

Inspección y control del pescado fresco.

El concepto de calidad del pescado, especialmente en las circunstancias de aumento de la demanda de productos "sanos, naturales y suntuarios", va asociado a mínimo procesado, ausencia de aditivos y alto precio, está indisolublemente unido al concepto de frescura. **A su vez la frescura es el valor determinante de lo que definiremos como vida útil del pescado fresco.**

En definitiva la "calidad comercial" de un producto es un criterio colectivo cuyo principal instrumento de evaluación son los consumidores y su grado de satisfacción es directamente proporcional a la calidad. En el caso del pescado el atributo determinante de la satisfacción del consumidor y con ello de la calidad es la frescura.

El término *fresco* puede tecnológicamente entenderse simplemente como el producto que no ha sido sometido a tratamiento de conservación ni a transformación (suele admitirse la refrigeración que en el caso del pescado suele hacerse mediante hielo picado). Sin embargo en el caso del pescado fresco se dice del producto que exhibe sus cualidades originales (del momento de captura) intactas, es decir sin alterar de ninguna manera.

Inmediatamente tras la captura u obtención del pescado, con la muerte del pescado, deja de funcionar el sistema de regulación y homeostasis del animal, deteniéndose el aporte de oxígeno y provocándose cambios en el metabolismo celular.

Todo ello hace que sufra inmediatamente después del colapso una serie de procesos degradativos, que finalizan con su inaptitud para el consumo.

CONCEPTO DE VIDA ÚTIL DEL PESCADO

La frescura es la propiedad del pescado que tiene más influencia en su calidad, siendo el criterio más importante a la hora juzgar la mayoría de los productos alimenticios. Así, la pérdida de frescura en el pescado genera alteraciones sensoriales y reacciones químicas de deterioro. Este complejo proceso no se puede determinar por un único factor, muy al contrario son muchos los factores que incurren, entre los que destacan la actividad microbiana y enzimática.

El proceso de alteración del pescado fresco se inicia cuando éste muere, con las características organolépticas de máxima frescura, y finaliza cuando llega a un estado tal que es considerado como inadecuado para la alimentación humana. A este periodo se le denomina comúnmente *vida comercial* del pescado. En relación con este término, se han propuesto varias denominaciones científicas, como *storage-life* o *vida de almacenamiento* 50 y *shelf-life* o *vida útil*. La vida útil se define como el periodo de tiempo que transcurre desde que un pescado es obtenido o capturado hasta el deterioro sensorial, por inaceptabilidad del producto debido a los cambios sensoriales tan evidentes como olor o sabor desagradables, cambios en la apariencia o textura, formación de limo o producción de gas. La vida útil de los productos pesqueros depende fundamentalmente de las condiciones de almacenamiento de los

productos y de la calidad microbiana inicial del pescado. Con los conocimientos de los cambios que suceden durante la vida útil de una determinada especie de pescado se puede predecir la vida útil de cada especie de forma estandarizada y, además, determinar la extensión de la vida útil en diferentes condiciones de conservación (es lo que se conoce como *extensión de la vida útil*). Nixon (1971) describió la *tasa relativa de deterioro* (*Relative Rate of Spoilage*, RRS) a diferentes temperaturas, definido como el cociente de la vida útil del producto a 0°C y a una temperatura dada. Así, la vida útil de la dorada gigante asiática (*Chrysophrys major*) a 0°C fue de 32 días, mientras que a 10°C obtuvieron una vida útil de 8 días y una RRS de 4,0. Ello significa que a 10°C esta especie se deterioró cuatro veces más rápidamente que en condiciones de enyelado.

LA FRESCURA EN EL PESCADO: TIPOS

- AUSENCIA, NIVEL O GRADO DE ALTERACIÓN QUE PRESENTA EL PESCADO.
- GRADO MÁXIMO: PESCADO RECIÉN CAPTURADO QUE ACABA DE MORIR (PRERIGOR).
- ESTRECHAMENTE RELACIONADA CON LA **CALIDAD**.
- MEJOR ESTADIO DE FRESCURA: "IKINO YOSA" (PESCADO CASI VIVO).

MECANISMOS DE ALTERACION (PERDIDA DE FRESCURA)

A) **BIOQUÍMICA Y/O ENZIMÁTICA O AUTOLÍTICA (ASEPTICA)**: LA DEGRADACIÓN EVOLUTIVA DEL PESCADO ESTÁ DETERMINADA POR LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS TISULARES PROPIAS DE ESTE.

AUTOLISIS ASÉPTICA (FRESCURA ENZIMÁTICA):

REACCIONES

- GLUCOLISIS Y DEGRADACIÓN DEL ATP
- PROTEOLISIS
- LIPOLISIS Y ENRANCIAMIENTO

B) **FRESCURA DE ALTERACIÓN (DEGRADACIÓN BACTERIANA)**: ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LAS BACTERIAS QUE HAN COLONIZADO EL TEJIDO MUSCULAR DEL PESCADO.

DEGRADACIÓN BACTERIANA:

REACCIONES

- FORMACIÓN DE TMA
- FORMACIÓN DE NH₃
- DEGRADACIÓN Y NIVELES DE AMINOÁCIDOS
- FORMACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS

Inicialmente dominan los cambios autolíticos y, con posterioridad cobra importancia el efecto del crecimiento microbiano sobre el pescado. La velocidad del proceso degradativo depende de una serie de factores intrínsecos que presentan una gran influencia sobre el deterioro del pescado y su microbiología.

