámetro no fue útil en el establecimiento del fin de la vida de anaquel del producto.

Durante los 15 días que comprendió el período de almacenamiento no se detectaron olores a rancidez; no obstante, los valores de IP y TBA indicaron deterioro lipídico después del séptimo día. Lo anterior implica, probablemente como lo mencionan Koizumi *et al.*, (1987), que la percepción de los olores característicos del deterioro lipídico se logra al cocinar el músculo, ya que la temperatura del cocinado promueve la volatilidad de los compuestos resultantes de la autooxidación.

Nitrógeno No Proteico

El NNP en músculo de pescado lo constituyen varios compuestos, como aminas de bajo peso molecular, aminoácidos libres, polipéptidos sencillos, bases aminadas, etc. (Riaz y Quadri, 1985). Se ha reportado que la sardina contiene de 500-600 mg NNP/100g de músculo (Simidu, 1961). Por otro lado, Sakaguchi *et al.*, (1982), reportaron valores iniciales de 218 y 591 mg NNP/100g para músculo obscuro y blanco respectivamente, de atún cola amarilla (*Seriola quinqueradiata*). En el presente estudio,

los valores iniciales de NNP fueron de 0.46% (460 mg/100 g músculo) para la estación de invierno y de 0.42% (420 mg/100 g músculo) para la de primavera.

La tendencia del NNP en ambas estaciones fue de una ligera disminución ($p < 0.05$) a través del almacenamiento (Figura 6). Esto puede explicarse en base a que las bacterias metabolizan para su crecimiento preferentemente carbohidratos y luego los aminoácidos libres. En pescado, el contenido de carbohidratos libres es muy bajo por lo que los aminoácidos libres, que se encuentran en la fracción de NNP del músculo, son los sustratos primarios. La forma principal de utilización de los aminoácidos libres es su deaminación, incrementando la concentración de amoníaco, lo que a su vez explica el incremento observado en el comportamiento del pH durante el almacenamiento.

Esta disminución en el contenido de NNP en el músculo durante el almacenamiento, puede también ser el resultado del proceso de lixiviación ejercido por la fusión del hielo durante el almacenamiento, a su transformación por enzimas endógenas del músculo y a la posible formación de compuestos volátiles que se pierden durante el almacenamiento, tal como lo reporta Riaz y Quadri (1985).

No se detectó diferencia significativa ($p > 0.05$) en el comportamiento del NNP, entre las estaciones de invierno y primavera. De igual forma, la interacción de los efectos principales fue no significativa. Solo se observó significancia ($p < 0.05$), como se mencionó en párrafos anteriores, en la disminución del NNP como resultado del efecto

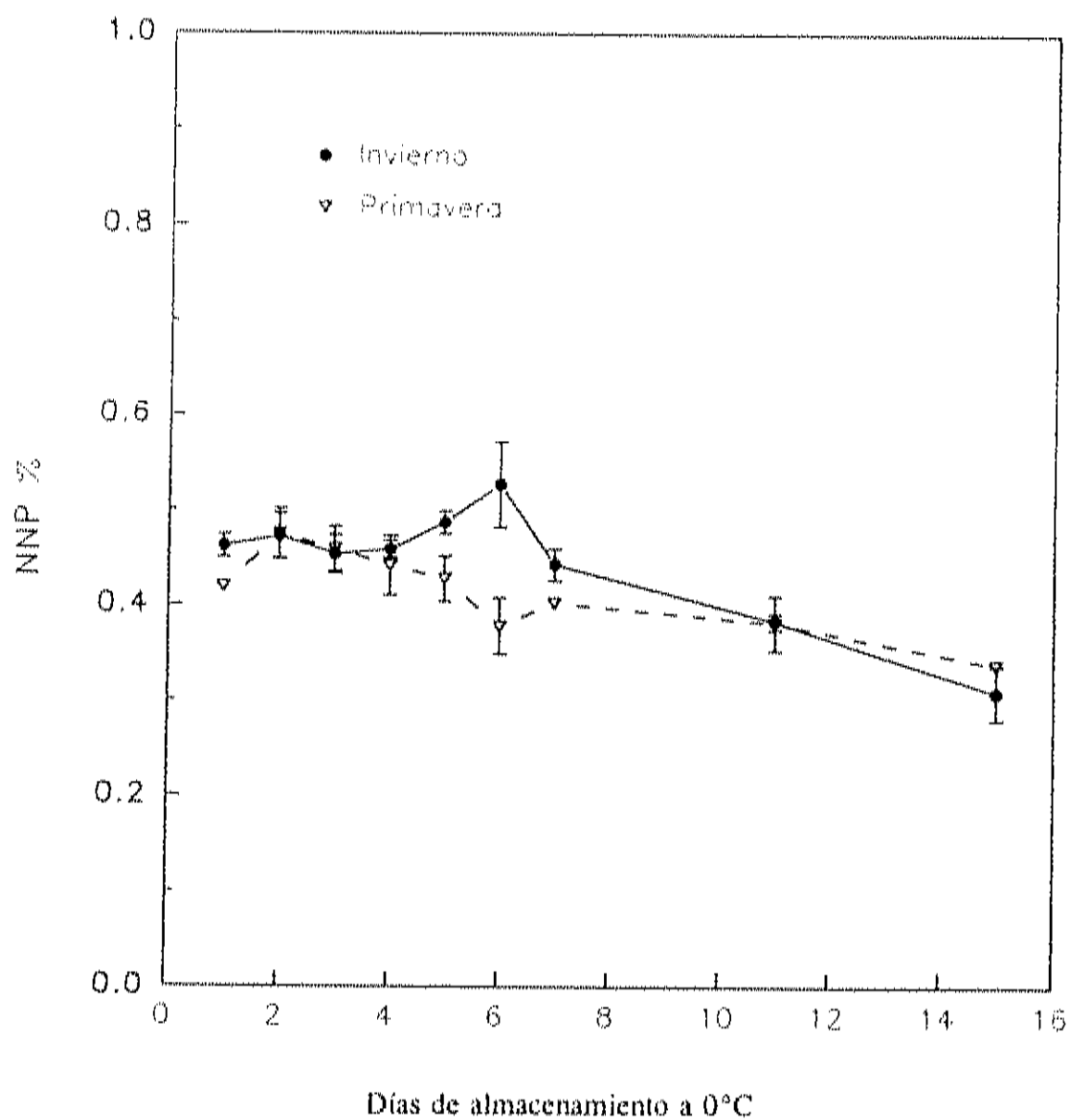


Figura 6. Comportamiento del nitrógeno no proteico en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera.

principal "día de almacenamiento". Durante la estación de invierno, el contenido de NNP disminuyó 33.6%, mientras que en primavera 19.9%. Esta tendencia a disminuir es similar a los resultados de Riaz y Qadri (1985), con colas de langosta (Panulirus polyphagus), donde reportan una disminución equivalente al 23.1% en el contenido de NNP en los primeros 8 días de almacenamiento en hielo y del 55.8% al día 15.

