

CAMBIOS QUIMICOS Y ESTRUCTURALES EN TRONQUITOS DE SARDINA (*Sardinella aurita* V.) CONGELADOS Y ALMACENADOS A -40°C

Chemical and Structural Changes of Round Sardine (*Sardinella aurita* V.) During Frozen Storage at -40°C

Deokie González¹, Jaime Valls Puig², Ana Paredes² y Hector Finol³

¹ Estación de Investigaciones Marinas de Margarita, EDIMAR. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Apartado 144, Porlamar. Estado Nueva Esparta, Venezuela. E-mail: dgonzalez@edimar.org. ² Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología. Universidad Central de Venezuela. Apartado. 47097. Caracas 1041-A, Venezuela. E-mail: jvalls@strix.ciens.ucv.ve. ³ Centro de Microscopía Electrónica. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela

RESUMEN

Se evaluó el comportamiento de la fracción proteica y lipídica, y los posibles cambios estructurales del músculo de sardina (*Sardinella aurita* V.), de un lote de sardinas en forma de tronquitos (sin cabeza, escamas, vísceras y cola), congelados y almacenados por 6 meses a -40°C . A las muestras se les realizó análisis de: solubilidad proteica en solución salina (SPS) y en SDS-2mercaptoetanol (SDS-M), perfil de ácidos grasos (AG), así como una evaluación del tejido muscular por microscopía electrónica (ME). La solubilidad proteica en solución salina mostró inestabilidad y progresiva pérdida de solubilidad durante la experiencia, presentando valores de 67,3% hasta 50,8%, manifestando una pérdida de proteína de 24%. Igual comportamiento se obtuvo con la solubilidad proteica en SDS-2mercaptoetanol, de 75,7% hasta 69,9% observándose una disminución progresiva hasta el final del almacenamiento, indicando una desnaturalización notable de las proteínas. No se presentó variabilidad en el perfil de ácidos grasos, de los cuales se destacaron C14: 0, C16: 0, C6: 1(n-7) y C22: 6(n-3), en mayor proporción los ácidos grasos saturados, seguido de los poliinsaturados. La microscopía electrónica, reveló una organización y buena definición de los diferentes componentes que conforman el tejido muscular de las muestras frescas, no así para las almacenadas, donde se observó un cambio en el ordenamiento de las miofibrillas, aumento del espacio intramuscular y evidencia de la ruptura del tejido conectivo.

Palabras clave: Tronquitos de sardinas, congelación, proteínas, lípidos.

ABSTRACT

To evaluate the behavior of the protein and lipid fraction, as well as the possible structural changes of the sardine muscle (*Sardinella aurita* V.) from a group of round sardine carcasses (without head, scales, guts and tail) frozen and stored during 6 months at -40°C . The following sample analyses were performed: protein solubility in saline solution (SPS) and in SDS-2mercaptoetanol (SDS-M), fatty acid profile (AG), as well as an evaluation of the muscular tissue by electron microscopy technique (ME). The protein solubility in saline solution showed instability and progressive loss of solubility during the experiment, presenting values of 67.3% down to 50.8%, and showing a loss of 24% protein. Similar behavior was obtained with protein solubility in SDS-2mercaptoetanol, from 75.78% down to 69.98% with a progressive diminutions until the end of the storage time, indicating a remarkable denaturation of proteins. Variability in the fatty acid profile was not observed, of which C14:0, C16:0 stood out, C6:1(n-7) and C22:6(n-3), in greater proportion the saturated fatty acids, followed of the polyunsaturated ones. The electron microscopy technique revealed an organization and good definition of the different components that conform the muscular tissue of the fresh samples, but not for the stored ones, where a change in the ordering of myofibrils was observed together with an increase of the intramuscular space and evidence of the rupture of the connective tissue.

Key words: Round sardine carcasses, frozen, proteins, lipids.

INTRODUCCIÓN

La sardina (*Sardinella aurita* V.) es el principal recurso pesquero en Venezuela y debido a su gran demanda, se hace imprescindible establecer procesos tecnológicos con el fin de lograr su mayor aprovechamiento. La congelación permite almacenar las sardinas por largos períodos de tiempo y una vez que se procede a su descongelación, se obtiene un producto en condiciones muy similares a las que poseía antes de su congelación [24, 31]. Constituye una de las materias primas más importantes en las fábricas de conservas de pescado, representando un 24% de la producción pesquera nacional [7, 27]. De esta forma se puede notar la importancia que posee para Venezuela este tipo de explotación, no solo por su aporte económico, sino por su significado social que genera un alto número de empleos directos e indirectos [18].

Especial interés tiene la congelación del producto en forma de tronquitos de sardina, a las cuales se le han removido la cabeza, escamas, vísceras y cola. Esta presentación es considerada una de las formas usuales de exportación congelada, para su utilización en la elaboración de conservas y resulta una alternativa para la comercialización de esta especie en nuestro país, ya que el consumidor tendría la posibilidad de adquirir un producto semi-procesado, limpio, listo para su cocción, económico y de alto valor nutritivo [17, 27].