Entre estos factores destacan las características físicas, químicas y estructurales inherentes al pescado [animales poiquilotermos, con un alto pH *post mortem* en su carne y alto contenido en nitrógeno no proteico, entre la que destaca Óxido de Trimetilamina (OTMA)]. Por otro lado, también influye

decididamente en el proceso de deterioro del pescado una serie de características intrínsecas, como son la especie y el tamaño del pez, su estado nutricional, fisiológico y reproductivo, el nivel de parasitación y de presencia microbiana, así como la temperatura del medio acuático donde éste se desarrolla. Por otra parte, son parámetros extrínsecos relacionados con la alteración de los productos de la pesca y acuicultura los métodos de captura o sacrificio empleados, el estrés sufrido por el animal en el proceso de la captura, las condiciones de almacenamiento en el buque hasta su descarga en puerto, su manipulación y estiba, así como las condiciones de almacenamiento en tierra. Y es que el almacenamiento del pescado fresco en hielo picado en un ambiente térmico que permita la lenta fusión del mismo, enfría el pescado hasta temperaturas próximas a 0°C, lo aísla del oxígeno atmosférico, mantiene su superficie húmeda lavándolo con un suave flujo de agua procedente del deshielo que arrastra la mucosidad (limo) y los microorganismos de su superficie. Finalmente, existen los denominados parámetros implícitos de efecto sobre la proliferación de la microflora en el pescado, como los efectos de influencia sinérgica o antagonista de selección primaria de microorganismos.

Los cambios que experimenta el pescado dan lugar a las denominadas *Etapas de deterioro* y que inicialmente se diferencian sensorialmente por los denominados grados de frescura del pescado:

1. *Estado de pre-rigor*. Esta fase comprende el corto periodo que va desde la muerte del pescado hasta que comienza el *rigor mortis*. En esta etapa se muestra una marcada excitabilidad muscular. Comienza la glucólisis anaerobia, como ruta metabólica alternativa ya que las células no disponen de oxígeno, con acumulación de ácido láctico y degradación del adenosín-trifosfato (ATP), en adenosín-difosfato (ADP) y adenosín-monofosfato (AMP). En etapas posteriores continúa la degradación a inosín-monofosfato (IMP), inosina (HxR), hipoxantina (Hx), ribosa (R), fósforo inorgánico y amoníaco. El pH del músculo en estos momentos se encuentra en valores cercanos a la neutralidad y su textura es elástica.
2. *Rigor mortis*. Las proteínas miofibrilares del sarcómero, en las fibras musculares del pescado, inician una contracción mantenida al permanecer unidas las miofibrillas de actina y miosina en presencia de ATP y calcio, y que se hace irreversible al desaparecer la fuente energética. Es entonces cuando la musculatura se torna rígida y dura. Además, se han acumulado cantidades significativas de ácido láctico en el músculo y el pH desciende ligeramente. Esta etapa es considerada la que mayor influencia sobre el aspecto y estructura de la musculatura del pescado fresco.
3. *Estado de post-rigor*. Esta fase comienza cuando el músculo retorna a estado de flexibilidad, ya que se agotan las reservas de energía de la célula muscular y las miofibrillas comienzan a degradarse. Además, en esta etapa se produce conjuntamente la liberación de proteasas y la actividad microbiológica que actúan degradando el sustrato.

Todos estos cambios se traducen en modificaciones sensoriales y físicas, así como el acúmulo de compuestos químicos en el músculo del pescado que son susceptibles de detectarse mediante adecuadas técnicas de laboratorio.

Los cambios que se producen en el deterioro del pescado, consecuencia de la autólisis y crecimiento microbianos se pueden subdividir en cuatro grupos:

- 1) Alteraciones organolépticas o sensoriales.
- 2) Cambios de degradación autolítica.
- 3) Crecimiento y desarrollo microbiológico.
- 4) Procesos de oxidación e hidrólisis de los lípidos.

Los cambios sensoriales de los alimentos son aquellas características que percibimos a través de los órganos de los sentidos.

1.- Los primeros cambios organolépticos de los pescados se relacionan con el aspecto externo y la textura del animal. Además, se originan cambios en la coloración debido a la oxidación de los pigmentos hemáticos y carotenoides, y a los productos del pardeamiento no-enzimático. Igualmente, la mucosa cutánea adquiere apariencia lechosa y el olor de las branquias y de la cavidad abdominal adquiere olores de fermentación, rancio o, incluso, agrio. En la tabla siguiente se indica de manera más detallada:

Modificaciones sensoriales del pescado:

Alteración del pescado: los cambios tisulares y organolépticos están influenciados por los siguientes factores:	Fácil acción enzimática y bacteriana porque: Mayor cantidad de NNP pH final más alcalino No se sangran, como en los animales de abasto No se evisceran No se cuelgan, se apilan
OLOR	
OLOR NORMAL	- BISPIPERIDINA ETANO: en peces de agua dulce - " " + OTMA: en peces de agua de mar
OLOR PUTREFACTO	ACIDO DELTA AMINOVALERICO, PUTRESCINA, MERCAPTANOS, ESCATOL, INDOL...
SECUENCIA DE DEGRADACION	Algas A marisco Sin olor Ligeramente a mohos Cerveza A ácido láctico A frutas A rancio Amoniaca Fuertemente amoniacal Sulfuro de hidrógeno Pútrido...
SABOR (RELACIONADO CON LA APARICIÓN DE TMA)	Ácido Acético Amoniaca
OTRAS MODIFICACIONES	<ul style="list-style-type: none"> • Desaparición del rigor • Obscurecimiento y rugosidad de la piel • Desprendimiento de escamas • Decoloración y sequedad de branquias • Opalescencia y grumosidad del mucus • Ojos hundidos, opacidad del cristalino • Reblandecimiento del tejido muscular • Prolapso anal • Rotura y abombamiento de la pared abdominal

2.- En segundo lugar están los fenómenos de autólisis derivados de ciertas reacciones enzimáticas.

Tras la muerte del pescado, el flujo sanguíneo del animal deja de circular, provocando un colapso en el suministro de oxígeno al tejido muscular. Para la mayoría de los peces, la glucólisis es la única ruta metabólica posible para la producción de energía en estas condiciones de anaerobiosis, generándose ácido láctico y ácido pirúvico. Como resultado de estos procesos metabólicos disminuye ligeramente el pH en el músculo en estos primeros momentos. Este descenso inicial del pH provoca cambios en las propiedades físicas del músculo, y especialmente se reduce la carga neta de las proteínas musculares, que las desnaturaliza parcialmente y que hace disminuir su capacidad de retención de agua. Además, se liberan proteasas desde las células musculares, participando en el proceso de degradación proteolítica del músculo y provocando su ablandamiento. Estos procesos también están relacionados con el momento nutricional del pez, de modo que las enzimas digestivas pueden actuar sobre el sustrato muscular del pescado tras la rotura de la pared del tracto digestivo. Es por ello que previo al sacrificio del pez de acuicultura se suele practicar una restricción alimenticia.