Nitrógeno de Trimetilamina (TMA-N)

Uno de los cambios mas sensibles en el músculo de pescado, es la aparición de olores debido a la producción de trimetilamina. Este compuesto tiene un olor amoniacal característico, indicador de deterioro bacteriano (Tomiyazu y Zenitani, 1957; Ryder et al., 1984).

En la Figura 7 se observa que el TMA tendió a incrementar durante el almacenamiento. En la estación de invierno el incremento no fue significativo ($p > 0.05$), lo cual resultó de la gran variación en esta estación debido al mal manejo al que se sometió la especie en una de sus repeticiones; mientras que en la estación de primavera, donde se observó menor variación en las medias, el efecto de los días de almacenamiento fue significativo ($p < 0.05$). Los valores iniciales de TMA-N fueron de 0.814 y 0.333 mg/100 g músculo, para las estaciones de invierno y primavera respectivamente, mientras que en el decimoquinto día 15, éstos fueron de 1.62 y 1.35 mg/100 g músculo. Los valores mayores detectados en la estación de invierno, indican una contaminación de la flora bacteriana presente en la cavidad visceral, hacia el músculo de la especie.

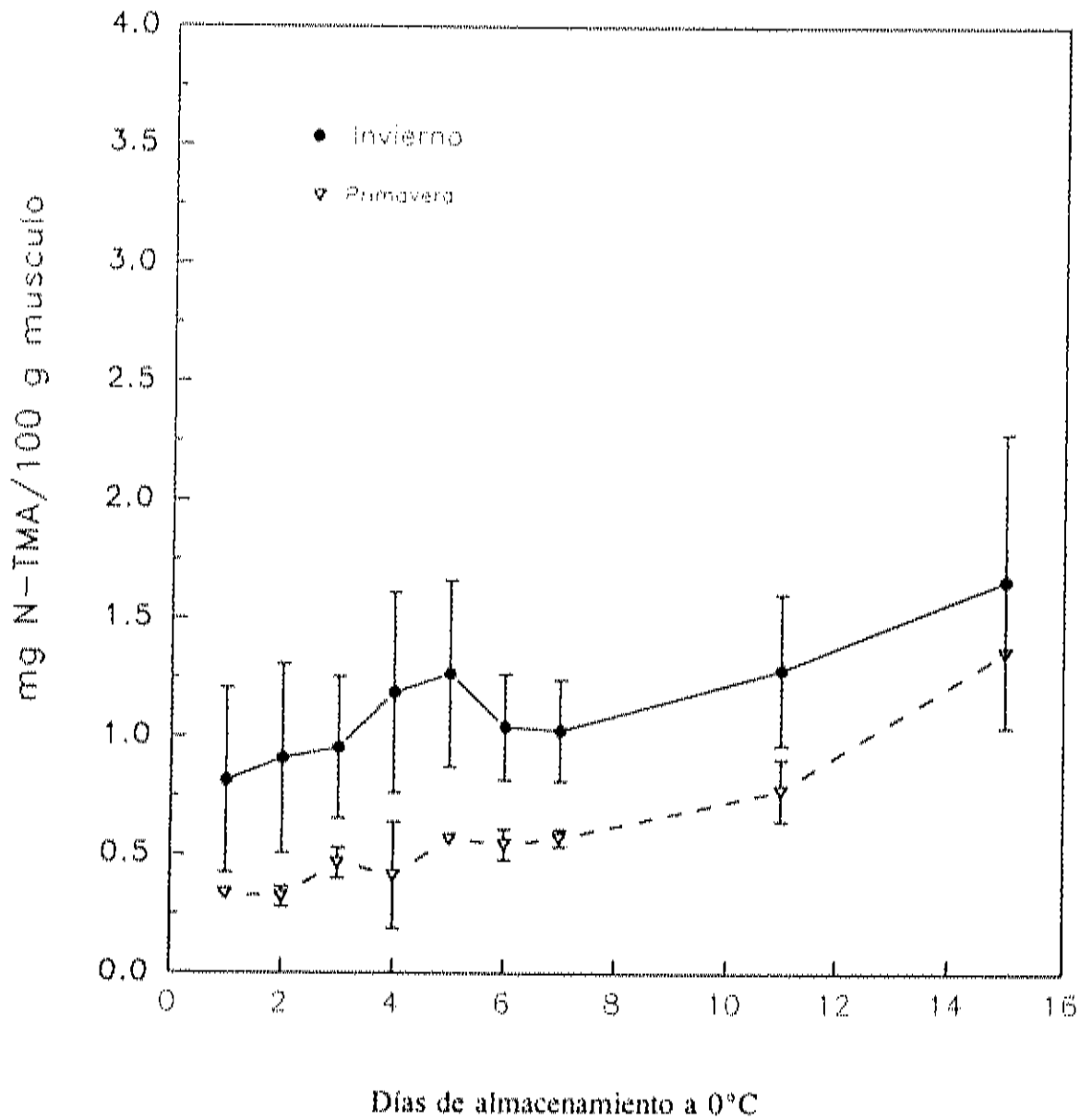


Figura 7. Comportamiento de la trimetilamina en músculo de sardina monterrey almacenada a 0°C, en las estaciones de invierno y primavera.

Al analizar el efecto de las estaciones, se observó que la interacción de los efectos principales "repetición x día" fue significativa ($p < 0.05$), mientras que la interacción "día x estación" no lo fue, lo anterior implica que el comportamiento del NNP durante el almacenamiento dependerá tanto de la estación de captura como del área donde se realizó la misma.

Los valores iniciales de TMA-N de 0.333 a 0.814 mg/100 músculo, concuerdan por los reportados por El Marrakchi *et al.*, (1990) para la sardina de Marruecos (Sardinops pilchardus), sin embargo, el incremento observado durante el almacenamiento fue menor que el reportado por estos investigadores y al reportado para macarela por Ryder *et al.*, (1984), para arenque por Smith *et al.*, (1980) y para langosta por Riaz y Quadri (1985).

La investigación de Ryder *et al.*, (1984), con macarela (Trachurus novaezelandiae), reporta valores menores de 2 mg TMA-N/100 g músculo, durante los primeros 12 días de almacenamiento en hielo, para posteriormente mostrar un incremento drástico, el cual coincidió con una flora microbiana de 10^6 /g músculo alcanzaba al decimosegundo día. El "California Seafood Council" (1992), reporta que cuentas bacterianas de 10^6 a 10^7 /g músculo, denotan calidad comestible aceptable en pescado, lo cual enfatiza el uso del TMA como indicador del inicio del deterioro bacteriano en el músculo de pescado, más que como un indicador de frescura.