La sardina, representa una excelente fuente de proteínas, aminoácidos, lípidos y minerales. Debido a su alta demanda y su condición de perecibilidad, se emplean la refrigeración y congelación, con la finalidad de aumentar su disponibilidad en el mercado para su consumo directo. Existen compuestos químicos de alto valor nutricional, entre ellos, la fracción proteica y lipídica de la sardina que son los más importantes para la dieta y salud del consumidor, los mismos por efectos de la refrigeración, congelación y almacenamiento prolongados pueden ser alterados y disminuir así el valor nutritivo, además de afectar la aceptabilidad por cambios de aroma, sabor, textura y consistencia. Debido a la mala manipulación y baja eficiencia de la red de refrigeración/congelación y distribución de que son objeto los productos del mar en el país, es conveniente la aplicación de índices de calidad o frescura físicos y químicos, para así determinar los tiempos en los cuales estos productos marinos son aceptables para consumo humano y que no representen un riesgo de salud pública, o muestren una disminución significativa de su calidad nutricional.

Las variables bioquímicas, como la actividad enzimática del músculo de pescado o la susceptibilidad de las proteínas a los efectos de enzimas proteolíticas, son indicadores que permiten evaluar la desnaturalización de la fracción proteica como consecuencia de los cambios que pueden ocurrir durante el almacenamiento [28]. Durante el almacenamiento se produce una considerable cantidad de ácidos grasos libres, producto principalmente de la acción de las enzimas fosfolipasas y triglicérid lipasa, a pesar de que aun no ha sido establecida plena-

mente la correlación entre la actividad de estas enzimas y la tasa de aparición de los ácidos grasos libres [21].

Muchos cambios que ocurren en el pescado congelado han sido evaluados principalmente desde el punto de vista bioquímico, físico-químico y sensorial, existiendo una cantidad menor de investigaciones enfocadas a los cambios estructurales del músculo por los procesos de congelación y almacenamiento [1, 2, 5, 6, 12, 23].

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el comportamiento de la fracción proteica: solubilidad proteica en solución salina (SPS) y en SDS-2mercaptoetanol (SDS-M), lipídica: perfil de ácidos grasos (AG), así como los posibles cambios estructurales de tronquitos de sardina (*Sardinella aurita* V.) congelados y almacenados por 6 meses a -40°C , para así establecer el tiempo de almacenamiento en congelación durante el cual obtenga un producto de buena calidad de consumo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental y toma de muestra

El diseño experimental se fundamentó en los objetivos de la investigación y consistió en un diseño completamente aleatorizado, para evaluar el tiempo de almacenamiento a -40°C sobre parámetros químicos (SPS, SDS-M y AG) y estructurales de sardina. Para ello se dispuso de una muestra de 20 Kg constituida por ejemplares de *S. Aurita* V., la misma fue seleccionada de manera aleatoria de los tanques de recepción de la Compañía Anónima Industrial de Pesca (CAIP) localizada en Cumaná, estado Sucre, Venezuela, en el mes de mayo del 2002. La muestra se colocó en una cava con abundante hielo y fue transportada por vía terrestre al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimento de la Facultad de Ciencias de la UCV. En dicho Instituto se procedió a lavar las sardinas, luego se eliminó las escamas, vísceras, cola y cabeza, de manera de obtener los tronquitos, en etapa subsiguiente se lavaron y se distribuyeron en bandejas de anime y se envolvieron con Envoplas® (material plástico transparente). Posteriormente se introdujeron en un congelador de placas marca Dole (Freze-cel), con control térmico hasta que alcanzó una temperatura de -40°C . Una vez lograda la congelación, se almacenaron las bandejas en una cava a -40°C (Cava marca So-Low) por seis meses.

Toma de muestra para las determinaciones químicas y estructurales

Para las determinaciones de SPS, SDS-M y AG, se tomaron al azar de 5 ejemplares de tronquitos congelados, a continuación se mezcló el músculo en una licuadora de uso doméstico (Osterizer. Super Deluxe. 5 velocidades) hasta obtener una mezcla homogénea; los análisis se realizaron por triplicado tomando muestras a: 0 (Control); 1; 2; 3; 4; 5 y 6 meses. Para la microscopía electrónica, se realizaron cortes musculares con bisturí, de aproximadamente 1 mm^2 , para ser su-

mergidas en viales de vidrio con una solución fijadora (glutaraldehído al 3% en buffer fosfato) e inmediatamente trasladadas en una cava con abundante hielo, al laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, las muestras fueron tomadas en tronquitos frescos, en tronquitos congelados y almacenados por un mes 1 y 4 meses.

Determinaciones en los tronquitos de sardinas congelados y almacenados a -40°C

Proteína soluble extraíble con soluciones salinas

(SPS): Con base en el método descrito por Pastoriza y Sampeiro [26] se mezcló 50 g de músculo con 300 mL de KCL (0,95M) que contiene 0,05 M de NaHCO₃ (pH 7,6-8,0) a 3°C por 2 min. en un homogenizador (ACE, modelo AM-3, Nihonseiki Kaisha, LTD, Japón) dejándose en reposo por 15 horas a 2-3°C. El sobrenadante fue separado por centrifugación a 10.000 rpm por 30 min. a 3°C (Centrífuga Sorvall, modelo RC2-B con un rotor SS-34, de Sorvall, Wilmington, DE) y el residuo se volvió a extraer sucesivamente con 250 y 200 mL de la solución salina. Los tres extractos fueron combinados y se añadió un volumen equivalente a la solución de ácido tricloroacético (10%), el precipitado obtenido fue separado por centrifugación a 10.000 rpm 10 min., y se le determinó nitrógeno total por el método Kjeldahl, de acuerdo a la AOAC, Nº 955.04 1997 [4].