MODIFICACIONES POSTMORTALES DEL PESCADO: AUTOLISIS ASEPTICA

ENZIMAS NATURALES HIDROLÍTICAS: PANCREATINA, PEPSINA, CATEPSINA, TRIPSINA	
GLUCOLISIS	
GLUCÓGENO----->GLUCOSA----->ACIDO LÁCTICO	
DESCENSO DEL pH	ÚLTIMA CONTRACCIÓN: RIGOR MORTIS PESCADO FRESQUISIMO
	DURACIÓN SEGUN: ESPECIE, TEMPERATURA, TIPO DE CAPTURA
DEGRADACIÓN DEL ATP (EVOLUCIÓN <i>POSTMORTEM</i>)	
1)	ATP-----ATPASA----->ADP (ADENOSÍN 5'DIFOSFATO) ADP-----MIOQUINASA----->AMP (ADENOSÍN 5'MONOFOSFATO) AMP-----AMPDESAMINASA----->IMP (INOSÍN 5'MONOFOSFATO)
- ATP PUEDE RESINTETIZARSE POR VÍA CP O MEDIANTE ADP Y GLICOLISIS ANAEROBIA (TIPO DE PESCA). - EL TIPO DE CONSERVACIÓN (Tº/Tª) Y LA ESPECIE CONDICIONAN LAS TASAS TEMPORALES DE ESTOS COMPUESTOS	
2)	IMP-----NUCLEOTIDASA(NT)----->HXR (INOSINA) HXR-----NUCLEÓSIDO FOSFORILASA-----> HX (HIPOXANTINA) + RIBOSA
LA TASA DE DEGRADACIÓN DEL IMP ESTÁ RELACIONADA CON: - ACTIVIDAD DE LAS FOSFATASAS O NUCLEOTIDASAS MUSCULARES - RELACIONES (SEGÚN ESPECIE) INTERENZIMÁTICAS, IMP Y CÉLULA MUSCULAR	
3)	HX-----XANTINA OXIDASA----->U (ÁCIDO ÚRICO)

PROTEOLISIS

PROTEÍNAS----->PROTEOSAS/PEPTONAS----->PÉPTIDOS-----> (1)

AA (2) -----> NH₃ + CETOÁCIDOS

+

SH₂ (3)

+

TMA (4)

(2) AUMENTA TIROSINA, DISMINUYEN: ALANINA, LISINA, LEUCINA

(3) SH (CONTRACCIÓN MUSCULAR) ---> SH₂ (TÍPICA FLACIDEZ DEL POSTRIGOR)

(4) ESCASA. A PARTIR DE OTMA (ENZIMAS TISULARES)

3.- Como tercer apartado del deterioro del pescado está el crecimiento y desarrollo de flora microbiana.

La musculatura del pez es considerada estéril debido a que su sistema inmunológico previene el crecimiento de microbiano en sus tejidos y órganos. Pero cuando el animal muere, este sistema cesa en su funcionamiento y los microorganismos que existen, fundamentalmente en la piel, escamas, agallas y contenido intestinal pueden colonizar el tejido muscular. Los microorganismos se encuentran de forma natural en las superficies externas y en el contenido intestinal de los peces vivos y en los recién capturados en un rango entre 10² y 10⁷ ufc/cm² en la superficie de la piel, y entre 10³-10⁹ ufc/g en branquias e intestinos. La variabilidad de esta flora en los pescados recién capturados depende más del medio acuático donde se desarrolla el pez, que de la especie de pescado en sí misma. Así, se ha determinado que los pescados capturados en aguas muy frías contienen menor número de microorganismos que los capturados en aguas cálidas. Sin embargo, las cifras más pequeñas de las señaladas anteriormente se corresponden a los recuentos bacterianos del pescado procedente de aguas limpias, mientras que las más altas son consecuencia de zonas con aguas contaminadas o de unas pobres condiciones higiénicas a bordo o durante las primeras fases de la manipulación.

Las bacterias en peces de aguas templadas son clasificadas en psicrotrofas y psicrófilas. Mientras que en las aguas cálidas pueden aislarse fundamentalmente gérmenes mesófilos. La microflora en peces de aguas templadas está dominada por bacterias psicrófilas Gram negativas pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella* y *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Photobacterium* y *Aeromonas*, aunque también existen microorganismos Gram positivos de los géneros *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *coryneformes*. Por otro lado, en aguas contaminadas pueden encontrarse un elevado número de *Enterobacteriaceas*. En aguas limpias y templadas, estos organismos desaparecen rápidamente, pero se ha demostrado que *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. pueden sobrevivir por periodos bastante prolongados de tiempo en aguas tropicales y una vez introducidos en el ambiente, permanecen.

Los sustratos básicos para la producción de compuestos volátiles son, fundamentalmente, los carbohidratos y las sustancias nitrogenadas no proteicas. La cantidad y composición del nitrógeno no proteico (NNP) en los productos pesqueros es específico de cada especie, siendo responsable en gran medida del sabor característico de cada especie. El NNP del músculo del pescado está constituido por compuestos tales como nucleótidos, dipéptidos, aminoácidos libres, derivados de la guanidina, bases nitrogenadas, urea, betainas, entre otras moléculas. Algunos autores han establecido que 49 si se comparan los compuestos químicos desarrollados durante el deterioro natural del pescado y en el pescado estéril, la mayoría de los componentes volátiles son producidos por microorganismos. Estos incluyen a la trimetilamina, incluida dentro del grupo del nitrógeno básico volátil total (NBVT); compuestos volátiles sulfurados, aldehídos, cetonas, ésteres, hipoxantina, así como también otras moléculas de bajo peso molecular.

Según Huss (1995) el crecimiento de bacterias consumidoras de oxígeno ocasiona la formación de nichos anaeróbicos o microaerófilos en el pescado, pero que no necesariamente favorece el crecimiento de bacterias anaeróbicas. Algunas de las bacterias presentes en el pescado son capaces de llevar a cabo respiración empleando otras moléculas como receptor final del electrón.