Por otro lado, El Marrakchi *et al.*, (1990), en su trabajo con sardina de Marruecos (*Sardinops pilchardus*), reporta valores de TMA-N de 0.16, 4.84, y 10.78 mg/100 g músculo a los días 0, 9 y 18, respectivamente. Estos investigadores establecen, en base a correlación con evaluación sensorial, que la sardina al tercer día de almacenamiento presentaba un buen grado de frescura y al noveno día una frescura moderada. Los estudios de Ehira y Uchiyama (1986), correlacionan la calidad comestible para la elaboración de "sushi" de 104 muestras de pescado con el índice K, TMA-N y nitrógeno de bases volátiles; en ellos establecen que un pescado de mediana calidad presenta un valor promedio de aproximadamente 1.4 mg TMA-N/100 g músculo.

Reppond y Collins (1983), reportaron para bacalao del pacífico (*Gadus macrocephalus*), una especie magra del pacífico norte, como resultado del establecimiento de una correlación entre evaluación sensorial y niveles de TMA-N, que valores de aproximadamente 0.66 mg/100 g músculo denotaban inicio de deterioro y de 0.84 para pescado no aceptable. Este último nivel se alcanzó al noveno día de almacenamiento en hielo.

En el presente estudio, el valor máximo encontrado al concluir el período de almacenamiento, fue de 1.61 mg TMA-N/100 g músculo para la estación de invierno y de 1.35 mg TMA-N/100 g músculo para la primavera. Al comparar estos resultados con los reportados por Ryder *et al.*, (1984), para macarela y por El Marrakchi *et al.*, (1990), para sardina de Marruecos, ambas especies pelágicas como la sardina monterrey utilizada

en este estudio, se establece que el deterioro de la sardina por acción bacteriana al término del período de almacenamiento, fue mínimo.

Histamina

La presencia de histamina ha sido asociada con pescado deteriorado, pertenecientes a las Familias Scombridae (atún, macarela, bonito, etc.) y Scomberesocidae (saury). Sin embargo, otros tipos de peces comúnmente implicados son las sardinas, arenques, anchovetas, etc. (Taylor, 1988).

Este compuesto poderosamente activo biológicamente, puede causar fuertes reacciones en el organismo, conocidas como envenamiento por histamina (Ababouch *et al.*, 1991). Se consideran 100 mg/100 g músculo (1000 ppm) como el nivel tóxico de este compuesto.

En el presente estudio, solo se encontró histamina en la estación de invierno, en cantidades tan pequeñas que pueden considerarse como trazas. La tendencia de este parámetro fue a disminuir durante el almacenamiento. La máxima concentración de histamina de 0.000179 ppm, se detectó el primer día (Figura 8). Debido a que las condiciones de pH durante el almacenamiento se consideran óptimas para la producción de histamina (El Marrackchi *et al.*, 1990), se deduce que el tipo de bacterias presentes en el músculo de sardina no fueron del grupo productoras de histamina, como Morganella morganii, Klebsiella pneumoniae (Taylor, 1988) u otras bacterias entéricas

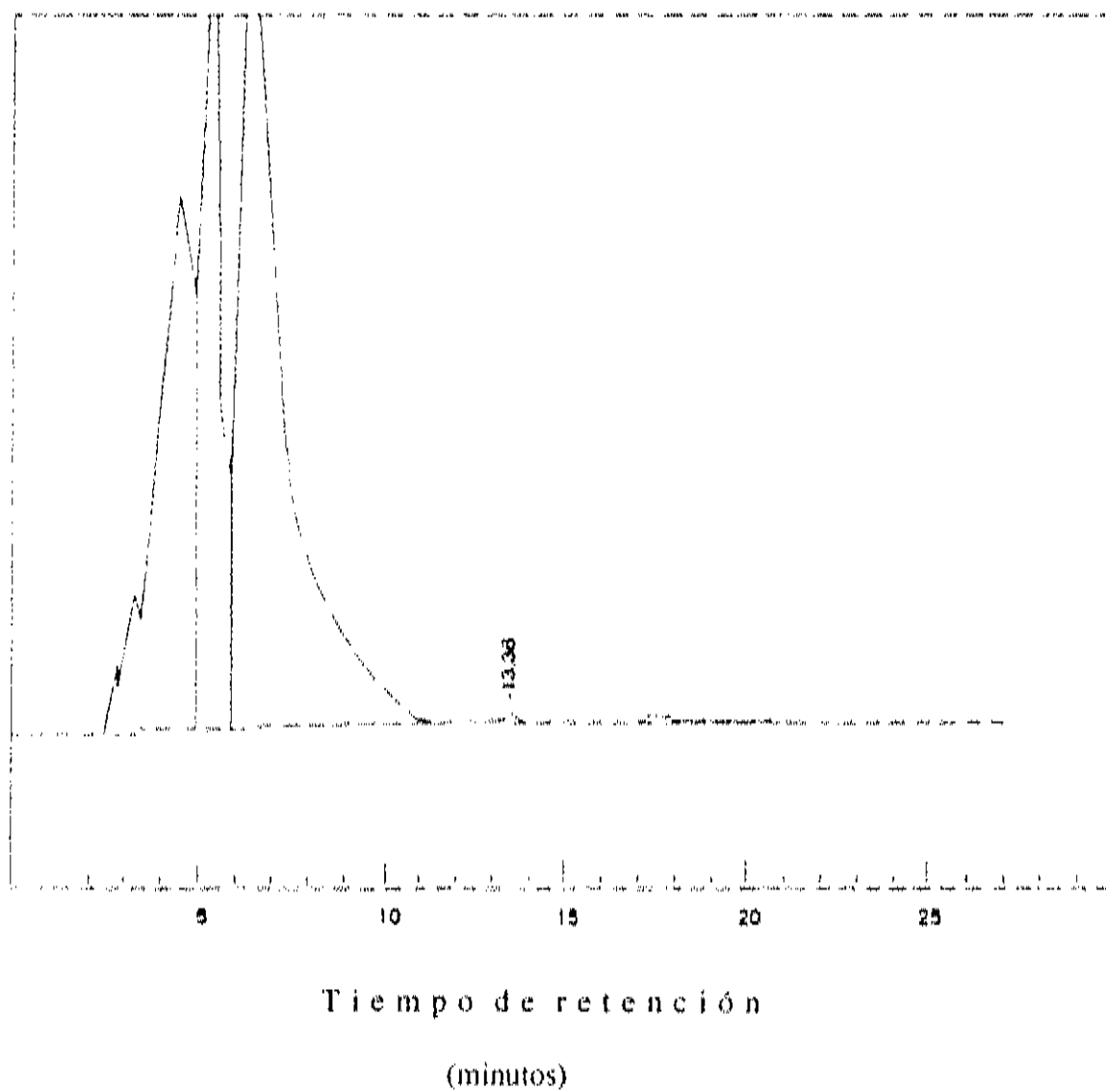


Figura 8. Cromatograma típico de la cuantificación de la histamina por HPLC, en músculo de sardina monterrey al primer día de almacenamiento a 0°C.

