



**UNIVERSIDAD DE SONORA**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS**  
**Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos**

"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

**Especialidad en Conservación y Procesamiento de Productos Marinos**

**Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis*  
y la calidad del músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

**TESIS**

**Como requisito parcial para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**Presenta:**

**Q.A. Nathaly Montoya Camacho**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

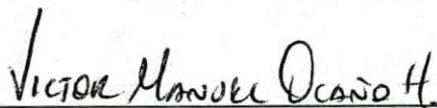


Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## APROBACIÓN

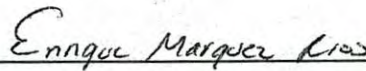
**Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis* y la calidad  
del músculo de tilapia *Oreochromis niloticus***

**Nathaly Montoya Camacho**



---

Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera  
Director de Tesis



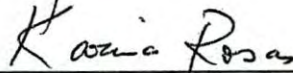
---

Dr. Enrique Márquez Ríos  
Sinodal de Tesis



---

Dr. José Luis Cárdenas López  
Sinodal de Tesis



---

Dra. Ema Carina Rosas Burgos  
Sinodal de Tesis

## DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Ciencias de los Alimentos** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador de Programa del Posgrado.

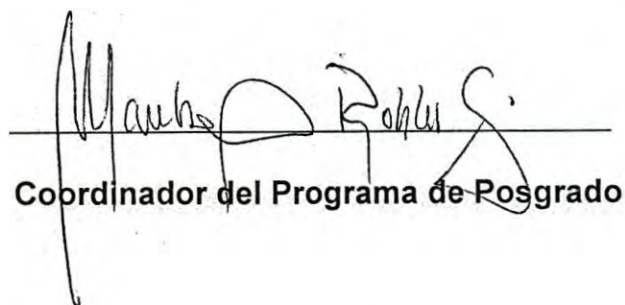
Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente



---

**Q.A. Nathaly Montoya Camacho**



**Coordinador del Programa de Posgrado**



## AGRADECIMIENTOS

**A DIOS**, por haberme concedido llegar hasta este punto de mi vida, por permitirme alcanzar una meta más y por darme salud para lograr mis objetivos.

**A la Universidad de Sonora**, la cual me abrió sus puertas y me dio la oportunidad de alcanzar una meta más dentro de mi formación personal y profesional.

**Al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos**, por contribuir con mi formación académica y por darme la oportunidad de seguir estudiando y preparándome.

A mi director de tesis **Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera** por permitirme trabajar a su lado durante todos estos años, por creer y confiar en mí, por contribuir grandemente en mi formación profesional y humana. Gracias por su amistad, paciencia y tiempo. Especialmente por compartir tantos momentos, historias y por estar ahí sin importar la situación. Por ser un excelente maestro y por ser un gran ejemplo a seguir.

Igualmente agradezco a los integrantes de mi comité de tesis, **Dr. Enrique Márquez Ríos, Dr. José Luis Cárdenas López y a la Dra. Ema Carina Rosas Burgos** por sus comentarios, aportaciones y por su atención durante el desarrollo de mi trabajo de tesis. Gracias por su confianza y por su tiempo.

A **Edgar**, por tu amistad, confianza y cariño. Por tu gran paciencia, tu apoyo, por tus conocimientos y experiencia que fueron de gran ayuda para llevar a cabo mi tesis, muchas gracias por todo el tiempo que te tomaste para ayudarme, y sobre todo gracias por todos los momentos que hemos compartido.

Especialmente a mis amigas **Machuy, Dalila y Xochitl**, definitivamente muchísimas gracias por todos y cada uno de los momentos vividos, por su apoyo incondicional, por echarme la mano cuando más lo he ocupado, por su paciencia para escucharme en mis momentos de estrés, angustia, tristeza, y porque no también los de felicidad (Machuy, a ti sobre todo por escuchar mi discurso anual y con tantos paréntesis). Como olvidar esos días y noches de pláticas interminables, consejos, chismes y uno que otro chiste. En resumen: gracias por su amistad, las quiero mucho.

**Maestra Abril:** gracias por su amistad, por tantos momentos compartidos y por su ayuda durante mi estancia en el laboratorio. **Maestro César e Ing. Gerardo** gracias por su sentido del humor, por hacerme pasar momentos de alegría y desde luego por su tiempo y apoyo técnico.

**A mis compañeros de Maestría:** Xochitl, Génesis, Gabriel, Tolano, Dihort, Fernanda, Gloria, Lety, Faby, Magui, Mila, Chuy, John y Norma, porque en estos dos años que convivimos juntos, vivimos muchos momentos de estrés, de angustias pero también muchos momentos alegres e inolvidables. Gracias por vivir esta gran experiencia juntos.

**A mis amigos y compañeros del DIPA y del LIA.** Susy, Yael, Nicolás, Ramón, Pablo, Tavo, Estrellita, Nestor, Anayanci, Irene, Prabah, Willy, José Luis, Joe, Carmen, Miroslava, Emma, Carretas, Erendira, Emilio y Eleazar. Algunos por compartir tiempo y vivencias en el laboratorio, otros por compartir clases y a todos por compartir muchos momentos de alegría, muchos festejos y también muchas fiestas.

Especialmente a **Coty**, por todas las atenciones, tiempo y paciencia que tuvo conmigo. **A los maestros que me impartieron clases**, gracias por su tiempo y por contribuir en mi formación académica.

**A mis amigos:** Lili, Chuy, José, Roció, Mónica, Diana, Lalo, Abigail, Carlos, Iván y Luis. Especialmente a **Edith, Lili y Brenda**, por estar siempre conmigo y apoyarme durante esta etapa de mi vida, unos más tiempo que otros pero al final ahí están en todo momento. Gracias por su amistad.

## DEDICATORIA

Con mucho cariño a mis papás: **Artemisa** y **Bladimir**; a mis hermanas: **Laura** y **Karina**; a mis sobrinos: **Abraham**, **Andrea** y **Cristopher**; a mis cuñados: **Abraham** y **Gonzalo**. Gracias por todo el cariño y apoyo incondicional.

*“Nacemos para vivir, por eso el tesoro más importante que tenemos es el tiempo, es tan corto nuestro paso por este planeta que es una pésima idea no gozar cada paso y cada instante”*

*Facundo Cabral*



## RESUMEN

La calidad de los productos de la pesca, está influenciada por las condiciones de captura y manejo poscaptura, así como por la velocidad con la que se llevan a cabo los procesos bioquímicos *posmortem*. De estos, el *rigor mortis* se considera como el cambio bioquímico *posmortem* de mayor importancia por el impacto que tiene en la apariencia y en la calidad del producto final. De igual forma, se ha descrito que las condiciones de almacenamiento principalmente la temperatura ejerce una gran influencia sobre éste importante proceso *posmortem*. Por lo anterior, en el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto de la temperatura de almacenamiento (0 °C y 5 °C) sobre el *rigor mortis* y la calidad del músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) durante un almacenamiento de 20 días. Para ello, se recolectaron tilapias adultas con un tamaño de 33.6 cm y un peso promedio de 961 g, las cuales se dividieron en 4 lotes. De estos, uno se almacenó a 0 y otro a 5 °C durante 266 h, mientras que los 2 lotes restantes se filetearon y los filetes obtenidos se almacenaron durante 20 días a las temperaturas anteriormente descritas (un lote por cada temperatura). A los organismos enteros, se les determinó el índice de rigor (IR), mientras que a los filetes almacenados a las distintas temperaturas se les determinó ATP, glucógeno, ácido láctico, pH y textura a las 4 y 48 h. Estas determinaciones conformaron la etapa I del estudio, la cual tuvo la finalidad de determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el rigor. En una segunda etapa del estudio, se monitoreó el comportamiento del ATP y sus productos de degradación, índice K, pH, color, textura, capacidad de retención de agua, bases volátiles totales y recuento



de microorganismos (mesófilos y psicrófilos) a los 0, 2, 5, 8, 11, 14, 17 y 20 días, a las dos temperaturas de almacenamiento. Esto con la finalidad de determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la calidad del músculo de tilapia. En cuanto a los resultados obtenidos en la etapa I, se observó que el tiempo y la temperatura de almacenamiento presentaron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) sobre el IR, en donde se observó que a 5 °C, el rigor presentó una mayor contracción muscular, lo cual se reflejó en el contenido de ATP y glucógeno, mientras que en las determinaciones de ácido láctico, pH y textura no presentaron cambios significativos ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento. En la etapa II, se observó que el tiempo y la temperatura de almacenamiento tuvieron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) en las determinaciones de índice K, BVT-N y recuento de microorganismos (mesófilos y psicrófilos), mientras que en la determinación de pH, textura y CRA no se presentaron cambios significativos ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento. En base a lo anterior, se concluye que los organismos almacenados a 5 °C presentaron un *rigor mortis* más rápido y más pronunciado, en comparación con la temperatura de 0 °C. Asimismo, se encontró una vida útil del filete de tilapia de al menos 16 días cuando se almacena a 0 °C y de 12 días a 5 °C.

## CONTENIDO

	Página
APROBACIÓN.....	ii
©DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
DEDICATORIA.....	vii
RESUMEN.....	viii
CONTENIDO.....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xiii
LISTA DE TABLAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
Producción Mundial y Nacional de la Tilapia.....	3
Generalidades de la Tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	4
Principales Cambios Bioquímicos <i>Posmortem</i> .....	7
<i>Rigor Mortis</i> .....	7
Producción y Utilización de Energía.....	9
Disminución del pH.....	12
Desnaturalización de Proteínas.....	13
Deterioro por Acción Bacteriana.....	14
Métodos Utilizados para Evaluar la Frescura y Calidad de los Productos Pesqueros.....	15
Métodos Subjetivos o Sensoriales.....	16
Métodos Objetivos.....	16
Métodos bioquímicos.....	16
Índice K.....	16
Métodos físicos.....	18
Índice de rigor.....	18
pH.....	19
Bases volátiles totales.....	21

	Página
Textura.....	22
Capacidad de retención de agua.....	23
Color.....	23
Métodos microbiológicos.....	24
Cuenta bacteriana total.....	24
HIPÓTESIS.....	25
OBJETIVOS.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
Determinaciones Analíticas.....	28
Para la Evaluación del <i>Rigor Mortis</i> .....	28
Índice de rigor (IR).....	28
Cuantificación del ATP y sus productos de degradación..	29
Glucógeno.....	30
Ácido láctico.....	31
pH.....	31
Textura.....	31
Para la Evaluación de la Calidad.....	32
Índice K.....	32
Bases volátiles totales.....	32
Capacidad de retención de agua.....	33
Color.....	33
Cuenta total de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos.....	34
Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	
Etapa I. Efecto de la Temperatura de Almacenamiento sobre el Desarrollo del <i>Rigor Mortis</i> .....	36
Índice de rigor (IR).....	36
ATP.....	39



	Página
Glucógeno.....	42
Ácido láctico.....	43
pH.....	44
Textura.....	46
Etapa II. Efecto del Almacenamiento a 0 y 5 °C en la Calidad de los Filetes de Tilapia.....	47
Efecto sobre la Bioquímica <i>Posmortem</i> del Músculo de Tilapia.....	47
Comportamiento del ATP y sus productos de degradación.....	47
Índice K.....	51
Efecto sobre la Calidad Física y Química del Músculo de Tilapia.....	51
pH.....	51
Bases volátiles totales.....	57
Textura.....	59
Capacidad de retención de agua.....	62
Color.....	64
Efecto sobre la Calidad Microbiológica.....	67
Cuenta total de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos.....	67
CONCLUSIONES.....	70
RECOMENDACIONES.....	71
BIBLIOGRAFÍA.....	72

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Anatomía externa de la tilapia.....	6
2	Principales metabolitos relacionados con la obtención de energía aeróbica y anaeróbica en organismos acuáticos.....	11
3	Medición del índice de rigor.....	18
4	Comportamiento del índice de rigor en organismos de tilapia almacenados a 0 y 5 °C durante 266 h .....	35
5	Variación de las concentraciones de ATP, ADP, AMP, IMP, Hx e HxR en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	46
6	Comportamiento del índice K en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	49
7	Comportamiento del pH en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	52
8	Comportamiento de las BVT-N en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	55
9	Cambios en la textura en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	57
10	Comportamiento de la CRA en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	60
11	Cambios de color en función de los parámetros L*, a* y b* del músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	62
12	Cambios de la cuenta microbiana mesófila y psicrófila, cuantificada en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días.....	64



## LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Efecto de la temperatura de almacenamiento 0 y 5 °C sobre el desarrollo del <i>rigor mortis</i> durante 48 h <i>posmortem</i> .....	38

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la producción de tilapia se ha incrementado considerablemente, tan solo en el año 2010 su producción total fue de aproximadamente 3 millones de toneladas (Fitzsimmons, 2010). Actualmente, el consumo de estos peces ha tenido una amplia aceptación por parte de los consumidores; además de ser considerados como una excelente fuente de alimento, también representan un gran potencial como fuente de ingresos, por lo que se ha llevado a la tilapia a los puestos de liderazgo en la comercialización en los mercados nacionales e internacionales (Fitzsimmons, 2010).

En la actualidad, la calidad e inocuidad alimentaria son aspectos de gran interés para las industrias procesadoras y autoridades dedicadas al control sanitario de los alimentos. Lo anterior se debe principalmente a la creciente demanda del consumidor por adquirir productos pesqueros de la mejor calidad posible (Díaz-Tenorio, 2006).

Se ha descrito que la calidad de los productos pesqueros está influenciada por una serie de factores que involucran tanto condiciones *antemortem* como *posmortem*, entre los cuales se encuentran: la especie, la composición inicial, la alimentación, el método de captura, temperatura del medio, temperatura de aclimatación y de almacenamiento, y el manejo poscaptura, entre otros, los cuales afectan la calidad final (Sikorski *et al.*, 1990).

Con respecto a las condiciones *antemortem*, se ha evidenciado que los factores como el estrés, el método de sacrificio, la temperatura de aclimatación y el estado nutricional, entre otros, tienen un efecto notable sobre el desarrollo de los cambios bioquímicos, físicos y químicos, que se llevan a cabo en el músculo de los diferentes

productos pesqueros (Durán *et al.*, 2008; Mørkøre *et al.*, 2008). Específicamente se han desarrollado estudios que evalúan diferentes factores *antemortem* en relación al desarrollo del *rigor mortis* y sus implicaciones en la calidad. De igual manera, se ha descrito que estos cambios *antemortem* a su vez ejercen un impacto sobre las condiciones *posmortem*, especialmente sobre los cambios bioquímicos, entre los cuales se encuentran: el *rigor mortis*, degradación del ATP, disminución del pH muscular, producción anaeróbica de energía, desnaturalización de proteínas, autólisis por proteasas endógenas, oxidación de lípidos y producción de compuestos indeseables como la trimetilamina (TMA-N), entre otros (Sikorski *et al.*, 1990). De todos estos cambios *posmortem*, se ha considerado que el *rigor mortis* es uno de los más importantes, debido al impacto que tiene sobre la calidad de los productos de la pesca (Gornik *et al.*, 2009). Este es un fenómeno que implica el paso del músculo de un estado relajado a otro rígido e inflexible, involucra una serie de reacciones y cambios *posmortem* como lo son la textura, el color, la capacidad de retención de agua, etc., los cuales a su vez ejercen un impacto sobre la calidad final del producto. Particularmente, se han realizado estudios que han evaluado diferentes factores en relación al desarrollo del *rigor mortis* como lo son: la especie, el estrés, el ayuno, la temperatura de aclimatación y el método de sacrificio (Watabe, *et al.*, 1989; Hwang *et al.*, 1991; Iwamoto, *et al.*, 2006), sin embargo, actualmente no se conoce el efecto que tiene la temperatura de almacenamiento sobre el *rigor mortis* y la calidad del producto. Por lo que, en el presente estudio se evaluó el efecto de la temperatura de almacenamiento a 0 y 5 °C sobre el *rigor mortis* y la calidad del músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*).

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Producción Mundial y Nacional de la Tilapia

De acuerdo a estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2012), la producción pesquera mundial en el 2011 alcanzó los 154 millones de ton. De esta producción, la acuicultura aportó 63.6 millones de ton, mediante el cultivo de carpa, tilapia, salmón del atlántico, trucha arco iris, lubina, dorada, anguila, camarón, ostión, almejas, mejillones, pectínidos, entre otras especies (FAO, 2012).

En los últimos años se ha descrito a la acuicultura como el motor de crecimiento de la producción pesquera total (FAO, 2012). Específicamente, la tilapia ha adquirido mayor popularidad a nivel internacional, en donde tan solo en el año 2010, su producción total fue de aproximadamente de 3 millones de ton (Fitzsimmons, 2010). Durante muchos años, los mercados tradicionales de tilapia han sido África y Asia, sin embargo, recientemente Estados Unidos y el resto del mundo la han aceptado comercialmente. En este sentido, se considera al cultivo de tilapia como dinámico y en expansión y se espera que su comercialización se incremente considerablemente (Fiallos, 2009).

De acuerdo a CONAPESCA (2011), en los últimos años la acuicultura en México ha presentado una tendencia a la alza, alcanzando a nivel nacional en el 2011 una producción de 262 mil ton en peso vivo, lo cual representó el 15.83 % de la producción total nacional. De la producción nacional por acuicultura, el 27.06 %



(71,135 ton en peso vivo) estuvo representado por la tilapia como uno de los productos acuícolas de mayor importancia en este sector, de la cual, sólo en el estado de Sonora se aportaron 6,430 ton en peso vivo (CONAPESCA, 2011).

### **Generalidades de la Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

La tilapia es un pez originario de África y el Cercano Oriente, es la variedad más representativa para los cultivos acuícolas de agua dulce. Pertenece a la familia *Cichlidae*, la cual abarca más de 100 especies; algunas con interés económico pertenecientes al género *Oreochromis*, entre las cuales destacan la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), la tilapia azul (*Oreochromis aureus*) y la tilapia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*) (Fiallos, 2009).

La tilapia o mojarra del Nilo, como se le conoce comúnmente en México, habita en aguas cálidas y se encuentra distribuida mayoritariamente en regiones tropicales como África, América Central, sur del Caribe, sur de Norteamérica y el sudeste asiático, donde existen las condiciones favorables para su reproducción y crecimiento (SISPRO, 2009). Son organismos que habitan tanto en agua dulce como salada; principalmente en aguas estancadas o turbias como lagos, lagunas, litorales, bordos, estanques y charcos, así como también a orillas de ríos, entre piedras y plantas acuáticas e inclusive en aguas marinas (Poot, 2010).

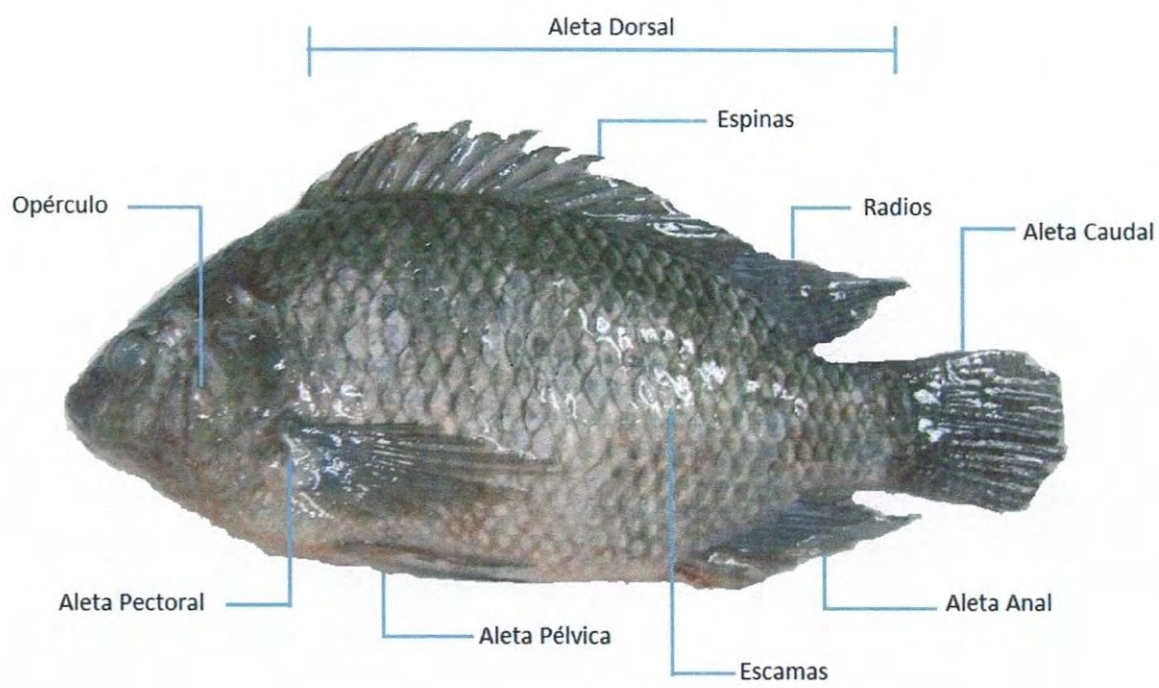
Morfológicamente tiene un cuerpo comprimido y alargado (Saavedra, 2006). Su boca es ancha y puede estirarse con facilidad. Tiene labios gruesos y sus mandíbulas presentan dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos (Valverde, 2006; Poot,



2010). Para su locomoción, poseen aletas pares e impares. Las aletas pares las constituyen las pectorales y las ventrales, mientras que las impares están constituidas por las aletas dorsal, caudal y anal. La parte anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas y la parte terminal de radios suaves, disponiendo sus aletas dorsales en forma de cresta. La aleta caudal es redonda, trunca y raramente cortada, como en la mayoría de los peces, esta aleta le sirve para mantener el equilibrio del cuerpo durante la natación (Figura 1) (Saavedra, 2006).

