

EVALUACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DE FILETES DE LEBRANCHE (*Mugil liza*) EN ALMACENAMIENTO CONGELADO A -18°C .

Physical and Chemical Evaluation of Lebranche Fillets (*Mugil liza*) in Frozen Storage at -18°C .

Jaime E. Valls¹, Anirys T. Xiques¹ y Andrés Escalona²

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. ² Centro de Química Analítica. Escuela de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Apartado 47097, Venezuela. E-mail: jvalls@strix.ciens.ucv.ve.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar los parámetros físicos y químicos de filetes de lebranche (*Mugil liza*) durante su almacenamiento en congelación a -18°C , por cinco meses. Inicialmente, los pescados fueron caracterizados mediante el análisis proximal (humedad, proteínas, grasa y cenizas), talla y peso. Las determinaciones para la evaluación de la estabilidad de los filetes congelados fueron realizadas mensualmente y se determinó: pH, ácido láctico, color (L, a y b), humedad, solubilidad de proteínas en soluciones salinas (SPs), capacidad de retención de agua (LE), degradación de nucleótidos adenosina monofosfato (AMP), inosina (Ino), hipoxantina (Hx) y textura. La pérdida de la calidad de la proteína fue más evidente al segundo mes de almacenamiento, cuando los parámetros como SPs disminuyó a 45,12% y LE aumentó a 17,05%, en comparación al principio del estudio con valores de SPs de 74,88% y LE de 3,52%, estos resultados muestran un daño significativo en las proteínas durante el tiempo de almacenamiento. En los filetes congelados, los cambios autolíticos fueron básicamente por el pH, ácido láctico e Ino, sin embargo, éstos fueron considerablemente lentos debido a la baja temperatura empleada en este estudio. Cambios de color fueron detectados en los músculos blanco y rojo de los filetes, mostrando diferente comportamiento durante el almacenamiento, en el primero el color rojo (parámetro "a") disminuyó, mientras en el músculo rojo aumentó, pero la luminosidad (parámetro "L") se incrementó en el músculo blanco y disminuyó en el rojo. En este trabajo, el tiempo de almacenamiento mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) con: pH, ácido láctico, color, humedad, SPs, LE, nucleótidos y textura. Los filetes mostraron un buen grado de frescura hasta el segundo mes, después del cual la calidad disminuyó.

Palabras clave: Lebranche, *Mugil liza*, congelación, análisis proximal.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the physical and chemical parameters of lebranche (*Mugil liza*) fillets during frozen storage at -18°C for five months. Initially the raw fish were characterized for proximate analysis (moisture, protein, fat and ash), size and weight. Test for frozen fillets stability were performed monthly in order to determine: pH, lactic acid, colour (L, a and b), moisture, solubility of proteins in saline solutions (SPs), water-binding capacity (WBC), nucleotide degradation adenosine monophosphate (AMP), inosine (Ino), hypoxantine (Hx) and texture. Lost of the protein quality was more evident at the second month of storage, when parameters like SPs drop to 45.12% and WBC increased to 17.05% in comparison to the beginning of the study with values of SPs of 74.88% and WBC of 3.52%, these results showed significant protein damage during the storage time. In the frozen fillets autolytic changes were basically in pH, lactic acid, and Ino but these were considerably slowly for the low temperature employed in this study. Colour changes were detected in the white and red muscle fillets, and they showed different behavior during the storage time; in the first the red colour (parameter "a") decreased, meanwhile in the red muscle redness was increased, but the luminosity (parameter "L") were increased in the white muscle and decreased in the red muscle. In this research the storage time shows significant differences ($P < 0.05$) with: pH, lactic acid, colour, moisture, SPs, WBC, nucleotides and texture. Fillets showed good grade of freshness until the second month, after that quality decreased.

Key words: Lebranche, *Mugil liza*, frozen storage, proximal analysis.

INTRODUCCIÓN

Los recursos pesqueros tales como el bagre (*Pseudoplatystoma spp.*), coporo (*Prochilodus mariae*), lebranche (*Mu-*

gil liza) y palometa (*Milossoma spp.*) son importantes para ciertas zonas de Venezuela. En el caso del lebranche, es vendido entero en sus lugares de captura o se comercializa por medio de transportes con cavas de enfriamiento (caveros). Según Cervigón [6], esta especie es común y abundante en las lagunas de Tacarigua (estado Miranda), Unare y Píritu (estado Anzoátegui), en las cuales penetran cuando las bocas de comunicación con el mar se abren en la época de lluvia. La zona oriental produce aproximadamente el 51% de los desembarques, especialmente en los estados Sucre, Anzoátegui y Delta Amacuro, mientras que el resto de las capturas provienen del occidente con 45%, particularmente del Zulia y en la región central el estado Miranda con un 4%.

El Instituto Nacional de Nutrición [14] señala que, desde un punto de vista nutricional, el lebranche es una fuente importante de proteínas (19,3%), grasa (7,2%) calcio (20mg%) y fósforo (119 mg%). La posibilidad de comercializar este rubro, en forma de filetes ya limpios, en bandejas o bolsas plásticas, plantea otra alternativa interesante para su venta, además de que este tipo de procesamiento, puede ser fácilmente realizado o implementado por empresas pequeñas, cooperativas o grupos de pescadores artesanales de estas zonas geográficas, con lo cual se le puede dar un mayor valor agregado a este rubro.

