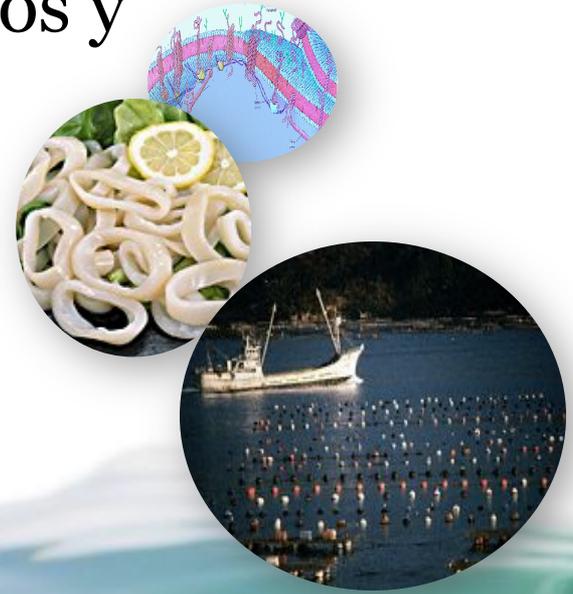


Cambios *postmortem* y su efecto en la calidad de productos pesqueros refrigerados y congelados



Carmen González Sotelo
Investigadora Científica
Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo

Calidad de los productos de la pesca



- **Determinada por una serie de factores**
 - Especie y Origen geográfico de la captura
 - Estado de madurez sexual
 - Arte de pesca
 - Tipo de muerte del pez
 - **Cambios inmediatos después de la muerte / cambios *Postmortem***
 - Método de conservación
 - Período de conservación
 - Presencia de parásitos o sustancias contaminantes
- **Estudios científicos:**
 - Determinar los mecanismos a nivel molecular que determinan los cambios químicos y organolépticos tras la muerte del animal
 - Objetivo:
 - Diseñar procesos que permitan ofrecer a los consumidores un producto en óptimas condiciones, con un valor adecuado en el mercado
 - Garantizar la calidad de los productos de la pesca que se ofrecen al consumidor

Calidad de los productos de la pesca

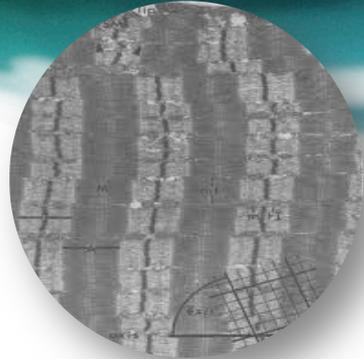
- **Tipo de cambios que se producen tras la muerte**
 - microbiológicos: debidos a la proliferación de microorganismos
 - enzimáticos: substratos y liberación de enzimas propias de los tejidos
 - físico-químicos: reacciones químicas



Cambios *postmortem* en el pescado

- Estructura del músculo del pescado
- Cambios *postmortem* y Rigor mortis
- Procesos autolíticos