Es típico de muchas bacterias específicas del deterioro del pescado emplear el óxido de trimetilamina (OTMA) como aceptor terminal de electrones durante la respiración anaeróbica. La OTMA está presente tanto en peces, como en moluscos y crustáceos, jugando un importante papel en la osmorregulación y en los procesos de oxidorreducción del músculo rojo de ciertas especies pelágicas. La TMA es el componente reducido y uno de los compuestos dominantes del pescado deteriorado, y el que confiere el olor típico del pescado alterado. La reducción del OTMA está generalmente asociada con géneros de bacterias típicos del ambiente marino (*Alteromonas*, *Photobacterium*, *Vibrio* y *Shewanella putrefaciens*), pero también es llevada a cabo por *Aeromonas* y bacterias intestinales del grupo de *Enterobacteriaceae*. La reducción del OTMA ha sido estudiada en bacterias fermentativas anaerobias facultativas, como *E. coli*, *Proteus* spp. y *S. putrefaciens*. De este modo, los productos finales del metabolismo microbiano son sustancias inorgánicas (anhídrido carbónico y amoníaco), compuestos sulfurados (sulfuro de hidrógeno, dimetil sulfuro y metilmercaptano), ácidos orgánicos (acético, propiónico, valérico, láctico, benzoico, genilpropiónico y otros) y bases orgánicas (metilamina, dimetilamina, trimetilamina, histamina, putrescina, cadaverina, tiramina y agmatina).

MODIFICACIONES POSTMORTALES DEL PESCADO: DEGRADACIÓN BACTERIANA

1.- FORMACIÓN DE TMA	<ul style="list-style-type: none"> - MARCA EL NIVEL DE ALTERACIÓN DE PESCADO - TÓXICA (CANCERIGENA) - VOLÁTIL Y DE CONCENTRACIÓN VARIABLE, SEGÚN: ESPECIE DE PESCADO ALIMENTACIÓN RECIBIDA FLORA BACTERIANA pH Y TEMPERATURA - FAVORECIDA POR LACTATOS DE Ca O Mg Y ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS
PROCEDENCIA	OTMA ----->TMA ----> DMA ----> MMA (TMA-OXIDASA)
EN REFRIGERACIÓN	TMA (POR ACCIÓN, ENTRE OTROS, DE <i>PSEUDOMONAS PUTREFACIENS</i>)
EN CONGELACIÓN	DMA + FORMALDEHIDO
ELASMOBRANQUIOS	<ul style="list-style-type: none"> - CONTIENEN MAYOR CANTIDAD DE OTMA Y UREA - TMA NO ES BUEN ÍNDICE DEL GRADO DE FRESCURA - EL PH ELEVADO POR LA PRODUCCIÓN DE NH₃ NO PERMITE LA ACTIVIDAD DE LA TMAOXIDASA
PECES DE AGUA DULCE	COLINA ---> TMA (INSIGNIFICANTE)
2.- FORMACIÓN DE NH₃	VARIABLE
TELEOSTEOS	AA----->NH ₃ + ACIDO DE CADENA CORTA AMINO OXIDASA
ELASMOBRANQUIOS	UREA----->NH ₃ UREASA
3.- DEGRADACIÓN Y TASA DE AA	<ul style="list-style-type: none"> - SE MANTIENEN GLUTÁMICO Y ALANINA - OTROS DESAPARECEN - SE INCREMENTAN GLICINA Y LISINA
4.- FORMACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS	<ul style="list-style-type: none"> - POR DESCARBOXILACIÓN BACTERIANA DE LOS AA - RELACIONADOS CON FENÓMENOS DE INTOXICACIÓN EN CONSUMIDORES
	ARGININA-----> PUTRESCINA LISINA-----> CADAVERINA HISTIDINA-----> HISTAMINA TIROSINA-----> TIRAMINA TRIPTÓFANO-----> TRIPTAMINA
<i>SCOMBRIDAE</i> Y <i>CLUPEIDAE</i> : ALTA TASA DE: HISTIDINA --> HISTAMINA --> INTOXICACIÓN HISTAMÍNICA POR ESCOMBROTOXINA (BACTERIAS "HISTIDIN DESCARBOXILASA")	
LA TASA TOTAL DE AMINAS BIÓGENAS FORMADAS PUEDE CONSIDERARSE COMO UN BUEN ÍNDICE PARA DETERMINAR LA ALTERACIÓN DEL PESCADO. NO OBSTANTE LAS AMINAS VAN DESAPARECIENDO POR LA VÍA METABÓLICA SEGÚN AVANZA LA ALTERACIÓN DEL PESCADO.	

5.- PRODUCTOS METABÓLICOS FINALES DE LA DEGRADACIÓN DE LAS PROTEÍNAS: INDOL, ESCATOL, SH₂

4.- Finalmente los procesos alterativos asociados a los lípidos del pescado son, por un lado, las reacciones de rancidez oxidativa, donde el oxígeno se combina y reacciona con facilidad con los ácidos grasos del pescado y produciendo el enranciamiento de éstos caracterizado por un olor picante y un color amarillento en el examen organoléptico. Por otro lado, sobre los triglicéridos de la grasa del pescado van a actuar las lipasas bacterianas que los hidrolizan.

MODIFICACIONES POSTMORTALES DEL PESCADO: LIPOLISIS

TRIGLICERIDOS → ÁCIDOS GRASOS + GLICEROL (PECES GRASOS)

FOSFOLÍPIDOS → ÁCIDOS GRASOS + OTROS (PECES MAGROS)

TÉCNICAS DE CONTROL E ÍNDICES DE FRESCURA Y ALTERACIÓN DEL PESCADO

El pescado es un alimento que en fresco es altamente perecedero debido a la rápida degradación de sus componentes y al crecimiento microbiano. La pérdida de frescura tiene lugar de forma más o menos inmediata tras la muerte del pez, produciéndose una serie de reacciones autodegradativas de tipo enzimático y bacteriodegradativas. Todo ello se traduce en modificaciones sensoriales y acúmulo de compuestos en el músculo del pescado que son susceptibles de detectarse mediante técnicas laboratoriales. Tras la resolución del *rigor mortis*, tiene lugar en el músculo una autólisis enzimática que origina la degradación de proteínas y el desdoblamiento de péptidos. Además, junto con el crecimiento de la flora microbiana que utiliza el nitrógeno no proteico del pescado, se originan compuestos aromáticos que modifican las características sensoriales del pescado, apareciendo olores y sabores desagradables como signo de alteración. Debido a la rápida degradación que sufren estos compuestos, junto con la evaluación sensorial, sirven como referencia para determinar el grado de alteración del pescado.