Por los planteamientos antes expuestos, se puede señalar que actualmente el lebranche representa un recurso pesquero con valor estratégico, económico y nutricional y que su posible procesamiento en forma de filetes congelados, representa una alternativa sencilla que puede incrementar su consumo. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia que puede tener el almacenamiento congelado a -18°C durante cinco meses, sobre la estabilidad física y química de filetes de lebranche.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestra: Para la realización de este trabajo se utilizaron ejemplares de lebranche (*Mugil liza*), provenientes de la Laguna de Tacarigua (estado Miranda, Venezuela). Se adquirieron 14 ejemplares, los cuales tenían entre 2-3 h. de haber sido capturados y habían sido mantenidos con hielo en las embarcaciones de los pescadores de la zona. La muestra se colocó en una cava con suficiente hielo y fue transportada por vía terrestre en un tiempo aproximado de 2 h., al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela. Una vez en el Instituto, se lavaron y luego se descartó la cabeza, escamas y cola. Posteriormente se filetearon manualmente y los filetes obtenidos se lavaron para eliminar restos de vísceras y sangre, inmediatamente se colocaron en bolsas comerciales del tipo "Clip" con sello hermético, aproximadamente en cantidades de 5 filetes. Luego se congelaron en un equipo de placas "Dole" (Freeze-Cel. Dole Refrigeration Company, Chicago, E.U.A) hasta alcanzar los -18°C . Las muestras se mantuvieron en almacenamiento a -18°C ,

por 5 meses, en una cava de congelación "Bio Freezer" (Forma Scientific Company, E.U.A).

Determinaciones

Toma de muestras: Durante los cinco meses de almacenamiento se tomaron muestras cada mes, extrayendo de las bandejas (almacenadas a -18°C) de cuatro a cinco filetes, a fin de realizar los análisis físicos-químicos. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado empleando porciones descongeladas a 4°C por 18 h., que fueron homogeneizadas en una licuadora de uso doméstico (Osterizer, De Luxe, Venezuela), a excepción de la textura que fue realizada a porciones del músculo en forma de cubos (1x1 cm) y por quintuplicado. Para todas las determinaciones se tomaron muestras a: 0 (filetes inmediatamente después de la congelación) y a los 1; 2; 3; 4; 5 meses.

Talla y Peso: La medición de talla y peso se realizó en los catorce ejemplares. La talla se determinó midiendo sobre el eje longitudinal del pescado, desde la punta de la boca hasta la bifurcación de la cola.

Rendimiento de los filetes: Se pesó el ejemplar completo y después del proceso de fileteado, y en base a estos pesos se determinó el rendimiento de todos los ejemplares.

Análisis proximal: Se realizaron por triplicado, a la materia prima, según la Association of Official Analytical Chemist (AOAC) [2], realizando los siguientes análisis: humedad (N° 952.08), grasa cruda (N° 948.15), cenizas (N° 938.08) y proteína cruda (N° 995.04), por el método de micro-Kjeldahl.

pH: Según Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) [7], empleando un potenciómetro marca "Hanna" (Instruments, modelo HI- 8417, España) previamente calibrado con buffer de pH 4 y 7 (Art. N° 33665 y 33646 respectivamente, de Riedel-de Haen, Suiza).

Ácido láctico: Se determinó mediante el método enzimático Sigma [21], que emplea la enzima L (+) lactato deshidrogenasa (Sigma Art. N° L-3916, St. Louis, E.U.A). El ácido láctico de la muestra fue extraído según Valls [25,26]. Al extracto se le añadió L (+) lactato deshidrogenasa y β -NAD (Sigma Art. N° N-0632, St. Louis, E.U.A) y se midió su absorbancia a 340 nm con un espectrofotómetro "Spectro 22 RS" (LaboMed, Inc C.A., E.U.A). La concentración fue expresada como $\mu\text{mol/g}$ y cuantificada a partir de una curva de calibración de ácido láctico (0-13 ppm) (Sigma Art. N° L-7022, St. Louis, E.U.A).

Color: Empleando un Colorímetro "Macbeth Color-Eyer 2445" (New Windsor, E.U.A) y midiendo los parámetros: L (luminosidad, claro/oscuro), a (relación rojo/verde) y b (relación amarillo/azul) [20].

Rancidez oxidativa por ácido 2-tiobarbitúrico (TBA): Se realizó por el método de Rhee [18], con destilación y posterior determinación a 538 nm, con un espectrofotómetro "Spectro 22RS" (LaboMed, Inc, E.U.A). La concentración de la

muestra expresada como mg/Kg de pescado (ppm) fue cuantificada a partir de una curva de calibración empleando 1,1,3,3, tetraetoxipropano (Fluka, Art. N° 86570, Suiza) empleando ácido tiobarbitúrico (TBA) para el desarrollo del color (Sigma, Art. N° T-5500, St. Louis, E.U.A.).

Proteína soluble en solución salina (PSs): Según Pastoriza y Sanpedro [17]: 5 g. de músculo fueron mezclados con 50 ml de KCl (0,95 M) que contiene 0,05 M de NaHCO₃ (pH 7,6-8,0) a 3°C por 2 min. en un homogeneizador, (ACE, homogenizer, mod: AM-3, Nihonseiki Kaisha, Japón) dejándose en reposo por 15 horas a 3°C. El sobrenadante fue separado por centrifugación a 10000 rpm por 30 min., a 3°C en centrifuga Sorvall, Modelo RC2-B con rotor SS-34 (Sorvall, Wilmington, DE, E.U.A) y el residuo se volvió a extraer sucesivamente con 50 ml y 40 ml de la solución salina. Los tres extractos fueron combinados y se añadió un volumen equivalente a la solución de ácido tricloroacético (10%), el precipitado obtenido fue separado por centrifugación a 5.000 rpm por 10 min., y se le determinó nitrógeno total por micro-Kjeldahl [2].

Líquido exprimible (LE): Se colocaron 20 g. de muestra homogeneizada en un tubo de centrifuga de 50 ml y luego fue centrifugada a 12.000 rpm por 30 min., manteniendo la temperatura a 5-10°C, en un equipo "Sorvall", modelo RC2-B con rotor SS-34 (Sorvall, Wilmington, DE, E.U.A). El volumen de líquido sobrenadante contenido en el tubo de centrifuga se midió en un cilindro graduado de 10 ml. El resultado se expresó como ml/100g.