Estructura del músculo de pescado

Ultraestructura del músculo

Composición química

Lípidos, Proteínas, Ácidos Grasos, Oligoelementos

Proteínas del músculo

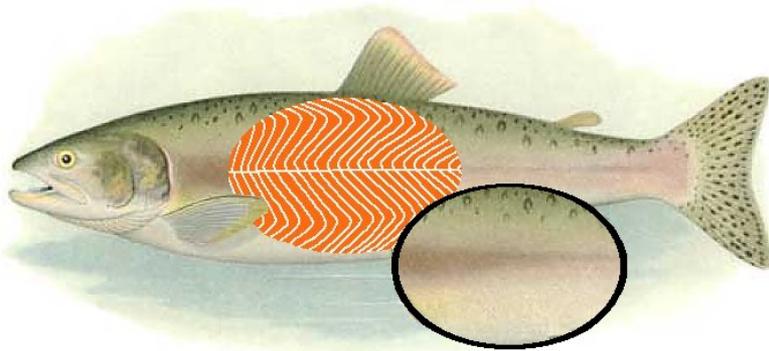
Proteínas Sarcoplásmicas

Proteínas Miofibrilares

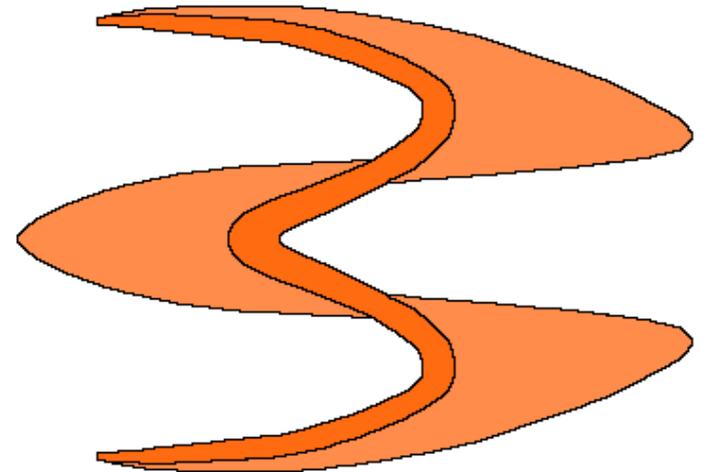
Proteínas del Conectivo

Ultraestructura del músculo de pescado

- Músculo de Pescado
 - Los músculos de los peces están formados por “láminas” o “placas” de fibras musculares: MIOTOMOS O MIOMEROS
 - Miotomos separados por láminas de tejido conectivo



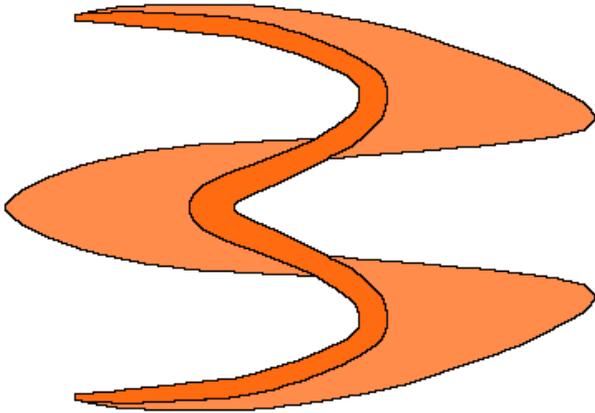
A Single Fish Muscle Myotome (Salmon)
Showing how the myotome is folded.



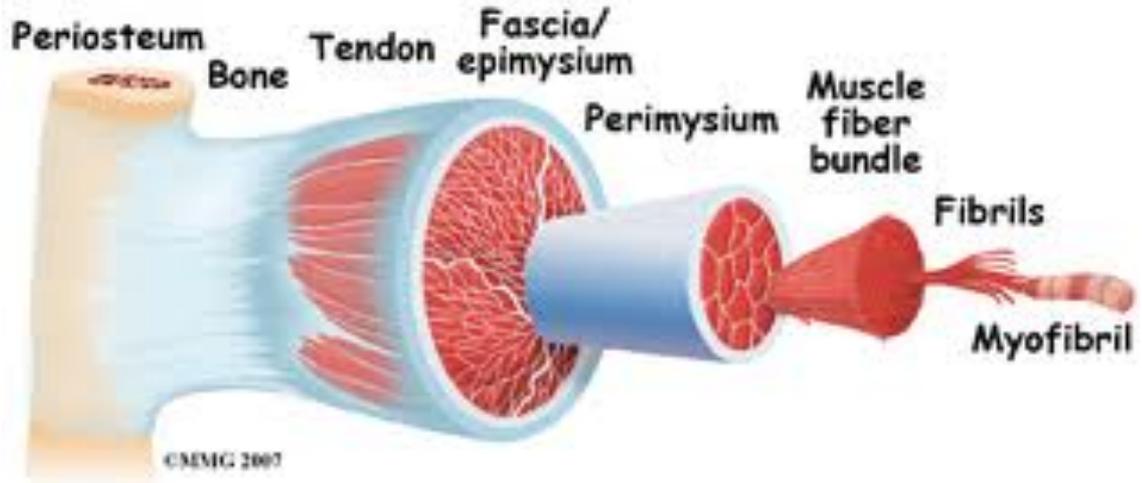
Ultraestructura del músculo de pescado

- Miotomos
 - Elevado número de fibras musculares
 - Células musculares: FIBRILLAS MUSCULARES

A Single Fish Muscle Myotome (Salmon)
Showing how the myotome is folded.