Las tilapias son especies euritermas, siendo el rango de tolerancia de 15 °C a 40 °C. Se ha descrito que para alcanzar el óptimo desarrollo de la tilapia se requiere de adecuados requerimientos medio ambientales en el sitio de cultivo. Uno de estos es la temperatura, en donde los rangos óptimos oscilan entre 20 y 30 °C. Además, pueden soportar temperaturas menores, pero se ha observado que a 15 °C no crecen (Saavedra, 2006).

La reproducción se lleva a cabo con éxito a temperaturas entre 26 y 29 °C. Se reproducen a temprana edad, alrededor de las 8 ó 10 semanas, teniendo una talla entre 7 a 16 cm, por lo que dificulta el control de la población en los estanques donde se cultiva (Poot, 2010). Sus extraordinarias cualidades, como el crecimiento acelerado, tolerancia a altas densidades, adaptación al cautiverio, aceptación a una amplia gama de alimentos, resistencia a enfermedades, carne blanca con pocos huesos intramusculares y amplia aceptación, ha despertado gran interés comercial en la acuicultura mundial. Antes se consideraba un pez de bajo valor comercial, hoy su consumo, precio y perspectivas futuras han aumentado significativamente (SISPRO, 2009; Fiallos, 2009).



**Figura 1.** Anatomía externa de la tilapia.

## Principales Cambios Bioquímicos *Posmortem*

### ***Rigor Mortis***

El *rigor mortis* ha sido considerado como uno de los cambios bioquímicos *posmortem* de mayor importancia en los productos pesqueros (Hwang *et al.*, 1991; Wang *et al.*, 1998), debido a la influencia que ejerce sobre la aparición, estructura y calidad del músculo (Morzel *et al.*, 2002; Ruff *et al.*, 2002; Scherer *et al.*, 2005; Roth *et al.*, 2007). Este fenómeno inicia inmediatamente después de la muerte del animal. Durante esta etapa, el músculo pasa de un estado relajado a uno rígido e inflexible debido a que las reservas de energía presentes en el músculo se han agotado (Sikorski *et al.*, 1990; Scherer *et al.*, 2005; Gornik *et al.*, 2009).

Una vez que los organismos son capturados y sacrificados, el suministro de oxígeno es interrumpido, por lo que la glucólisis aeróbica se detiene y se activan otras vías de producción de energía durante las primeras etapas *posmortem*. Se ha descrito que esta energía producida continúa consumiéndose dentro del sistema de miofibrillas, ya que posterior a la muerte del organismo se siguen presentando contracciones musculares, donde es necesario el ATP para regresar estas miofibrillas al estado relajado (Chantler, 2006). Simultáneamente ocurre una liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el retículo sarcoplásmico (RS) hacia el sarcoplasma, promoviendo el proceso de contracción. Uno de los factores que intervienen en este proceso, es la enzima (ATPasa- $\text{Ca}^{2+}$ ), la cual se encarga de reingresar el  $\text{Ca}^{2+}$  hacia el RS, promoviendo a su vez la ruptura del entrecruzamiento del complejo miofibrilar (actino-miosina) y completando el ciclo de contracción-relajación en el músculo. Posteriormente,



cuando la concentración de ATP disminuye hasta cierto punto (concentración de ATP  $\leq 1 \mu\text{mol/g}$ ), estos niveles energéticos no son suficientes para evitar el entrecruzamiento permanente de la actina y la miosina, promoviendo la formación de una estructura rígida, quedando el músculo en constante contracción y produciéndose lo que se conoce como *rigor mortis* (Jacobson y Rand, 1982; Watabe *et al.*, 1989; Iwamoto *et al.*, 1990; Tomé *et al.*, 2000; Lehninger *et al.*, 2008).

El tiempo en que se lleva a cabo el *rigor mortis* varía dependiendo de la especie, las condiciones de captura, la temperatura y la velocidad de enfriamiento, entre otros factores (Roth *et al.*, 2002; Iwamoto *et al.*, 2006; Erikson y Misimi, 2008). Anteriormente, se creía que la resolución del *rigor mortis* era el resultado de la disociación del complejo actino-miosina generado durante el rigor, sin embargo, Chefftel y Chefftel (1976) describieron que más bien se debe a la separación de los filamentos delgados de actina de la línea Z, debido a modificaciones iónicas del medio ambiente o por la acción de las catepsinas (enzimas endógenas) contenidas en los lisosomas y liberadas al desestabilizarse la membrana lisosomal como resultado de la caída de pH muscular.

En diversos estudios se resalta la importancia del *rigor mortis* en el músculo de diferentes especies pesqueras y su impacto en la calidad, apariencia, capacidad de retención de agua, color y textura (Ginés *et al.*, 2002; Durán *et al.*, 2008; Erikson y Misimi, 2008). Además, se ha observado que retardar el inicio y velocidad del *rigor mortis* promueve una mejor calidad y mayor vida de anaquel en el producto final (Tomé *et al.*, 2000; Kodaira *et al.*, 2001; Llerena y Nue, 2002).

## Producción y Utilización de Energía

En el músculo de los organismos vivos, el ATP es el nucleótido más abundante, el cual se genera durante la glucólisis, así como en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos y la cadena de transporte de electrones en la mitocondria (Lehninger *et al.*, 2008). Para estas dos últimas vías es necesaria la presencia de oxígeno, el cual no se suministra cuando el organismo muere, por lo que la generación de energía aeróbica se detiene (Huss, 1998). Bajo estas condiciones, la mayor parte del ATP *posmortem* se genera por la glucólisis anaeróbica, la cual es un proceso sumamente ineficiente para la producción neta de energía (2 ATP) en comparación a la glucólisis aerobia (36 ATP) (Mathews *et al.*, 2002).

En la Figura 2 se presentan las principales rutas para la obtención de energía anaeróbica *posmortem* en organismos acuáticos y los metabolitos relacionados. En las etapas iniciales *posmortem* se puede obtener energía rápidamente a través de la utilización de fosfágenos, que en vertebrados es la creatina fosfato (Lehninger *et al.*, 2008). La reacción consiste en regenerar ATP por transferencia del grupo fosfato del fosfágeno al ADP por acción de la enzima creatina quinasa, liberando creatina en el proceso (Wongso *et al.*, 1998; Lehninger *et al.*, 2008).

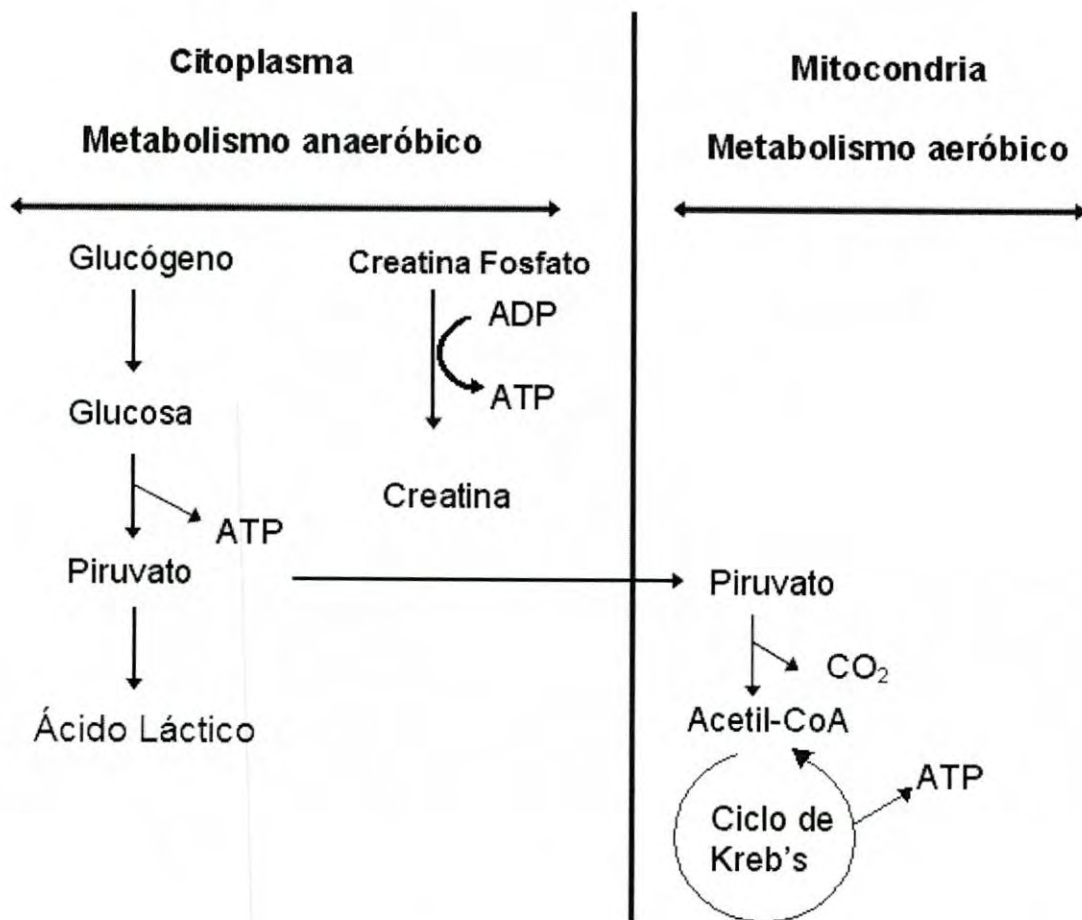
Por otro lado, se conoce que cuando los organismos acuáticos se encuentran bajo condiciones de requerimientos de energía, ésta la obtienen a través de rutas aeróbicas o anaeróbicas utilizando el glucógeno almacenado en su músculo (Lehninger *et al.*, 2008). Como se puede observar en la misma Figura 2, bajo condiciones anaeróbicas cuando se produce energía (ATP) a partir del glucógeno



almacenado en el músculo, también se obtiene piruvato como producto intermedio. Bajo estas condiciones el piruvato es convertido a ácido láctico por acción de la enzima lactato deshidrogenasa (Lehninger *et al.*, 2008).

En el músculo de organismos acuáticos la degradación del ATP presente en condiciones posmortem se presenta en dos etapas, la primera consiste en la transformación rápida de este metabolito hasta ADP, AMP y posteriormente hasta inosina monofosfato (IMP), inosina (HxR) e hipoxantina (Hx), por acción de enzimas endógenas. La segunda etapa se lleva a cabo más lentamente, se observa una oxidación de la Hx hasta Xantina y después hasta ácido úrico, por enzimas bacterianas durante la etapa de posrigor (Surette y Leblanc, 1988; Ashie *et al.*, 1996).

Los niveles de ATP en productos pesqueros disminuyen significativamente durante las primeras 24 h posmortem cuando se almacenan a 0 °C, además la velocidad y nivel de degradación se relaciona con la especie y el tipo de músculo (Sikorski *et al.*, 1990). En la mayoría de los estudios realizados se han reportado valores iniciales de ATP de  $\leq 1 \mu\text{mol/g}$ , así como también se ha observado que el inicio del rigor mortis se presenta durante las primeras 24 h después de la muerte del organismo (Mishima *et al.*, 2005; Omura *et al.*, 2007; Mørkøre *et al.*, 2008).



**Figura 2.** Principales metabolitos relacionados con la obtención de energía aeróbica y anaeróbica en organismos acuáticos (Huss, 1998).

## Disminución del pH

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

Una vez que el organismo ha muerto los valores de pH descienden, por lo tanto se ven afectadas las propiedades físicas y tecnológicas del músculo (Ashie *et al.*, 1996), causando una pérdida de textura en el músculo y una reducción de la capacidad de retención de agua, entre otras. El pH *posmortem* del músculo desciende muy rápidamente, presenta exudación de líquido, lo cual genera un aspecto acuoso sobre la superficie. De igual forma, disminuye y se ve afectada la frescura de los productos marinos, debido a que se acelera la degradación de IMP por fosfomonoesterasas ácidas cuyo pH de acción es de 6.0 (Haard, 1992). En consecuencia, se genera la producción de Hx, la cual contribuye a la progresiva pérdida de la calidad, ya que su acumulación en el músculo de pescado refleja la fase inicial de la degradación autolítica, así como también el subsecuente deterioro bacteriano. Posteriormente, con la resolución del *rigor mortis*, la actividad bacteriana produce un incremento gradual de pH, debido a la producción de amoníaco y de otros compuestos básicos (Günşen *et al.*, 2011). En resumen, primeramente el pH muscular disminuye durante el inicio del *rigor mortis* y posteriormente se incrementa progresivamente como resultado de la actividad microbiana (Ocaño-Higuera, 2003).



## Desnaturalización de Proteínas

La desnaturalización de una proteína consiste en la pérdida o modificación de la estructura secundaria, terciaria o cuaternaria, lo que provoca a su vez una disminución en la solubilidad o capacidad de extracción bajo condiciones en las que la proteína nativa es solubilizada o extraída (Lehninger *et al.*, 2008). Esta desnaturalización involucra el rompimiento de enlaces de hidrógeno y de otras interacciones intra e intermoleculares como enlaces de hidrógeno entre cadenas laterales, enlaces S-S cruzados y puentes salinos (Mathews *et al.*, 2002).

Los principales factores que afectan la estabilidad de las estructuras proteicas son la temperatura, detergentes y el pH. Este último ha sido ampliamente relacionado con el *rigor mortis*. Dependiendo del grado de descenso del pH, las diferentes proteínas musculares pueden enfrentarse a pH cercanos a su punto isoeléctrico, donde disminuyen las fuerzas de repulsión entre ellas, tendiendo a agregarse y precipitar, perdiendo así su funcionalidad (Lehninger *et al.*, 2008).

Al disminuir el pH, y a medida que el músculo se hace más ácido, se promueve la liberación de catepsinas por desestabilización de las membranas lisosomales. Estas enzimas que tienen actividad en un amplio rango de pH (en especial las catepsinas D y L) pueden degradar proteínas estructurales provocando una inestabilidad en las células musculares, incluso rompiendo los complejos actina-miosina que forman el entrecruzamiento durante el proceso de *rigor mortis* (Huss, 1998). Además, se ha visto que las moléculas de colágeno que forman el tejido conectivo son más susceptibles a la degradación cuando pierde su configuración nativa (Pedrosa-Menabrito y Regenstein, 1988).



En la literatura se ha reportado la desnaturalización de proteínas del músculo de organismo marinos con el proceso de *rigor mortis*, relacionándose esta desnaturalización proteica con una disminución en la solubilidad de las proteínas, capacidad de retención de agua, firmeza e intensidad en la coloración muscular (Robb *et al.*, 2000; Poli *et al.*, 2005; Mørkøre *et al.*, 2008; Gornik *et al.*, 2009).

### **Deterioro por Acción Bacteriana**

Generalmente se ha descrito que el crecimiento bacteriano es una de las principales causas por la cual se alteran y deterioran los productos de la pesca (Huss, 1997). El crecimiento bacteriano se puede atribuir a distintos factores, tales como la composición cualitativa y cuantitativa de la microbiota inicial, especie, tamaño, alimentación, así como también el estado fisiológico. Asimismo, dependen del arte de pesca, la manipulación y de las temperaturas de almacenamiento (Gennari *et al.*, 1999). Habitualmente el método de captura es uno de los factores que tiene mayor impacto sobre el número y el tipo de bacterias presentes en el pescado (Massa, 2006).

La biota habitual de los pescados y moluscos de aguas tropicales tienen bacterias mesofílicas Gram positivas (+) como el *Micrococcus* y *Bacillus*, mientras que las de aguas frías, poseen bacterias psicrófilas Gram negativas (-) como *Acinetobacter spp.*, *Moraxella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Flavobacterium spp.*, y *Vibrio spp.*, (Taliadourou *et al.*, 2003). No todos los géneros presentes en el pescado son responsables de los olores y sabores anormales asociados con el deterioro. Éstos

varían en función de las condiciones de almacenamiento y la composición del producto (Huss, 1998).

El deterioro por acción bacteriana comienza una vez concluido el *rigor mortis*, ya que durante este fenómeno el pH no favorece su crecimiento (Domínguez y Gutiérrez, 1993). Durante el almacenamiento del pescado, las bacterias, tanto de la superficie como de las branquias y del intestino se desarrollan e invaden el músculo, éstas se reproducen y secretan enzimas que se encargan de metabolizar proteínas, carbohidratos, lípidos y otros compuestos, generando malos olores, pérdida de textura y decoloración (Ashie *et al.*, 1996). Se ha descrito que las bacterias llegan a alcanzar valores de  $10^8 - 10^9$  unidades formadoras de colonias por gramo de músculo (UFC/g) cuando el deterioro es evidente (Taliadourou *et al.*, 2003).

## **Métodos Utilizados para Evaluar la Frescura y Calidad de los Productos**

### **Pesqueros**

Actualmente existen un gran número de métodos para medir la frescura y evaluar la calidad de los productos de la pesca. Estos métodos clasificados en bioquímicos, físicos, químicos y sensoriales, se han agrupado en dos categorías, una integrada por pruebas sensoriales o subjetivas y la otra por determinaciones instrumentales u objetivas (Huss, 1998). A continuación se hace una breve descripción de ellas.

## **Métodos Subjetivos o Sensoriales**

La evaluación sensorial ha sido descrita como la disciplina científica utilizada para medir, describir, analizar e interpretar las características de un alimento mediante los sentidos del olfato, gusto, tacto, oído y vista. Este tipo de método es utilizado tradicionalmente para determinar la calidad de los productos marinos (Vaz y Seixas, 2006).

Entre las ventajas que presenta se encuentra su rapidez, no requieren equipo especial de laboratorio y se pueden realizar en cualquier lugar, sin embargo, una de sus desventajas principales es que la respuesta al mismo nivel de estímulo varía entre individuos (Huss, 1998). A pesar de que las pruebas organolépticas empleadas para determinar el grado de frescura de los productos pesqueros son muy generales, éstas son de amplia utilización en todo el mundo (Khalid, 2007; Galán *et al.*, 2008).

## **Métodos Objetivos**

Una forma de medir la calidad y la frescura de los productos de la pesca de forma objetiva, es mediante la utilización de métodos bioquímicos, físicos, químicos y microbiológicos. A continuación se hace una breve descripción de los métodos más importantes utilizados para evaluar la frescura y calidad de los productos pesqueros.

### Métodos bioquímicos

*Índice K.* Para la determinación de frescura en el músculo de pescado fresco se utiliza la cuantificación de ATP, así como sus productos de degradación (ADP, AMP, IMP, HxR e Hx) (Boyle *et al.*, 1991). Lo anterior se debe a que la proporción en el



cambio de estos compuestos correlaciona paralelamente con la pérdida de frescura en condiciones adecuadas de manejo, almacenamiento y refrigeración (Ocaño-Higuera, 2003).

El índice K, descrito por Saito *et al.* (1959), se define como el cociente entre las concentraciones de HxR e Hx y la suma de las concentraciones de ATP y de sus productos de degradación expresado en porcentaje. Éste es determinado mediante la siguiente ecuación:

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

En la literatura se ha descrito que el índice K es el parámetro más adecuado para evaluar el grado de frescura, ya que éste es el único que presenta una correlación lineal con respecto al tiempo de almacenamiento a 0 °C. Este índice es especie-dependiente, por lo cual el comportamiento varía entre especies. El valor de índice K de los organismos marinos inmediatamente después de su captura no sobrepasa el 10 % (Sikorski *et al.*, 1990). De igual forma se ha descrito que un valor de índice K menor al 20% constituye un producto de la pesca muy fresco y de muy buena calidad; un valor de 50 %, indica que el producto es moderadamente fresco, mientras que un valor superior al 70 % indica que el producto no es fresco y es de baja calidad, por lo que no se deberá procesar ni consumir (Cox y Karahadian, 1998).