Determinación de nucleótidos (AMP, Ino e Hx): La extracción de estos nucleótidos se basó en la metodología reportada en la literatura [25, 26]. Las determinaciones se realizaron según el siguiente procedimiento: 5 g del músculo dorsal homogeneizado fueron agregados a 10 ml de ácido perclórico (HClO₄) al 10% (Mallinckrodt Inc, Paris, KY, E.U.A). Se homogeneizó por 3-4 min. a 12.000 rpm (ACE, homogenizer, mod: AM-3, Nihonseiki Kaisha, Japón) y la mezcla centrifugada a 4000 rpm durante 10 min a -10° C, en una centrifuga Sorvall, Modelo RC2-B con rotor SS-34 (Sorvall, Wilmington, DE, E.U.A). El precipitado fue descartado y al sobrenadante se le ajustó su pH entre 6-7, con solución de hidróxido de potasio (KOH) al 50% (Riedel-de Haen A.G, Alemania), a continuación se filtró con papel Whatman cualitativo N°4 (Whatman Maidstone Kent, Reino Unido) y recolectado el líquido de filtrado en un balón de 50 ml. El precipitado (perclorato de potasio) contenido en el papel de filtro fue lavado con porciones de 4-5 ml agua destilada hasta completar el volumen del balón. Los extractos fueron almacenados a -40°C (Congelador So-Low, Ultra Freezer, Environmental Equipment, Ohio, E.U.A), en recipientes de polietileno, hasta su cuantificación por cromatografía líquida, realizando una dilución de 5 ml a 50 ml para su cuantificación. Se prepararon estándares de las sales sódicas de cada uno de los nucleótidos: AMP, Hx e Ino (Sigma, St. Louis, MO, E.U.A), por dilución en 100 ml de agua destilada desionizada a una resistividad de 18 megaohm-cm (Water I. Arbor MICH, E.U.A). Las concentraciones de estas soluciones

(base libre) fueron de 500 ppm para: AMP, Ino y 200 ppm para Hx. Para obtener un estándar múltiple se mezclaron: 2 ml de AMP e Ino y 1 ml de Hx que se aforaron a 50 ml con agua destilada y desionizada. La concentración final fue de 20 ppm para AMP, e Ino, y 4 ppm para Hx. El estándar múltiple también fue almacenado en recipiente de polietileno a -40°C, para su utilización como patrón de cuantificación.

Se utilizó un equipo "Waters" modular (Milford, E.U.A) compuesto por: bomba modelo 510. Inyector U6K. Detector UV-visible modelo 486, (254 nm) y 0,5 AUFS. Integrador-registrador modelo 746 para procesar los datos, con una atenuación de 8. Columna Novapak C18 fase reversa (4µ, 150x3,9 mm, d.i., Waters). Las condiciones cromatográficas se basaron en las reportadas en la literatura [25, 26], empleando: fase móvil buffer KH₂PO₄ (0,01M) y KCl (0,001 M), (Riedel-de Haen A.G, Alemania) pH 4,3. Flujo: 0,4 ml/min. De los extractos de las muestras y del estándar múltiple, se inyectaron 25 µL.

Textura: A los filetes descongelados, se les determinó la textura por quintuplicado, a porciones del tejido muscular que fueron tomados en forma de cubos de 1 cm. de lado. Se determinó la resistencia a la compresión empleando un texturómetro "TAXT2i Texture Analyser" (Micro Systems, Reino Unido), con el cual se midieron los parámetros: dureza, cohesión, elasticidad, gomosidad y masticabilidad. Se empleó como sonda un plato de compresión de 75 mm y se aplicó una fuerza de compresión hasta un 50%.

Análisis estadístico: Se utilizó para todas las pruebas estadísticas un 95% de nivel de significancia y el programa utilizado fue el Statgraphics versión 6,0 [22], con el cual a los resultados obtenidos se les aplicaron las pruebas estadísticas de varianza de Cochran, Bartlett, Hartley y Levene, para determinar si los resultados son paramétricos o no paramétricos. En el primer caso se efectuó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y prueba de rango múltiple de Duncan (datos paramétricos), mientras que se aplicó Kruskal Wallis para no paramétricos, y así evaluar diferencias significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis proximal es útil para conocer la composición de los alimentos y en el caso particular de los productos pesqueros puede variar, dependiendo de factores como la edad, método de captura, sexo, nutrición de individuo y época del año [13,19]. Esta evaluación en pescado, comprende la determinación de humedad, grasa, proteínas y cenizas. En esta experiencia se determinaron valores de: humedad: 71,47 ± 0,04%, proteína: 19,93 ± 0,51%, grasa: 6,91 ± 0,26% y cenizas: 1,06 ± 0,01%, valores que sumados totalizan 99,37% y son muy similares a los reportados por Baptista [3] y INN [14], que son: humedad: 71-76%, proteína: 19%, grasa: 2,7-7,2% y cenizas: 1,1%. El aspecto más importante de estos resultados fue su relativo alto contenido de grasa (6,91%), el cual puede tener un efecto sobre la estabilidad del producto congelado,

debido a la posible oxidación de sus ácidos grasos, deteriorando organolépticamente el producto. Esto puede provocar, que en almacenamiento congelado prolongado se pueda manifestar en un lote de esta especie, con alto contenido graso cambios organolépticos debidos a rancidez, en relación a otro lote con menor contenido de grasa.

Según Guerra y Marín [11], la composición por talla y peso de una población es de suma utilidad, ya que aporta información si se trata de individuos jóvenes o adultos. Los resultados de peso y talla promedio para los catorce ejemplares fueron de 915 ± 94 g y $46,1 \pm 1,8$ cm. El peso es menor al reportado [3] de aproximadamente 1300 g., mientras que la talla es similar a la señalada en otros estudios, entre 45,4 a 47,5 cm. [3,6]. Se determinó también el rendimiento de los filetes a partir de la materia prima, el cual fue de 65%, valor más alto que el reportado (41%) para esta misma especie [3].