de los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella* y *Proteus* (Gallardo *et al.*, 1983), o bien, que su producción fué inhibida por la temperatura de almacenamiento, tal como lo reportan Veciana-Nogués *et al.*, (1990)

La literatura reporta que niveles altos de histamina en el músculo de pescado son requeridos para inducir reacciones adversas. Actualmente, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica, ha establecido un nivel de acción de riesgo para histamina en atún de 50mg/100g de pescado (500 ppm). Un nivel de 200 ppm es considerado evidencia de descomposición (Taylor, 1988).

Marco (1977), al estudiar los cambios deteriorativos en sardina crinuda (*Opisthonema liberate*) durante el almacenamiento a 14 y 0°C, encontró que la formación de histamina incrementaba a 14°C, mientras que a 0°C la producción de este compuesto fue inhibida completamente. El efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la producción de histamina fue también demostrado por Veciana-Nogués *et al.*, (1990), al almacenar anchoveta a 4-6°C y a 18-22°C, encontrando valores más altos de histamina a esta última temperatura, lo cual concuerda con la hipótesis de que la producción de aminas biogénicas está más relacionada con la actividad de bacterias mesofílicas que psicrófilicas.

Smith *et al.*, (1980), no detectaron cantidades apreciables de histamina en arenque capturado en febrero y julio, almacenado en hielo, pero sí en sardina capturada en el mes de noviembre. El Marrakchí *et al.*, (1990), al estudiar la relación entre la conservación de la sardina de Marruecos (*Sardinops pilchardus*) enhielada y la producción de diferentes aminas, particularmente histamina, encontraron niveles de 1.12 mg/100 g músculo al primer día de almacenamiento y menos de 20 mg/100 g músculo (200 ppm), al finalizar el período de almacenamiento de 18 días. Sin embargo, en esta misma especie se han reportado niveles cercanos a las 1000 ppm, a los 8 días de almacenamiento en hielo (Ababouch *et al.*, 1991). Por otra parte, Toyama *et al.*, (1982), reportaron concentraciones de histamina en sardina fresca de 0 ppm; en sardina ligeramente deteriorada, de 44 ppm y de 1470 ppm, en sardina en estado putrefacto.

Caracterización de la Fracción Proteica Muscular

Fraccionación de las Proteínas

El proceso más importante en este estudio, desde el punto de vista tecnológico, resultó ser el comportamiento de las proteínas musculares durante el período de almacenamiento, el cual fue monitoreado por medio de la fraccionación en base a su solubilidad.

Esta determinación se llevó a cabo únicamente en las dos repeticiones de la estación de primavera. La Figura 9 muestra el comportamiento de las fracciones

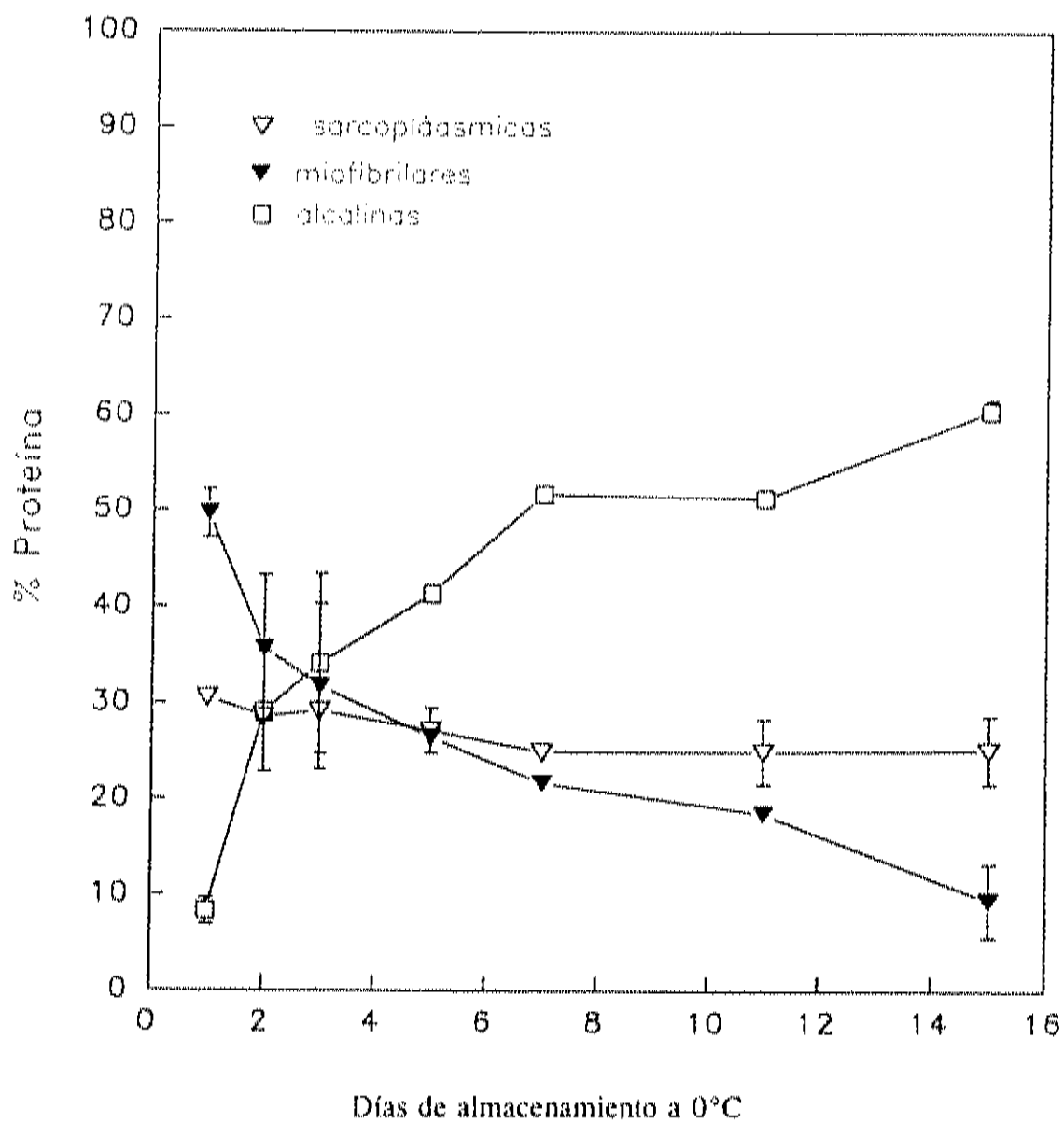


Figura 9. Comportamiento de las proteínas musculares de sardina monterrey almacenada a 0°C, en la estación de primavera.

sarcoplásmica, miofibrilar y soluble en álcali, durante los días de almacenamiento. No se observó diferencia significativa ($p > 0.05$) en la capacidad de extracción de las proteínas sarcoplásmicas, lo que indicó que esta fracción es estable en el almacenamiento en hielo.