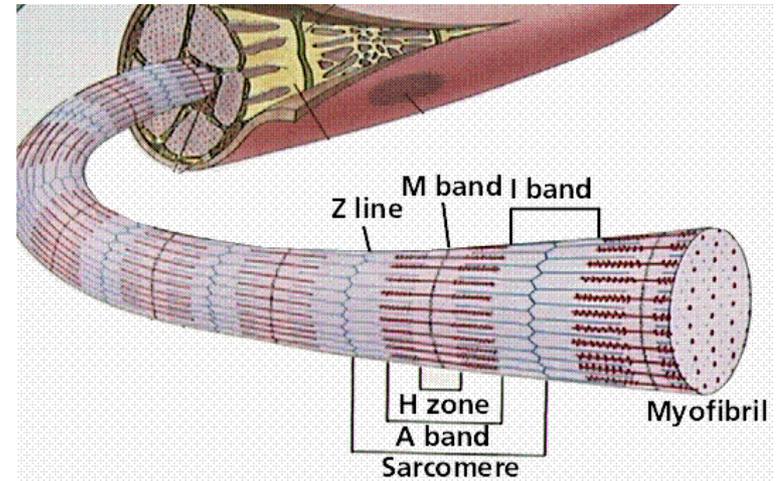
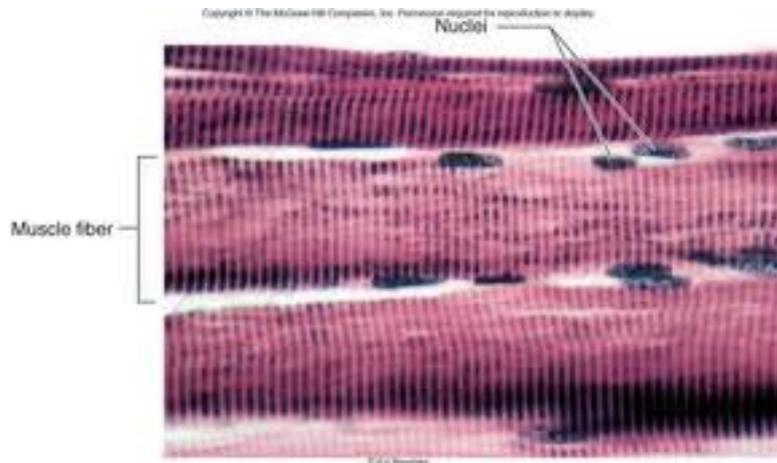