Solubilidad Proteica en SDS-2mercaptoetanol

(SDS-M): Mediante la metodología de Castrillón y col. [10]: 1,5 g de pulpa de sardina fueron dispersados en 50 mL de dodecilsulfato de sodio (SDS: 3%) que contenía 2-mercaptoetanol (1%), dejándose a temperatura ambiente durante 30 min. con agitación continua. Después se calentó en baño maría por 30 min. y filtró con papel de Whatman cualitativo Nº4. La proporción de proteína soluble, se calculó del contenido de proteínas en el sobrenadante y el de proteína total utilizando el método Kjeldahl AOAC, Nº 955.04 [4].

Perfil de ácidos grasos: La fracción grasa fue extraída del músculo de pescado usando una relación pulpa: cloroformo: metanol de 1:6:3 (p: v: v) tratados previamente con 10 mg de antioxidante BHT/100mL), adicionando luego agua destilada en igual cantidad a la suma de los solventes [16]. Se agitó por 1 hora y se dejó reposar en refrigeración por 24 horas, al cabo de este tiempo se separó la fase clorofórmica y luego fue evaporada en atmósfera de nitrógeno a 30°C. Los lípidos aislados, fueron transesterificados a ésteres metílicos de ácidos grasos mediante calentamiento a 100°C en reflujo por 1 hora, con una mezcla de 5 mL de metanol: benceno: ácido sulfúrico en relación de 80:10:4 (v:v:v). Luego se dejó enfriar y los ésteres metílicos fueron extraídos añadiendo a 0°C; 5 mL de agua destilada y 5 mL de éter de petróleo. Los ésteres metílicos se analizaron por cromatografía de gases con detector de ionización a la llama utilizando como fase móvil nitrógeno, la temperatura del horno 200°C en condiciones isotérmicas, temperatura del inyector 250°C e inyectando 1µL del extracto de la muestra en un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard mode-

lo 5880-A). El análisis fue realizado en el laboratorio de Lipidología, Instituto de Medicina Experimental Facultad de Medicina, de la Universidad Central de Venezuela.

Microscopia Electrónica: El procedimiento de las muestras para su observación al microscopio electrónico de transmisión marca Hitachi H-500, con voltaje de aceleración de 100 kV, se realizó de acuerdo a la técnica del corte fino, la cual comprende los siguientes pasos: fijación en frío con glutaraldehído al 3% en buffer fosfato (pH 7,4 320 mOsm), posfijación con OsO₄ al 1%, deshidratación con etanol e inclusión con Epon; los cortes fueron obtenidos mediante el uso de una cuchilla diamante en un ultramicrotomo Poster-Blum MT2-B, las secciones se colorearon con acetato de uranio y citrato de plomo. El análisis fue realizado en el Centro de Microscopia Electrónica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela.

Análisis Estadístico

A los resultados obtenidos para cada uno de los análisis realizados (según la toma de muestra antes explicada), se aplicó las pruebas de los Supuestos del Análisis de Varianza, posteriormente se analizaron mediante pruebas estadísticas paramétricas (ANAVAR), luego para aquellas variables donde existieron diferencias significativas se procedió a realizar una Prueba de Media de Tukey con una probabilidad del 5% (P<0,05) [30].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la desnaturalización de las proteínas

Los análisis más empleados para evaluar la degradación que ocurre en las proteínas de pescado son relativos a las pérdidas de solubilidad o de la extracción de la proteína total del pescado [32]. El análisis de varianza realizado a los resultados de SPS y en SDS-M, indicó una alteración en la constitución de las proteínas durante el almacenamiento, observándose claramente en la FIG. 1.

El método de SPS permite conocer las variaciones que en congelación sufren las proteínas miofibrilares, ya que constituyen un alto porcentaje de las proteínas totales del pescado, que se ven afectadas en sus propiedades funcionales como consecuencia de la temperatura y forma de congelación [18]. La FIG. 1 muestra las tendencias que tiene cada una de las variables durante el almacenamiento, estas indican que las proteínas no fueron estables a lo largo de la experiencia, mostrando una progresiva pérdida de solubilidad. Al realizar el análisis de medias (P<0,05) se observó una diferencia significativa durante el almacenamiento, donde este parámetro disminuye significativamente desde 67,3% hasta 50,8%, manifestando una pérdida de proteína de 24%

El descenso en este tipo de proteína durante la congelación ha sido reportado por diferentes investigadores, mostrando el mismo comportamiento en diferentes especies como tila-