## Métodos físicos

*Índice de rigor (IR)*. Debido a la importancia que representa el *rigor mortis* como factor determinante en la calidad de los productos pesqueros, se han desarrollado una serie de métodos para evaluarlo. En general, las evaluaciones de tipo físicas toman en cuenta los cambios estructurales debidos a la fuerza endógena que se genera en el músculo por contracción del sarcómero. Por otro lado, también se evalúa el efecto o resistencia del músculo a una fuerza externa aplicada, como por ejemplo en la medición del ángulo de flexión (Kießling *et al.*, 2006).

Actualmente uno de los métodos físicos más utilizados para medir el rigor en el pescado es el desarrollado por Bito *et al.* (1983). Este es un método relativamente fácil de realizar y no exige la utilización de herramientas, equipos o accesorios sofisticados. Consiste en colocar la mitad superior del pescado sobre la superficie horizontal de una tabla quedando la otra mitad suspendida, a diferentes intervalos de tiempo se mide la distancia vertical (L), la cual es la distancia entre la superficie de la tabla y el fin de la aleta caudal del pescado (Figura 3).

El índice de rigor se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de Rigor (IR\%)} = \frac{(L_0 - L)}{L} \times 100$$

Donde:

IR = es el índice de rigor.

$L_0$  = es la distancia vertical inicial entre la superficie de la tabla y el inicio de la aleta caudal.

L = es la distancia vertical transcurrida después de cierto tiempo entre la superficie de la tabla y el inicio de la aleta caudal.

Al igual que en el caso de los métodos físicos, las evaluaciones mecánicas también se pueden incluir dentro de esa misma clasificación, éstas toman en cuenta la medición de la fuerza endógena muscular o bien la fuerza externa aplicada (Jiménez-Ruiz, 2012). Kiessling *et al.* (2006) utilizaron un método que se basa en los cambios en la dureza muscular por compresión con una sonda esférica como las utilizadas en texturómetros convencionales. Por otro lado, la utilización del rigómetro o dispositivos similares pertenecen a métodos que determinan la fuerza endógena generada en el músculo. De igual forma, existe una gran cantidad de parámetros bioquímicos como metabolitos o compuestos que acompañan y/o se relacionan con el proceso de *rigor mortis* en los productos pesqueros, por lo que su variación, producción o degradación han sido utilizadas en el estudio y entendimiento del rigor. Entre los principales podemos mencionar el ATP, ácido láctico, glucógeno y pH.

*pH.* La determinación del pH se basa en la cuantificación de la concentración de iones hidrógeno ( $H^+$ ) presentes en el músculo. Inmediato a la muerte del organismo, el músculo tiene un pH próximo a la neutralidad (Huss, 1998), que puede variar entre 6.0 y 7.0 por distintos factores, tales como la especie, el estado nutricional del pez y del estrés sufrido al momento de la captura (Massa, 2006). A medida que el pH disminuye, se reduce la carga neta de la superficie de las proteínas musculares, causando su desnaturalización parcial y disminuyendo su capacidad de retener agua. La pérdida de agua tiene un efecto perjudicial en la textura del músculo (Kristoffersen *et al.*, 2007; Rengifo y Ordoñez, 2010). La literatura indica que la determinación de pH no es suficiente para manejarse como un indicador un indicador confiable para



**Figura 3.** Medición del índice de rigor.

monitorear cambios de calidad y la utilización de la misma, por lo que debe de complementarse con otros indicadores como la determinación de bases volátiles totales (BVT-N) y trimetilamina (TMA-N), entre otros (Castillo-Yáñez *et al.*, 2007).

*Bases volátiles totales.* Una de las pruebas más utilizadas para medir el deterioro de los productos marinos es la cuantificación de las bases volátiles totales (Fuentes-López, 2007). Ésta en términos generales incluye la medición de trimetilamina (producida por el deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoníaco (producido por la deaminación de aminoácidos y nucleótidos), y otros compuestos nitrogenados volátiles asociados con el deterioro de los productos marinos (Abugoch *et al.*, 2011). Puede ser utilizada tanto en material fresco, como congelado o seco (Woyewoda *et al.*, 1986).

La determinación de las BVT-N es sencilla en comparación a otros indicadores de deterioro como la TMA-N; sin embargo, ésta además de reflejar las últimas etapas de deterioro, tiene la desventaja de que no indica si el deterioro se debe a enzimas endógenas o bacterianas (Huss, 1998). La norma oficial mexicana NOM-029-SSA1-1993 establece un límite máximo de 30 mg de BVT-N para un producto apto para el consumo humano.

Con el objeto de preservar contenidos bajos de BVT-N y prolongar la calidad de los productos pesqueros en el mayor tiempo posible, es necesario llevar a cabo un manejo adecuado de dichos productos durante su captura, procesamiento, almacenamiento y distribución. Lo anterior comprende reducir la temperatura del



animal recién capturado lo más rápido posible, así como también manejarlo bajo condiciones adecuadas de higiene y sanidad (Ocaño-Higuera, 2003).

*Textura.* La textura es una de las propiedades más importantes y utilizadas para evaluar la calidad de los productos marinos. Factores como la especie, edad, tamaño, contenido de grasa y distribución, así como el nivel de estrés a que son sometidos los organismos previo a su sacrificio tienen gran influencia sobre este parámetro (Hultmann y Rustad, 2002). Bajo condiciones *posmortem*, ésta se ve influenciada por el *rigor mortis*, el grado de descenso del pH muscular, la proteólisis de proteínas miofibrilares y tejido conectivo y la temperatura durante el almacenamiento (Roth *et al.*, 2006).

La firmeza de los productos de la pesca tiene una fuerte relación con la cantidad de colágeno presente en el músculo, el cual es el principal constituyente del tejido conectivo (Díaz-Tenorio, 2006). Se ha considerado que la suavidad del músculo está asociada con la desaparición de los discos Z, la disociación del complejo actomiosina, la destrucción de conectina y la desnaturalización del tejido colaginoso, y que la principal causa es la actividad de proteasas endógenas sobre las proteínas miofibrilares, debido a que algunas de ellas son totalmente activas en el pH *posmortem* entre 5.5 y 6.5 (Ashie *et al.*, 1996). De las proteasas endógenas, las calpaínas, colagenasas y catepsinas lisosomales, son las principales enzimas que se encargan de modificar la textura del músculo durante el almacenamiento *posmortem* (Ashie *et al.*, 1996; Díaz-Tenorio, 2006; Roth *et al.*, 2006).

*Capacidad de retención de agua.* El agua es el componente más abundante de la carne (65-80 %), sin embargo, la cantidad de agua en el tejido muscular puede ser muy variable debido a la posible pérdida después de la muerte del animal y durante el almacenamiento, afectando la calidad de la carne (Rengifo y Ordoñez, 2010). La capacidad de retención de agua (CRA) está determinada por las características del animal entre las cuales se encuentra: la especie, sexo, tipo de músculo, el pH, así como también por cambios *posmortem*, temperatura y adición de sales, entre otros (Fuentes-López, 2007).

Muchas de las propiedades físicas de la carne (color y textura en carne cruda) y de la aceptación (jugosidad y blandura) dependen de su capacidad para retener esta agua (Rengifo y Ordoñez, 2010). La capacidad de retención de agua es una de las propiedades funcionales de mayor utilización en la tecnología de productos cárnicos, ya que todas las características requeridas en el producto final se encuentran influenciadas por la CRA del músculo (Kristoffersen *et al.*, 2007). Se ha descrito que la CRA es considerada como un buen indicador para la evaluación de la calidad, ya que se ha demostrado que su disminución es resultado de la pérdida de textura (Wang *et al.*, 2006).

*Color.* La apariencia y presentación del color de la carne de pescado es una propiedad muy importante en la industria de alimentos. Asimismo, representa el criterio de mayor importancia que utiliza el consumidor al momento de la compra de un producto (Graciano-Verdugo, 2000). De tal forma que su determinación ha sido muy empleada en el control de calidad, debido a que los cambios de color que se

presentan en el músculo se han relacionado con la frescura y aceptación del producto por parte del consumidor (Fuentes-López, 2007; Erikson y Misimi, 2008). Erikson y Misimi (2008), describieron que el color inicial de los productos marinos cambia durante el enhielado afectando la calidad inicial.

Uno de los métodos más utilizados para la determinación objetiva del color se lleva a cabo por colorimetría de triestímulo. Para ello se utiliza un colorímetro con el cual se obtienen los parámetros de color  $L^*$  (Luminosidad),  $a^*$  (matiz rojo -verde) y  $b^*$  (matiz-amarillo azul) de la muestra a medir. La determinación es muy sencilla de realizar, ya que sólo es necesario poner la muestra en el puerto de luz del equipo previamente calibrado con valores estándar de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  (Woyewoda *et al.*, 1986).

#### Métodos microbiológicos

*Cuenta bacteriana total.* Los alimentos pueden ser deteriorados por la presencia de microorganismos, por lo tanto es importante establecer los límites en los cuales se da su crecimiento para poder establecer la seguridad del alimento (Gandotra *et al.*, 2012). La cuenta bacteriana total representa el número total de bacterias capaces de formar colonias visibles sobre medios de cultivo a una temperatura dada (Huss, 1998). Algunos de los métodos microbiológicos evalúan la presencia de bacterias que afectan la salud pública. Proporcionan una idea de la calidad sanitaria, incluyendo el abuso de temperatura e higiene durante el manejo, procesamiento o almacenamiento del producto, por lo que pueden ser utilizados para predecir la vida de anaquel y la frescura del pescado o del producto marino (Ocaño-Higuera, 1999; Hernández *et al.*, 2009; Adebayo *et al.*, 2012).

## HIPÓTESIS

La temperatura y el tiempo de almacenamiento modifican la velocidad del inicio y desarrollo del *rigor mortis*, así como la calidad del músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*).



## OBJETIVOS

### Objetivo General

- Evaluar el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre el *rigor mortis* y la calidad del músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*).

### Objetivos Particulares

- Evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el índice de rigor en el organismo entero de tilapia.
- Evaluar el efecto que ejerce la temperatura de almacenamiento sobre la bioquímica *posmortem* y la calidad química, física y microbiológica del músculo de la tilapia (*Oreochromis niloticus*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para esta investigación se utilizaron organismos adultos de tilapias de la especie *Oreochromis niloticus* con un peso y talla promedio de  $961 \pm 0.15$  g y  $33.6 \pm 1.69$  cm de longitud, respectivamente. Fueron adquiridos comercialmente y extraídos directamente del sitio de cultivo de la empresa SANAGRO S.A de C.V., localizado en la presa "El Novillo", en la localidad de Tepupa, Sonora, México.

Los organismos se recolectaron con una canasta de red, seguidamente se pasaron por una banda transportadora para su selección y se sacrificaron en un contenedor con agua y hielo por choque térmico. Una vez sacrificados los organismos, se tomaron 20 ejemplares al azar para monitorear el índice de rigor desde el inicio del experimento. Posteriormente, los organismos se enhielaron en camas alternas de hielo-pescado-hielo dentro de una hielera hermética para su transporte al Laboratorio de Investigación en Alimentos del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora. El tiempo entre la poscosecha y el arribo de los organismos a la Universidad no excedió las 3 h.

Una vez en el laboratorio, los organismos se dividieron en 4 lotes. De estos lotes, dos se almacenaron enteros durante 266 h a 0 y 5 °C, respectivamente, mientras que los otros 2 se filetearon manualmente y los filetes obtenidos se empacaron en bolsas de polietileno y se almacenaron durante 20 días a las temperaturas anteriormente descritas. A los organismos enteros, se les determinó el índice de rigor (IR), mientras que a los filetes almacenados a las distintas temperaturas se les determinó ATP, glucógeno, ácido láctico, pH, y textura a las 4 y 48 h. Estas determinaciones

conformaron la etapa I del estudio, la cual tuvo la finalidad de determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el rigor. En una segunda etapa del estudio, se monitoreó el comportamiento del ATP y sus productos de degradación, índice K, pH, color, textura, capacidad de retención de agua, bases volátiles totales y recuento de microorganismos (mesófilos y psicrófilos) a los 0, 2, 5, 8, 11, 14, 17 y 20 días, a las dos temperaturas de almacenamiento. Esto con la finalidad de determinar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la calidad del músculo de tilapia. Por cada tiempo de muestreo se tomaron 6 filetes y sólo para las determinaciones de ATP y productos de degradación, glucógeno y ácido láctico, los filetes se congelaron y almacenaron a -80 °C hasta el momento de su análisis. Para la determinación del recuento de microorganismos se tomaron 3 filetes a los diferentes días de almacenamiento.

## **Determinaciones Analíticas**

### **Para la Evaluación del *Rigor Mortis***

#### Índice de rigor (IR)

La cuantificación del índice de rigor se llevó a cabo mediante la metodología descrita por Bito *et al.* (1983), la cual consistió en colocar la mitad superior del pescado sobre la superficie horizontal de una tabla y quedando la otra mitad suspendida. Posteriormente, se midió la distancia vertical entre la superficie de la tabla y el fin de la aleta caudal del pescado, al inicio y a diferentes intervalos de tiempo. Para calcular el porcentaje de IR se utilizó la fórmula descrita anteriormente.



### Cuantificación del ATP y sus productos de degradación

La identificación y cuantificación de los nucleótidos, nucleósidos y base nitrogenada (ATP, ADP, AMP, IMP, HxR y Hx) se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de acuerdo a la metodología descrita por Ryder (1985), en un extracto de músculo de tilapia. El extracto se obtuvo homogeneizando 3 g de músculo con 15 mL de ácido perclórico 0.6 M a 0 °C, en un homogeneizador Ultraturrax T18 Basic (IKA Woeks Inc., Wilminaton, NC) a 18,000 rpm durante 1 min. El homogeneizado se centrifugó a 5,500 x g a 0 °C en una centrífuga refrigerada Thermo Electron Modelo IEC-MULTI RF (Thermo Fisher Scientific Asheville, NC 28804), por 10 min. Posteriormente, una alícuota de 7 mL del sobrenadante se neutralizó a un pH de 6.5-6.8 con KOH 1 M, dejándose reposar por 30 min a 0 °C. Inmediatamente, el perclorato de potasio se removió por filtración con papel Whatman No. 4. El sobrenadante se diluyó a 15 mL con agua destilada y las muestras se almacenaron a -80 °C hasta su utilización.

Para la separación y cuantificación de los compuestos por HPLC se inyectaron 20 µL del sobrenadante neutralizado y diluido a un cromatógrafo Varian Prostar Modelo 240 (Varian, Inc. Walnut Creek, CA), utilizando una columna Varian de fase reversa C18 Ultrasphere ODS de 4.6 mm de diámetro interno x 250 mm de largo (Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA). La fase móvil consistió de un buffer de fosfatos compuesto de 0.04 M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 0.06 M de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . El flujo utilizado fue de 1 mL/min. Los nucleótidos, nucleósidos y base nitrogenada se detectaron a 254 nm con un detector ultravioleta (Varian, Inc. Walnut Creek, CA). El equipo se calibró

diariamente inyectando 20  $\mu$ L de una solución 0.166 M de cada compuesto de referencia.

### Glucógeno

La cuantificación del contenido de glucógeno en el músculo se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Racotta *et al.* (2003). Esta metodología consistió en homogeneizar en un homogeneizador Ultra-turrax T18 Basic (IKA Woeks Inc. Wilminaton NC) 2 g de músculo con 5 mL de ácido tricloroacético (TCA) frío al 10 % durante 1 min a una velocidad de 22,000 rpm. El homogenado se centrifugó en una centrifuga refrigerada Thermo Electron Modelo IEC-MULTI RF (Thermo Fisher Scientific Asheville, NC 28804), a 5,500 x g a  $-5$  °C durante 15 min. Una alícuota de 0.1 mL del sobrenadante se colocó en un vial de 1.5 mL, al cual se le adicionó 1 mL de etanol frío al 95 % para precipitar el glucógeno. Posteriormente, el vial se agitó con un vortex, para después centrifugarse de nuevo bajo las condiciones anteriormente descritas. Finalmente, el sobrenadante se decantó y los viales con el glucógeno se secaron en vacío a 60 °C durante 30 min.

El precipitado (glucógeno) se resuspendió en 0.1 mL de agua destilada con agitación en un vortex. Posteriormente, se adicionó 1 mL del reactivo de antrona (0.1 % de reactivo disuelto en ácido sulfúrico al 76 %) para después incubarse durante 5 min a 90 °C en baño maría. Inmediatamente después del calentamiento, los viales se enfriaron en agua fría (agua + hielo) para detener la reacción. Se midió absorbancia a 620 nm contra un blanco en un espectrofotómetro Varian Inc., Modelo UV-Visible Cary 100 Bio. (Varian Australia Pty Ltd.). El glucógeno se cuantificó como unidades

glicosil usando una solución de glucosa como estándar (0.0156–4 mg de glucosa/mL).

### Ácido láctico

La cuantificación del contenido de ácido láctico se determinó utilizando el mismo extracto utilizado para el análisis de ATP y productos de degradación. Las muestras fueron analizadas en un kit comercial (RANDOX, Cat. LC2389, Antrim, United Kingdom) de acuerdo a las recomendaciones del proveedor.

### pH

La determinación de pH se llevó a cabo por la metodología descrita por Woyewoda *et al.* (1986), utilizando un potenciómetro de punta Thermo Electron Co. (Orion 420 A), para ello, se preparó un homogeneizado con 2 g de músculo y 18 mL de agua destilada, a éste se introdujo el electrodo para tomar lectura del valor correspondiente de pH. El equipo se calibró diariamente con soluciones estándares de pH.

### Textura

La evaluación de textura del músculo se llevó a cabo utilizando un texturómetro Shimadzu Modelo EZ-S Shimadzu 346-54909-33. Se empleó la prueba de esfuerzo al corte, utilizando una celda de corte Warner-Bratzler, la cual consistió en determinar el esfuerzo (N) máximo requerido para el corte de las muestras. Se utilizó una celda de compresión de 50 kg con una velocidad de cabezal de 20 cm/min. Para cada

determinación se realizó un corte entre el tercer y décimo miotomo del filete, realizando secciones de geometría uniforme (1 cm de ancho x 1 cm de grosor x 2 cm de largo), los cuales se colocaron perpendicularmente al sentido de la ranura de corte.

## **Para la Evaluación de la Calidad**

### Índice K

Con los datos obtenidos a partir de la cuantificación de la concentración de ATP, ADP, AMP, IMP, HxR e Hx en el músculo, se procedió a calcular el índice K a partir de ecuación descrita por Sagedhal *et al.* (1997), la cual se describió anteriormente.

### Bases volátiles totales

La determinación de las bases volátiles totales se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Woyewoda *et al.* (1986). Una alícuota de 2 g de músculo se transfirió a un matraz de destilación que contenía 2 g de MgO y 300 mL de agua destilada. La mezcla se homogeneizó en un homogeneizador Ultra-turrax T18 Basic (IKA Woeks Inc., Wilminaton, NC) por un minuto a 22,000 rpm. Se adicionaron 15 mL de aceite vegetal comestible marca 1-2-3® como antiespumante. Las bases volátiles se destilaron por 25 min, colectándose en 15 mL de ácido bórico al 2 % y se titularon con ácido sulfúrico 0.05 N. De igual forma, se destiló un blanco bajo las mismas condiciones. Finalmente, los valores obtenidos se expresaron como mg de BVT-N/100 g de muestra.



### Capacidad de retención de agua

Para determinar la CRA del músculo se utilizó la metodología descrita por Cheng *et al.* (1979). Esta metodología consistió en centrifugar 2 g de músculo en tubos para centrífuga de 50 mL en una centrífuga refrigerada Thermo Electron Modelo IEC-MULTI RF (Thermo Fisher Scientific Asheville, NC 28804) a 28,000 x g a 2 °C por 30 min. El líquido liberado después de la centrifugación se eliminó por decantación y el peso perdido se expresó como porcentaje de pérdida de la capacidad de retención de agua. Para calcular el porcentaje de CRA se utilizó la siguiente fórmula:

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

donde:

P<sub>i</sub>= peso inicial.