Muscle Structure



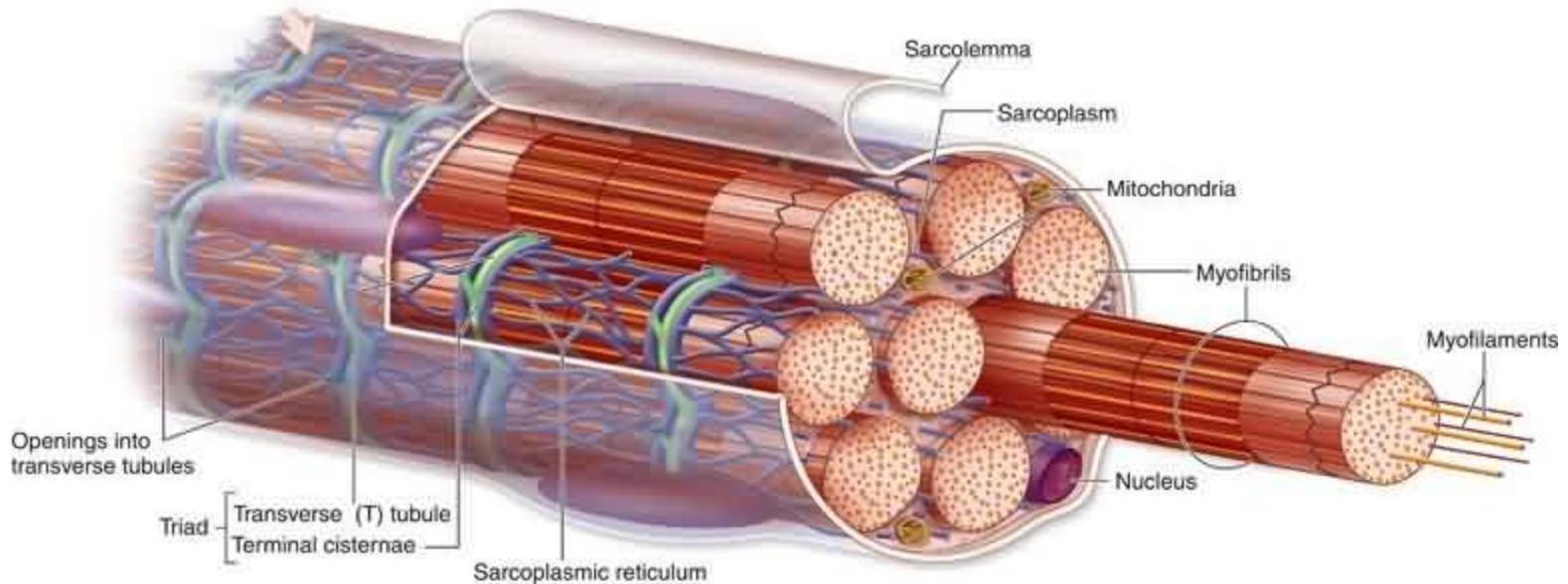
Ultraestructura del músculo de pescado

- FIBRILLA O CÉLULA MUSCULAR
 - Multinucleadas
 - Forma alargada
 - **Miofibrillas**



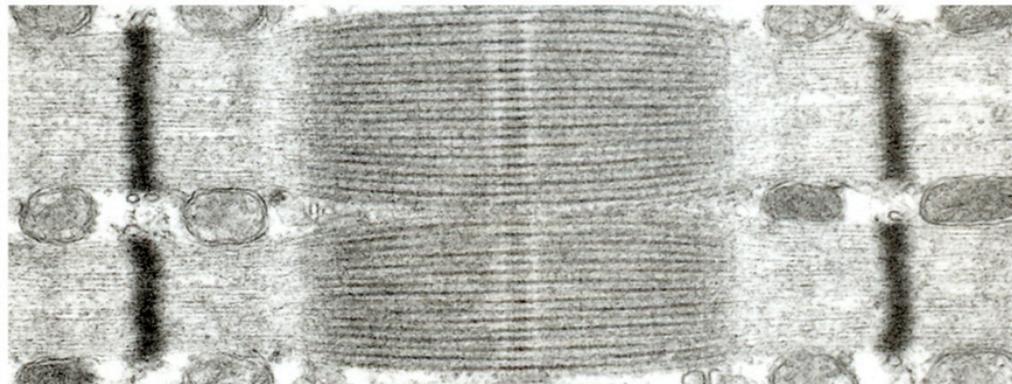
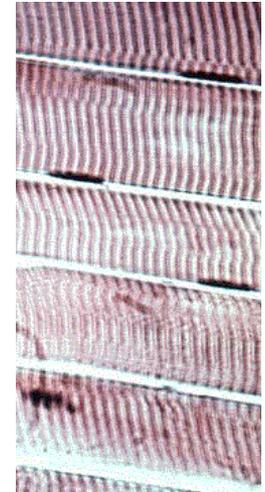
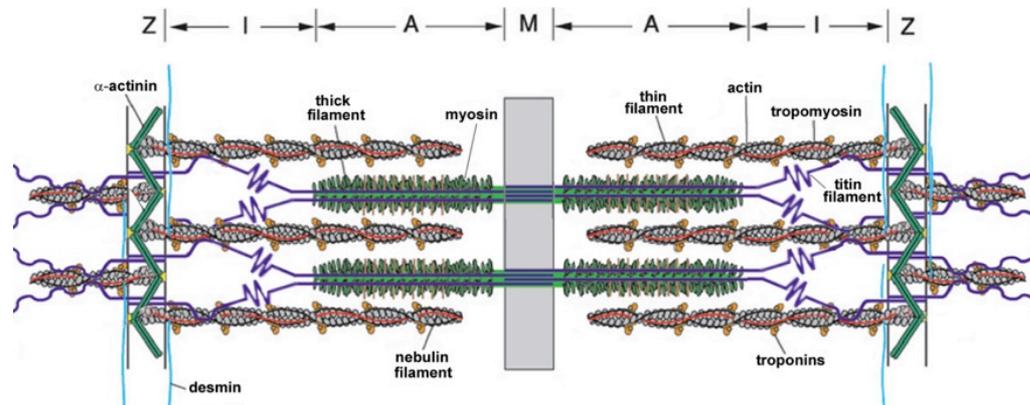
Ultraestructura del músculo de pescado