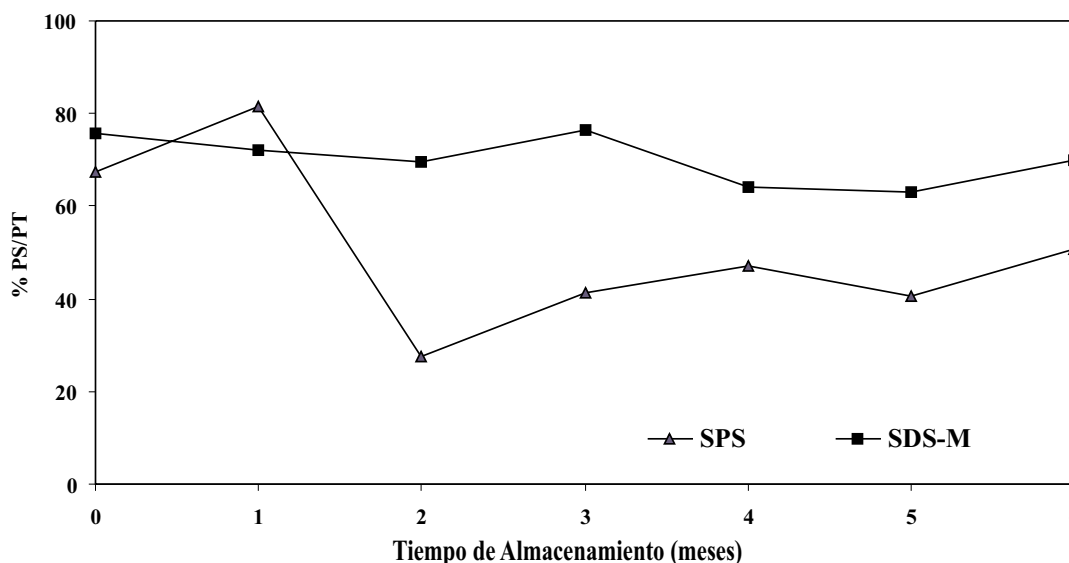


FIGURA 1. VARIACIÓN DEL PORCENTAJE DE SOLUBILIDAD PROTEICA EN SOLUCIONES SALINAS (SPS) Y EN SDS-2MERCAPTOETANOL (SDS-M) EN TRONQUITOS DE SARDINAS A -40°C .

pia (*Oreochromis híbrido*) [3], merluza (*Merluccius hubbisi*) [13] obteniendo pérdidas del 60% y del 25% después de 6 meses a -20°C y -30°C , mientras que en bagre marino (*Tachysurus dussumieri*) [29] observaron un 37% en el almacenamiento por 6 meses a -20°C . En pulpa de sardina [33] al igual que bacalao (*Gadus morhua*) en filete a -20°C [10] encontraron una disminución significativa y variaciones en otros factores como: capacidad de emulsión y viscosidad relativa, debido principalmente a la desnaturalización y agregación proteica.

La mayoría de las proteínas que se desnaturalizan en congelación son solubles en compuestos como SDS (dodecilfosfato de sodio) y más del 95% de las mismas son solubles cuando se combinan con 2-mercaptoetanol como solvente [19, 20]. En relación a la solubilidad proteica en una SDS-M en los tronquitos de sardina, se observó una disminución progresiva, más no significativa ($P > 0,05$), durante el almacenamiento. Comportamiento similar se obtuvo en sardinas a -20°C , con una disminución del 4% en este parámetro [10, 11, 20].

En términos generales, la mayoría de los resultados de esta experiencia concuerdan con los obtenidos por diversos investigadores que indican, que los almacenamientos prolongados a bajas temperaturas, si bien alargan la duración del producto, afectan la solubilidad proteica, disminuyendo su valor nutritivo, además de afectar la aceptabilidad del pescado por cambios en sus características estructurales, sin embargo hay que tener presente que algunas diferencias pueden ser atribuidas a la especie o la individualidad [5, 8, 9, 10, 11, 20, 22, 31].

Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la composición de ácidos grasos

En la TABLA I, se reporta la tendencia de la composición de los ácidos grasos en los lípidos de tronquitos de sardinas almacenados a -40°C durante 6 meses. Los ácidos grasos saturados permanecieron prácticamente invariables durante los

primeros 4 meses, sufriendo un pequeño descenso hacia el final del estudio. En relación a los ácidos grasos mayoritarios se nota una alta proporción de ácidos como: C14:0, C16:0, C16:1(n-7), C20:5(n-3) y C22:6(n-3), presentando este último una disminución al final de la experiencia, el resto de los ácidos grasos se mantienen con pequeñas variaciones ocasionadas posiblemente a la diferencia entre individuos.

La oxidación de los lípidos en el pescado congelado disminuye el tiempo de vida de muchas especies, especialmente en aquellas donde el contenido de ácidos grasos poliinsaturados es elevado. La oxidación e hidrólisis de los lípidos se inician desde la superficie hacia el interior del pescado, lo que provoca enranciamiento parcial y generación de compuestos, a partir de las grasas que ocasionan alteraciones de: sabor, olor, textura y propiedades funcionales [14, 19, 33].