Para determinar la vida útil del pescado se han empleado multitud de técnicas como la evaluación sensorial, la medición del índice de refracción de los humores oculares mediante refractometría, la determinación de bases volátiles en el fluido ocular, el pH muscular, los cambios de las propiedades dieléctricas sobre la piel o la musculatura, los compuestos nitrogenados, o la degradación de los nucleótidos.

Evaluación de los caracteres organolépticos

Con el fin de mejorar la caracterización de la calidad de los productos pesqueros, en beneficio de productores y consumidores, y facilitar la comercialización de productos pesqueros frescos no transformados, la Unión Europea ha establecido disposiciones legislativas para la determinación de la calidad del pescado por el grado de frescura sobre la base de criterios objetivos. Para ello se dispone de exámenes organolépticos estandarizados que establecen un número limitado pero suficiente de categorías de frescura. Los baremos de clasificación de frescura serán determinados para cada lote de producto, mediante la siguiente clasificación: Extra, A y B. Además, se establece criterios para evaluación de productos *no admitidos* de forma provisional, hasta que la Comisión Europea establezca los criterios para el pescado no apto para el consumo humano, en aplicación de la Directiva del Consejo 91/493/CCE.

Determinación de los parámetros físico-químicos

El pH de la musculatura del pez vivo está muy próximo a la neutralidad, aunque debido a la formación de ácido láctico a partir de la degradación del glucógeno en condiciones anaerobias, el pH disminuye normalmente dentro de los primeros días después de la muerte para después aumentar debido a la formación de compuestos alcalinos. El pH inicial puede variar considerablemente dependiendo de la especie, con valores entre 5,4 y 7,2. Según algunos autores, el pH final del pescado es el factor que más influye en la textura de la carne y en su desgajamiento, es decir, en la ruptura del tejido conectivo.

Las membranas celulares permiten el paso de la corriente eléctrica a través de los tejidos, según la frecuencia de ésta y de la integridad de las células. Es conocido desde hace mucho tiempo que la muerte, posibles heridas sobre la piel y el deterioro del pescado produce cambios en sus propiedades dieléctricas sobre la piel o musculatura. Estos cambios pueden ser causados por la rotura de la estructura celular y el deterioro de las funciones de las membranas celulares acompañados de una redistribución de iones y fluidos intercelulares. Ya en 1952 se evaluó la frescura del pescado mediante la medida de la resistencia al paso de la corriente eléctrica mediante la introducción de dos electrodos en la musculatura del pescado, observando una disminución de la resistencia eléctrica con el paso del tiempo. La medida física de las propiedades dieléctricas de los tejidos del pescado fresco ha aportado un método rápido y objetivo de determinación del deterioro del pescado, siendo considerado hoy en día como un procedimiento complementario a otras determinaciones laboratoriales. Además, esta medida física y rápida ha posibilitado usar unos datos fiables para generar modelos predictivos de la vida útil, muy difícil de realizar a partir de otros métodos, como el examen organoléptico. Han sido varios los aparatos portátiles comercializados para determinar las propiedades dieléctricas del pescado. Los más conocidos son el *G.R. Torrymeter* (G.R. International Electronics Ltd., Almondback, Escocia), el *R.F. Freshmeter* (Rafagnatækni Electronics, Reykjavík, Islandia), el *F.T. Fishtester* (Intellectron International Electronics,

Hamburgo, Alemania) y el *Fastrace 4* (Medtronic, Oslo, Noruega). Las limitaciones de este método están condicionadas por la integridad de la piel, heridas, desecación o pliegues en la dermis, traumatismos y presiones sobre el pescado, la temperatura del pescado superior a 10°C, el contacto de diferentes soluciones electrolíticas con el pescado o que se hayan aplicado procesos de congelación. De hecho, para esta última situación, han utilizado esta técnica para diferenciar el pescado fresco del descongelado.

Los compuestos nitrogenados del pescado y productos de la acuicultura pueden ser de origen proteico y no proteico. La degradación del nitrógeno proteico (NP) del pescado da lugar a polipéptidos cada vez más sencillos y aminoácidos que por acción de las desaminasas de origen microbiano producen ácidos orgánicos y amoníaco, y por la descarboxilasa da lugar a aminas biógenas. El nitrógeno no proteico (NNP), que constituye el 9-18% del nitrógeno total del músculo en peces teleósteos, está compuesto fundamentalmente por bases volátiles, óxido de trimetilamina (OTMA), creatinina, aminoácidos libres y bases púricas. El valor del nitrógeno básico volátil total (NBVT) expresa cuantitativamente el contenido bruto en bases volátiles de bajo peso molecular y aminas, solubles en agua, procedentes de la descarboxilación de aminoácidos y se ha considerado representativo del grado de alteración de los productos pesqueros. El contenido en nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) en el pescado es responsable del característico olor a pescado alterado, por lo que se ha empleado como índice del grado de alteración de los productos pesqueros. Son muchos los procedimientos analíticos propuestos para estimar el contenido en TMA presente en el pescado: método colorimétrico, de microdifusión y sus modificaciones como el método de sal de picrato, de 53 destilación, métodos cromatográficos, y más recientemente el empleo de electrodos específicos.

El reactivo de Nessler ha venido empleándose para la comprobación de los compuestos amoniacales en agua de bebida y carne de mamíferos. En el pescado, ha sido propuesto como método de evaluación de amoníaco y urea.