- FIBRILLA O CÉLULA MUSCULAR



Ultraestructura del músculo de pescado

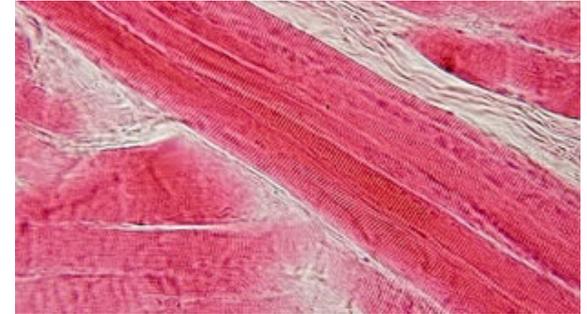
- Microscopia



Composición química del músculo

Fish	Size ^a	Moisture	Protein	Fat
Anchovy (<i>Thrissocles kammalensis</i>)	15/50	72.4	16.3	8.2
Cod, Atlantic (<i>Gadus morhua</i> , L.)	NR/NR	82.5	19.4	0.3
Cod, Pacific (<i>Gadus callarias</i>)	93/14 kg	79.5	17.6	0.9
Grouper (<i>Einephelus specilus</i>)	37/1300	78	19.1	1.8
Haddock (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	45/1057	81.7	18.5	1
Hake, silver (<i>Merlouccius bilinearis</i>)	80/NR	81.2	17.9	4.1
Halibut, Atlantic (<i>Hippoglossus hippoglasus</i>)	200/30 kg	80.8	20.3	6.2
Herring, Atlantic (<i>Clupea harengus</i>)	18/168	69	17.3	11.3
Salmon, pink (<i>Salmo salar</i>)	62/1500	66.3	20	3.7
Trout, rainbow (<i>Salmo gairdnerii</i>)	NR	66.3	21.5	11.4
Tuna, big eye (<i>Thunnus obesus</i>)	200/100 kg	74.6	23	0.6
Tuna, blue fin (<i>Thunnus thynnus</i>)	350/700 kg	71.2	20	10.5
Tuna, shipjack (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	60/5000	71.7	25.9	0.6
Turbot (<i>Rhombus maximus</i>)	57/8.71 kg	80.9	17.5	0.2