Las proteínas miofibrilares, la más importantes desde el punto de vista funcional y tecnológico, tendieron a disminuir significativamente ($p < 0.05$) desde el primer día de almacenamiento, en la misma proporción que las proteínas solubles en álcali aumentaron. Al quinto día de almacenamiento la capacidad de extracción de las proteínas miofibrilares disminuyó un 47%, mientras que al decimoquinto día, ésta se redujo en un 81%.

Esta reducción en la capacidad de extracción, es el resultado de la desnaturalización de la fracción miofibrilar a través de procesos de agregación proteína-proteína y proteína-lípidos. Estos agregados proteicos son de elevado peso molecular, por lo que no pueden ser extraídos con soluciones amortiguadoras de fuerza iónica 0.6. Esta fracción desnaturalizada de la proteína miofibrilar es extraída mediante el uso de soluciones alcalinas y se denomina fracción soluble en álcali.

Hashimoto *et al.* (1979), determinaron la composición de proteínas del músculo obscuro y blanco de sardina (*Sardinops melanosticta*), en un período no mayor de 30 horas poscaptura, en donde reportan para el músculo obscuro una composición del 23-29% de sarcoplásmicas, 62-66% de miofibrilares, 6-9% de solubles en álcali y 2-3% de

estroma, mientras que para el músculo blanco, en el mismo orden, 33-37%, 59-61%, 1-5% y 1-2%, respectivamente. Los valores iniciales encontrados en el presente estudio, para el músculo homogenado de sardina monterrey a las 24 horas poscaptura, fueron de 30.6% de proteínas sarcoplásmicas, 49.8% de miofibrilares y de 8.3% de solubles en álcali.

Lo anterior parece indicar que la fracción miofibrilar del músculo de la sardina monterrey es más susceptible a la desnaturalización; no obstante, no se puede concluir al respecto, ya que se debe considerar el manejo de la especie como una de las variables importantes que determinan el comportamiento o grado de agregación de las proteínas musculares.

La tendencia a la desnaturalización de las proteínas musculares ha sido mencionada por Ehira y Uchiyama (1986), donde reporta que muchas de las sardinias que se distribuyen en el mercado como pescado con calidad "sashimi", su proteína muscular se encuentra desnaturalizada en mas del 50%.

El determinar la suceptibilidad a la desnaturalización proteica miofibrilar del músculo almacenado a 0°C, es de gran relevancia tecnológica y económica ya que definirá, en caso de ser requerido por la línea de proceso, los tiempos adecuados de almacenamiento para cada especie. Especies de alta suceptibilidad, tendrán limitada su utilización en la elaboración de productos donde se requiera una excelente funcionalidad

proteica, a tiempos relativamente cortos en los cuales podrán ser procesados, ó exigirán modificaciones en el proceso de elaboración para la recuperación de la funcionalidad proteica a través, principalmente, de reajustes en fuerza iónica, pH o tiempos de mezclado u homogenizado.

Capacidad de Gelificación Térmica

Esta es una de las propiedades funcionales mas importantes de las proteínas miofibrilares, la cual disminuye drásticamente al desnaturalizarse (Sikorski *et al.*, 1976; Phillips *et al.*, 1990).

La evaluación de la capacidad de formación de geles de las proteínas musculares de especies subutilizadas, es de suma importancia para definir su utilización como materia prima en la elaboración de productos como salchichas, kamaboko u otros productos que requieran de propiedades funcionales.

Las proteínas musculares de sardina utilizada en el presente estudio, aún en el primer día de almacenamiento, no mostraron capacidad de gelificación térmica en todas las repeticiones analizadas, debido a la rápida desnaturalización de las proteínas miofibrilares a través de procesos de agregación proteína-proteína y lípido-proteína, lo cual puede ser promovido por la caída del pH y alto contenido de lípidos en el músculo.

Mazorra y Ramírez (1991), reportaron que el músculo de sardina monterrey recién capturada presentó capacidad de formar geles de grado B, lo cual equivale a un gel de fuerza débil, según la escala establecida por Kudo *et al.*, (1973). Esta diferencia en la capacidad de gelificación térmica pudo ser debida a que el contenido de lípidos en la sardina utilizada por Mazorra y Ramírez fue de tan solo 7.8%. Estos resultados concuerdan con Sonu (1986), donde reporta que la sardina con menor contenido de grasa presenta mayor capacidad de formar gel. En el mismo estudio, fue posible obtener geles con grado AA ó SA al lavar el músculo con una relación de agua-músculo 20:1.

Lo anterior establece la posibilidad de que la sardina pueda ser utilizada no únicamente en la elaboración de productos tradicionales como sardina enlatada, filetes frescos y frescos-congelados, ahumados y marinados, sino también en la producción de productos manufacturados, donde se requiera funcionalidad de su fracción proteica miofibrilar, como sería el caso de la producción de surimi o productos emulsionados o gelificados a partir de músculo lavado.

CONCLUSIONES

La uniformidad en talla patrón y peso, y el alto rendimiento de la fracción comestible, representan una ventaja tecnológica desde el punto de vista del control del proceso industrial de la especie, ya que con esta información se establece con precisión las dimensiones y capacidad del equipo a utilizar y se estandarizan más fácilmente las características finales del producto.

La diferencia en la composición química del músculo entre las estaciones de invierno y primavera, aunque no significativa para la mayoría de los constituyentes, deberá tomarse en consideración cuando se pretenda utilizar al músculo de esta especie como materia prima para la elaboración de productos manufacturados. En la mayor parte de este tipo de productos se desea optimizar la funcionalidad de la fracción proteica miofibrilar, la cual puede verse disminuida por el contenido de lípidos presentes en el músculo; lo anterior exige modificar parámetros de proceso para eficientar, por ejemplo, la remoción de lípidos.