La evaluación inicial del pH y ácido láctico en la materia prima, puede influir en la estabilidad de productos pesqueros congelados ya que si el pescado es congelado lentamente y tiene valores ácidos de pH y altos niveles de ácido láctico, puede producirse una desnaturalización de las proteínas especialmente las miofibrilares, con la consiguiente pérdida de agua y de textura. Los valores de pH obtenidos en esta experiencia (TABLA I) corresponden a los reportados en pescado fresco (6,0-6,9) [13] y muestran una disminución en función del tiempo, con un valor inicial de 6,90 que llega a 5,98 al final de la experiencia. Similares resultados han sido reportados por Tokur y col. [23], en pulpa de carpa (*Cyprinus carpio*) en forma de croquetas que fueron almacenadas a -18°C por cinco meses, también observaron un cambio de pH que varió desde el inicio con 6,80 hasta el quinto mes con 6,74. En pescado refrigerado, este efecto es más notorio, manifestándose este comportamiento en pocas horas o días, mientras que en congelación, dependiendo de la temperatura empleada, disminuye e inclusive en determinadas condiciones no se detecta este descenso. Sin embargo, es factible que en períodos extensos de almacenamiento en congelación, pueda manifestarse este fenómeno. El análisis estadístico (Kruskall Wallis) realizado mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación al tiempo de almacenamiento.

En relación al ácido láctico, los resultados se muestran en la TABLA I, se obtuvo un valor inicial de $6,31 \mu\text{mol/g}$, lo cual indica una alta frescura de la materia prima, aspecto que es confirmado por el pH de 6,90. Posteriormente, se incrementa el ácido láctico, hasta $13,46 \mu\text{mol/g}$ a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento hasta el cuarto y quinto mes. El análisis estadístico realizado mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación al tiempo de almacenamiento. En otras experiencias con diferentes especies de pescado, se han obtenido valores iniciales más altos de ácido láctico, así por ejemplo en bacalao (*Gadus morhua*) se han determinado cantidades de $21,7 \mu\text{mol/g}$ [5] y en sardinas (*Sardinops melanosticta*), de $20 \mu\text{mol/g}$ [28 y 29]. Los valores obtenidos al final de esta experiencia ($13,46 \mu\text{mol/g}$) son inferiores a los reportados por los autores anteriormente citados y señalan que si bien se ob-

servó un incremento con respecto a la materia prima inicial, éste siempre fue menor que a los medidos en otras especies recién capturadas, lo cual indica que la congelación disminuyó la pérdida de frescura del producto.

El color es una de las cualidades más importantes en productos pesqueros, ya que este parámetro es empleado por el consumidor para la selección del alimento. Para su cuantificación se utiliza frecuentemente el sistema Hunter [20], que emplea tres parámetros: a, b y L. El primero expresa la relación rojo-verde y el segundo la luminosidad (claro/oscura), mientras que el b, señala la relación amarillo-azul. Los resultados de color se muestran en la TABLA I, con respecto al valor de "a" se determinó una disminución en el músculo blanco que varió desde la materia prima inicial con 1,02 hasta valores negativos de $-2,22$ al final del almacenamiento, mientras que en el músculo rojo aumentó desde 2,34 hasta 5,75 mostrando mayor fluctuación en este tejido. Esto indica que la musculatura blanca, pierde un poco de su color rojo, mientras que en el caso de la musculatura roja aumenta. Para ambas determinaciones se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación al tiempo de almacenamiento. Igual comportamiento se determinó para el parámetro "b" el cual tiende a disminuir en la musculatura blanca (disminución del color amarillo) y aumentar en la roja (aumento del amarillo). Para el parámetro "L" se observó un incremento en la musculatura blanca desde 47,95 al inicio hasta 56,93 al quinto mes. El valor de "L" se conservó hasta el segundo mes sin mostrar diferencias significativas ($P > 0,05$). Mientras que para la musculatura roja, también este índice se conservó hasta el segundo mes sin mostrar diferencias significativas ($P > 0,05$), pero disminuyó para el tercer y cuarto mes. Por lo tanto, el comportamiento de este valor es diferente en ambos tipos de musculatura, en el caso de la blanca aumentó, con lo cual indica que se incrementa su brillo, mientras que en la musculatura roja hay una disminución señalando que se va haciendo más oscuro con el tiempo de almacenamiento. Este cambio en el color puede ser atribuido a la formación de metamioglobina (color pardo) debido a la oxidación de la mioglobina y hemoglobina [8]. Para ambos tipos de musculatura el tiempo mostró diferencias significativas ($P < 0,05$).

La pérdida de humedad durante el almacenamiento de alimentos congelados puede producir una textura seca y tiene gran importancia económica, ya que ocasiona una merma del alimento. Si el producto no está protegido por un empaque impermeable, es inevitable que una cierta cantidad del agua del alimento se pierda, ocasionando que en el alimento desmejoren sus características organolépticas y disminuya su peso. Por otra parte la evaluación de este parámetro es sumamente importante en un alimento congelado, ya que permite conocer si el empaque empleado es impermeable y si el alimento ha sido correctamente mantenido y manipulado en congelación. Cambios de este índice señalan aspectos tales como: empaque no apropiado, cierre defectuoso, inadecuadas condiciones de almacenamiento, etc.

En la TABLA I se muestran los resultados de la variación del contenido de humedad. Entre los valores iniciales y finales

TABLA I
CAMBIOS DE pH, ÁCIDO LÁCTICO, COLOR Y HUMEDAD Y ÁCIDO TIOBARBITURICO EN FILETES DE LEBRANCHE ALMACENADOS A -18°C/
CHANGES IN pH, LACTIC ACID, COLOUR, MOISTURE AND THIOBARBITURIC ACID IN FILLETS UNDER FROZEN STORAGE AT -18°C.