Proteínas del músculo



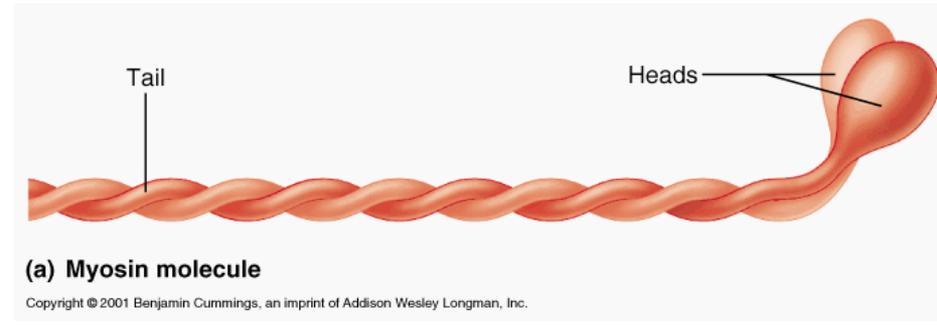
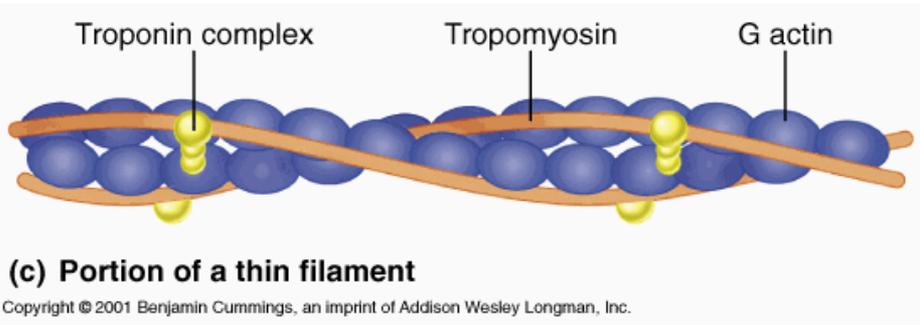
- **Proteínas Sarcoplásmicas:**
 - Constituyen el 25-30% del contenido total de proteínas del músculo
 - Proteínas solubles en soluciones salinas neutras de baja fuerza (<0.15 M)
- **Proteínas Miofibrilares:**
 - Constituyen 70-80 % del contenido total de proteínas del músculo
 - Solubles en soluciones salinas de fuerza iónica elevada (0.5 M)
- **Proteínas del Tejido Conectivo**
 - Constituyen 3% del contenido total de proteínas del músculo en teleosteos y el 10% en elasmobranquios
 - Colágeno

Proteínas del músculo

- Proteínas Sarcoplásmicas
 - Citoplasma de las células musculares (Sarcoplasma)
 - Enzimas relacionadas con el metabolismo celular
 - Principales enzimas
 - Gliceraldehído P DH
 - Aldolasa
 - Enolasa
 - Creatin Kinasa
 - Lactato DH
 - Piruvato Kinasa
 - Fosforilasa B
 - Mioglobina
 - Nucleotidasas
 - Proteasas
 - Lipasas

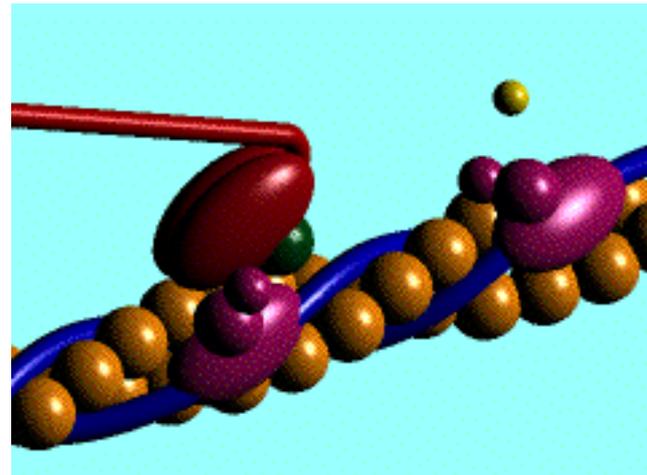
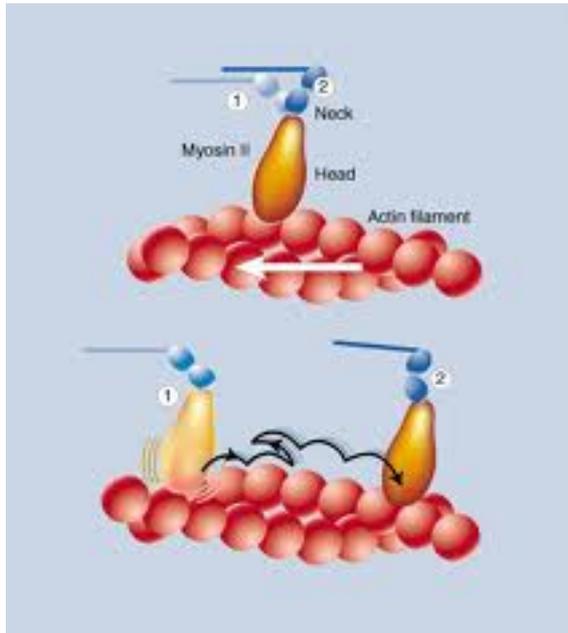
Proteínas del músculo