El hecho de que no se detectaran grandes diferencias en la composición química del músculo, pudo ser debido a factores ambientales como el fenómeno del niño, lo que provocó que la temperatura del agua fuese más uniforme durante los meses de muestreo, y probablemente, como consecuencia de esto, no se presentaran diferencias apreciables en la disponibilidad de alimento.

El comportamiento posmortem de la sardina, respecto a los índices de deterioro como pH, NNP, TMA e histamina, demostró que bajo las condiciones de manejo poscaptura utilizado en este estudio, se inhibe la actividad bacteriana al menos por 15 días, al no manifestarse durante este período olores amoniacales característicos del desarrollo microbiano.

La actividad autolítica total detectada en el músculo, mostró ser uno de los parámetros más influenciados por el mal manejo de la especie durante la captura. De lo anterior resulta un incremento más marcado de esta actividad, producto de la contaminación del músculo por proteinasas de origen visceral.

El proceso posmortem que definió la reducción en la calidad de la sardina almacenada en hielo, fue su deterioro lipídico. Un grado incipiente de oxidación se observó a partir del quinto día de almacenamiento, mientras que estados avanzados se detectaron al decimoprimer día. Lo anterior establece que este proceso es el principal problema en la conservación de la sardina desde el punto de vista de su calidad organoléptica.

La fracción miofibrilar del músculo de sardina mostró una marcada susceptibilidad a la desnaturalización, reduciendo con ello sus propiedades funcionales y por lo tanto el potencial de uso de la especie en la elaboración de productos manufacturados que requieren de esta funcionalidad proteica.

BIBLIOGRAFIA

- Ababouch, L., Afilal, M.E., Benanbdeljellil, H. y Busta, F.F. 1991. Quantitative Changes in Bacteria, Amino Acid and Biogenic Amines in Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored at Ambient Temperature (25-28°C) and in Ice, *Int. J. of Food Sci and Tec.* **26**: 297.
- Ahlstrom, E.H. 1960. Synopsis on the Biology of the Pacific Sardine (*Sardinops caerulea*). *FRQ Fish. Biol. Synops.* **17**: 415.
- Awad, A., Powriw, W.D. and Fennema O. 1969. Deterioration of Fresh-Water Whitefish Muscle During Frozen Storage at -10°C. *J. Food Sci.* **34**: 1.
- A.O.A.C. 1984. Official methods of analysis, 14th. ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Badui, D.S. 1984. Química de los Alimentos, 2da. reimpression, p.107. Editorial Alhambra Mexicana, México D.F.
- Barassi, C.A., Pécora, R.P., Roldán, H. y Trucco, R. E. 1987. Total, non volatile free fatty acids as a freshness index for hake (*Merluccius hubbsi*) stored in ice. *J. Sci. Food Agric.* **38**: 373.
- Blaxter, J.H.S. y Hunter, J.R. 1982. The Biology of the Cupleoid Fishes. *Adv. Mar. Biol.* **20**: 1.
- Borgstrom, G. 1961. Fish protein nutritive aspects. En: *Fish as food*. G. Borgstrom (Ed.) Volume II. Cap. 2. p. 116. Academic Press. Orlando, Florida.
- Botta, J.R. y Shaw, D.H. 1975. Chemical and sensory analysis of roughhead grenadier (*Macrourus berglax*) stored in ice. *J. Food Sci.* **40**: 1249.
- Busconi, L., Folco, E.J., Martone C.B. y Sanchez, J.J. 1989. Postmortem Changes in Cytoskeletal Elements of Fish Muscle. *J. Food Biochem.* **13** 443.
- Causeret, J. 1962. Fish as a Source of Mineral Nutrition. En: *Fish as Food*. Vol II. p 205. Borgstrom G (Ed). Academic Press. Inc. London.
- Cevallos, J.A. 1982. Producción e industrialización de enlatados. En "Sobre la Problemática Pesquera", CANAIPES. p. 14, México.
- Ceriotti, C.H. y Spandrio, L. 1957. Colorimetric determination of tyrosine. *J. Biochem.* **6**: 607.

Cho, S., Endo, Y., Fujimoto, K. y Kaneda, T. 1989. Oxidative Deterioration of Lipids in Salted and Dried Sardines During Storage at 5 °C. *Nippon Suisan Gakkaishi* **55**(3): 541.

Cisneros-Mata, M.R., De Anda J.R., Estrada-García, F. Paez-Barrera y Quiroz, A. 1988. Pesquerías de sardina del Golfo de California y costa de Sinaloa (Informe 1986/1987 y Diagnóstico). SEPESCA, INP. CRIP Guaymas.

Crawford, D.L., Law, D.K. and Babbitt J.K. 1972. Nutritional Characteristics of Marine Food Fish Carcass Waste and Machine-Separated Flesh. *Agric. and Food Chem.* **20**(5): 1048.

Da Costa A. y Stern J.D. 1955. The calcium and phosphorus contents of some foreign and domestic canned sardines. *J. food Research.*

✓ Dannopoulos, A.A. y V.L.Ninni. 1972. Detection of frozen fish deterioration by an ultraviolet spectrophotometric method. *J. Food Sci.* **37**: 649.

Dassow, J.A., Patashnik, M. y Kousy, B.J. 1970. Characteristics of pacific hake (*Merluccius productus*) that affect its suitability for foods. U.S. Fish. Wildl. Serv. Cerc. 332. Seattle Bureau of Commer. Fish. p 127.

Doode, M.S. 1990. La pesquería de la sardina en Sonora. En: Relaciones. Estudios de Historia y Sociedad. Revista Trimestral publicada por el Colegio de Michoacán. **41**: 45.

Doode, M.S. 1992. La industria sardinera ante las nuevas condiciones de mercado. En: La industria alimentaria en Sonora. Restructuración y retos ante la apertura comercial. Publicado por el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. p 213.

Dyer, W.J. y Dingle, J.R. 1961. Fish protein with special reference to freezing. En: *Fish as Foods*. Vol 1. G. Borgstrom Ed. Academic Press. N.Y.

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

El Marrakchi A. Bennour, M., Bouchriti, N. Hamama, A. y Tagafatit, H. 1990. Sensory, Chemical and Microbiological Assessments of Moroccan Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored in Ice. *J. of Food Protection.* **53**(7): 600.

Gallardo, J.M., Montemayor, M.I. y Perez-Martín, R. 1983. Formación de histamina en caballa (*Scomber scombrus*) y listado (*Katsunonus pelamis*), especies de alto contenido de histidina libre. Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment. **23**: 269.

Geiger, E. y Borgstrom, G. 1961. Fish protein-nutritive aspects. En: Fish as Food. Vol 11. G. Borgstrom ed, Academic Press. Orlando, Florida.