La mayoría de las investigaciones realizadas en pescados, señalan una ligera variación en el contenido de ácidos grasos, como por ejemplo al evaluar bagre (*Tachysurus dussumieri*) a -20°C por 4 meses, la proporción de ácidos grasos saturados se mantuvo inalterable, mientras que los monoinsaturados disminuyeron y los poliinsaturados aumentaron [29]. En pulpa de *S. aurita* V. congelada, los ácidos grasos de la serie n-3 fueron afectados por el cambio de temperatura de -10°C a -20°C , [25]. Algunos autores [11, 15] relacionaron el efecto de la oxidación con la disminución de los ácidos grasos C22:6, C16:0 durante el almacenamiento congelado; describen además que las concentraciones de C20:5, n-3 y C22:6, n-3 disminuyen ligeramente debido a la autooxidación, mientras que el linolénico, oleico y palmítico se incrementan en el almacenamiento.

Puede haber preferencia para la oxidación, por varias causas; entre ellas y la más conocida es por el número de insaturaciones, a mayor número de insaturaciones mayor es la oxidación; los ácidos grasos libres son más susceptibles a esta reacción.

TABLA I
VALORES DE ÁREAS CORRESPONDIENTE AL ANÁLISIS DE PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN TRONQUITOS DE SARDINAS A -40°C

Ácido graso	Tiempo de Almacenamiento							
	0	1	2	3	4	5	6	
C10:0	3,03	1,51	0,29	0,42	2,91	1,89	0,23	
C12:0	N.D.	0,79	N.D.	N.D.	0,11	N.D.	N.D.	
C14:0	12,39	11,18	13,99	14,20	12,26	12,8	14,92	
C16:0	21,71	22,29	23,05	22,24	21,39	23,31	22,34	
C18:0	4,03	4,65	4,61	4,21	4,59	4,66	3,78	
C20:0	2,62	3,10	2,19	2,69	2,73	2,79	3,13	
Total saturados	43,78	43,51	44,13	43,76	43,99	45,45	44,36	
C16:1(n-7)	10,28	10,43	9,61	11,04	10,43	9,92	11,90	
C18:1(n-9)	7,93	9,31	9,30	8,72	8,19	9,74	9,91	
Total monoinsaturados	18,21	19,74	18,91	19,76	18,63	19,66	21,81	
C18:2 (n-6)	1,36	2,06	2,21	1,88	1,86	2,10	1,94	
C18:3 (n-6)	0,32	0,68	0,61	0,53	0,57	0,61	0,62	
C18:3(n-3)	0,39	0,77	0,74	0,57	0,53	0,68	0,60	
C20:3(n-6)	0,41	0,06	0,60	0,35	0,35	0,49	N.D.	
C20:4(n-6)	2,45	2,32	2,80	2,65	2,82	2,37	2,10	
C20:5(n-3)	16,19	14,25	12,86	14,95	14,20	13,72	15,74	
C22:6(n-3)	16,89	16,61	17,14	15,56	17,05	14,92	12,82	
Total poliinsaturados	38,01	36,75	36,96	36,48	37,38	34,89	33,82	
Total ácidos grasos	100	100	100	100	100	100	100	

N.D.: No detectado.

Caracterización del tejido muscular de tronquitos de sardinas: fresco, congelados y almacenados a -40°C

En la FIG. 2 se muestra un corte transversal del músculo rojo de sardina fresca, en ella se nota claramente la organización de las miofibras y miofibrillas. Las miofibrillas se encuentran unidas en forma compacta y rodeadas por una delgada capa de sarcoplasma, los componentes del sarcómero están bien identificados, observando claramente la banda I, banda A, banda H y su línea M un poco más densa, al igual que la línea Z. La presencia de mitocondrias, componentes principales que identifican el músculo rojo, es muy evidente y muy bien preservadas tanto en la membrana lisa externa como la interna. Existen cambios autolíticos y degradativos que ocurren durante el almacenamiento que afectan la calidad bioquímica del músculo y por consecuencia se generan cambios a nivel estructural. La organización general del tejido muscular posterior a un proceso de congelación es alterada, por: a) la presencia de espacios concéntricos o huecos dentro de las miofibras, b) la ruptura del patrón repetitivo de la disposición de las miofibrillas y c) la alteración en el arreglo de los miofilamentos [6]. Estos cambios se hicieron evidentes en esta investigación y se pueden

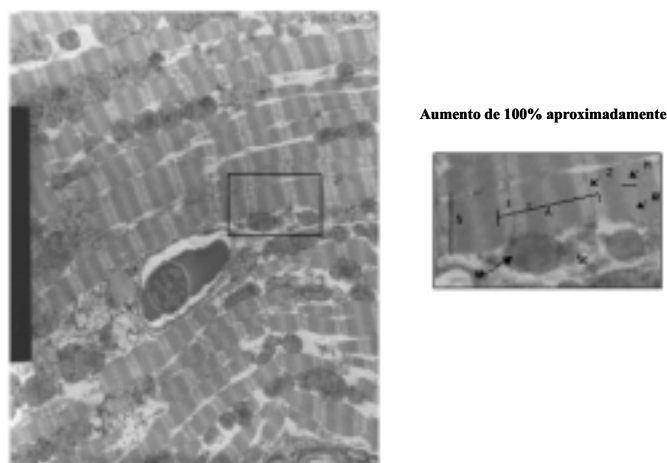


FIGURA 2. IMAGEN DIGITALIZADA DE LA SECCIÓN LONGITUDINAL DEL MUSCULO DE SARDINA FRESCO (12000 X), CON UNA SECCIÓN DE 100% DE AUMENTO APROXIMADAMENTE, DONDE SE SEÑALA: S) SARCOMERO; A) BANDA A; H) BANDA H; I) LINEA I; M) LINEA M; Z) LINEA Z; Mc) MITOCONDRIAS Y Sc) SARCOPLASMA.