- Proteínas Miofibrilares
 - Miosina y Actina (mayoritarias)
 - Miosina: 480.000 da
 - 2 cabezas globulares/ 2 colas fibrosas
 - Filamento grueso
 - Actina G
 - Filamento delgado: conforman 2 fibras de actina F enroscadas
 - Monómero: 42.000 da



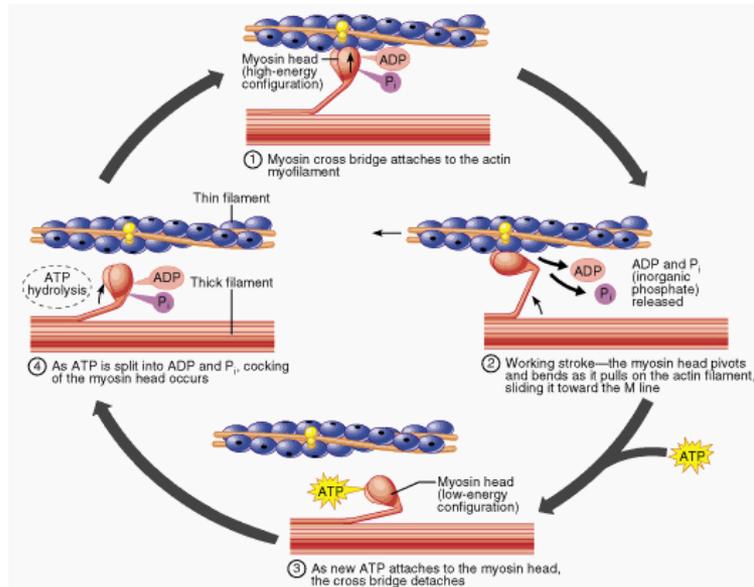
Proteínas del músculo

- Contracción muscular
 - Deslizamiento de los filamentos gruesos y delgados entre si
 - Unión entre las cabezas de Miosina y Actina: complejo Actomiosina
 - Giro de las cabezas de Miosina provocando un desplazamiento de los filamentos de actina

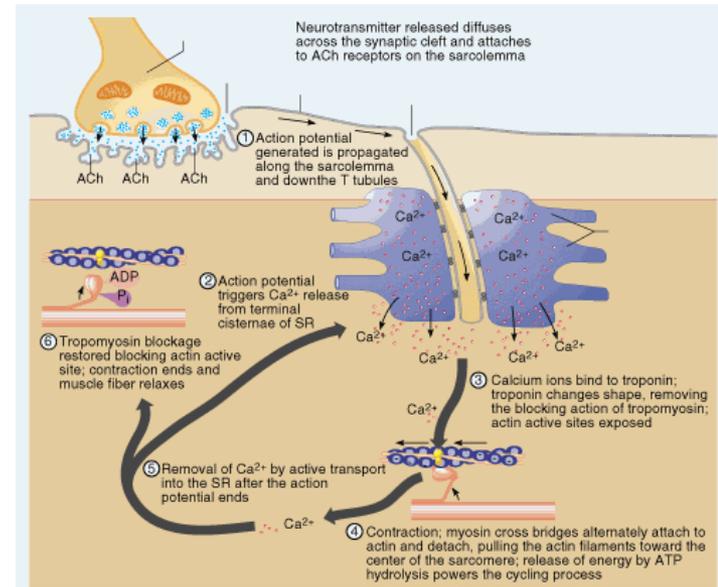


Proteínas del músculo

- Contracción muscular
 - Unión de la cabeza de miosina a una de actina requiere la unión de ATP a la cabeza de miosina
 - También es necesaria que el lugar para la unión de la miosina en la Actina este accesible, para ello es necesario que una molécula de Ca se una a la Troponina



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.