La degradación de los nucleótidos ha sido objeto de numerosos estudios con el objetivo de obtener índices de frescura fiables. Saito *et al.* (1959) propusieron como índice de frescura del pescado el llamado *valor K*. Este índice manifiesta el grado de degradación enzimática de los nucleótidos y nucleósidos. El valor K expresa el porcentaje de inosina e hipoxantina con respecto a todos los compuestos de degradación del adenosín-trifosfato (adenosíndifosfato, adenosín-monofosfato e inosina-monofosfato). El valor K proporciona una puntuación de la frescura relativa, basada principalmente en los cambios autolíticos que tienen lugar durante el almacenamiento *post mortem* del músculo del pescado. De este modo, cuanto más alto es el valor K, menor el nivel de frescura. Pero algunas especies de pescado, como el bacalao del Atlántico, alcanzan un valor K elevado sin que necesariamente esté deteriorado. Lo que demuestra que este valor no es igualmente aplicable a todas las especies de peces marinos. Asimismo, la degradación de nucleótidos es sólo coincidental con los cambios percibidos en la frescura y no está necesariamente relacionada con su deterioro, considerándose que sólo la hipoxantina tiene un efecto directo en el sabor amargo percibido en el pescado deteriorado. Actualmente, es

ampliamente aceptado que inosín-monofosfato es el responsable del deseable sabor a pescado fresco, sólo presente en los productos pesqueros de alta calidad.

Karube *et al.* (1984) propusieron un nuevo índice de alteración por simplificación del valor K, denominado *valor K1*, que expresa el porcentaje de inosina e hipoxantina con respecto a la inosina-monofosfato. Se trata del mismo cociente del valor K, donde se ha eliminado del denominador los compuestos que se encuentran en concentraciones imperceptibles o muy bajas, basándose en los rápidos cambios que se suceden en las concentraciones de ATP y ADP que se degradan rápidamente y se forma IMP, y que obtuvieron una buena correlación entre la frescura y este valor.

PRUEBAS ORGANOLEPTICAS.

Legislación

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS:

LEYENDA: F = FRESCO P = PASADO A = ALTERADO
E = EXCELENTE AC = ACEPTABLE M = MALA CALIDAD

INDICE DE REFRACCION HUMOR ACUOSO

El índice de refracción de una sustancia dada es la razón de la velocidad de un rayo de luz en el vacío a la velocidad de la luz a través de la sustancia. La medición del índice de refracción de los humores oculares mediante refractometría ha sido empleada para la determinación del grado de frescura en pescados del norte de Europa desde hace bastante tiempo, observándose una estrecha correlación entre éste y las características sensoriales, ya que la actividad enzimática de los líquidos oculares refleja cambios degradativos paralelos a los que suceden en el músculo.

CALIDAD DEL PESCADO	IR
EXCELENTE	1.3347-1.3366
BUENO	1.3367-1.3380
REGULAR	1.3381-1.3393
NO APTO	1.3394- >>

DETERMINACION DEL GRADO DE FRESCURA CON EL TORRYMETER

Las membranas celulares permiten el paso de la corriente eléctrica a través de los tejidos, según la frecuencia de ésta y de la integridad de las células. Es conocido desde hace mucho tiempo que la muerte, posibles heridas sobre la piel y el deterioro del pescado produce cambios en sus propiedades dieléctricas sobre la piel o musculatura. Estos cambios pueden ser causados por la rotura de la estructura celular y el deterioro de las funciones de las membranas celulares acompañados de una redistribución de iones y fluidos intercelulares. Ya en 1952 se evaluó la frescura del pescado mediante la medida de la

resistencia al paso de la corriente eléctrica mediante la introducción de dos electrodos en la musculatura del pescado, observando una disminución de la resistencia eléctrica con el paso del tiempo. La medida física de las propiedades dieléctricas de los tejidos del pescado fresco ha aportado un método rápido y objetivo de determinación del deterioro del pescado, siendo considerado hoy en día como un procedimiento complementario a otras determinaciones laboratoriales. Además, esta medida física y rápida ha posibilitado usar unos datos fiables para generar modelos predictivos de la vida útil, muy difícil de realizar a partir de otros métodos, como el examen organoléptico. Han sido varios los aparatos portátiles comercializados para determinar las propiedades dieléctricas del pescado. Los más conocidos son el *G.R. Torrymeter* (G.R. International Electronics Ltd., Almondback, Escocia), el *R.F. Freshmeter* (Rafagnatækni Electronics, Reykjavík, Islandia), el *F.T. Fishtester* (Intellectron International Electronics, Hamburgo, Alemania) y el *Fastrace 4* (Medtronic, Oslo, Noruega). Las limitaciones de este método están condicionadas por la integridad de la piel, heridas, desecación o pliegues en la dermis, traumatismos y presiones sobre el pescado, la temperatura del pescado superior a 10°C, el contacto de diferentes soluciones electrolíticas con el pescado o que se hayan aplicado procesos de congelación. De hecho, para esta última situación, han utilizado esta técnica para diferenciar el pescado fresco del descongelado.

DETERMINACION DEL pH.

AUMENTO DEL VALOR DEL pH, COMO CONSECUENCIA DE LA ACTIVIDAD DE ENZIMAS Y BACTERIAS.	TELEOSTEOS pH: 6,9-7,2 SOSPECHOSOS ALTERACION ESLAMOBRANQUIOS pH>7 ???
-------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------

DETERMINACION DE COMPUESTOS NITROGENADOS

Los compuestos nitrogenados del pescado y productos de la acuicultura pueden ser de origen proteico y no proteico. La degradación del nitrógeno proteico (NP) del pescado da lugar a polipéptidos cada vez más sencillos y aminoácidos que por acción de las desaminasas de origen microbiano producen ácidos orgánicos y amoniaco, y por la descarboxilasa da lugar a aminas biógenas. El nitrógeno no proteico (NNP), que constituye el 9-18% del nitrógeno total del músculo en peces teleósteos, está compuesto fundamentalmente por bases volátiles, óxido de trimetilamina (OTMA), creatinina, aminoácidos libres y bases púricas. El valor del nitrógeno básico volátil total (NBVT) expresa cuantitativamente el contenido bruto en bases volátiles de bajo peso molecular y aminas, solubles en agua, procedentes de la descarboxilación de aminoácidos y se ha considerado representativo del grado de alteración de los productos pesqueros. El contenido en nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) en el pescado es responsable del característico olor a pescado alterado, por lo que se ha empleado como

índice del grado de alteración de los productos pesqueros. Son muchos los procedimientos analíticos propuestos para estimar el contenido en TMA presente en el pescado: método colorimétrico, de microdifusión y sus modificaciones como el método de sal de picrato, de 53 destilación, métodos cromatográficos, y más recientemente el empleo de electrodos específicos.