Análisis	Meses					
	0	1	2	3	4	5
pH	6,90 ± 0,01 ^d	6,23 ± 0,01 ^e	6,29 ± 0,01 ^f	6,01 ± 0,01 ^b	6,08 ± 0,01 ^c	5,98 ± 0,05 ^a
Ácido láctico (µmol/g)	6,31 ± 1,51 ^a	8,63 ± 2,77 ^{ab}	15,42 ± 1,21 ^c	10,17 ± 1,90 ^b	13,90 ± 1,61 ^c	13,46 ± 2,86 ^c
Color Músculo blanco						
a	1,02 ± 1,01 ^c	-1,63 ± 0,75 ^{ab}	-2,34 ± 0,94 ^a	-0,89 ± 0,60 ^b	-1,78 ± 0,27 ^{ab}	-2,22 ± 0,08 ^{ab}
b	8,19 ± 1,26 ^b	7,60 ± 0,38 ^b	4,55 ± 2,32 ^a	7,54 ± 1,17 ^b	8,55 ± 0,81 ^b	5,93 ± 0,99 ^b
L	47,95 ± 2,82 ^{ab}	50,85 ± 3,25 ^{abc}	53,86 ± 2,11 ^{bc}	56,72 ± 0,62 ^c	46,09 ± 1,55 ^a	56,93 ± 6,03 ^c
Color Músculo rojo						
a	2,34 ± 1,60 ^a	1,55 ± 0,61 ^a	5,37 ± 0,58 ^b	2,37 ± 1,12 ^a	1,47 ± 0,56 ^a	5,75 ± 0,10 ^b
b	6,89 ± 1,15 ^a	13,42 ± 2,87 ^c	15,67 ± 0,91 ^{cd}	10,53 ± 0,47 ^b	10,44 ± 0,28 ^b	16,22 ± 1,06 ^d
L	56,29 ± 3,98 ^b	52,81 ± 5,01 ^b	53,79 ± 1,50 ^b	45,67 ± 1,49 ^a	46,37 ± 1,69 ^a	49,64 ± 2,50 ^b
Humedad (%)	71,47 ± 0,04 ^{ab}	72,98 ± 0,52 ^c	72,61 ± 0,42 ^c	72,19 ± 0,50 ^{bc}	70,74 ± 1,14 ^a	72,68 ± 0,32 ^c
TBA (mg/Kg)	3,59 ± 0,39 ^b	1,17 ± 0,97 ^a	0,58 ± 0,19 ^a	5,70 ± 1,22 ^c	4,99 ± 0,50 ^c	7,25 ± 0,55 ^d

Promedio ± desviación estándar. Medias con diferentes letras en el super índice (a,b,c), dentro de una misma fila, indican diferencias significativas a un nivel de probabilidad de P>0,05.

se observó un aumento estadísticamente significativo ($P < 0,05$) desde 71,47% a 72,68%, sin embargo desde un punto de vista práctico este incremento puede deberse a diferencias individuales de las muestras. Se puede señalar que la humedad de las muestras congeladas estuvo en el rango de 70,74 a 72,98%, lo cual indica que el empaque empleado permitió conservar adecuadamente la humedad de los filetes, sin importantes fluctuaciones de este parámetro. Estos valores señalan que al conservarse la humedad dentro del rango señalado no hubo grandes pérdidas por desecación de la superficie de los filetes.

Otro factor que tiene mucha importancia en productos pesqueros congelados es el deterioro por oxidación de los ácidos grasos especialmente los poliinsaturados. Este depende del contenido de grasa, así como de su perfil de ácidos grasos, temperatura y condiciones de almacenamiento. Hoy en día, desde el punto de vista nutricional, la preservación de estos compuestos tiene gran importancia, ya que se ha determinado que ayudan a prevenir enfermedades especialmente cardiovasculares. Por otra parte su oxidación produce compuestos que afectan el olor, sabor, textura, etc. [13], deteriorando por lo tanto la calidad del alimento. Uno de los métodos más empleados para determinar la oxidación de los productos pesqueros, es por medio del ácido tiobarbitúrico (TBA) que se basa en la reacción entre el malonaldehído (producto típico de la rancidez en productos pesqueros) y el reactivo TBA.

En la TABLA I, se muestran los resultados de TBA, expresados como mg/kg de lebranche (ppm), los valores obtenidos se incrementan en función del tiempo de almacenamiento desde 3,59 ppm (mes 0) hasta el quinto mes (7,25 ppm), lo cual indica un cierto grado de rancidez. Al evaluar estos resultados, se tiene que considerar el contenido de grasa determinado en esta experiencia que fue de 6,91%, ya que en ejemplares con menor cantidad de grasa es de esperar valores más bajos de TBA. El análisis estadístico para este índice, muestra diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación al tiempo de almacenamiento. En general se espera que especies con bajo contenido de grasa tiendan a manifestar bajos grados de rancidez, así por ejemplo en sardinas (*Sardina pilchardus*) con un porcentaje de grasa de 3,6%, el TBA fue de 1,03 ppm [16]. Resultados similares a los determinados en esta experiencia han sido evaluados durante el almacenamiento congelado a -18°C por 95 días de filetes de pez volador (*Dactylopterus volitans*), con un contenido de grasa de 3,04%, en los cuales reportan valores iniciales de 0,27 ppm al inicio que se incrementan hasta 3,12 ppm al final del almacenamiento [15].

Los índices de proteína soluble en soluciones salinas (PSs) y líquido exprimible (LE) están relacionados con la integridad de las proteínas. En una materia prima fresca se tiene un valor alto de PSs, representado principalmente por las proteínas miofibrilares intactas, ya que estas no han sido afectadas por cambios de temperatura, o alteraciones del pH. Por otra parte ya que la proteínas están poco desnaturalizadas, su capacidad de retener agua es alta, y esto se refleja en unos

valores de LE bajos, ya que el agua se encuentra fuertemente ligada a las proteínas, extrayendo principalmente el agua libre del tejido muscular [4, 24]. La desnaturalización puede manifestarse en variaciones de la textura, que produce cambios indeseables en la firmeza, elasticidad, resequedad, rigidez y jugosidad [12].