Geist, G.M. y Crawford, D.L. 1974. Muscle cathepsins in three species of Pacific sole, J. Food Sci. **39**:548.

Goll, D.E., Oizuka, 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.

✓ Gouygou, J.P., Siquin, C. y Durand P. 1987. High Pressure Liquid Chromatography Determination of Histamine in Fish. J. of Food Sci. **52**(4) 925-927.

Groninger, H.S., Gudo, G., Porter, R. y Miller, R. 1985. Preparation and evaluation of surimi from Pacific whiting, Paper No. 17 presented at international Symposium of Engineered Seafoods Including Surimi. Seattle, W.A. Nov. 19-21.

Guzmán, P.A.M. y Soto, C.F.J. 1991. Caracterización funcional del músculo de dos especies de pescado del Golfo de California. Tesis de Licenciatura. CIAD UNISON. Hermosillo, Son. Méx.

Hardy, R.L. 1980. Fish Lipids. Part 2. En: Advances in Fish Science & Technology. J.J. Connell. Fishing News Books LTD. Surrern, England. p. 103.

Hashimoto, K., Watabe, S., Kono, M. y Shiro, K. 1979. Muscle Protein Composition of Sardine and Mackarel. Bull. Jap. Soc. of Sci. Fish. **45**(11): 1435.

Hultin, H.O. 1985. Characteristics of muscle tissue. En: Food Chemistry. Fenema, O.R. (Ed.), p 725. Marcel Dekker, Inc., NY.

✓ Jahns, F.D., Howe, J.L., Coduri, J.R. y Rand Jr A.G. 1976. A rapid visual enzyme test to assess fish freshness. J. Food Tech. **7**: 27.

Jaquot, R. 1961. Organics constituents of fish and another aquatic animal foods. En: Fish as Food. Vol 1 Ed. Borgstrom, G. Academic Press. Orlando, Fla.

Koizumi, C. Wada, S. y Toshiaki O. 1987. Factors Affecting Development of Rancid Off Odor in Cooked Fish Meats during Storage at 5°C. Nippon Suisan Gakkaishi **53**(11): 2003.

- Kryzmien, M.E. y Elias, L. 1990. Feasibility study on the determination of fish freshness by trimethylamine headspace analysis. *J. of Food Sci.* **55**(5): 1228.
- Kudo, G., Okada, M. y Miyauchi, D. 1973. Gel-forming capacity of washed and unwashed flesh from some pacific coast species of fish. *Mar. Fish. Rev.* **35**(12):10.
- Leningher, A.L. 1982. En: Principles of Biochemistry. Woth Publishers USA.
- Lin, T.S. y Lanier, T.C. 1980. Properties of an alkaline protease from skeletal muscle of Atlantic croaker. *J. Food Biochem.* **4**:17.
- Lugo, S.M.E. 1993. Caracterización parcial de la actividad proteolítica del músculo de sardina *Sardinops sagax caerulea*. Tesis de Maestría. CIAD, Hermosillo, Son. México.
- MacCallum, W.A., Dyer, W.J., Curi, S., Simoncic, J.J., Kovacevic, M., Horne, D.C., McNeill, R.J., Krvaric, M. y Lisac, H. 1956. Quality of Sardines (*Cuplea pilchardus* Walb.) Held Unfrozen Prior to Canning. *Food Tech.* **10**(9): 432.
- Manikodan, Y., Toyohara, H. y Ikeda, S. 1983. On the existence of acid, neutral and alkaline proteinases in fish muscle. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **49**(1): 109.
- Marco, E.B. 1977. Algunos cambios deteriorativos en sardina crinuda (*Opisthonema libarate*) durante el almacenamiento. Tesis de Maestría. ITESM, Guaymas, Son. Méx.
- Martin, R.E., Gray, R.J.H. y Pierson, M.D. 1978. Quality Assessment of Fresh Fish and the Role of the Naturally Occurring Microflora. *Food Tech.* 188.
- Martínez, A. y Gilbert, A. 1988. Autolytic Degradation of Belly in Anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *International Journal of Food Science and Technology* **23**: 185.
- Mazorra, M. M. A. y Ramírez, S. J. C. 1991. Evaluación de procesos de lavado para optimizar la producción de surimi de sardina monterrey (*Sardinops sagax caerulea*). Tesis de Licenciatura CIAD-UNISON, Hermosillo, Son. Méx.
- Mc Donald, R.E. y Hultin, H.O. 1987. Some characteristics of the enzymatic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle. *J. Food Sci.* **52**: 15.
- ✓ Mietz, J.L. y Karmas, E. 1977. Chemical Quality Index of Canned Tuna as Determined by High-Pressure Liquid Chromatography. *J. of Food Sci.* **42**: 155.

- Morii, H., Cann, D.C., Taylor, L.Y. y Murray C.K. 1986. Formation of Histamine by Luminous Bacteria Isolated from Scombroid Fish. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* **52**(12): 2135.
- Nishimoto, J., Suwetja, I.K. y Miki H. 1985. Estimation of Keeping Freshness Period and Practical Storage Life of Mackerel Muscle During Storage at Low Temperatures. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.* **34**(1): 89.
- Obatake, A., Doi, T. y Ono, T. 1988. Post-mortem Degradation of Inosinic Acid and Related Enzyme Activity in the Dark Muscle of Fish. *Nippon Suisan Gakkaishi.* **54**(2): 283.
- Obatake, A. y Tomita, K. 1988. Effect of Dark Muscle on the Degradation of Inosinic Acid in the White Muscle of Common Mackerel. *Nippon Suisan Gakkaishi* **54**(2): 289.
- Okuzumi, M. y Awano, M. 1983. Seasonal variations in number of psychrophilic and halophilic histamine-forming bacteria (N-group bacteria) in seawater and on marine fishes. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **49**(8): 1285.
- Pacheco-Aguilar, R. 1989. Effect of potassium bromate in the gel forming ability of Pacific whiting (*Merluccius products*) surimi. Tesis Doctoral. Oregon State University, Corvallis.
- Phillips, L., Schulman, W. y Kinsella, J.E. 1990. pH and heat treatment effects on foaming of whey protein isolate. *J. Food Sci.* **55**: 1116.
- Pizzocaro, F., Fideli, E. y Gasparoli, A. 1984. Studies on the Auto-oxidation of Sardine Oil. En "Advances in fish science and Technology: pp 258. J.J. Conell (Ed.). Fishing News (Books) LTD, Farnham, Surrey Engl.
- Polanco, E.J. 1987. Pesquerías mexicanas: Estrategias para su administración. 1ra. edición. Secretaría de Pesca, p. 201 México.
- Potashnik, M., Groninger, H.S., Barnett, H., Kudo, G. y Koury. 1982. Pacific withing. *Merluccius products*: In Abnormal texture caused by myxosporidian-induced proteolysis. *Mar. Fish. Rev.* **44**(5): 1.
- Price, R.J., Melvin, E.F. y Bell, J.W. 1991. Postmortem Changes in Chilled Round, Bled and Dressed Albacore. *J. of Food Science.* **56**(2): 318.