P<sub>f</sub>= peso final después de decantar el agua del tubo y secar la superficie del músculo.

### Color

La evaluación de color se llevó a cabo por colorimetría de triestímulo utilizando el espacio de color CIE L\*a\*b, empleando un colorímetro MiniScan HunterLab. El colorímetro se ajustó en su modo de reflectancia con una abertura en el puerto de lectura de 0.5 cm. Se obtuvieron los parámetros de color L\* (luminosidad), a\* (matiz rojo-verde) y b\* (matiz amarillo-azul). Para realizar la determinación de los parámetros de color, el colorímetro se calibró siguiendo las indicaciones del fabricante.

### Cuenta total de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos

La cuenta total de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos se evaluó de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Oficial Mexicana para el recuento de microorganismos aerobios en placa (NOM-092-SSA1-1994, 1994). Para ellos se homogeneizaron 10 g de músculo de pescado con 90 mL de agua peptonada esterilizada, posteriormente se prepararon una serie de diluciones decimales y se inoculó 1 mL de cada dilución en agar plate count (APC), realizándose un triplicado de cada dilución. Las placas fueron incubadas a  $37 \pm 2$  °C durante 48 h en el caso de los microorganismos mesófilos, mientras que las placas correspondientes a los microorganismos psicrófilos se incubaron a  $3 \pm 2$  °C por un tiempo de 10 días. Finalmente, se realizó un registro con un número de colonias entre 25 y 250, para posteriormente expresar la cuenta total de mesófilos y psicrófilos como log de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de músculo.

### **Diseño Experimental y Análisis Estadístico**

Para analizar los datos obtenidos en el presente estudio, se aplicó un análisis de varianza y los resultados obtenidos al momento se analizaron como medias repetidas por tiempo de almacenamiento, utilizando un nivel de significancia de 0.05 en el error. Para ello, se empleó un diseño completamente al azar, teniendo como variables la temperatura de almacenamiento con dos niveles (0 y 5 °C) y el tiempo de almacenamiento. En el caso de la evaluación del efecto sobre el *rigor mortis*, el IR se monitoreó de 0 a 266 h y el resto de las determinaciones se monitorearon a las 4 y

48 h, mientras que el efecto sobre la calidad del músculo se monitorearon al día 0, 2, 5, 8, 11, 14, 17 y 20. Se realizaron 6 repeticiones de cada determinación, a excepción del índice de rigor donde se empleó una  $n= 20$  y para el análisis microbiológico se empleó una  $n= 3$ , en donde cada organismo y filete se consideró como unidad experimental. Todos los datos fueron procesados en un paquete estadístico NCSS (NCSS, 2001). Para la determinación de índice K, se realizó un análisis de regresión lineal con la cual se obtuvo la ecuación de predicción para este índice de frescura.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

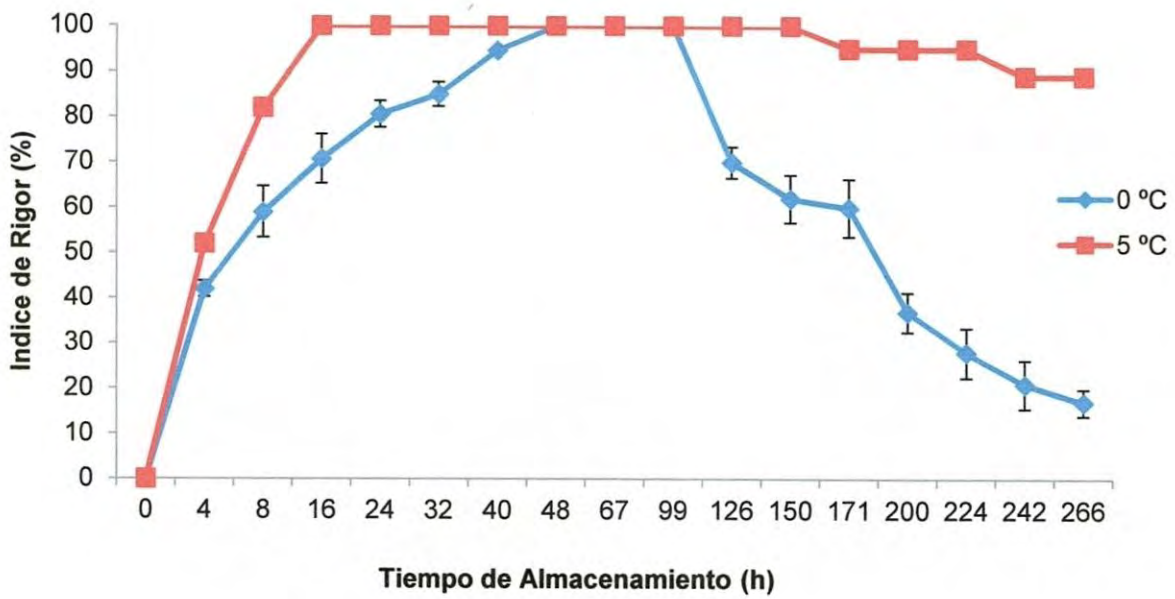
A continuación se presentan los resultados obtenidos del presente trabajo de investigación, los cuales se muestran y discuten en dos etapas. La primera de ellas aborda los resultados obtenidos con respecto al efecto de la temperatura de almacenamiento (0 y 5 °C) sobre el desarrollo del *rigor mortis* durante las primeras 48 h *posmortem*. En la segunda etapa se presentan los resultados del efecto de la temperatura de almacenamiento (0 y 5 °C) en la calidad de los filetes de tilapia durante 20 días.

### **Etapas I. Efecto de la Temperatura de Almacenamiento sobre el Desarrollo del Rigor Mortis**

#### **Índice de rigor (IR)**

El *rigor mortis* es el evento más notable de los cambios *posmortem* y que afecta las propiedades físicas del músculo. Éste inicia en el pescado pocas horas después de su muerte, y se manifiesta por la rigidez e inextensibilidad de los músculos (Tomé *et al.*, 2000). En la Figura 4 se presentan los resultados del índice de rigor en organismos enteros de tilapia almacenados a 0 y 5 °C durante 266 h. En esta figura se puede observar que a las 24 h poscaptura las tasas más aceleradas de contracción muscular se presentaron en los pescados almacenados a 5 °C alcanzando el  $100 \pm 0.0$  % de IR, mientras que a 0 °C este valor fue de  $81 \pm 2.9$  %.





**Figura 4.** Comportamiento del índice de rigor en organismos de tilapia almacenados a 0 y 5 °C durante 266 h. Los valores son la media de  $n= 20 \pm$  la desviación estándar.

En el caso de los resultados a 5 °C, estos fueron iguales a los encontrados por Ando *et al.* (1991), quienes reportaron para trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* un IR de 100% a las 24 h *postmortem* durante el almacenamiento a 5 °C. Por otra parte, los resultados de IR a 0 °C obtenidos en el presente estudio fueron similares a los descritos por Roth *et al.* (2002), quienes reportaron un valor de 80 % de IR a las 24 h *postmortem* en salmón (*Salmo salar*) sacrificados con CO<sub>2</sub> y almacenados a 0 °C. A las 48 h el IR alcanzó el 100 % a 0 °C, observándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) tanto por la temperatura como por el tiempo del almacenamiento. Después de transcurrir un periodo de tiempo, se observó una disminución del IR, manifestándose primero a 0 °C que a 5°C. La resolución del rigor podría ser resultado de la hidrólisis de algunas proteínas estructurales del músculo (Tomé *et al.*, 2000).

En la literatura se ha descrito que la temperatura de almacenamiento es uno de los principales factores que influyen en el desarrollo del *rigor mortis*, y en algunos estudios (Abe y Okuma, 1991; Hwang *et al.*, 1991; Watabe *et al.*, 1989) se ha observado que este fenómeno se promueve más rápido a temperaturas de almacenamiento mayores de 0 °C, además de producirse contracciones más fuertes (Erikson, 2001). En el estudio realizado por Iwamoto *et al.* (1990), se reportaron diferencias en el progreso del *rigor mortis* con respecto a la temperatura de almacenamiento (0 y 10 °C) para el jurel japonés (*Seriola quinqueradiata*), el chato indico (*Platycephalus indicus*) y la perca loro japonesa (*Oplegnathus fasciatus*). De la misma manera, en un estudio realizado por Tomé *et al.* (2000) con tilapia *Oreochromis spp.*, se encontró que a 10 °C se retardaba el tiempo para alcanzar el máximo *rigor mortis*, en comparación con organismos almacenados a temperaturas

máximo *rigor mortis*, en comparación con organismos almacenados a temperaturas de 0 y 27 °C. Este comportamiento ha sido atribuido a la incapacidad del retículo sarcoplásmico para recaptar el  $\text{Ca}^{+2}$  desde el sarcoplasma (Watabe *et al.*, 1989; Iwamoto *et al.*, 1990; Tomé *et al.*, 2000). Lo anterior provoca que las concentraciones relativamente elevadas de  $\text{Ca}^{+2}$  mantenidas dentro del sarcoplasma promuevan la actividad de la  $\text{Mg}^{+2}$ ATPasa miofibrilar, consumiendo las reservas energéticas (ATP y fosfocreatina). Por lo tanto, con esta ausencia o baja concentración de ATP muscular, se forma el complejo actina-miosina sin pasar al estado relajado, dando lugar a la aparición del *rigor mortis* (Watabe *et al.*, 1989; Iwamoto *et al.*, 1990; Tomé *et al.*, 2000; Llerena y Nué, 2002).

En la mayoría de las investigaciones donde se ha estudiado el proceso de *rigor mortis* también ha sido evaluado el comportamiento de diferentes parámetros, metabolitos o compuestos tales como ATP, glucógeno, pH, ácido láctico y textura, entre otros (Iwamoto *et al.*, 1990; Abe y Okuma, 1991; Hwang *et al.*, 1991; Tomé *et al.*, 2000; Llerena y Nue, 2002; Scherer *et al.*, 2005; Gornik *et al.*, 2009). Estos a su vez han sido utilizados como herramienta de apoyo para elucidar sobre el comportamiento que presenta este cambio *posmortem* (Jiménez-Ruiz *et al.*, 2012). En la Tabla 1 se muestran los parámetros relacionados con el *rigor mortis* en el músculo de tilapia almacenados a 0 y 5 °C durante las primeras 48 h *posmortem*.

## **ATP**

Actualmente, se ha destacado la importancia de la concentración de ATP durante las primeras etapas *posmortem* y cómo influye sobre el desarrollo de otros cambios

bioquímicos incluyendo el *rigor mortis* (Sikorski *et al.*, 1990; Abe y Okuma, 1991; Berg *et al.*, 1997; Cappeln y Jessen, 2002; Jiménez-Ruiz, 2012). En la Tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a las concentraciones de ATP en el músculo de tilapia almacenados a 0 y 5 °C durante 48 h.

Se puede observar que inicialmente los organismos presentaron un valor de ATP de  $0.26 \pm 0.01$   $\mu\text{mol/g}$  de músculo. Este valor es similar a lo reportado por Tomé *et al.* (2001), quienes encontraron 0.2  $\mu\text{mol/g}$  de ATP en el músculo de cachama (*Colossoma sp.*) almacenado a 0 °C. Asimismo, son menores a los descritos por Jiménez-Ruiz (2012), quien describió una concentración inicial de ATP de 5.6  $\mu\text{mol/g}$  en el músculo de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* durante el almacenamiento a 5 °C. Las diferencias observadas entre los estudios pueden deberse al tipo de músculo, estación o época del año y el sitio de captura (o cosecha), además de la especie (Tomé *et al.*, 2001; Duran *et al.*, 2008; Jiménez-Ruiz, 2012).

Después de transcurrir 48 h, la concentración de ATP disminuyó ( $p < 0.05$ ) hasta valores de  $0.24 \pm 0.02$  y  $0.20 \pm 0.01$   $\mu\text{mol/g}$  para 0 y 5 °C, respectivamente. De igual forma, se encontraron diferencias ( $p < 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento. Estos resultados son similares a los encontrados por Liu *et al.* (2010), Song *et al.* (2011) y Jiménez-Ruiz (2012), quienes reportaron valores de ATP de 0.25, ~ 0.2 y 0.2  $\mu\text{mol/g}$  a las 48 h *posmortem* en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*), dorada (*Megalobrama amblycephala*) y almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) durante su almacenamiento a 0, 4.5 y 5 °C, respectivamente.



**Tabla 1.** Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el desarrollo del *rigor mortis* durante 48 h *posmortem*.

Determinaciones	0 °C		5 °C
	0 h	48 h	48 h
ATP ( $\mu\text{mol/g}$ )	$0.26 \pm 0.01^a$	$0.24 \pm 0.02^b$	$0.20 \pm 0.01^c$
Glucógeno (mg/g)	$2.97 \pm 0.20^a$	$2.79 \pm 0.23^b$	$1.81 \pm 0.12^c$
Ácido láctico ( $\mu\text{mol/g}$ )	$2.37 \pm 0.26^a$	$3.08 \pm 0.30^b$	$2.56 \pm 0.22^b$
pH	$6.77 \pm 0.03^a$	$6.69 \pm 0.04^b$	$6.70 \pm 0.04^b$
Textura (N)	$6.52 \pm 0.22^a$	$6.13 \pm 0.39^b$	$5.99 \pm 0.37^b$

Los valores representan la media de  $n=6 \pm$  la desviación estándar. Medias en la misma fila con distinto superíndice son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

En el presente estudio, se observó que los niveles iniciales de ATP fueron muy bajos, lo cual se puede deber a que los organismos presentaron un alto grado de estrés desde su colecta. Se ha descrito que la hidrólisis del ATP conduce a la rigidez e inextensibilidad del músculo debido específicamente a la imposibilidad de los filamentos de miosina de desunirse a los filamentos de actina (Tomé *et al.*, 2001).

### **Glucógeno**

La principal fuente energética para mantener el nivel fisiológico de ATP en el tejido muscular es la degradación del glucógeno almacenado. En la Tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a las concentraciones de glucógeno en el músculo de tilapia almacenado durante 48 h a 0 y 5 °C. En ella se puede observar que inicialmente los organismos presentaron un valor de  $2.97 \pm 0.20$  mg/g de glucógeno. Este resultado es superior al descrito por Cappeln y Jessen (2002), quienes reportaron un valor inicial de 0.2 mg/g en el músculo de bacalao *Gadus morhua* durante el almacenamiento a 0 °C. Por otro lado, es inferior al reportado por Omura *et al.* (2007), quienes encontraron 24.8 mg/g de glucógeno en el músculo de calamar *Todarodes pacificus* durante el almacenamiento a 5 °C. La variación en cuanto al contenido de glucógeno se pueden deber a la especie, así como también a la ubicación del área del músculo de donde se tome la muestra para su posterior determinación (Cappeln y Jessen, 2002).

Después de transcurrir 48 h *posmortem*, el contenido de glucógeno disminuyó ( $p \geq 0.05$ ) a  $2.79 \pm 0.23$  y  $1.81 \pm 0.12$  mg/g de glucógeno para 0 y 5 °C, respectivamente. Los resultados del presente estudio son similares a los descritos

por Abe y Okuma (1991), quienes encontraron un valor de ~ 2.1 mg de glucógeno/g de músculo a las 48 h *posmortem* en el músculo de carpa (*Cyprinus carpio*) durante el almacenamiento a 0 °C. De igual forma, en un estudio realizado por Jiménez-Ruiz (2012), se describió que en las primeras horas *posmortem* se detectó una disminución en los niveles de glucógeno en el músculo abductor de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), siendo esta disminución más pronunciada a mayores temperaturas de almacenamiento (utilizando 5 y 10 °C), a diferencia de la temperatura de 0 °C. También se ha observado que las variaciones en el contenido de glucógeno se pueden deber principalmente a la especie, al tamaño y estado reproductivo de los organismos, así como también al estado nutricional del pez y el grado de agotamiento al momento de la muerte (Huss, 1998; Ocaño-Higuera, 2003).

### **Ácido láctico**

En organismos vertebrados el descenso de pH se debe a la producción de ácido pirúvico, el cual, bajo condiciones anaeróbicas se convierte en ácido láctico, donde su disociación genera la disminución del pH muscular (Lehninger *et al.*, 2008). En la Tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a las concentraciones de ácido láctico en el músculo de tilapia almacenado durante 48 h a 0 y 5 °C. Inicialmente, los organismos presentaron un valor de  $2.37 \pm 0.26$   $\mu\text{mol/g}$  de músculo. Estos resultados son similares a los encontrados por Abe y Okuma (1991), quienes reportaron un valor inicial de ~ 4  $\mu\text{mol/g}$  de ácido láctico en el músculo de carpa *Cyprinus carpio* almacenada a 0 °C. Asimismo, son mayores a los descritos por Sakinohara *et al.* (1998), quienes reportaron 0.18  $\mu\text{mol/g}$  de ácido láctico en el músculo de tilapia

(*Oreochromis mossambicus*). Existen otros estudios realizados en peces, como por ejemplo en pargo rojo *Pagrus auratus* (Iwamoto *et al.*, 1985), sardina japonesa *Sardinops melanosticta* y macarela del Pacífico, *Pneumatophorus japonicus japonicus* (Watabe *et al.*, 1989), así como en jurel del Pacífico *Trachurus japonicus* (Mishima *et al.*, 2005), en donde se han encontrado concentraciones iniciales superiores de ácido láctico entre 11 y 33  $\mu\text{mol/g}$ .

Una vez que transcurrieron las 48 h poscaptura, se observó un incremento ( $p < 0.05$ ) en la concentración de ácido láctico, alcanzando un valor de  $3.08 \pm 0.30 \mu\text{mol/g}$  a 0 °C y  $2.56 \pm 0.22 \mu\text{mol de ácido láctico/g}$  a 5 °C. Estos resultados son menores a los reportados por Abe y Okuma (1991), quienes describieron un valor de  $\sim 35 \mu\text{mol/g}$  de ácido láctico a las 48 h en el músculo de carpa *Cyprinus carpio* almacenada a 0 °C. Esta diferencia pudiera deberse a la especie, al tamaño, a condiciones fisiológicas, entre otras (Mørkøre *et al.*, 2008; Durán *et al.*, 2008; Gornik *et al.*, 2010).

En el presente estudio, la temperatura de almacenamiento no mostró un efecto significativo ( $p \geq 0.05$ ) en el contenido de ácido láctico. En general, este compuesto es el principal responsable de la acidificación del músculo *posmortem* (Abe y Okuma, 1991).

## **pH**

La medición del pH es una variable de gran importancia al momento de calificar la frescura de los productos derivados de la pesca (Copes *et al.*, 2008). En la Tabla 1 se muestran los resultados correspondientes a la determinación de pH en el músculo de tilapia almacenados por 48 h a 0 y 5 °C. Se puede observar un valor inicial de pH



de  $6.77 \pm 0.03$ . Estos resultados son mayores a los descritos por Tomé *et al.* (2000), quienes encontraron un valor de pH de 6.4 en el músculo de tilapia *Oreochormis spp* durante el almacenamiento a 0 °C, asimismo son mayores a los descritos por Soccol *et al.* (2005) y Liu *et al.* (2010), quienes encontraron un valor de 6.5 y 6.4 en el músculo de *Oreochormis niloticus* durante el almacenamiento a 0 °C, respectivamente. En cambio son menores a los descritos por Llerena y Nue (2002), quienes reportaron un valor de pH de 7.3 en el músculo de *Oreochormis mossambicus* durante el almacenamiento a 0 °C. Por otro lado, nuestros resultados están dentro del rango (6.7-7.0) reportado por Love (1976) para organismos marinos inmediato a su captura. Se ha descrito que por lo general el pH *posmortem* inicial varía según la especie y puede haber pequeñas variaciones dentro de la misma especie (Huss, 1998).

Una vez que transcurrieron las 48 h poscaptura se observó una disminución ( $p < 0.05$ ) de este parámetro, obteniendo valores finales de pH de  $6.69 \pm 0.04$  y  $6.70 \pm 0.04$  para 0 y 5 °C, respectivamente. Estos resultados son similares a los descritos por Durán *et al.* (2008), quienes encontraron un pH de 6.7 en el músculo de carpa (*Cyprinus carpio*) a las 48 h después de haber sido sacrificadas por percusiones craneales y almacenadas en refrigeración a una temperatura de 6-8 °C. Por otro lado, con respecto a la temperatura de almacenamiento no se observaron cambios significativos ( $p \geq 0.05$ ). En el presente estudio la disminución de pH durante las primeras 48 h *posmortem*, pudiera relacionarse con el aumento de los niveles de ácido láctico encontrados en este mismo periodo de tiempo (Batista *et al.*, 2004).