El reactivo de Nessler ha venido empleándose para la comprobación de los compuestos amoniacales en agua de bebida y carne de mamíferos. En el pescado, ha sido propuesto como método de evaluación de amoníaco y urea.

DETERMINACION DEL OTMA

<p>REDUCCION DE OTMA CON CLORURO DE TITANIO Y MEDIDA DE TMA ANTES Y DESPUÉS DE LA REDUCCIÓN</p>	<p>NO ES ÚTIL EN EL CASO DE PESCADOS DE AGUA DULCE.</p> <p>BACALAO Y MERLUZA CUENTAN CON TASAS INICIALES DE 80-100 MG DE OTMA.</p> <p>GALLINETA SE MIDEN VALORES DE HASTA 150 mg DE OTMA.</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

DETERMINACIÓN DE NITROGENO VOLATIL TOTAL: CONSTITUIDO POR NH₃, TMA, DMA FUNDAMENTALMENTE

<p>DESTILACIÓN DE LUCKE Y GEIDEL</p> <p>UTILIZANDO OMG Y RECOGIENDO EL DESTILADO EN UNA SOLUCIÓN DE ÁCIDO BÓRICO.</p> <p>VALORACION DEL N DESTILADO CON SO₄H₂</p>	<p>NH₃:</p> <p>mg DE AMONIACO POR 100 g DE PESCADO</p> <p>LACHA..... 25 (F).....35(P).....240(A) BOQUERON..... 20 (F).....27(P).....230(A) SALMONETE..... 20 (F).....32(P).....235(A) CABALLA..... 17 (F).....33(P).....220(A) JUREL..... 15 (F).....25(P).....190(A)</p>
<p>MICRODIFUSIÓN DE CONWAY</p> <p>DESPROTEINIZADO DE PESCADO (TCA 20 %), VOLATILIZACIÓN CON CO₃K₂ EN COMPARTIMENTO HERMÉTICO Y RECOGIDA EN ACIDO BÓRICO CON INDICADOR (ROJO DE METILO-VERDE DE BROMOCRESOL EN ALCOHOL).</p>	<p>BOGA..... 20 (F)..... 30(P).....225(A) GOBIO..... 20 (F)..... 25(P).....220(A) LENGUADO..... 16 (F).....30(P).....185(A) MERLUZA..... 20 (F).....30(P).....220(A) RAYA..... 30 (F).....35(P).....240(A)</p> <p>TELEOSTEOS: < 20 (F)..20-30 (P)..>100 (A)</p>

VALORACION CON CLH MUY 0,02 N

P. CONGELADOS:25(E)..25-40(AC)..>40 (M)

DETERMINACIÓN DE TMA

<p>COLORIMÉTRICO DE DYER CON ACIDO PÍCRICO</p> <p>SE PARTE DE UN DESPROTEINIZADO PROTEICO, AL QUE SE LE FIJAN LAS RESTANTES BASES CON FORMOL Y SE EXTRAE LA TMA CON TOLUENO. DESPUÉS DE ELIMINAR EL TOLUENO CON KOH SE MIDE EL COLOR AMARILLO A 410 NM FORMADO AL REACCIONAR CON ÁCIDO PÍCRICO.</p>	<p>PESCADO CONGELADO:... 5(E).....6-11(AC).....12(M)</p>
<p>MICRODIFUSIÓN DE CONWAY</p> <p>MUESTRA + FORMOL NEUTRALIZADO</p> <p>FORMOL + NH₃ => HEXAMETILENTETRAAMINA QUE NO DIFUNDE</p> <p>DESPROTEINIZADO DE PESCADO (TCA 20 %), + FORMOL</p> <p>VOLATILIZACIÓN CON CO₃K₂ EN COMPARTIMENTO HERMÉTICO</p> <p>Y RECOGIDA EN ACIDO BÓRICO CON INDICADOR (ROJO DE METILO-VERDE DE BROMOCRESOL EN ALCOHOL). VALORACION CON CLH 0,02 N</p>	

DETERMINACIÓN DE AMONÍACO Y UREA CON EL REACTIVO DE NESSLER:

<p>EL REACTIVO DE NESSLER (YODOMERCURIATO POTÁSICO) EN SOLUCIÓN ALCALINA FORMA CON EL AMONÍACO UN COMPLEJO (YODOAMIDURO DE OXIDIMERCURILO) DE</p>	<p>BUENA CALIDAD: AMARILLO CLARO AZUFRAO MALA CALIDAD: NARANJA</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------

DERIVADOS DE NUCLEOTIDOS: VALOR K

La degradación de los nucleótidos ha sido objeto de numerosos estudios con el objetivo de obtener índices de frescura fiables. Saito *et al.* (1959) propusieron como índice de frescura del pescado el llamado *valor K*. Este índice manifiesta el grado de degradación enzimática de los nucleótidos y nucleósidos. El valor K expresa el porcentaje de inosina e hipoxantina con respecto a todos los compuestos de degradación del adenosín-trifosfato (adenosíndifosfato, adenosín-monofosfato e inosina-monofosfato). El valor K proporciona una puntuación de la frescura relativa, basada principalmente en los cambios autolíticos que tienen lugar durante el almacenamiento *post mortem* del músculo del pescado. De este modo, cuanto más alto es el valor K, menor el nivel de frescura. Pero algunas especies de pescado, como el bacalao del Atlántico, alcanzan un valor K elevado sin que necesariamente esté deteriorado. Lo que demuestra que este valor no es igualmente aplicable a todas las especies de peces marinos. Asimismo, la degradación de nucleótidos es sólo coincidental con los cambios percibidos en la frescura y no está necesariamente relacionada con su deterioro, considerándose que sólo la hipoxantina tiene un efecto directo en el sabor amargo percibido en el pescado deteriorado. Actualmente, es ampliamente aceptado que inosín-monofosfato es el responsable del deseable sabor a pescado fresco, sólo presente en los productos pesqueros de alta calidad.