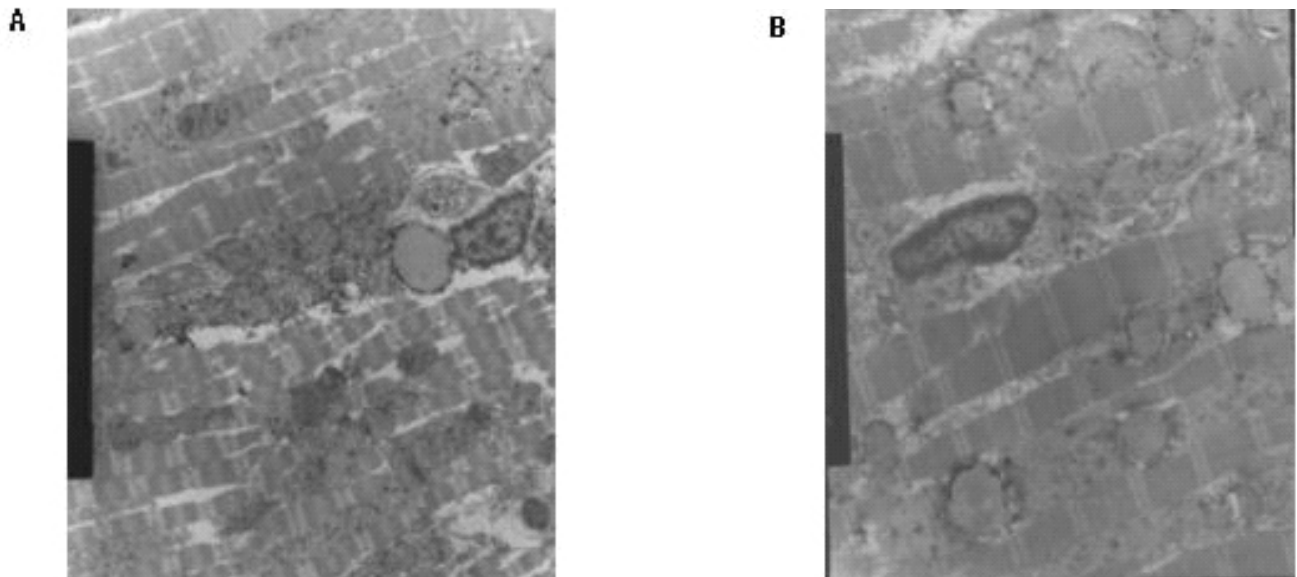


FIGURA 3. IMAGEN DIGITALIZADA DE LA SECCIÓN LONGITUDINAL DEL MÚSCULO DE SARDINA FRESCO Y CONGELADO A-40°C.

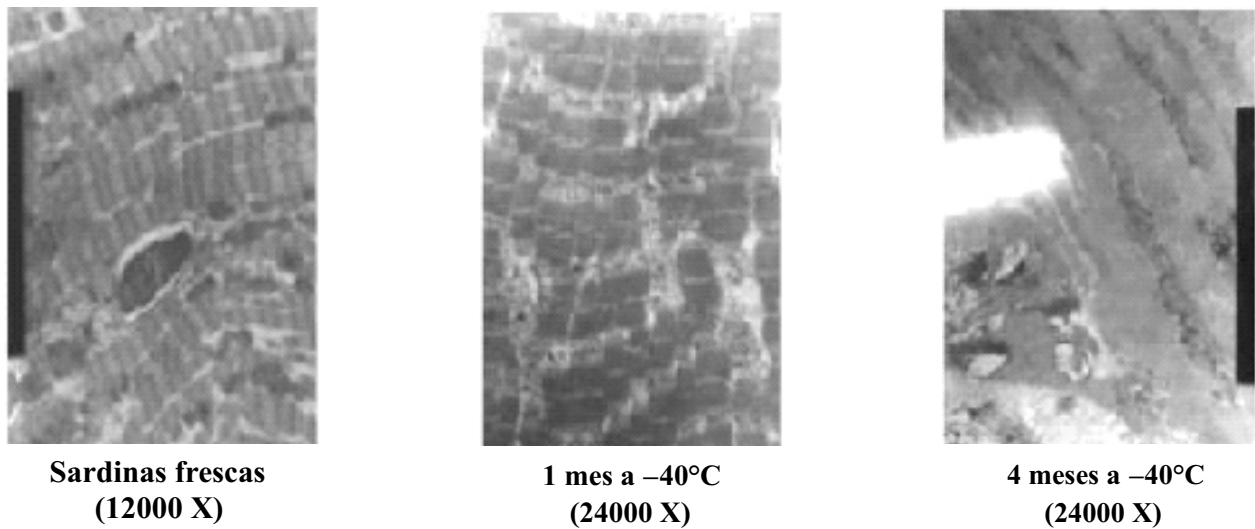


FIGURA 4. IMAGEN DIGITALIZADA DE LA SECCIÓN LONGITUDINAL DEL MÚSCULO DE SARDINA FRESCO Y ALMACENADO (1 Y 4 MESES) A-40°C.

notar en la FIG. 3 donde los cristales de hielo crearon espacios libres en las miofibras, distribuidos a lo largo del tejido, en el espacio interior de estos huecos se observa material celular o tejido dañado relacionado quizás con el sarcoplasma, ya que no existe evidencia de miofibrillas, miofilamentos, ni mitocondrias dentro de estos espacios huecos.