## Textura

Uno de los parámetros más utilizados para medir la calidad del músculo de organismos marinos es la textura (Suárez *et al.*, 2007). En la Tabla 1 se presentan los resultados de la determinación de textura en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 48 h. Se encontró un valor inicial de  $6.52 \pm 0.22$  N. Estos resultados son similares a los descritos por Durán *et al.* (2008), quienes reportaron un valor inicial de textura de 8.5 N en el músculo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Asimismo, son mayores a los encontrados por Liu *et al.* (2010) y Coronado y Moreno (2011), quienes describieron valores iniciales de textura de 0.32 y 0.21 N en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*), respectivamente.

Una vez transcurridas las 48 h poscaptura, se observó una disminución ( $p < 0.05$ ) de la textura, con valores de  $6.13 \pm 0.39$  y  $5.99 \pm 0.37$  N para 0 y 5 °C, respectivamente. Por otro lado, se observó que la textura no cambió ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento. Los resultados son similares a los reportados por Durán *et al.* (2008), quienes encontraron a las 48 h *posmortem* valores de 6.1 y 6.0 N en el músculo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en los organismos sacrificados por percusión y asfixia, respectivamente. Las diferencias encontradas pudieran deberse a la especie, al estado de rigor que presentaban los organismos, así como también al manejo y método de sacrificio (Durán *et al.*, 2008). En el presente estudio, la razón por lo que se presentó dicha disminución de textura, pudiera ser el resultado de la degradación del colágeno por efecto de la disminución del pH, así como también por la actividad de enzimas endógenas (Goll *et al.*, 1984; Huss, 1998).

Ando *et al.* (1991), describieron que la firmeza del músculo de jurel japonés (*Seriola quinqueradiata*) disminuyó dentro de las 12 h de almacenamiento debido a la degradación de colágeno. También se ha descrito que el ablandamiento *posmortem* de músculo de pescado es causado por el debilitamiento del tejido conectivo, el cual está constituido por fibrillas de colágeno (Ando *et al.*, 1995 y 1999).

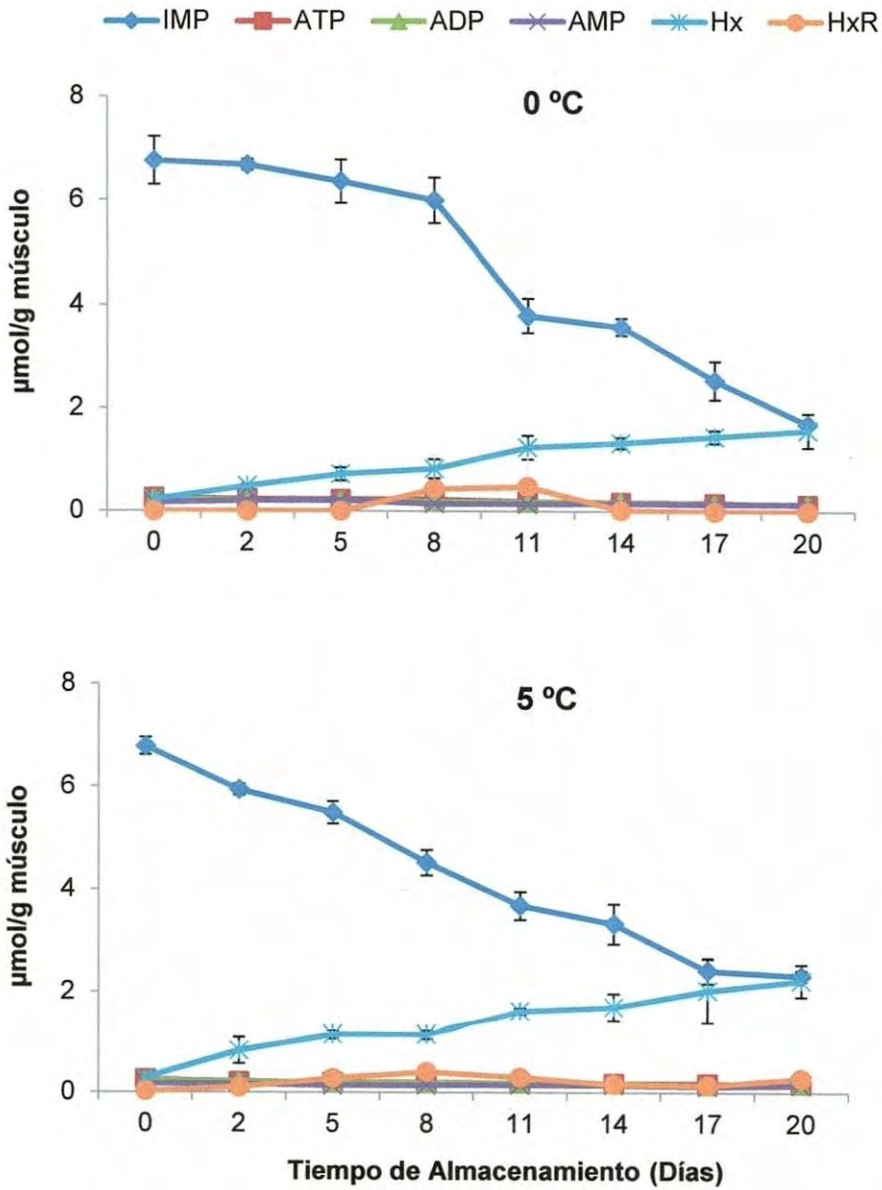
## **Etapa II. Efecto del Almacenamiento a 0 y 5 °C en la Calidad de los Filetes de Tilapia**

### **Efecto sobre la Bioquímica *Posmortem* del Músculo de Tilapia**

#### Comportamiento del ATP y sus productos de degradación

En el músculo, el ATP se degrada enzimáticamente a ADP, AMP, IMP, HxR e Hx (Church, 1998). La concentración de estos compuestos se ha relacionado con la calidad de los productos marinos (Saito *et al.*, 1959); y se han utilizado como un indicador de frescura en algunas especies pesqueras (Church, 1998; Cox y Karahadian, 1998).

En la Figura 5, se presenta la variación de las concentraciones de ATP y sus productos de degradación en el músculo de tilapia almacenado por 20 días a 0 y 5 °C. En ella se pueden observar valores iniciales de  $0.26 \pm 0.01$ ,  $0.24 \pm 0.02$  y  $0.17 \pm 0.02$   $\mu\text{mol/g}$  de ATP, ADP y AMP, respectivamente. Por otro lado, el compuesto que mayor concentración presentó fue el IMP, con un valor inicial de  $6.70 \pm 0.29$   $\mu\text{mol/g}$ .



**Figura 5.** Variación de las concentraciones de ATP, ADP, AMP, IMP, Hx e HxR en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. Los valores son la media de  $n= 6 \pm$  la desviación estándar.



Estos resultados son similares a los encontrados por Batista *et al.* (2004) y Gonçálvez *et al.* (2007), quienes reportaron ~ 7.0 y 6.5  $\mu\text{mol/g}$  de IMP en el músculo de matrinxã (*Brycon cephalus*) y lenguado (*Solea senegalensis*), respectivamente.

En la misma Figura 5, se puede apreciar que la concentración de HxR fue de  $0.01 \pm 0.01 \mu\text{mol/g}$ , mientras que la Hx presentó un valor inicial de  $0.25 \pm 0.06 \mu\text{mol/g}$ . Estos resultados son menores a los descritos por Özoğul *et al.* (2011), quienes describieron un valor inicial de 0.6  $\mu\text{mol/g}$  de Hx en el músculo de lenguado (*Solea solea*). Esta variación en el contenido de nucleótidos iniciales ha sido asociada a la especie, la estación, el estrés durante la muerte de los peces, así como también a la temperatura del agua y el tiempo entre la captura y el almacenamiento (Huss, 1998).

Finalmente, se encontró que a los 20 días del almacenamiento, los valores de ATP disminuyeron ( $p < 0.05$ ) a  $0.14 \pm 0.02$  y  $0.17 \pm 0.03 \mu\text{mol/g}$  para 0 y 5 °C, respectivamente, mientras que la concentración de IMP disminuyó ( $p < 0.05$ ) hasta alcanzar valores de  $1.70 \pm 0.07$  y  $2.33 \pm 0.11 \mu\text{mol/g}$ . Por otra parte, la concentración de Hx aumentó ( $p < 0.05$ ) a  $1.58 \pm 0.33$  y  $2.23 \pm 0.32 \mu\text{mol/g}$  a 0 y 5 °C, respectivamente. Estos resultados son menores a los reportados por Liu *et al.* (2010), quienes describieron ~0.3  $\mu\text{mol/g}$  de ATP en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*), almacenados a 0 °C, asimismo son menores a los descritos por Gonçálvez *et al.* (2007), quienes reportaron 3.7  $\mu\text{mol/g}$  de IMP en el músculo de lenguado (*Solea senegalensis*) almacenados a 0 °C. Asimismo, son menores a los descritos por Tomé *et al.* (2000), quienes reportaron 5.2,  $\mu\text{mol/g}$  de Hx en el músculo de tilapia (*Oreochromis spp.*) almacenados a 0 °C. Se ha descrito que la tasa de acumulación de estos metabolitos pueden variar considerablemente entre las

especies, así como también en función de la actividad de las enzimas encargadas de degradar dichos metabolitos (Özoğul *et al.*, 2011).

En el caso de las concentraciones de ATP y ADP, no se encontraron cambios ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento, mientras que las concentraciones de AMP, IMP, HxR e Hx, si presentaron cambios significativos ( $p < 0.05$ ), sin embargo, la velocidad con que ocurrieron dichos cambios fueron más rápidos a la temperatura de 5 °C.

En el presente estudio, se pudo observar que la tasa de hidrólisis de IMP presentó un comportamiento lineal ( $p < 0.05$ ) con respecto al tiempo de almacenamiento ( $Y = -0.79x + 8.24$ ,  $R^2 = 0.93$ ; y  $Y = -0.66x + 7.31$ ,  $R^2 = 0.98$ , para 0 y 5 °C, respectivamente). Asimismo, la acumulación de Hx presentó un comportamiento lineal ( $p < 0.05$ ) con respecto al tiempo de almacenamiento ( $Y = 0.19x + 0.10$ ,  $R^2 = 0.97$ ; y  $Y = 0.26x + 0.20$ ,  $R^2 = 0.96$ , para 0 y 5 °C, respectivamente). Empleando estas ecuaciones de predicción, tanto IMP como Hx podrían ser utilizados como indicadores de la pérdida de frescura, ya que la proporción de sus cambios correlaciona paralelamente con la pérdida de frescura del músculo durante el almacenamiento.

De igual forma, se puede sugerir que esta especie es una posible formadora de Hx. Este comportamiento es similar al reportado por Tomé *et al.* (2000), quienes encontraron que desde el inicio del almacenamiento, la concentración de IMP comenzó a disminuir con el concomitante aumento en el contenido de Hx, lo que permitió sugerir que esta especie (*Oreochromis spp.*) es una posible formadora de Hx. De igual forma se ha descrito que la Hx contribuye a la progresiva pérdida de la

calidad, ya que su acumulación en el músculo de pescado refleja la fase inicial de la degradación autolítica así como el deterioro bacteriano.

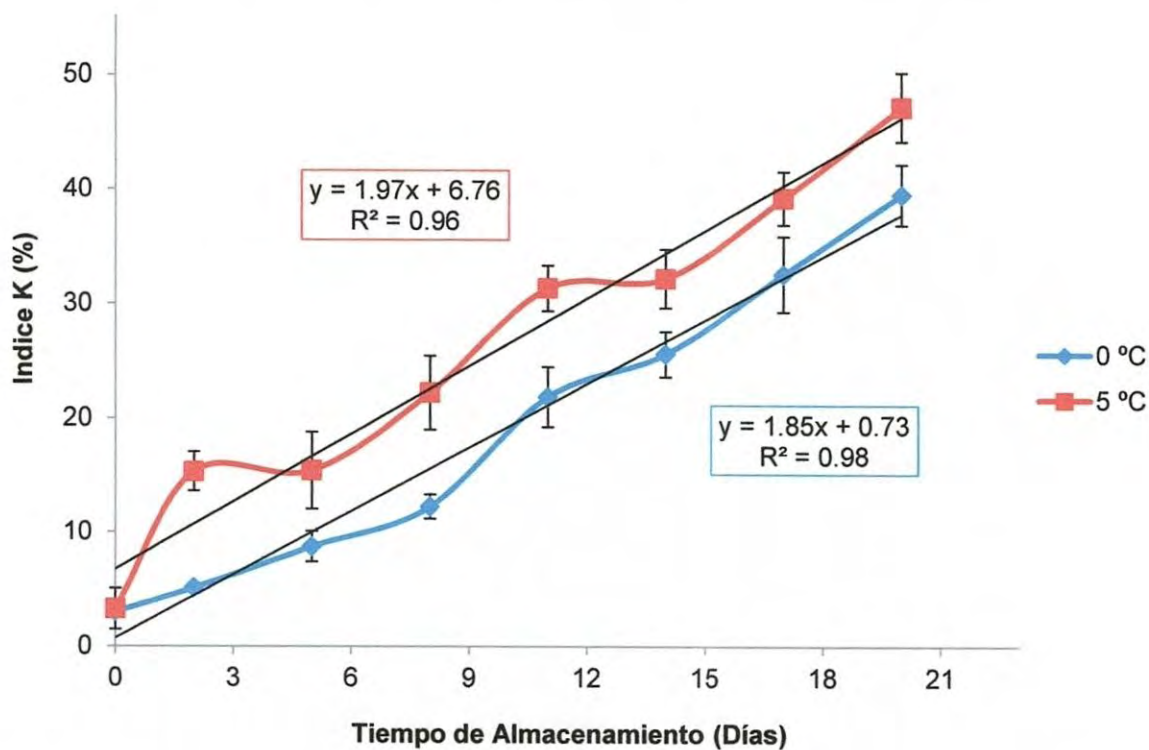
### Índice K

El índice K es uno de los métodos bioquímicos más utilizados para evaluar la frescura de los productos de origen acuático, ya que proporciona una alta correlación entre la pérdida de frescura y la calidad sensorial con respecto al tiempo del almacenamiento (Saito *et al.*, 1959; Ryder, 1985; Lowe *et al.*, 1993).

En la Figura 6 se presenta el comportamiento del índice K en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. Los organismos presentaron un valor inicial de  $2.82 \pm 0.4$  %. Este resultado es similar al descrito por Bosco *et al.* (2010) y Ocaño-Higuera *et al.* (2011), quienes reportaron valores iniciales de 6 y 5 % en el músculo de besugo (*Pagrus major*) y raya (*Dasyatis brevis*), respectivamente. Asimismo, son menores a los descritos por Khalid *et al.* (2007), Liu *et al.* (2010) y Özoğul *et al.* (2011), quienes reportaron valores de índice K de, 13.8, 12 y 32.9 % en el músculo de salmón del pacífico (*Onchrhynchus nerka*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) y lenguado (*Solea solea*), respectivamente.

En este estudio al final del almacenamiento se encontraron valores de índice K de  $39.5 \pm 2.6$  % y  $47.2 \pm 2.9$  % para 0 y 5 °C, respectivamente. Estos valores son menores a los reportados por Özoğul *et al.* (2006), Bosco *et al.* (2010), Liu *et al.*





**Figura 6.** Comportamiento del índice K en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. Los valores son la media de  $n=6 \pm$  la desviación estándar. \*Se presenta la línea de tendencia del índice K para cada temperatura de almacenamiento.



(2010) y Li *et al.* (2012), quienes reportaron valores finales de índice K de 90, 58, ~ 72 y 54.5 % en el músculo de rodaballo (*Scophthalmus maximus*), medregal (*Seriola dumerili*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) y carpa (*Carassius auratus*), respectivamente.

En la misma Figura 6, se puede apreciar que el índice K presentó un comportamiento lineal ( $p < 0.05$ ) con respecto al tiempo de almacenamiento ( $Y = 1.85X + 0.73$ ,  $R^2 = 0.98$ ; y  $Y = 1.97X + 6.76$ ,  $R^2 = 0.96$ , para 0 y 5 °C, respectivamente). Empleando esta ecuación de predicción y tomando en cuenta el incremento de las BVT-N y la cuenta total de microorganismos, los filetes presentaron una vida útil de al menos 16 días a 0 °C y 8 días a 5 °C.

De acuerdo a la  $r^2$  de la ecuación de predicción, el índice K puede ser un indicador útil para evaluar la frescura en el músculo de tilapia. Este mismo comportamiento fue descrito por Bakar e Izzah (1995); Sakinohara *et al.* (1998) y Liu *et al.* (2010), para *Oreochromis sp.*, *Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis niloticus*, respectivamente.

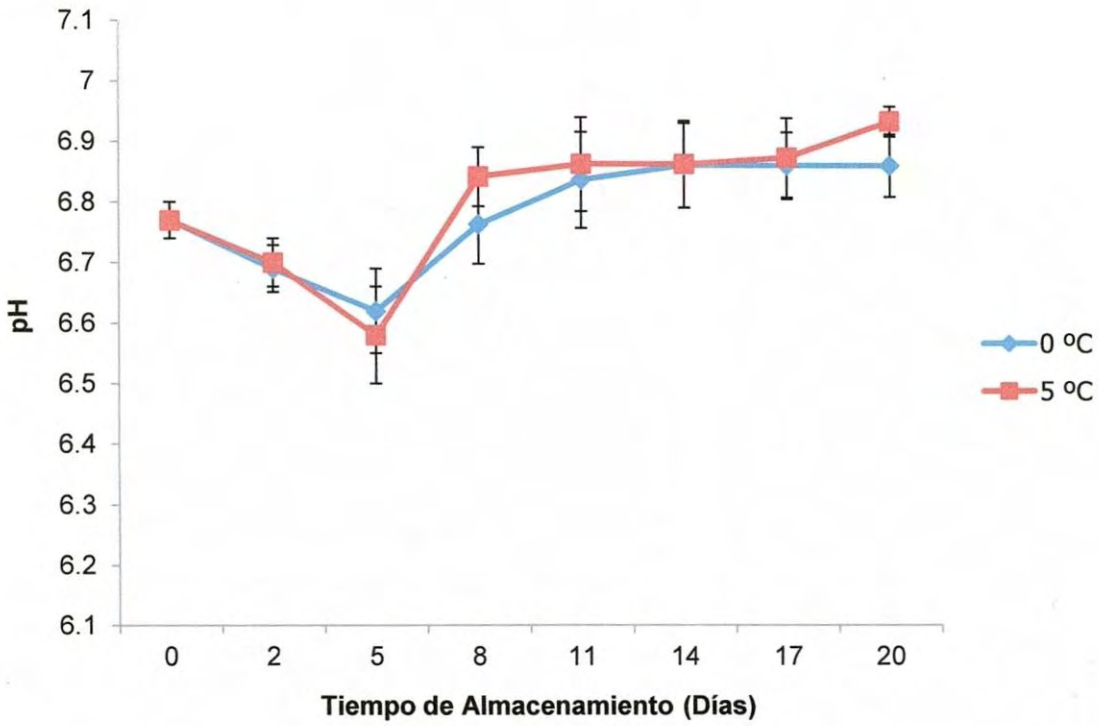
En el presente estudio, en lo que concierne al comportamiento del índice K, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento. Es importante señalar que el incremento de este índice fue más pronunciado a 5 °C, lo cual coincide con la mayor velocidad de hidrólisis de ATP y el consecuente aumento en la concentración de Hx a esa misma temperatura.

## Efecto sobre la Calidad Física y Química del Músculo de Tilapia

### pH

En la literatura se ha descrito que la determinación del pH durante el almacenamiento es un buen indicador de la calidad del músculo de los organismos de la pesca (Wang *et al.*, 2003; Batista *et al.*, 2004; Günşen y Aydin, 2011). En la Figura 7, se presenta el comportamiento del pH en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. En ella se puede observar que el valor inicial de pH fue de  $6.77 \pm 0.03$ . Este valor es similar a los descritos por Özden *et al.* (2009) y Caglak *et al.* (2008), quienes encontraron un valor de 6.69 y 6.72 en el músculo de besugo *Sparus aurata* y mejillón (*Mytilus galloprovincialis*), respectivamente. Sin embargo, es mayor a los descritos por Tomé *et al.* (2000) y Liu *et al.* (2010), quienes encontraron valores de pH de 6.48 y 6.40 en el músculo de tilapia *Oreochromis spp.*, y *Oreochromis niloticus*, respectivamente.