Los valores de PSs y LE, determinados en este estudio, son mostrados en la TABLA II. Se puede observar una disminución de PSs entre el inicio de la experiencia (74,88%) y el quinto mes (41,95%). El descenso de este índice se manifiesta al primer mes de almacenamiento (59,60%) y sigue disminuyendo hasta el tercer mes (27,94%), para luego aumentar en el cuarto (79,06%) y disminuir nuevamente al final del almacenamiento. Este comportamiento de disminución con aumento y posterior disminución ha sido observado en otras especies de pescado como filetes de sardinas (*Sardinella aurita*) congelados a -18°C , en los cuales se reportan valores iniciales de 66,6% que aumentan para el segundo mes a 80,0% y disminuyen hasta 48,6% (cuarto mes) [27]. Estas fluctuaciones pueden ser debidas a enzimas proteolíticas (catepsinas, calpains) del tejido muscular que, dependiendo de la temperatura de congelación empleada y las condiciones de almacenamiento, pueden ejercer su acción y aumentar las PSs, posteriormente las proteínas son afectadas significativamente por la congelación y pierden parte del agua enlazada, aumentando así su hidrofobicidad, con lo cual disminuye la PSs. Estos planteamientos se confirman con los resultados de LE, (TABLA II) que muestran un incremento progresivo de este índice a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, hasta el tercer mes (21,11%) a partir de cual se mantiene este índice sin diferencias significativas ($P > 0,05$) hasta el quinto mes. Los valores de PSs y LE indican una desnaturalización de las proteínas, que se manifiesta por la pérdida del agua ligada a estas y evidencia el daño proteico ocurrido durante la congelación [1]. El análisis estadístico (Kruskall Wallis) para PSs y LE muestra diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación al tiempo de almacenamiento.

Los cambios en los nucleótidos son más evidentes en pescado refrigerado, sin embargo, si bien las bajas temperaturas de congelación disminuyen este fenómeno, es factible que por el tiempo de almacenamiento más prolongado en relación a la refrigeración, se produzcan ciertos cambios de estos compuestos [5]. La mayoría de los autores concuerdan en señalar que los productos de la degradación de nucleótidos que tienen mayor impacto sobre la frescura son Ino e Hx [9, 13]. En la TABLA II, se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de AMP, Hx e Ino. Para todos éstos se obtuvieron incrementos al comparar los valores iniciales de AMP, Hx e Ino con respecto al quinto mes, los aumentos porcentuales fueron de 333; 270 y 202% con respecto a los meses mencionados. De estos resultados se resalta que el AMP se formó en menor cantidad (rango: 0,9 a 4,8 mg%), mientras que el nucleótido mayoritario fue la Ino (rango: 25,9 a 69,6 mg%). Para AMP, Hx e Ino el tiempo mostró diferencias significativas ($P < 0,05$). Otra

TABLA II
CAMBIOS DE PROTEÍNAS SOLUBLES EN SOLUCIONES SALINAS, LÍQUIDO EXPRIMIBLE, NUCLEÓTIDOS Y TEXTURA
EN FILETES DE LEBRANCHE ALMACENADOS A -18°C/ CHANGES IN SOLUBILITY OF PROTEINS IN SALINE SOLUTIONS, WATER-BINDING CAPACITY,
NUCLEOTIDE AND TEXTURE IN LEBRANCHE FILLETS UNDER FROZEN STORAGE AT -18°C.

Análisis	Meses					
	0	1	2	3	4	5
PSs (%)	74,88 ± 17,54 ^{ce}	59,60 ± 14,28 ^c	45,12 ± 5,28 ^b	27,94 ± 1,98 ^a	79,06 ± 5,56,3 ^e	41,95 ± 5,57 ^b
LE (%)	3,52 ± 0,48 ^a	5,63 ± 1,91 ^b	17,05 ± 1,20 ^c	21,11 ± 0,61 ^d	22,14 ± 0,02 ^{de}	23,23 ± 1,01 ^e
Nucleótidos (mg%)						
AMP	0,9 ± 0,4 ^a	2,1 ± 1,5 ^{ab}	1,6 ± 0,8 ^{ab}	4,8 ± 1,3 ^c	2,7 ± 0,4 ^{ab}	3,0 ± 0,2 ^{bc}
Hx	1,7 ± 0,7 ^a	6,6 ± 0,8 ^b	5,6 ± 2,2 ^b	11,0 ± 1,4 ^c	10,2 ± 1,0 ^c	4,6 ± 0,5 ^b
Ino	25,9 ± 11,2 ^a	46,7 ± 6,4 ^b	36,3 ± 8,9 ^{ab}	69,6 ± 8,8 ^d	69,2 ± 9,2 ^d	52,3 ± 4,6 ^b
Hx/Ino	0,11 ± 0,03 ^{ab}	0,14 ± 0,02 ^{ab}	0,17 ± 0,09 ^b	0,15 ± 0,01 ^{ab}	0,15 ± 0,01 ^{ab}	0,08 ± 0,01 ^a
Textura						
Dureza	2547 ± 127 ^b	1431 ± 133 ^a	1624 ± 263 ^a	1541 ± 171 ^a	1656 ± 291 ^a	2291 ± 117 ^b
Cohesividad	0,30 ± 0,01 ^a	0,37 ± 0,03 ^{abc}	0,38 ± 0,05 ^{bc}	0,33 ± 0,03 ^{ab}	0,42 ± 0,07 ^c	0,37 ± 0,01 ^{bc}
Elasticidad	4,72 ± 0,27 ^a	5,56 ± 0,13 ^b	4,41 ± 0,46 ^a	4,35 ± 0,55 ^a	4,51 ± 0,28 ^a	4,31 ± 0,20 ^a
Gomosidad	782 ± 21 ^d	525 ± 5 ^a	699 ± 36 ^c	507 ± 10 ^a	639 ± 13 ^b	851 ± 23 ^e
Masticabilidad	3679 ± 313 ^d	2314 ± 89 ^a	3293 ± 255 ^c	2682 ± 247 ^b	3077 ± 133 ^c	4501 ± 64 ^e