VALOR K= % DE LA CANTIDAD DE INOSINA + HIPOXANTINA RESPECTO AL ATP Y RESTANTES PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN DE NUCLEÓTIDOS)

VALOR K= (HXR + HX / ATP + ADP + AMP + IMP+ HXR + HX) X 100

VALOR K-1= (HXR + HX / IMP+ HXR + HX) X 100

VALOR K:

< 20 MUY FRESCO
 20-40..... FRESCO
 > 40..... NO APTO

Se ha propuesto un nuevo índice de alteración por simplificación del valor K, denominado *valor K1*, que expresa el porcentaje de inosina e hipoxantina con respecto a la inosina-monofosfato. Se trata del mismo cociente del valor K, donde se ha eliminado del denominador los compuestos que se

encuentran en concentraciones imperceptibles o muy bajas, basándose en los rápidos cambios que se suceden en las concentraciones de ATP y ADP que se degradan rápidamente y se forma IMP, y que obtuvieron una buena correlación entre la frescura y este valor.

OTRAS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

REACCION DE LA PARAQUINONA (OBATA Y ZAMA)

<p>LA LISINA POR DESCARBOXILACION BACTERIANA SE REDUCE Y CICLIZA TRANSFORMANDOSE EN PIPERIDINA + P-QUINONA= APARECE COLORACION ROJA</p>	<table border="0"> <tr> <td>CALIDAD DEL PESCADO</td> <td>COLORACION</td> </tr> <tr> <td>FRESCO</td> <td>AMARILLO CANARIO</td> </tr> <tr> <td>MENOS FRESCO</td> <td>AMARILLO ANARANJADO</td> </tr> <tr> <td>ALTERADO</td> <td>ROJO (INTENSIDAD LINEAL)</td> </tr> <tr> <td colspan="2">UTIL EN ESLAMOBANQUIOS NO UTIL EN MOLUSCOS Y CRUSTACEOS</td> </tr> </table>	CALIDAD DEL PESCADO	COLORACION	FRESCO	AMARILLO CANARIO	MENOS FRESCO	AMARILLO ANARANJADO	ALTERADO	ROJO (INTENSIDAD LINEAL)	UTIL EN ESLAMOBANQUIOS NO UTIL EN MOLUSCOS Y CRUSTACEOS	
CALIDAD DEL PESCADO	COLORACION										
FRESCO	AMARILLO CANARIO										
MENOS FRESCO	AMARILLO ANARANJADO										
ALTERADO	ROJO (INTENSIDAD LINEAL)										
UTIL EN ESLAMOBANQUIOS NO UTIL EN MOLUSCOS Y CRUSTACEOS											

CADAVERINA

<p>LISINA----->CADAVERINA (ALTERACION)</p> <p>REACCION CON NINHIDRINA (0,1 % EN CLOROFORMO)</p>	<p>COLORACION VIOLETA PERSISTENTE EN ESTADO DE ALTERACION</p> <p>NO UTIL EN BATOIDEOS Y ESCUALOS</p> <p>NO UTIL EN AVANZADOS ESTADOS DE PUTREFACCION</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

INDOL

<p>TRIPTOFANO----->INDOL TIPTOFANASA BACTERIANA</p> <p>REACTIVO DE KOVACS</p>	<p>COLORACION ROJO PURPURA</p>
--------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------

REACCION DE PRECIPITACION CON BICLORURO DE MERCURIO

<p>LOS PRODUCTOS ORIGINADOS POR LA PROTEOLISIS, PRESENTES EN EL EXTRACTO ACUOSO, AL REACCIONAR CON EL ION MERCURICO ORIGINAN UN PRECIPITADO VISIBLE</p> <p>REACCION COMIENZA A SER POSITIVA A PARTIR DE 30 mg /100 g DE NH₃</p> <p>LA PRESENCIA DE GLOBULINA EN EL EXTRACTO INTERFIERE LA REACCION</p>	<p>NO ES APLICABLE EN GENERAL A GADIDOS Y ESCUALOS</p> <p>ES UTIL EN AGUJA, SARDUINA, BOQUERON, BOGA Y CEFALOPODOS</p> <p>INTERPRETACION:</p> <p>FRESCO: LIMPIDO O LIGERA OPALESCENCIA</p> <p>ALTERADO: LIGERO O INTENSO PRECIPITADO</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

DETERMINACION DE FORMOL EN PESCADO

<p>UTILIZACION FRAUDULENTA DEL FORMOL EN PECES DE PEQUEÑO TAMAÑO</p> <p>FORMOL + FENOL + SULFURICO: COMPUESTO DE COLOR ROJO CARMIN QUE SE DIFUNDE AL AGITAR</p>	<p>DETECTA CONCENTRACIONES DE 1 /10000</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------

INDICE DE PEROXIDOS

<p>LIBERACION DE I DEL KI POR PEROXIDO DE HIDROGENO</p> <p>VALORACION CON TIOSULFATO</p>	<p>EL INDICE DE PEROXIDOS AUMENTA CON EL ALMACENAMIENTO</p> <p>PESCADOS CONGELADOS: .2(E)... 3-10(AC)... > 10(M)</p>
------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Análisis microbiológico del pescado

El objetivo fundamental del análisis microbiológico de los productos de la pesca y de la acuicultura consiste en valorar la posible presencia de microorganismos de interés para la seguridad y salubridad alimentaria, así como de la calidad de los mismos y su alteración. Los análisis microbiológicos tradicionales, básicamente bacterianos, son laboriosos, lentos y requieren protocolos y personal entrenado. Para hacer más rápidos y eficaces, tanto en seguridad alimentaria como en aspectos comerciales, en los últimos años se han desarrollado métodos rápidos y automatizados. Las determinaciones más importantes son el recuento total, las bacterias implicadas en el deterioro y los gérmenes patógenos.