Huss (1998), describió que el pH *posmortem* inicial varía según la especie, así como también puede haber pequeñas variaciones dentro de la misma. En la misma Figura 7, se puede observar una disminución ( $p < 0.05$ ) de pH, alcanzando valores mínimos de  $6.62 \pm 0.07$  y  $6.58 \pm 0.08$  para 0 y 5 °C, a los cinco días del almacenamiento, respectivamente. Estos valores son mayores a los reportados por Tomé *et al.* (2000), quienes describieron un valor de pH de 6.31 en el músculo de tilapia (*Oreochromis spp.*) a los tres días de almacenamiento a 0 °C.



**Figura 7.** Comportamiento del pH en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C por 20 días. Los valores son la media de  $n=6 \pm$  la desviación estándar.

En la literatura se indica que la velocidad y grado de descenso del pH muscular se debe a la acumulación de ácido láctico y su disociación bajo condiciones anaeróbicas *posmortem*, y que a su vez está en función de la cantidad de glucógeno del músculo (Tomé *et al.*, 2000; Batista *et al.*, 2004; Durán *et al.*, 2008), de la especie (Durán *et al.*, 2008), y de los niveles de la actividad o estrés generado durante la captura, así como también al tipo de músculo (Ocaño-Higuera *et al.*, 2009).

Al término del almacenamiento el pH se incrementó ( $p < 0.05$ ) hasta alcanzar valores de  $6.86 \pm 0.05$  y  $6.93 \pm 0.02$  para 0 y 5 °C, respectivamente. Estos valores son mayores a los descritos por Tomé *et al.* (2000) y Li *et al.* (2012), quienes reportaron valores de pH de 6.73 y 6.70 en el músculo de tilapia (*Oreochromis spp.*) y carpa (*Carassius auratus*) durante el almacenamiento por 18 días a 0 y 4 °C, respectivamente. Asimismo, son menores a los descritos por Özden *et al.* (2007) y Liu *et al.* (2010), quienes reportaron valores de 7.14 y 7.0 en el músculo de besugo (*Sparus aurata*) y tilapia (*Oreochromis niloticus*) durante el almacenamiento a 4 y 0 °C, respectivamente. Estos valores de pH se encuentran por encima de valores que indican deterioro bacteriano, los cuales tienden a ser mayores de 7.0 (Woyewoda *et al.*, 1986). El incremento de pH durante el almacenamiento, ha sido asociado a la formación de compuestos volátiles como el amoníaco y aminas (histamina, putrescina, cadaverina y tiramina) producidas por vía autolítica (Huss, 1998), así como también por la acción bacteriana sobre aminoácidos libres (Liu *et al.*, 2010; Günşen y Aydin, 2011). En el presente estudio, en lo que concierne al comportamiento del pH no se encontraron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento.

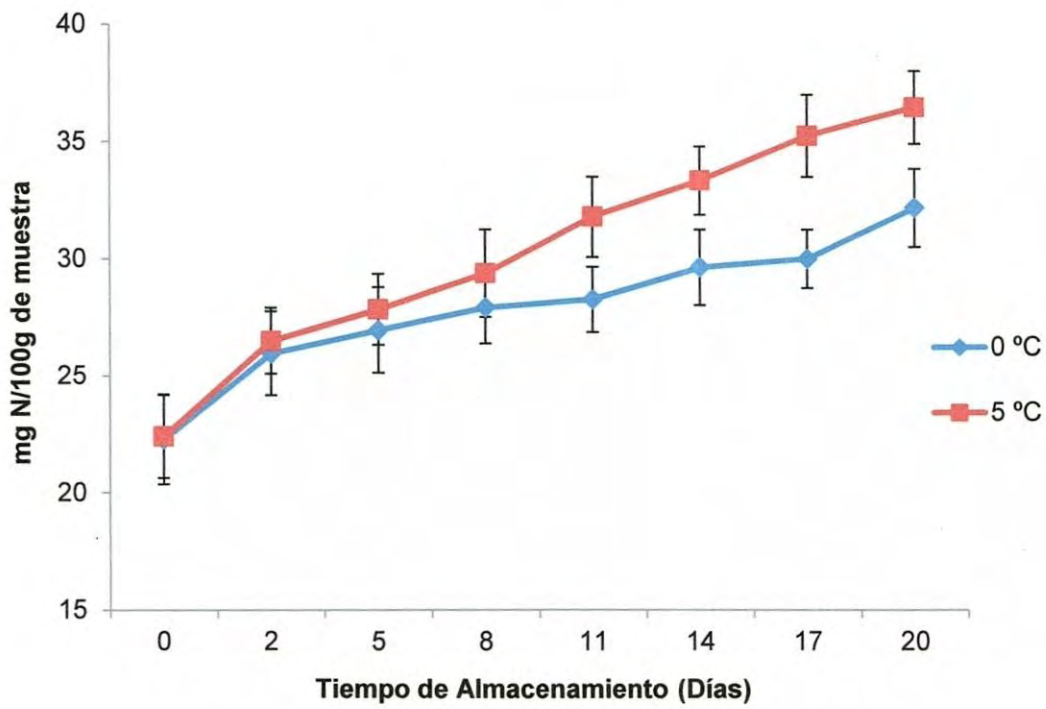


## Bases volátiles totales

La determinación de las bases volátiles totales es una de las pruebas más utilizadas para medir el deterioro de los productos de la pesca. En la Figura 8, se presenta el comportamiento de las BVT-N en el músculo de tilapia almacenado durante 20 días a 0 y 5 °C. En ella, se puede observar un valor inicial de  $26.2 \pm 1.6$  mg de N/100g. Este valor es mayor a los descritos por Tomé *et al.* 2000) y Ocaño-Higuera *et al.* (2011), quienes encontraron valores iniciales de 21.5 y 21.1 mg de N/100g en el músculo de tilapia (*Oreochromis spp.*) y raya (*Dasyatis brevis*), respectivamente. Asimismo, es mayor a los descritos por Soccol *et al.* (2005) y Liu *et al.* (2010), quienes encontraron 14.0 y 6.5 mg de N/100g en el músculo de tilapia *Oreochromis niloticus*, respectivamente.

Los valores de BVT-N al término del almacenamiento se fueron incrementando ( $p < 0.05$ ) hasta alcanzar los  $32.2 \pm 1.6$  y  $36.5 \pm 1.5$  mg de N/100g a 0 y 5 °C, respectivamente. Estos resultados son menores a los reportados por Ihuahi *et al.* (2010) y Coronado y Moreno (2011), quienes describieron valores de 38.7 y ~ 38- 44 mg de N/100g en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*), durante el almacenamiento a 0 °C por 21 y 14 días, respectivamente. De igual forma son menores a los reportados por Abugoch *et al.* (2011), quienes describieron valores de 39.5 mg de N/100g en el músculo de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) durante el almacenamiento a 4 °C por 16 días.

En el caso de los productos pesqueros, la Norma Oficial Mexicana NOM-029-SSA1-1993 establece un valor de 30 mg N/100 g de músculo como límite máximo permitido para que el producto sea apto para el consumo humano. En la misma Figura 8, se



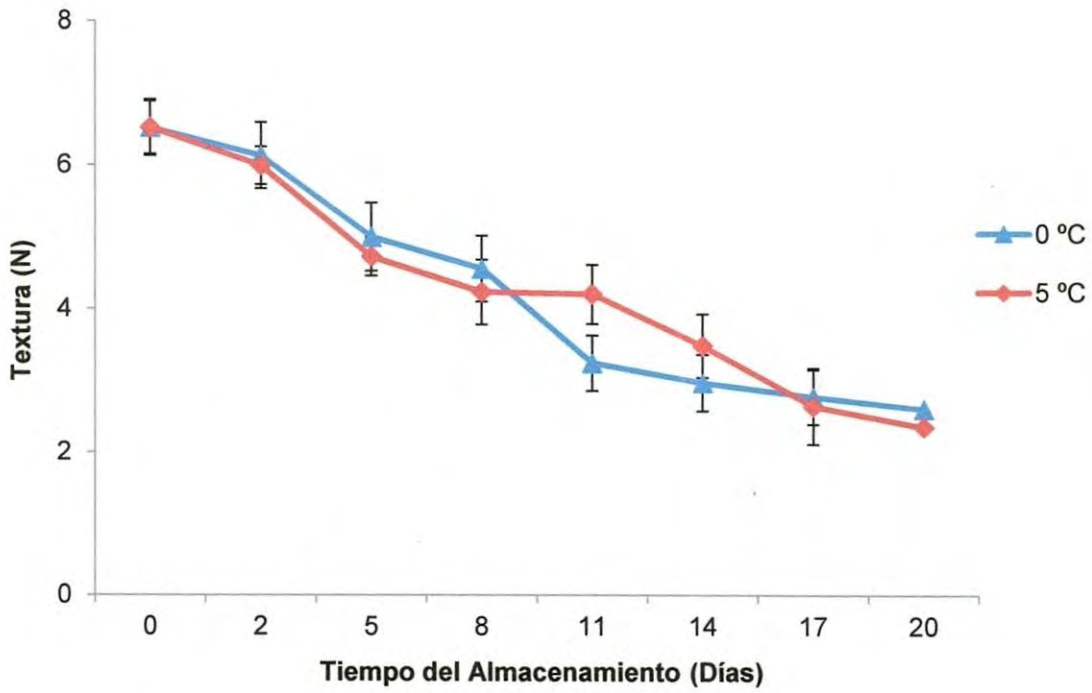
**Figura 8.** Comportamiento de las BVT-N en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C por 20 días. Los valores son la media de  $n= 6 \pm$  desviación estándar.

puede observar que este límite se alcanza a los 17 y 8 días a 0 y 5 °C, respectivamente. Es importante resaltar, que para estos días de almacenamiento los valores de pH y la carga microbiana se incrementaron, por lo que el contenido de BVT-N aumentó debido al crecimiento de microorganismos deteriorativos, los cuales son capaces de generar compuestos volátiles característicos del deterioro.

El contenido de las BVT-N presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento, siendo mayor a la temperatura de 5 °C, lo cual concuerda con el incremento de la cuenta total de microorganismos alcanzados a esta misma temperatura. También se ha descrito que el aumento en el contenido en BVT-N puede ser atribuido a la especie, la alimentación, la temperatura y en general a las condiciones de manejo y almacenamiento postcaptura (Durán *et al.*, 2008; Ocaño-Higuera *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010).

### Textura

La textura es un importante índice de frescura utilizado para evaluar la calidad del músculo de pescado (Suárez *et al.*, 2007). En la Figura 9, se presenta el comportamiento de la textura en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. La textura presentó valores iniciales de  $6.52 \pm 0.22$  N. Estos resultados son menores a los encontrados por Fagan *et al.* (2003), quienes reportaron valores de textura de 17.5, 18.4 y 17.2 N en el músculo de merluza (*Macrurus novaezelandiae*), macarela (*Pneumatophorus japonicus japonicus*) y salmón (*Salmon salar*), respectivamente.



**Figura 9.** Cambios en la textura en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C por 20 días. Los valores son la media de  $n=6 \pm$  la desviación estándar.



Los valores de textura disminuyeron ( $p < 0.05$ ) con respecto al tiempo de almacenamiento a  $2.6 \pm 0.3$  y  $2.4 \pm 0.5$  N para 0 y 5 °C, respectivamente. Estos valores son superiores a los reportados por Liu *et al.* (2010) y Coronado y Moreno (2011), quienes encontraron valores de 0.29 y 0.06 N en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) después de 17 y 14 días de almacenamiento a 0 °C, respectivamente. Por otro lado, la textura no presentó diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento.

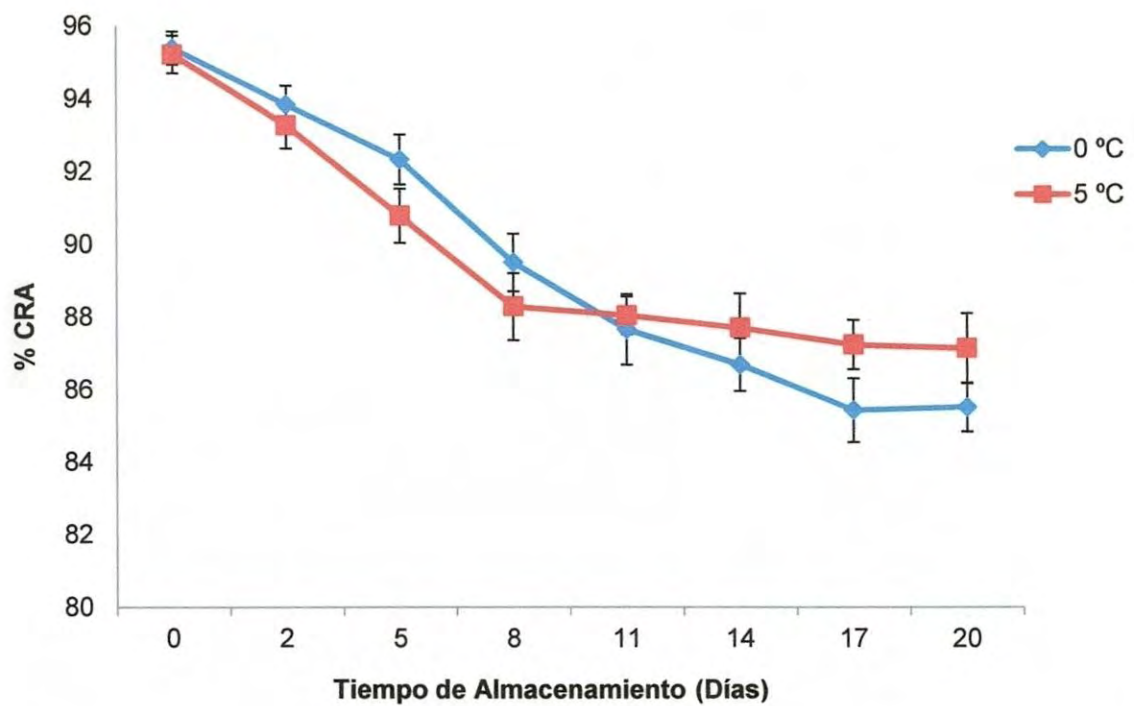
La disminución de la textura que se observó en el presente estudio se puede atribuir a la degradación autolítica (Huss, 1998). Lo anterior ha sido ampliamente descrito y algunos autores (Ashie *et al.*, 1996; Roth *et al.*, 2006; Durán *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2010) hacen referencia a la pérdida de textura ocasionada por la acción de proteasas endógenas sobre la integridad de las proteínas miofibrilares, en especial catepsinas, calpaínas y enzimas hidrolíticas como elastasas y colagenasas (Goll *et al.*, 1984). Estas enzimas provocan a su vez modificaciones en las características estructurales y funcionales, como la disminución de la CRA (Delbarre, 2006). Asimismo, la textura se ve afectada por diferentes factores intrínsecos como: la especie, la edad, el tamaño, el estado nutricional del organismo, la estructura de las proteínas y la composición del músculo y factores extrínsecos o externos que se observan en la etapa *posmortem* como: la glucólisis, *rigor mortis*, disminución de pH, temperatura de almacenamiento, etc. (Haard, 1992; Hyldig y Nielsen, 2001).

### Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua es una propiedad de suma importancia al momento de evaluar la calidad del músculo (Ocaño-Higuera *et al.*, 2009). Ésta se puede describir como la capacidad de la carne para retener fuertemente el agua propia durante la aplicación de fuerzas externas (Olsson *et al.*, 2003). En la Figura 10, se presenta el comportamiento de la CRA en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. En ella se puede apreciar un valor inicial de  $95.4 \pm 0.4$  %. Resultados similares fueron reportados por Ramos y Salinovich (2008), quienes encontraron una CRA inicial de 93.6 % en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) almacenado a 0 °C.

La CRA disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) con respecto al tiempo, encontrándose valores de  $85.5 \pm 0.6$  y  $87.7 \pm 0.9$  % para 0 y 5 °C al día 20 del almacenamiento, respectivamente. Resultados similares fueron reportados por Ramos y Salinovich (2008) y Coronado y Moreno (2011), quienes encontraron un valor final de 88.5-91.8 y 88.5 % para el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) almacenado por 18 y 14 días a 0 °C, respectivamente. Estos cambios se pueden asociar a modificaciones en el pH y en la textura que presentaron los filetes durante el almacenamiento. Sin embargo, no se encontraron cambios ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento.

Se ha descrito que las interacciones proteína-agua tienen importantes efectos en las propiedades físicas del músculo, precisando que los cambios en la CRA durante el almacenamiento están directamente relacionadas con los cambios de pH y con la modificación de las proteínas musculares (Stanley, 1983).



**Figura 10.** Comportamiento de la CRA en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. Los valores son la media de  $n= 6 \pm$  la desviación estándar.

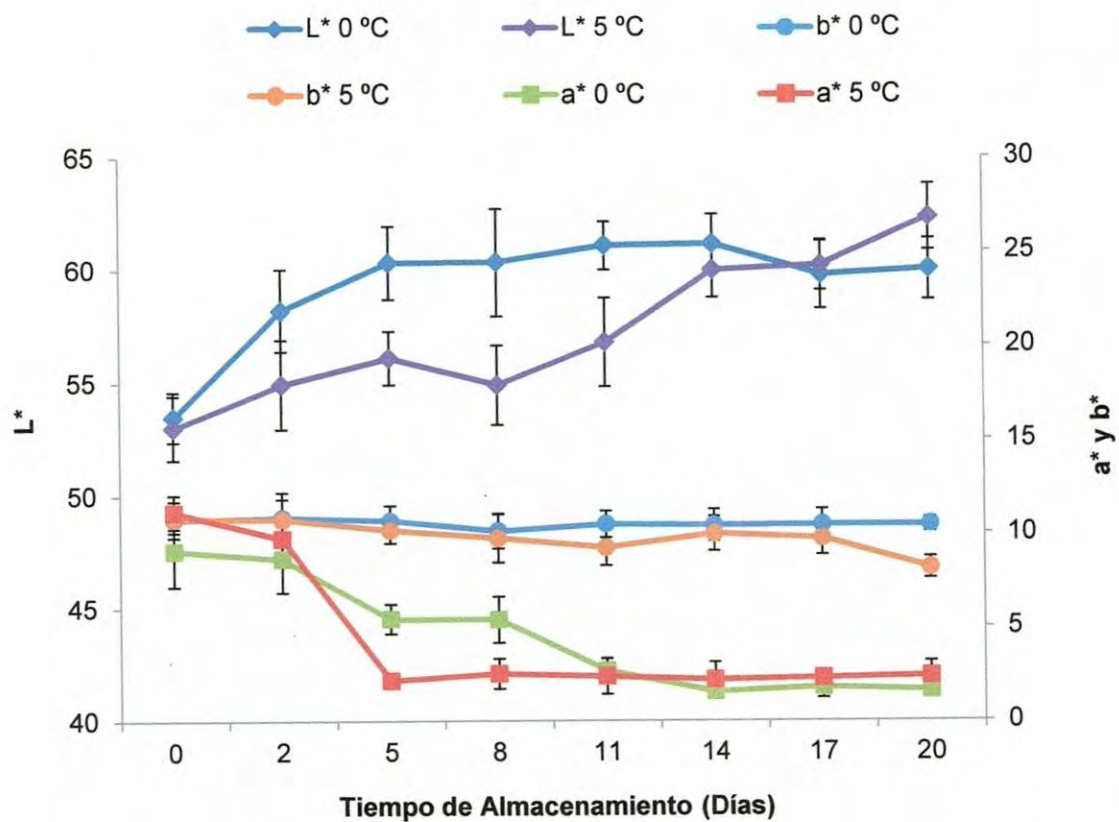
## Color

La apariencia, particularmente el color es uno de los factores más importantes involucrados en la aceptación de los productos pesqueros por los consumidores, así como también para evaluar su calidad (Pacheco *et al.*, 1994; Graciano, 2000). En la Figura 11, se presentan los cambios de color en función de los parámetros L\*, a\* y b\* del músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. En ella se puede observar que en el caso de L\*, el valor inicial aumentó ( $p < 0.05$ ) de  $53.0 \pm 1.1$  a  $60.0 \pm 1.4$  y  $62.3 \pm 1.5$  a los 20 días de almacenamiento a 0 y 5 °C, respectivamente. Resultados similares fueron reportados por Coronado y Moreno (2011), quienes obtuvieron un valor inicial de L\* de 54 y un valor final de 58.1 en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) durante el almacenamiento a 0 °C. En el presente estudio, el aumento del parámetro L\* se puede deber a que el músculo presentó pérdida de fluidos por exudación, lo cual generó un aspecto acuoso y con ello un aumento en la luminosidad.