Promedio ± desviación estándar. Medias con diferentes letras en el super índice (a, b, c), dentro de una misma fila, indican diferencias significativas a un nivel de probabilidad de P>0,05. PSs%: Porcentaje de proteína soluble en soluciones salinas (gr proteína soluble/100 g proteína), LE%: Porcentaje de líquido exprimible (ml de agua/100 g muestra). Dureza (gf), Cohesividad (Adimensional), Elasticidad (seg), Gomosidad(gf) y Masticabilidad (grxseg).

forma de evaluar la frescura es en base al patrón de degradación de la Hx e Ino, que son los nucleótidos que se determinan con mayor frecuencia, debido a que son los productos finales del ATP. Por lo tanto las especies de pescado se pueden clasificar en 3 grupos: 1) Las que acumulan Ino; 2) Las que acumulan Hx y 3) Las intermedias entre los patrones anteriores. La mayoría de los pescados (66%) siguen un patrón de degradación de nucleótidos de los grupos 1 y 3 antes señalados [10]. Por lo tanto, la relación de Hx/Ino indica si la especie en cuestión es formadora de Hx o de Ino. El valor obtenido de esta relación en esta experiencia varió entre 0,08 a 0,17, indicando que es formadora principalmente de Ino y el análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($P>0,05$) para este índice, por lo cual la proporción se mantuvo aproximadamente igual durante todo el almacenamiento, incrementándose proporcionalmente tanto la Hx como la Ino, pero registrando esta última siempre las cantidades más altas. Estos resultados señalan que a pesar de la temperatura (-18°C) se produjeron aumentos de estos nucleótidos, registrando siempre la mayor cantidad la Ino, sin embargo la proporción de formación de este último y la Hx, permanece constante durante el período de estudio.

Durante un almacenamiento congelado es factible que las fluctuaciones de temperatura y tiempo de conservación prolongados, deterioren la textura del pescado, siendo unas especies más sensible que otras [13]. Para la cuantificación de la textura, se midieron los parámetros de: dureza, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad. Para la dureza se puede observar en la TABLA II, que con respecto al inicio (2547 gf) ésta disminuye a partir del primer mes (1431 gf) y se mantiene baja hasta el cuarto mes (1656 gf) sin diferencias significativas ($P>0,05$). En el quinto mes aumenta la dureza (2291 gf), sin embargo no muestra diferencias con respecto al inicio. Este incremento es debido posiblemente al deterioro de las proteínas, aspecto que es confirmado por los resultados de PSs y LE para el quinto mes que son de 41,95 y 23,23% ya anteriormente discutidos. La cohesividad mide la fuerza interna entre los diferentes constituyentes del alimento, los valores determinados indican un ligero incremento desde el inicio con respecto al quinto mes, que en términos porcentuales es del 23%, debido posiblemente a la pérdida de agua de las proteínas, que permiten una mayor interacción entre ellas mediante enlaces hidrofóbicos y por lo tanto una mayor cohesividad. Este índice mostró diferencias significativas ($P<0,05$) con respecto al tiempo de almacenamiento. La elasticidad mide cómo un alimento que es deformado por una fuerza retoma su condición inicial una vez que se le quita la fuerza inicial. Los resultados señalan un aumento solamente de la elasticidad al primer mes del almacenamiento (5,56 seg), con respecto al inicio (4,72 seg) sin embargo este valor disminuye posteriormente en el segundo mes (4,41 seg) y se mantiene constante sin diferencias significativas ($P>0,05$) hasta el quinto mes de alma-

cenamiento. Los parámetros de gomosidad y masticabilidad están relacionados con la energía requerida para desintegrar un alimento a un estado "listo para ser tragado". Ambos mostraron un comportamiento similar: Al inicio de la experiencia se obtuvieron valores altos, que luego a partir del primer mes hasta el cuarto disminuyeron, pero luego al quinto mes, aumentaron significativamente con respecto al inicio que fueron de 782 gf y 3679 gf hasta 851 gf y 4501 gf, respectivamente, lo cual señala que se requiere de una mayor energía para desintegrar los filetes, ocasionado posiblemente por la mayor cohesividad del producto. Estos índices mostraron diferencias significativas ($P<0,05$) con respecto al tiempo.

CONCLUSIONES

Los filetes de lebranche almacenados a -18°C mostraron un buen grado de frescura hasta el segundo mes, a partir del cual su calidad disminuye. Esta pérdida se manifestó principalmente por el daño en la fracción de las proteínas que registraron aumento en la cantidad de LE y una disminución en las SPs.

Se detectaron cambios autolíticos en los filetes especialmente en los parámetros de pH, ácido láctico e Ino, los cuales indican que a pesar de la baja temperatura empleada (-18°C), éstos siguen manifestándose lentamente debido a los períodos en almacenamiento congelado de varios meses que permiten variaciones significativas de estos índices.

Se determinó un comportamiento diferente en el color en relación a la musculatura blanca y roja, ya que el color rojo (parámetro "a") disminuyó en el primero y aumentó en el segundo, mientras que la luminosidad (parámetro "L") aumentó en el blanco y disminuyó en el rojo. Estos resultados indican que la musculatura blanca tiende a "aclarse" mientras la roja se "oscurece".