Durante el almacenamiento en congelación, independientemente de la temperatura utilizada, existe un proceso de recristalización que hace que el espacio extracelular incrementa su tamaño [2, 5, 23], como se puede evidenciar en la FIG. 4, donde se destaca al primero y cuarto mes de almacenamiento, el encogimiento de las miofibras con el consecuente crecimiento extracelular antes mencionado como también la separación de las miofibrillas a causa de la formación de cristales de hielo. Estos cambios estructurales están muy relacionados

con las variaciones químicas que se presentaron en el estudio, el movimiento de agua del espacio intracelular al extracelular causa una deshidratación de las fibras y miofilamentos, con la reducción del diámetro y distancia entre ellos, al igual de que este fenómeno conduce a la desnaturalización de las proteínas, que no es más que el desarreglo y transformación de las estructuras cuaternarias y terciarias de las proteínas a estructuras más simplificadas que derivan cambios directos del tejido y por consecuencia a la pérdida de textura y de las propiedades funcionales en el músculo de sardina [5].

CONCLUSIONES

La solubilidad proteica en solución salina (SPS), mostró inestabilidad a lo largo de la experiencia, indicando una pro-

gresiva pérdida de solubilidad en los 3 primeros meses, igual comportamiento presentó la fracción proteica soluble en SDS-2mercaptoetanol (SDS-M) hasta el final del almacenamiento.

Los tronquitos de sardinas no mostraron variabilidad con el tiempo de almacenamiento en el contenido de ácidos grasos. La mayor proporción de ácidos grasos saturados es mayor seguido por los poliinsaturados.

La microscopia electrónica evidenció en el músculo fresco una organización y buena definición de los diferentes componentes que conforman el tejido muscular. No así para las muestras congeladas y almacenadas, donde se destaca un cambio en el ordenamiento de las miofibrillas, aumento de espacios extracelulares y formación de espacios libres, así como una notable reducción del espacio intracelular y de evidenciarse un desgarramiento del tejido conectivo.

AGRADECIMIENTO

Especial agradecimiento a instituciones como: Fundacite Aragua (Proyecto Nº 1999-FRH-02-03-10-1), al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela a través de los proyectos: PI 03-32-3986-2000, Tipo A 03-33-4649-2000 y PI 03-32-3843-2000 y la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA), por su valiosa colaboración y financiamiento en la realización de este trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABLETT, R.; GOULD, S. Subcellular membrane integrity of Atlantic cod (*Gadus morhua*) myotoma tissue: effects of frozen storage. **J. Food Sci.** 57(3):796-799. 1992.
- [2] ANDO, M.; TOYOHARA, H.; SHIMIZU, Y.; SAKAGUCHI, M. Post-mortem tenderization of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure. **J. Sci. Food Agric.** 55:589-597. 1991.
- [3] ARVELAIZ, P. Evaluación de la estabilidad lipídica y proteica de la Tilapia (*Oreochromis híbrido*) durante su almacenamiento congelado. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Central de Venezuela. (Trabajo Especial de Postgrado). 104 pp.1996.
- [4] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INC. (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 22 th Ed. Edited by Kenneth Helrich. Washington D.C. 1997.
- [5] BELLO, R. Efecto de la congelación y las condiciones de post-mortem en la estructura del músculo esquelético del pescado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. (Trabajo de ascenso). 179 pp. 1980.
- [6] BELLO, R.; LUFT, J.; PIGOTT, G. Ultrastructural study of skeletal fish muscle after freezing at different rates. **J. Food Science**. 47:1389-1394. 1982
- [7] CABELLO, A.; BELLO, R., Pesquería y Comercialización de la Sardina en el Oriente de Venezuela. III Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina. Margarita. FAO. **Fisheries Technical Paper**. Nº 538: 115-119. 1996.
- [8] CAPPELN, G.; NIELSEN, J.; JESSEN, F. Synthesis and degradation of adenosine triphosphate in cod (*Gadus morhua*) at subzero temperatures. **J. Sci. Food Agric.** 79:109. 1999.
- [9] CARECHE, M.; DEL MAZO, M. L.; TORREJÓN, P.; TEJADA, M. Importance of frozen storage temperature in the type of myofibrillar proteins in cod (*Gadus morhua*) filets. **J. Agric. Food Chem.** 46:1539-1546. 1998.
- [10] CASTRILLÓN, A.; ÁLVAREZ-PONTES, E.; GARCÍA, M.; NAVARRO, P. Influence of frozen storage and defrosting on the chemical and nutritional quality of sardine (*Clupea pilchardus*). **J. Sci. Food Agric.** 70:20-34. 1996.
- [11] CASTRILLÓN, A.; NAVARRO P.; ÁLVAREZ-PONTES, E. Changes in chemical composition and nutritional quality of fried sardine (*Clupea pilchardus*) produced by frozen storage and microwave reheating. **J. Sci. Food Agric.** 75:125-132. 1997.
- [12] CHEN, Y.; SUN, B. Morphological changes in tilapia muscle following freezing by airblast and liquid nitrogen methods. **Inter. J. of Food Sci. and Tech.** 32:159-168. 1997.
- [13] CIARLO, A.; BOERI, R.; GIANNINI, D. Storage life of frozen blocks of Patagonian hake (*Merluccius hubbisi*) filleted and minced. **J. Food Sci.** 5:723-726,738. 1985.
- [14] DELGADO, D.; VALLS, J.; GONZALEZ, A. Evaluación física y química de la sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. **Rev. Científ. - FCV-LUZ**. XI (1): 22-29. 2001.
- [15] FERNANDEZ-REIRIZ, M.; PASTORIZA, L.; SANPEDRO, G. Lipid changes in muscle tissue of Ray (*Raja clavata*) during processing and frozen storage. **J. Agric. Food Chem.** 40:484-488. 1992.
- [16] FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE G. A simple methods for isolation and purification of total lipids from tissues. **J. Biol. Chem.** 266: 497-509. 1957.
- [17] GASTON, A. Inconvenientes para la adecuada comercialización de la sardina en Venezuela. En: **Memorias del taller: Evaluación, Tecnología e Industrialización**