Con respecto al parámetro a\* se observó un valor inicial de  $10.1 \pm 1.8$ . Resultados similares fueron reportados por Ramos y Salinovich (2008) y Coronado y Moreno (2011), quienes reportaron un valor inicial de a\* de 10.6 y 8.10 en el músculo de tilapia *Oreochromis niloticus*, respectivamente.

Este valor disminuyó ( $p < 0.05$ ) a  $1.6 \pm 0.3$  y  $2.4 \pm 0.8$  al final del almacenamiento para 0 y 5 °C, respectivamente. Estos resultados son menores a los descritos por Mantilla *et al.* (2008), quienes describieron un valor de a\* de 10 en el músculo de tilapia (*O. niloticus*) durante el almacenamiento por 18 días a 4 °C.





**Figura 11.** Cambios de color en función de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. Los valores son la media de  $n=6 \pm$  la desviación estándar.

En el presente estudio, la disminución del parámetro  $a^*$  se pudo deber a que algunas proteínas sarcoplásmicas como mioglobina y hemoglobina se solubilizaron con el agua que exudó el músculo durante el almacenamiento.

Con respecto al parámetro  $b^*$ , se obtuvo un valor inicial de  $10.8 \pm 0.9$ , posteriormente, este disminuyó ( $p < 0.05$ ) a valores finales de  $10.5 \pm 0.4$  y  $8.2 \pm 0.6$  para 0 y 5 °C, respectivamente. Estos valores son similares a los reportados por Mantilla *et al.* (2008), quienes describieron un valor de  $b^*$  de 12 en el músculo de tilapia *Oreochromis niloticus* durante su almacenamiento por 18 días a 4 °C, asimismo son similares a los descritos por Coronado y Moreno (2011), quienes describieron un valor de  $b^*$  de 9 para el músculo de tilapia *Oreochromis niloticus*, durante su almacenamiento por 14 días a 0 °C.

Con respecto al parámetro  $L^*$ , se presentó un cambio ( $p < 0.05$ ) con respecto a la temperatura de almacenamiento. En base a la esfera de color y a los parámetros anteriormente descritos, se observó que al inicio del almacenamiento el color del músculo de tilapia se situó en el cuadrante superior derecho, perteneciente a la zona amarilla-roja. Por otro lado, al final del almacenamiento se observó un cambio hacia el matiz amarillo y un aumento en la blancura.

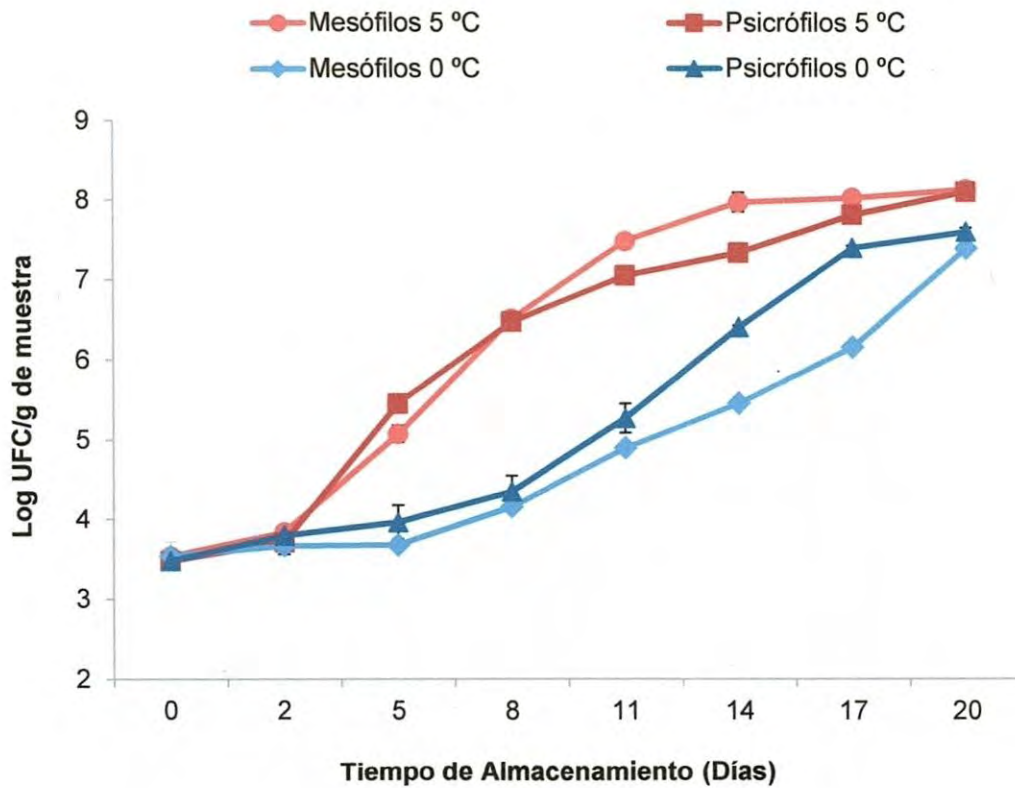
## **Efecto sobre la Calidad Microbiológica**

### Cuenta total de microorganismos aerobios mesófilos y psicrófilos

La técnica de cuenta en placa es comúnmente utilizada para determinar el contenido de microorganismos viables en un alimento. En la Figura 12, se presentan los cambios de la cuenta microbiana mesófila y psicrófila en el músculo de tilapia almacenado a 0 y 5 °C durante 20 días. En cuanto a la cuenta mesofílica, al inicio del almacenamiento se observó una carga microbiana de  $3.54 \pm 0.18$  Log UFC/g. Este valor es similar al reportado por Coronado y Moreno (2011), quienes encontraron un valor inicial de 3.2 Log UFC/g. En la misma Figura 12, se puede observar que esta cuenta aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) con respecto al tiempo y temperatura de almacenamiento, alcanzando al día 20 una cuenta mesofílica de  $7.3 \pm 0.03$  y  $8.1 \pm 0.03$  UFC/g para 0 y 5 °C, respectivamente.

En la Figura 12, se puede observar que la cuenta de psicrófilos presentó un valor inicial de  $3.48 \pm 0.07$  Log UFC/g. Este valor es similar al reportado Liu *et al.* (2010) y Coronado y Moreno (2011), quienes observaron valores de 3.5 y 3.7 Log UFC/g en el músculo de tilapia *Oreochromis niloticus* almacenado a 0 °C.

La carga microbiana psicrófila aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) con respecto al tiempo y temperatura de almacenamiento, de tal modo que al día 20 la carga microbiana fue de  $7.59 \pm 0.05$  y  $8.10 \pm 0.10$  para 0 y 5 °C, respectivamente.



**Figura 12.** Cambios de la flora microbiana mesófila y psicrófila, cuantificada en el músculo de tilapia durante el almacenamiento a 0 y 5 °C durante 20 días. Los valores son la media de  $n= 3 \pm$  la desviación estándar.



Estos valores son similares a los reportados por Soccol *et al.* (2005), en el músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) durante el almacenamiento a 0 °C por 20 días.

Con respecto a la cuenta total de microorganismos mesófilos y psicrófilos, el incremento más pronunciado fue a la temperatura de 5 °C, por lo que se relaciona bien con los incrementos en el pH, BVT-N e hipoxantina encontrados para esa misma temperatura de almacenamiento, estos parámetros al igual que la cuenta total de microorganismos han sido considerados como indicadores de deterioro de productos pesqueros.

La Norma Oficial Mexicana NOM-027-SSA1-1993 establece un valor máximo permitido de 7 Log UFC/g o 10 000 000 UFC/g de organismos mesófilos para pescado fresco y/o refrigerado. En base a esto, se puede decir que el músculo de tilapia presenta una vida útil de al menos 14 días durante el almacenamiento a 0 °C, debido a que se obtuvieron valores de  $5.46 \pm 0.04$  y  $6.41 \pm 0.02$  Log UFC/g, de microorganismos mesófilos y psicrófilos, respectivamente. Con respecto a la temperatura de 5 °C, los organismos presentan una vida útil de al menos 8 días, debido a que se obtuvieron valores de  $6.51 \pm 0.07$  y  $6.47 \pm 0.01$  Log UFC/g de microorganismos mesófilos y psicrófilos, respectivamente.

## CONCLUSIONES

La diferencia de la temperatura de almacenamiento, afectó el desarrollo del *rigor mortis* de acuerdo al comportamiento observado en la mayoría de los parámetros evaluados (IR, glucógeno, ATP, AMP, IMP, HxR, Hx, índice K, BVT-N y la cuenta total de microorganismos), en donde los organismos almacenados a 5 °C presentaron una mayor velocidad en el desarrollo del *rigor mortis* en comparación con los almacenados a 0 °C. Por otra parte, el tiempo de almacenamiento afectó los parámetros relacionados con el *rigor mortis* durante el almacenamiento. De los parámetros evaluados, el índice K presentó su utilidad práctica para evaluar la calidad del músculo de tilapia, pudiendo asegurar una vida útil de por lo menos 16 días durante el almacenamiento a 0 °C y 8 días durante el almacenamiento a 5 °C.

## RECOMENDACIONES

- Evaluar el impacto que tiene la temperatura de almacenamiento sobre las proteínas musculares durante el tiempo de almacenamiento.
- Cuantificar y evaluar el comportamiento de las enzimas relacionadas en el proceso de *rigor mortis*, bajo las condiciones que fueron expuestas en el presente estudio.
- Llevar a cabo una evaluación sensorial para complementar las evaluaciones realizadas en el presente estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abe, H. y Okuma, E. (1991). *Rigor mortis* progress of carp acclimated to different water temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 2095-2100.
- Abugoch, L., Tapia, C., Aravena, M. E. López, L., Ramírez, A. y Oyarzo, M. (2011). Caracterización bioquímica, fisicoquímica y funcional de turbot (*Scophthalmus maximus*) y estudio de sus modificaciones durante el almacenamiento a 4 °C. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61(2), 200-208.
- Adebayo, T.B.C., Odu, N.N., Igiwiloh, N.J.P.N. y Okonko, I.O. (2012). Microbiological and physicochemical level of fresh catfish (*Arius hendelotic*) from different markets in Akwa Ibom State, Nigeria. *New York Science Journal*, 5(4), 46-52.
- Ando, M., Nishiyabu, A., Tsukamasa, Y. y Makinodan, Y. (1999). *Postmortem* softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. *Journal of Food Science*, 64, 423–428.
- Ando, M., Toyohara, H., Shimizu, Y. y Sakaguchi, M. (1991). *Post mortem* tenderization of fish muscle proceeds independently of resolution of *rigor mortis*. *Nippon Suisan Gakkashi*, 57(6), 1165-1169.
- Ando, M., Yoshimoto, Y., Inabu, K., Nakagawa, I. y Makinodan, Y. (1995). *Post mortem* change of three-dimensional structure of collagen fibrillar network in fish pericellular connective tissue corresponding to post-mortem tenderization. *Journal of Fishery Science*, 61, 327–330.
- Ashie, I.N., Smith J.P. y Simpson, B.K. (1996). Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36, 87–121.
- Ayensa, M., Montero, M., Bonderias, A. y Hurtado, J. (2002). Influence of some protease inhibitors of gelation of squid muscle. *Journal of Food Science*, 67(5), 1637-1641.
- Bakar, J. y Izzah A. N. (1995). Sensory, biochemical and microbiological changes of farmed catfish (*Clarias batrachus*, Linnaeus) and red tilapia (*Oreochromis sp.*) at ambient storage. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 18(3), 215-220.
- Batista, M. G., Lessi, E., Kodaira, M. y Falcão, P. D. T. (2004). Alterações bioquímicas *post-mortem* de matrinxã *brycon cephalus* (Günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24(4), 573-581.



- Berg, T., Erikson, U. y Nordtvedt, T.S. (1997). *Rigor mortis* assessment of Atlantic salmon (*Salmo Salar*) and effects of stress. *Journal of Food Science*, 62(3), 439-446.
- Bito, M., Yamada, K., Mikumo, Y. y Amanu, K. (1983). Studies on *rigor mortis* of fish. I. Difference in the mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified Cutting's method. *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, 109, 61-66.
- Bosco, A. J., Inoue, K., Shibata, T. y Aoki, T. (2010). Effect of bleeding on the quality of amberjack *Seriola dumerili* and red sea bream *Pagrus major* muscle tissues during iced storage. *Food Science and Technology*, 76, 389-394.
- Boyle, J. L., Lindsay, R. C. y Struiber, D. A. (1991). Adenine nucleotide degradation in modified atmosphere chill-stored fresh fish. *Journal of Food Science*, 56(5), 1267-1270.
- Bremner, H. A. (2002). Understanding the concepts of quality and freshness in fish. En: Bremner, H. A. (Ed.), *Safety and quality issues in fish processing*. (pp. 163-172). Boca Ratón, Florida, EUA: CRC Press.
- Caglak, E., Cakli, S. y Kilinc, B. (2008). Microbiological, chemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging. *European Food Research and Technology*, 226, 1293-1299.
- Cappeln, G. y Jessen, F. (2002). ATP, IMP, and glycogen in cod muscle at onset and during development of *rigor mortis* depend on the sampling location. *Journal of Food Science*, 67(3), 991-995.
- Castillo-Yáñez, F. J., Pacheco-Aguilar, R., Márquez-Ríos, E., Lugo- Sanchez, M. E. y Lozano-Taylor, J. (2007). Freshness loss in sierra fish (*scomberomorus sierra*) muscle stored in ice as affected by postcapture handling practices. *Journal of Food Biochemistry*, 31(1), 56-67.
- Chantler, P. D. (2006). Scallop adductor muscle: Structure and function. En: Shumway, S. E. y Parsons, G. J. (Eds.), *Scallops: biology, ecology and aquaculture*. (pp. 229-316). Amsterdam: Elsevier Academic.
- Cheftel, J. C. y Cheftel, H. (1976). Carne y pescado. En: Cheftel, J. C. y Cheftel, H. (Eds.), *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los alimentos*. (pp. 5-97). Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Cheng, C. S., Hamann, D. D. y Webb, N. B. (1979). Effect of species and storage time on minced fish gel texture. *Journal of Food Science*, 44(4), 1087-1092.

- Church, N. (1998). MAP fish and crustaceans sensory enhancement. *LWT- Food Science. Tecnology*, 12(2), 73-83.
- CONAPESCA. Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura. (2011). Anuario Estadístico de Agricultura y Pesca 2011. Recuperado de: [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario\\_2011](http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2011).
- Copes, J., Pellicer, K., del Hoyo, G., Brocardo, S., y Gianuzzi, L. (2008). Estudio del comportamiento del pH en filetes de pejerrey de laguna (*Odonthestes bonariensis*), conservado con y sin vacío, utilizando distintos tratamientos y almacenados a temperaturas de 4, 0 y -1.5 °C. *Analecta Veterinaria*, 28(1), 21-25.
- Coronado, B. A. L. y Moreno, V. M. J. (2011). *Evaluación de la calidad física, química y microbiológica de filete de tilapia (*Oreochromis niloticus*) adicionado con antimicrobianos naturales durante su almacenamiento en hielo*. (Tesis inédita de licenciatura). Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora.
- Cox, D. H. y Karahadian, C. (1998). Evaluation of microbial counts, nucleotide degradation, and sensory attributes of cultured and wild yellow perch (*Perca flavescens*) during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 7(1), 5 -26.
- Delbarre, L.C., Chéret, R., Taylor, R. y Verrez, B. V. (2006). Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(5), 409-421.
- Díaz-Tenorio, L. M. (2006). *Cambios postmortem en el músculo de camarón patiblanco (*Litopenaeus vannamei*) y el efecto de procesos post-cosecha en su textura*. (Tesis inédita de doctorado). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. México.
- Digre, H., Erikson, U., Aursand, I. G., Gallart-Jornet, L., Misimi, E. y Rustad, T. (2011). Rested and stressed farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) chilled in ice or slurry and effects on quality. *Journal of Food Science*, 76(1), 89–100.
- Domínguez, G. T. y Gutiérrez, V. (1993). *Elaboración y evaluación de la estabilidad de salchichas ahumadas de tilapia*. (Tesis inédita de licenciatura). Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Durán, A., Erdemli, U., Karakaya, M. y Tyilmaz, M. (2008). Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in pre-, in- or post-rigor periods. *Fisheries Science*, 74(5), 1146–1156.

- Erikson, U. (2001). Rigor measurements. En: Kestin, S., Wariss, P. (Eds.), *Farmed fish quality*. (pp. 283–97). Oxford, U.K: Blackwell Science.
- Erikson, U. y Misimi, E. (2008). Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by *perimortem* handling stress, *rigor mortis*, and ice storage. *Journal of Food Science*, 73(2), 50-59.
- Fagan, J. D., Gormley, T. R. y Mhuirheartaigh, M. U. (2003). Effect of freeze-chilling, in comparison with fresh, chilling and freezing, on some quality parameters of raw whiting, mackerel and salmon portion. *Food Science and Technology*, 36(7), 647–655.
- FAO. (2012). El Estado Mundial de la Pesca y Acuicultura 2012. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s00.htm>.
- Fiallos, C. C. E. (2009). *Estudio comparativo de la influencia del empaque, en la tilapia fresca; almacenado a temperaturas de refrigeración*. (Tesis de licenciatura, Escuela Superior Politécnica del Litoral). Recuperado de: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/392/1/706.pdf>.
- Fitzsimmons, K. (2010). Potential to increase global tilapia production. Recupero de: <http://www.gaalliance.org/update/GOAL10/Fitzsimmons.pdf>
- Forrest, J. C., Aberle, E. D., Hedrick, H. B., Judge, M. D. y Merkel. R. A. (1975). Conversion of muscle to meat. En: *Principles of Meat Science*. (pp. 145-156). San Francisco, USA: W. H. Freeman and Company.
- Fuentes-López, A. (2007). *Desarrollo de productos ahumados a partir de lubina (Dicentrarchus labrax L.)*. (Tesis de doctorado, Universidad Politécnica de Valencia). Recuperado de: <http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/7201/tesisUPV2755.pdf>.
- Galán, W. L. J., Luna, O. H. A. y García, S. J. A. (2008). Control de calidad de productos pesqueros. Recuperado de: <http://enip.com.mx/ap1-4.pdf>.
- Gandotra, R., Koul, M., Gupta, S. y Sharma, S. (2012). Change in proximate composition and microbial count by low temperature preservation in fish muscle of *labeo rohita* (Ham-Buch). *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2(1), 13-17.
- Gennari, M., Tomasselli, S. y Catrona, V. (1999). The microflora of fresh and spoilage sardines (*Sardines pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) sea a stored in ice. *Food Microbiology*, 16(1), 15-28.



- Ginés, R., Palacio, M., Zamorano, M. J., Argüello, A. y López, J. L. (2003). Starvation before slaughtering as a tool to keep freshness attributes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture International*, 10(5), 379–389.
- Goll, D. E., Otzuka, Y., Nagainis, P. A., Shannon, J. D., Sathe, S. K. y Muguruma, M. (1984). Role of muscle proteínases in maintenance of muscle integrity and mass. *Journal of Food Biochemistry*, 7(3), 173-178.
- Gonçalves, C. A., Antas, E. S. y Nuñez, M. L. (2007). Freshness and quality criteria of iced farmed senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(9), 3452–3461.
- Gornik, S. G., Albalata, A., Atkinson, R. J. A. y Neil, D. M. (2009). Biochemical investigations into the absence of *rigor mortis* in Norway lobster (*Nephrops norvegicus*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 373(1), 58-65.
- Graciano-Verdugo, A. Z. (2000). *Efecto del pH y usos de crioprotectantes sobre la estabilidad química, física y funcional de un concentrado proteico producido a partir de sardina monterrey (Sardinops sagax cearulea)*. (Tesis inédita de doctorado). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México.
- Günşen, U., Özcan, A. y Aydin, A. (2011). Determination of some quality criteria of cold stored marinated anchovy under vacuum and modified atmosphere conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 233-242.
- Haard, N. (1992). Biochemistry and chemistry of color and color change in seafood. En: Flinck, J. (Ed.), *Advances in seafood biochemistry, composition and quality*. Papers from the American Chemical Society. (pp. 305-360). Pennsylvania, USA: E. Technomic Publishing Co. Inc.
- Hernández, M.D., López, M.B., Álvarez, A., Ferrandini, E., García, G. B. y Garrido, M.D. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry*, 114(1), 237-245.
- Hozbor, M.C., Saiz, A.I., Yeannes, M.I. y Fritz, R. (2006). Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). *LWT- Food Science and Technology*, 39(2), 99–104.
- Hultmann, L. y Rustad, T. (2002). Textural changes during iced storage of salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11(3-4), 105-123.