La rancidez medida por TBA, muestra un incremento en función del tiempo de almacenamiento desde 3,59 ppm (mes 0) hasta el quinto mes (7,25 ppm), lo cual indica un cierto grado de rancidez. Estos resultados están afectados también por el contenido relativamente alto de grasa (6,91%) determinados en estos ejemplares, lo cual los hace más susceptibles a cambios por autooxidación de los ácidos grasos.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento de la presente investigación a través de los proyectos PI 03-00-5827-2005 y Tipo A: 03-00-5826-2005. También proyecto de Fortalecimiento FONACIT Código: F-2005000198 y al Proyecto FONACIT S1-2001000745.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARVELAIZ, P. Evaluación de la estabilidad lipídica y proteica de la tilapia (*Oreochromis hybridus*) durante su almacenamiento congelado. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. UCV. Tesis de Maestría. 30-50 pp. 1996.
- [2] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INC. (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 20th. Kenneth Helrich (Ed). Washington. D.C. 1298 pp. 1990.
- [3] BAPTISTA, J. Desarrollo tecnológico del lebranche (*Mugil spp.*) ahumado en caliente. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Tesis de Grado. 93 pp. 2004.
- [4] BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; THONGKAEW, C., TANAKA, M. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. **Food Res. Inter.** 36(8): 787-795. 2003.
- [5] CAPPELN, G.; JESSEN, F. Glycolysis and ATP degradation in cod (*Gadus morhua*) at subzero temperature in relation to thaw rigor. **Lebensm.-Wiss. u.- Technol.** 34(2): 81-88. 2001.
- [6] CERVIGON, F. Los Peces Marinos de Venezuela. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Vol II. 2^{da} Ed. 372-385 pp. 1993.
- [7] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Norma Venezolana COVENIN: 1315-79. Alimentos Determinación de pH. Acidez Iónica**. 3 pp. 1979.
- [8] CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; FAUSTMAN, C. Change of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. **Food Chem.** 93(4): 607-617. 2005.
- [9] DEBRUYCKERE, G.; VAN PETEGHEM, C. HPLC Analysis of organic bases. Cap. 17. In: **Food Analysis by HPLC**. Nollet L. y M. Dekker. Inc.(Eds). New York. 643-671 pp. 1992.
- [10] EHIRA, S.; UCHIYAMA, H. Determination of fish freshness using the K-value and comments on some other biochemical changes in relations to freshness. In: **"Seafood Quality Determination"**. D.E. Kramer & J. Liston (Eds). Elsevier Science Publishers. Amsterdam. 209 pp. 1987.
- [11] GUERRA, A.; MARÍN, G. Algunos aspectos biológicos y pesqueros del lebranche (*Mugil liza*) en la laguna de Unare, estado Anzoátegui, Venezuela. **Zoot. Trop.** 20 (3): 287-305. 2002.
- [12] HERNÁNDEZ, A. Cambios en el músculo de pescado debido al proceso de congelación. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Tesis de Grado. 25-38 pp. 1986.
- [13] HUSS, H. Cambios *postmortem* en pescado. En: **El Pescado Fresco: su Calidad y Cambios de su Calidad**. FAO. Fisheries Technical Paper. N° 248, Rome, FAO: 42-45 pp. 1998.
- [14] INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN (INN). Tabla de composición de alimentos para uso teórico-práctico. **Serie de Cuadernos Azules. Publicación N° 52**. Caracas. 97 pp. 1999.
- [15] IRIARTE, R.; ROMERO, G. Efecto del tiempo de almacenamiento a -18°C sobre las características bacteriológicas y fisico-químicas de filetes de pez volador (*Dactylopterus volitans*). **Rev. Cientif. FCV-LUZ**. XVI(2): 195-201. 2006.
- [16] KILINC, B.; CAKLI, S. Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardinella pilchardus*) during marination. **Food Chem.** 88(2): 275-280. 2004.
- [17] PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G. Influence of ice storage on ray (*Raja clavata*) wing muscle. **J. Sci. Food Agric.** 64(1): 9-18. 1994.
- [18] RHEE, K. Minimization of further lipid peroxidation in the distillation 2-thiobarbituric acid test of fish and meat. **J. Food Sci.** 43(6): 1776. 1978.
- [19] RODRÍGUEZ, C. El pescado como alimento, especies comerciales. En: **"La Manipulación a Bordo de Pescado de la Costera Artesanal"**. Edt. Gráficas Lar. España. 253 pp. 2000.
- [20] SEQUEIRA-MUÑOZ, A.; CHEVALIER, D.; LeBAIL, A.; RAMASWAMY, H.; SIMPSON, B. Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. **Innovat. Food Sci. and Emerg. Technol.** 7(1-2): 13-18. 2006.
- [21] SIGMA. Sigma Diagnostics. Lactate. Procedure N ° 826-UV. 30 pp. 1989.
- [22] STATISTICAL GRAPHICS SYSTEMS CORPORATION. User's Guide. Statgraphics. Versión 6,0. STSC: E.U.A. 1992.
- [23] TOKUR, B.; OZKÜTÜK, S.; ATICI, E.; OZYURT, G.; OZYURT, C. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18°C). **Food Chem.** 99(2): 335-341. 2006.
- [24] VALLS, J. Efecto de los procesos tecnológicos tradicionales en la calidad nutricional de productos pesqueros. Cap. 8. En: **Efecto del Procesamiento sobre el Valor Nutricional de los Alimentos**. Universidad Simón Bolívar (Ed.). 1^{er} Ed. 186-210 pp. 2003.

- [25] VALLS, J.; BELLO, R.; KODAIRA, M. Validation of liquid chromatography analysis of ATP-related compounds in sardines. **J. Aquatic Food Product Tech.** 10(3): 67-78. 2001.
- [26] VALLS, J.; DELGADO, A. Evaluación de los productos de degradación del ATP en sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** X(5): 383-390. 2000.
- [27] VALLS, J.; PAREDES, A.; GONZÁLEZ, D. Estabilidad de filetes de sardina (*Sardinella aurita* V.) en almacenamiento congelado a -18°C . **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XVI(2): 176-185. 2006.
- [28] WATABE, S.; KAMAL, M.; HASHIMOTO, K. Postmortem changes in ATP, creatine phosphate, and lactate in sardine. **J. Food Sci.** 56(1): 151-153. 1991.
- [29] WATABE, S.; USHIO, H.; IWAMOTO, M.; KAMAL, M.; IOKA, H.; HASHIMOTO, K. Rigor-mortis progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation. **Nippon Suisan Gakkaishi.** 55(10): 1833-1839. 1989.