- Reppond, K.D. Collins, J. 1983. Pacific Cod (*Gadus macrocephalus*): Change in Sensory and Chemical Properties When Held in Ice and in CO₂ Modified Refrigerated Seawater. *J. Food Sci.* **48**: 1552.
- 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.
- Robles A. 1988. The sardine fishery of the Gulf of California, México; problems and possible solutions. En "Postharvest Fishery Losses", (M.J. Morrissey, Ed.), ICMRD, Rhode Island, USA.
- Ronsivalli, L.J. y Charm, S.E. 1975. Spoilage and shelf life prediction of refrigerated fish. *Mar. Fish. Review*, **37**(4): 32.
- Ryder, J.M., Buisson, D.H., Scott, D.N. y Fletcher, G.C. 1984. Storage of New Zealand Jack Mackerel (*Trachurus novaezelandiae*) in Ice: Chemical, Microbiological and Sensory Assessment. *J. Food Sci.* **49**: 1453.
- Sakagushi, M., Murata, M. y Kawai A. 1982. Changes in Free Amino Acids and Creatine Contents in Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) Muscle During Ice Storage. *J. Food Sci.* **47**: 1662.
- Seno, Y. 1974. Processing and utilization of mackerel. En "Fishery Products". R. Kreuzer Ed. p.147 FAO. England.
- SEPESCA 1987. Pesquerías Mexicanas: Estrategías para su administración. Secretaría de Pesca. Dirección General de Informática y Estadística, México
- Shewfelt, R.L. 1981. Fish Muscle Lipolysis-A Review. *J. Food Biochem.* **5**: 79.
- Simidu, W. 1961. Nonprotein nitrogenous Components. Cap II. En "Fish as Food". Vol I. p 353. Borgstrom Ed. Academic Press. USA.
- Sirkoski, Z.E., Olley, J. y Kostuch, S. 1976. Protein changes in frozen fish. *Critical Reviews in Food Sci. and Nut.* **8**(1): 97.
- Smith, J.G.M., Hardy, R.S., McDonald I. y Temoleton, J. 1980. The Storage of Herring (*Cuplea harengus*) in ice, refrigerated sea water and at ambient temperature. Chemical and sensory assessment. *J. Sci. Food. Agric.* **31**: 375.
- Sonu, S.C. (Ed.) 1986. Surimi based on dark-fleshed fish. En "Surimi". NOAA Technical Memorandum NMPS, U.S. Department of Commerce, Terminal Island, California.

- Suzuki, T. 1981. En : Fish and Krill Protein: Processing Technology. p. 1. Applied Sci. Publishers LTD., London.
- Taylor, S.L. 1988. Marine toxins of microbial origin. Food Technol. **42**(3): 94.
- Tomiyaizu, Y. y Zetani, B. 1957. Spoilage of Fish and Its Preservation by Chemical Agents. En: Advances in Food Research. Vol VII, p. 41. E.M. Mrak y G.F. Stewart, Editores. Academic press Inc. Publishers. N.Y. USA.
- Toyama, K., Hoshi, M., Mishiguro M. y Aoe, H. 1982. Behavior of histamine during the manufacturing process of fish meal. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. **49**(9): 1333.
- Toyomizu, M. Hanaoka, K. y Yamaguchi, K. 1961. Effect of Release of Free Fatty Acids by Enzymatic Hydrolysis of Phospholipids on Lipid Oxidation During Storage of Fish Muscle at -5°C. Bull. Japan Soc. Sci. Fish., **47**(5): 615.
- Tsuyuki, H., Williscroft, S.N., Zabata, Z. y Whitaker, D.J. 1982. The relationship between acid and neutral protease activities and the incidence of soft cooked texture in the muscle tissue of Pacific hake (*Merluccius productus*) infected with *Kudoa paniformes* and or *Kudoa thyrssitis*, and held for varying times under different pre-freeze chilled storage conditions. Fish. Mar. Ser. Tech. Rep. p 39.
- Veciana-Nogués, M.T., Vidal-Carou, M.C. Y Mariné-Font, A. 1990. Histamine y tyramine during storage and spoilage of anchovie (*Engraulis encrasicolus*): relationships with other fish spoilage indicators. J. Food Sci. **55**: 1192.
- Watabe, S., Kamal,M. y Hashimoto, K. 1989. Changes in Ca²⁺-ATPase Activity of Sardine Ordinary and Dark Muscle Myofibrils During Storage at Various pH Values. Nippon Suisan Gakkaishi **55**(4): 703.
- 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.
- Watabe, S., Kamal,M. y Hashimoto, K. 1991. Postmortem Changes in ATP, Creatine Phosphate, and Lactate in Sardine Muscle. J. Food Sci. **56**(1): 151.
- Watanabe, E., Toyama, K., Karube, I., Matsuoka, h. y Susuki, S. 1984. Determination of inosine-5-monophosphate in fish tissue with an enzyme sensor. J. Food Sci. **49**: 114.
- Whitehead, P.J.P. 1985. FAO Species catalogue, Vol 7. Culeoid fishes of the world. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats,

- anchovies and wolffherrings. Part 1 - Chirocentridae, Cupleidae and Pristigasteridae. FAO Fish. Synop. 7(125): 303.
- Wong, K. Bartlett, P. y Gill, T.A. 1988. A diagnostic test strip for the semiquantitative determination of trimethylamine in fish. *J. Food Sci.* **53**(6): 1653.
- 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. Halifax, N.S.
- Yamagushi, K. y Toyomizu, M. 1984. Acceleration of Lipid Oxidation in the Extract from the Skin of Fish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **50**(12): 2049.
- Yamanaka, H., Shimakura, K., Shiomi, K. y Kikuchi, T. 1986. Changes in Non-volatile Amine Contents of the Meats of Sardine and Saury Pike During Storage. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **52**(1): 127.
- Yen, G. y Hsieh C. 1991. Simultaneous Analysis of Biogenic Amines in Canned Fish by HPLC. *J. Food Sci.* **56**(1): 158.
- Zeece, M.G. y Katoh, K. 1989. Cathepsin D and Its Effects on Myofibrillar Proteins: A Review. *J. Food Biochem.* **13** 157-178.