- Huss, H. H., Dalgaard, P. y Gram, I. (1997). Microbiology of fish and fish products. En: Luten, J. B., Børresen, T., y Oehlenschläger, J. (Eds), *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*. (pp. 413). Amsterdam: Elsevier Science.
- Huss, H. H. (1998). *El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/V7180S/V7180S00.HTM>.
- Hyldig, G. y Nielsen, D. (2001). A review of sensory and instrumental methods used to evaluate the texture of fish muscle. *Journal of Texture Studies*, 32(3), 219-242.
- Hwang, G. C., Ushio, H., Watabe, S., Iwamoto, M. y Hashimoto, K. (1991). The effect of thermal acclimation on *rigor mortis* progress of carp stored at different temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(3), 541-548.
- Ihuahi, J. A., Egila, J. y Omojowo, F. S. (2010). Storage life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) in ice and ambient temperature. *National Institute for Freshwater Fisheries Research*, 2(5), 39-44.
- Iwamoto, M., Ioka, H., Saito, M. y Yamanaka, H. (1985). Relation between *rigor mortis* of sea bream and storage temperatures. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 51(3), 443-446.
- Iwamoto, M., Yamanaka, H., Watabe, S. y Hashimoto, K. (2006). Effect of storage temperature on *rigor-mortis* and ATP degradation in plaice (*Paralichthys olivaceus*) muscle. *Journal of Food Science*, 52(6), 1514-1517.
- Iwamoto, M., Yamanaka, H., Watabe, S. y Hashimoto, K. (1990). Comparison of *rigor-mortis* progress between wild and cultured plaices. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 56(1), 101-104.
- Jacober, L. F. y Rand, J. A. G. (1982). Biochemical evaluation of seafood. En: Martin, R. E., Flick, G.I., Hebard, C.E. y Ward, D.R. (Eds.), *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. (pp. 347-365). Westport, Connecticut: A VI Publishing Company.
- Jiménez-Ruiz, E. I. (2012). Efecto de la estacionalidad y la temperatura de almacenamiento en la bioquímica del rigor mortis de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* cultivada. (Tesis inédita de doctorado). Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora.
- Khalid, I. S. (2007). Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. *Food Chemistry*, 101(2), 592-600.

- Kiessling, A., Stien, L. H., Torslett, Ø., Suontama, J. y Slinde, E. (2006). Effect of *pre- and post-mortem* temperature on *rigor* in Atlantic salmon muscle as measured by four different techniques. *Aquaculture*, 259(1-4), 390–402.
- Kodaira, M., Tomé, E. y Pérez, M. (2001). Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios *post-mortem* y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) cultivados. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 14 (2), 53-59.
- Kristoffersen, S., Vang, B., Larsen, R. y Olsen, R. L. (2007). Pre-rigor filleting and drip loss from fillets of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, 38(16), 1721-1731.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L. y Cox, M. M. (2008). *Lehninger: principles of biochemistry*. New York: W.H. Freeman.
- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X. y Zhao, J. (2012). Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry*, 135, 140–145.
- Liu, S., Fan, W., Zhong, S., Ma, C., Li, P., Zhou, K. y Zhu, M. (2010). Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at 0°C based on sensory, microbiological, biochemical and physical attributes. *African Journal of Biotechnology*, 9(5), 692-701.
- Llerena, D. T. y Nué, P. G. (2002). Efecto de la temperatura de almacenamiento en refrigeración sobre el desarrollo del *rigor mortis* de la tilapia gris (*Oreochromis niloticus*). *Anales Científicos*, 53, 479-488.
- Love, R. M. (1976). *Processing Cod: The influence of season and fishing ground*. Aberdeen, Scotland: Torry Research Station.
- Lowe, T. E., Ryder, J.M., Carragher, J. F. y Wells, R.M. (1993). Flesh quality in snapper, *Pagrus auratus*, affected by capture stress. *Journal Food Science*, 58(4), 770-773.
- Mantilla, D., Kristinsson, H. G., Balaban, M. O., Otwell, W. S., Chapman, F. A. y Raghavan, S. (2008). Carbon monoxide treatments to impart and retain muscle color in tilapia fillets. *Food Chemistry*, 73(5), 390-399.
- Massa, A. E. (2006). *Cambios bioquímicos post-mortem en músculo de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío*. (Tesis de doctorado, Instituto Nacional de Tecnología Industrial). Recuperado de: [http://www.oceandocs.org/bitstream/1834/2602/1/Massa\\_2006.PDF](http://www.oceandocs.org/bitstream/1834/2602/1/Massa_2006.PDF).

- Kiessling, A., Stien, L. H., Torslett, Ø., Suontama, J. y Slinde, E. (2006). Effect of *pre- and post-mortem* temperature on *rigor* in Atlantic salmon muscle as measured by four different techniques. *Aquaculture*, 259(1-4), 390–402.
- Kodaira, M., Tomé, E. y Pérez, M. (2001). Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios *post-mortem* y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) cultivados. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 14 (2), 53-59.
- Kristoffersen, S., Vang, B., Larsen, R. y Olsen, R. L. (2007). Pre-rigor filleting and drip loss from fillets of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, 38(16), 1721-1731.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L. y Cox, M. M. (2008). *Lehninger: principles of biochemistry*. New York: W.H. Freeman.
- Li, T., Li, J., Hu, W., Zhang, X., Li, X. y Zhao, J. (2012). Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry*, 135, 140–145.
- Liu, S., Fan, W., Zhong, S., Ma, C., Li, P., Zhou, K. y Zhu, M. (2010). Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at 0°C based on sensory, microbiological, biochemical and physical attributes. *African Journal of Biotechnology*, 9(5), 692-701.
- Llerena, D. T. y Nué, P. G. (2002). Efecto de la temperatura de almacenamiento en refrigeración sobre el desarrollo del *rigor mortis* de la tilapia gris (*Oreochromis niloticus*). *Anales Científicos*, 53, 479-488.
- Love, R. M. (1976). *Processing Cod: The influence of season and fishing ground*. Aberdeen, Scotland: Torry Research Station.
- Lowe, T. E., Ryder, J.M., Carragher, J. F. y Wells, R.M. (1993). Flesh quality in snapper, *Pagrus auratus*, affected by capture stress. *Journal Food Science*, 58(4), 770-773.
- Mantilla, D., Kristinsson, H. G., Balaban, M. O., Otwell, W. S., Chapman, F. A. y Raghavan, S. (2008). Carbon monoxide treatments to impart and retain muscle color in tilapia fillets. *Food Chemistry*, 73(5), 390-399.
- Massa, A. E. (2006). *Cambios bioquímicos post-mortem en músculo de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío*. (Tesis de doctorado, Instituto Nacional de Tecnología Industrial). Recuperado de: [http://www.oceandocs.org/bitstream/1834/2602/1/Massa\\_2006.PDF](http://www.oceandocs.org/bitstream/1834/2602/1/Massa_2006.PDF).

- Mathews, C. K., Van Holde, K. E. y Ahein. K. G. (2002). *Bioquímica*. (3<sup>ra</sup> ed.) Madrid, España: Pearson.
- Mishima, T., Nonaka, T., Okamoto, A., Tsuchimoto, M., Ishiya, T., Tachibana, K. y Tsuchimoto, M. (2005). Influence of storage temperatures and killing procedures on *post-mortem* changes in the muscle of horse mackerel caught near Nagasaki Prefecture, Japan. *Fisheries Science*, 71, 187–94.
- Morzel, M., Sohler, D. y Van de Vis, H. (2002). Evaluation of slaughtering methods for turbot with respect to animal welfare and flesh quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(1), 19–28.
- Mørkøre, T., Pablo I., Mazo, T., Vildana, T. y Einen, O. (2008). Impact of starvation and handling stress on *rigor* development and quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L). *Aquaculture*, 277, 231-238.
- Nakayama, T., Goto, E. y Ooi, A. (1996). Observation of characteristic muscle structure related to delay in red sea-bream *rigor mortis* by spinal cord destruction. *Fisheries Science*, 62(6), 977-984.
- NOM-027-SSA1-1993. Norma Oficial Mexicana, Bienes y Servicios. Productos de la pesca. Crustáceos frescos-refrigerados y congelados. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/027ssa29.html>
- NOM-029-SSA1-1993. Norma Oficial Mexicana, Bienes y Servicios. Productos de la pesca. Especificaciones sanitarias. Recuperado de: <http://www.cofepris.gob.mx/Documents/.../029ssa1.pdf>.
- NOM-092-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias mesófilas aerobias en placa. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>.
- Ocaño-Higuera, V. M. (1999). *Caracterización parcial del comportamiento bioquímico posmortem y desarrollo de productos a partir del callo de almeja catarina (Argopecten ventricosus) y almeja mano de león (Nodipecten subnodosus) de Baja California México*. (Tesis inédita de maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Hermosillo, Sonora México.
- Ocaño-Higuera, V. M. 2003. *Efecto de la temperatura sobre la fisiología antemortem y la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor, en la almeja mano de león (Nodipecten subnodosus)*. (Tesis inédita de doctorado). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México.



- Ocaño-Higuera, V. M., Maeda-Martínez, A. N., Lugo-Sánchez, M. E., García-Sánchez, G., Márquez-Ríos, E., Gómez-Jiménez, S. y Pacheco-Aguilar, R. (2011). Effect of emerged shipment on the physiological condition of the adductor muscle in adult giant lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* (Sowerby 1835). *Aquaculture Research*, 42, 1087-1095.
- Ocaño-Higuera, V. M., Maeda-Martínez, A. N., Márquez-Ríos, E., Canizales-Rodríguez, D. F., Castillo-Yáñez, F. J., Ruíz-Bustos, E., Graciano-Verdugo A.Z. y Plascencia-Jatomea M. (2011). Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chemistry*, 125, 49-54.
- Ocaño-Higuera, V. M., Márquez-Ríos, E., Canizales-Dávila, M., Castillo-Yáñez, F. J., Pacheco-Aguilar, R. y Lugo-Sánchez, M. E. (2009). *Postmortem* changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*, 116(4), 933-938.
- Oliveira, A .C. M., O'keefe, S. F. y Balaban M. O. (2004). Video analysis to monitor *rigor mortis* in cultured gulf of Mexico sturgeon (*Ancipenser oxyrinchus desotoi*). *Food Engineering and Physical Properties*, 69(8), 392-397.
- Olsson, G. B., Ofstad, R., Lødemel, J. B. y Olsen, R. L. (2003). Changes in waterholding capacity of halibut muscle during cold storage. *Food Science Technology*, 36(8), 771-778.
- Omura, Y., Yamazawa, M., Yamashita, Y., Okazaki, E. y Watabe, S. (2007). Relationship between *postmortem* changes and browning of boiled, dried, and seasoned product made from Japanese common squid (*Todarodes pacificus*) mantle muscle. *Journal of Food Science*, 72(1), 44-49.
- Özden, Ö., Inuğur, M. y Erkan, N. (2007). Preservation of iced refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *European Food Research and Technology*, 225,797-805.
- Özoğul, Y., Özoğul, F., Kuley, E., Özkutuk, A. S., Gökbulut, C. y Köse, S. (2006). Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the black sea, during chilled storage. *Food Chemistry*, 99(4), 752-758.
- Özoğul, Y., Boğa, E. K., Tokur, B. y Özoğul, F. (2011). Changes in biochemical, sensory and microbiological quality indices of common sole (*Solea solea*) from the Mediterranean sea, during ice storage. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 243-251.
- Pacheco-Aguilar, R. (1994). Efectos del lavado y ciclos de congelación en el color del músculo molido de bacalao del pacífico (*Gadus macrocephalus*). *Revista de Ciencias Alimentarias*, 2(1), 18-21.

- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M. E. y Robles-Burgueño, R. (2000). Postmortem biochemical and functional characteristic of monterey sardine muscle stored at 0°C. *Journal of Food Science*, 65(1), 40-47.
- Pearson, A. M. y Young, R. B. (1989). *Postmortem changes during conversion of muscle to meat*. En: *Muscle and Meat Biochemistry*. (pp. 391-444). San Diego, CA. USA: Academic Press.
- Pedrosa-Menabrito, A. y Regenstein, J. M. (1988). Shelf-life extension of fresh-fish spoilage of fish. *Journal of Food Quality*, 11(2), 117-127.
- Poli, B.M., Parisi, G., Scappini, F. y Zampacavallo, G. (2005). Fish welfare and quality by pre-slaughter management. *Aquaculture International*, 13(1-2), 29-49.
- Poot, C. A. (2010). *Bioteconología del cultivo de tilapia: manejo integral usos y aplicaciones*. (1<sup>ra</sup> ed.). Campeche: Fundación Produce Campeche A.C.
- Racotta, I.S., Ramírez, J.L., Ibarra, A.M., Rodríguez-Jaramillo, M.C., Carreño, D. y Palacios, E. (2003). Growth and gametogenesis in the lion's paw scallop *Nodipecten (Lyropecten subnodosus)*. *Aquaculture*, 217, 335-349.
- Ramos, C. K. y Salinovich, C. A. (2008). *Efecto del sistema de envasado y uso de catequina en la calidad y vida de anaquel de filete de tilapia (Oreochromis niloticus) almacenado en hielo y en congelación*. (Tesis inédita de licenciatura). Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Rengifo, G. L. I. y Ordoñez G. E. S. (2010). Efecto de la temperatura en la capacidad de retención de agua y pH en carne de res, cerdo, pollo, ovino, conejo y pescado paco. *Revista del Encuentro Científico Internacional, ECIPERU*, 7(2), 77-85.
- Robb, D. H. F., Kestin, S. C. y Warriss, P. D. (2000). Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh color and gaping in rainbow trout. *Aquaculture*, 182(3-4), 261-269.
- Roth, B., Imstrand, A., Gunnarsson, S., Foss, A. y Shelvis-Smit, R. (2007). Slaughter quality and rigor contraction in farmed turbot (*Scophthalmus maximus*); a comparison between different stunning methods. *Aquaculture*, 272 (1-4), 754-761.
- Roth, B., Moeller, D., Veland, J.O., Imstrand, A. y Slinde, E. (2002). The effect of stunning methods on *rigor mortis* and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Engineering and Physical Properties*, 67(4), 1462-1466.

- Roth, B., Slinde, E., y Arildsen, J. (2006). Pre or *post mortem* muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on *rigor mortis* and the physical properties of flesh. *Aquaculture*, 257(1-4), 504–510.
- Ruff, N., Fitzgerald, R. D., Cross, T. F., Teurtrie, G., y Kerry, J. P. (2002). Slaughtering method and dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation affect *rigor mortis* and fillet shelf-life of turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture Research*, 33, 703-714.
- Ryder, J. M. (1985). Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high performance liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(4), 678-680.
- Saavedra, M. M. A. (2006). Manejo del cultivo de tilapia. Recuperado de: [http://csptilapianayarit.org/informacion/Generalidades\\_del\\_cultivo\\_de\\_Tilapia.pdf](http://csptilapianayarit.org/informacion/Generalidades_del_cultivo_de_Tilapia.pdf).
- Sagedhal, A., Busalmen, J. P., Roldán, H. A., Paredi, M. E. y Crupkin, M. (1997). *Post-mortem* changes in adenosine triphosphate and related compounds in mantle of squid (*Illex argentinus*) at different stages of sexual maturation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 6(4), 43-56.
- Saito, T., Arai, K. y Matuyoshi, M. (1959). A new method for estimating the freshness of fish. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 24,749-750.
- Sakinohara, A., Shindo, J. y Miki, H. (1998). Evaluation of *rigor mortis* in tilapia muscle by rheological and biochemical properties. *Memoirs of Faculty of Fisheries Kagoshima University*, 47, 7-11.
- Scherer, R., Augusti, P. R., Steffens, C., Bochi, V. C., Hecktheuer, L. H., Lazzari, R., Radüz-Nieto, J., Pomblum, S. C. G. y Emanuelli, T. (2005). Effect of slaughter method on postmortem changes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) stored in ice. *Journal of Chemistry and Toxicology*, 70(5), 348-353.
- SISPRO. (2009). Introducción al cultivo de la tilapia. Acuicultura y aprovechamiento del agua para el desarrollo rural. Recuperado de: [http://www.campotabasco.gob.mx/sispro\\_tilapia/index.htm](http://www.campotabasco.gob.mx/sispro_tilapia/index.htm).
- Sikorski, Z. E, Kolakowska, A. y Burt, J. R. (1990). Postharvest Biochemical and microbial changes. En: Sikorski, Z. E. (Ed.) *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. (pp. 55-75). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Skjervold, P. O., Bencze-Rora, A. M., Fjaera, S. O., Vegusdal, A., Vorre, A. y Einen, O. (2001). Effects of pre-, in-, or *post-rigor* filleting of live chilled Atlantic salmon. *Aquaculture*, 194(3-4), 315-326.

- Soccol, H. M. C., Oetterer, M., Gallo, C. R. Spoto, F. M. H. y Biato, O. D. (2005). Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Brazilian Journal of Food Technology*, 8(1), 7-15.
- Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J. y Luo, Y. (2011). Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22, 608-615.
- Stanley, D. E. (1983). Relation of structure to physical properties of animal material. En: Peleg, M. y Bagley, E. B. (Eds.) *Physical Properties of Food*. (pp. 157-206). Westport, CT, USA: Publishing Company Inc.
- Suárez, M. H., De Francisco, A., Beirão, L. E., Pardo-Carrasco, S. y Cortés-Rodríguez, M. (2007). Pérdida de textura *post mortem* de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío. *Acta Biológica Colombiana*, 12(1), 3-18.
- Surette, M. E., T. A. Gill y Leblanc, P. J. (1988). Biochemical basis of *post mortem* nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 19-22.
- Taliadourou, D., Papadopoulos, V., Domvridou, E., Savvaidis, I. N. y Kontominas, G. M. (2003). Microbiological, chemical and sensory changes of whole and filleted Mediterranean aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(13), 1373–1379.
- Tomé, E., Iglesias, M., Kodaira, M. y González, A. (2000). Efecto de la temperatura de almacenamiento en el *rigor mortis* y en la estabilidad de la tilapia (*Oreochromis spp.*) cultivada. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 10(4), 339-345.
- Tomé, E., Pérez, M. y Kodaira, M. (2001). Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la degradación de ATP y sus catabolitos en la cachama (*Cachama sp.*) cultivada. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 11(4), 373-378.
- Valverde, M. A. (2006). *Determinación del potencial del mercado interno de consumo de tilapia en la provincia de los ríos*. (Tesis de licenciatura, Escuela Superior Politécnica del Litoral). Recuperado de: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/1773/1/3478.pdf>
- Vaz, P. P. y Seixas, P. (2006). Development of new quality index method (QIM) schemes for cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*). *Food Control*, 17(2), 942-949.
- Wang, H., Liceaga-Gesualdo, A. M. y Li-Chan, E. C. Y. (2006). Biochemical and physicochemical characteristics of muscle and natural actomyosin isolated from young Atlantic salmon (*Salmo salar*) Fillets stored at 0 and 4°C. *Journal of Food Chemistry and Toxicology*, 68(3), 784-789.



- Wang, H., Liceaga-Gesualdo, A. M. y Li-Chan, E. C. Y. (2003). Physicochemical properties of muscle and natural actomyosin extracted from farmed atlantic salmon (*Salmo salar*) stored at 4°C. *Journal of Food Biochemistry*, 29, 71–87.
- Wang, D., Tang, J., Correia, L. y Gill, T. (1998). *Post mortem* changes of cultivated Atlantic salmon and their effects on salt uptake. *Journal of Food Science*, 63(4), 634–637.
- Watabe, S., Ushio, H., Iwamoto, M., Kamal, M., Ioka, H. y Hashimoto, K. (1989). *Rigor mortis* progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55(10), 1833-1839.
- Wongso, S., Ushio, H., Ohshima, T. y Yamanaka, H. (1998). Changes in content of octopine, acidic opines, related amino acids and phosphoarginine in the adductor muscle of three species of scallop during storage. *Journal of Food Biochemistry*, 22(1), 65-81.
- 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 Acuatic Sciences. Canada: Nova Scotia.