- de Pequeños Pelágicos.** Cumaná 06-08/12. Venezuela. 83-93 pp. 2000.
- [18] GONZÁLEZ, D.; VALLS, J.; GONZALEZ, A. Evaluación física, química y sensorial de tronquitos de sardina (*Sardinella aurita* V.) durante su almacenamiento congelado a -18°C . **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XII (4): 278-285. 2002.
- [19] HAARD, N. Biochemical reactions in fish muscle during frozen storage. Chapter 20. En: **Seafood Scien. And Technol.** Edit. E. Graham. Bligh. Fishing New Books. 176-209 pp. 1992.
- [20] HUIDOBRO, A.; MOHAMED, G.; TEJADA, M. Aggregation of myofibrillar protein in hake sardine and mixed minces during frozen storage. **J. Agric. Food Chem.** 46: 2601-2068. 1998.
- [21] HUSS, H. Cambios Post-mortem en Pescado. En: **El pescado fresco, su calidad y cambios de calidad.** FAO. Rome. Fisheries Technical. Paper N° 348. 202 pp. 1998.
- [22] INSTITUTO NACIONAL DEL FRÍO (INF). Conservación de alimentos por congelación y sus efectos sobre los nutrientes. **Revista La Alimentación Latinoamericana** 125: 75-80. 1980.
- [23] KARVINEN, V.; BAMFORD, D.; GRANROTH B. Changes in muscle subcellular fractions of Baltic Herring (*Clupea harengus* menbras) during cold and frozen storage. **J. Sci. Food Agric.** 33: 763-770. 1982.
- [24] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA (MAC). **Informe de Sardinias en el Oriente del País.** Caracas. Venezuela. 10 pp. 1982.
- [25] ORTIZ, H.; BELLO, R. Composición y estabilidad de los ácidos grasos de la pulpa de cachama y sardina durante el almacenamiento. **Arch. Latinoamer. de Nutric.** 42(4): 460-466. 1992.
- [26] PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G. Influence of ice storage on Ray (*Raja clavata*) wing muscle. **J. Sci. Food Agric.** 64: 9-18. 1994.
- [27] SERVICIO AUTONOMO DE RECURSOS PESQUEROS Y ACUICOLAS (SARPA). **Informe Rubro Sardina.** Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas. Venezuela. 5 pp 1996.
- [28] SHENOUDA, S. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. **Advances in Food Res.** 26: 275-311. 1980.
- [29] SRIKAR, L.; SESHADARI, H.; FAZAL, A. Changes in lipids and proteins of marine catfish (*Tachysurus dussumieri*) during frozen storage. **Inter. J. of Food Sci. and Tech.** 24:653-658. 1989.
- [30] STATISTIX **Analytical software.** Versión 2,0 for windows.1998.
- [31] TANAKA, T. Freezing preservation of fish and other marine products. Vol. II. En: **Science of Processing Marine Products.** Kanagawa International Fisheries Centre. Japan International Cooperation Agency (JICA). 10-23 pp. 1992.
- [32] VALLS, J. Metodologías físicas y químicas para evaluar la calidad y frescura de sardinias en condiciones de refrigeración y congelación. En: **Memorias del Taller de Evaluación, Tecnología e Industrialización de Pequeños Pelágicos.** Cumaná. 06-08/12. Venezuela. 114-121 pp. 2000.
- [33] VERMA, J.; SRIKAR, L.; ZULACARA, N. SARMA, J. Effects of frozen storage on lipid freshness parameters and some functional properties of oil sardine (*Sardinella longiceps*) mince. **Food Res. Internat.** 28 (1): 87-90. 1995.