Cambios *postmortem* y Rigor

Cambios bioquímicos en el músculo

Estimación del “Rigor mortis”

Cambios Organolépticos

Cambios Bioquímicos en el músculo

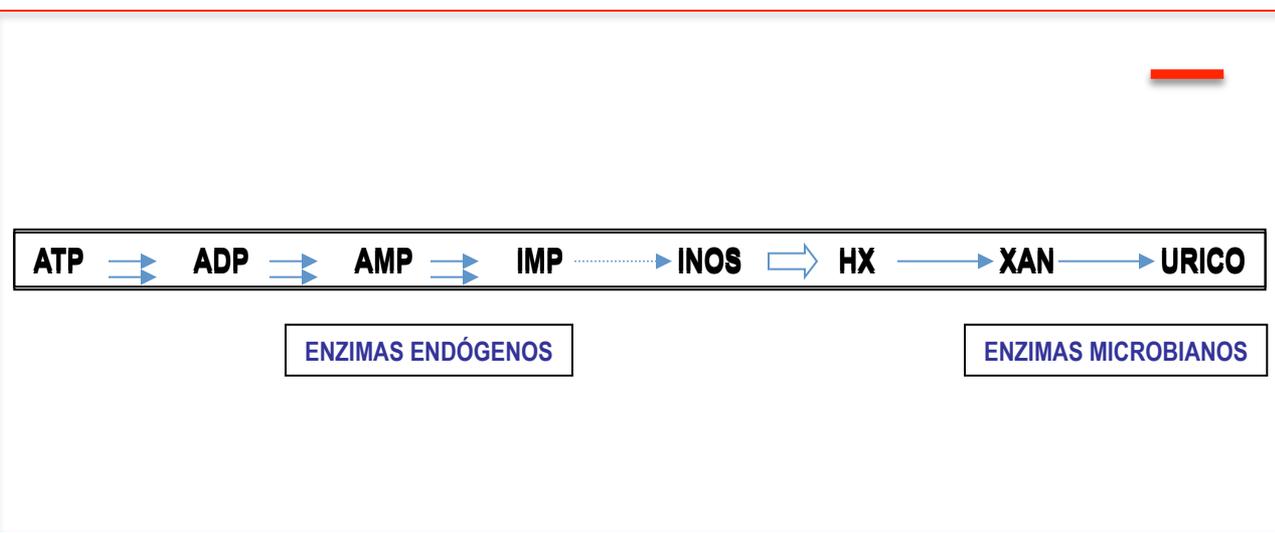
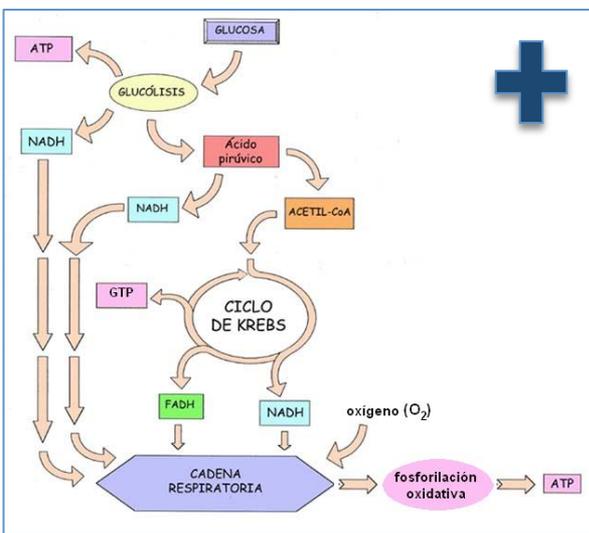
- Cambios en los Carbohidratos y Fosfatos orgánicos
- Descenso del pH
- Rigor / Resolución del Rigor / Postrigor



Cambios Bioquímicos en el músculo

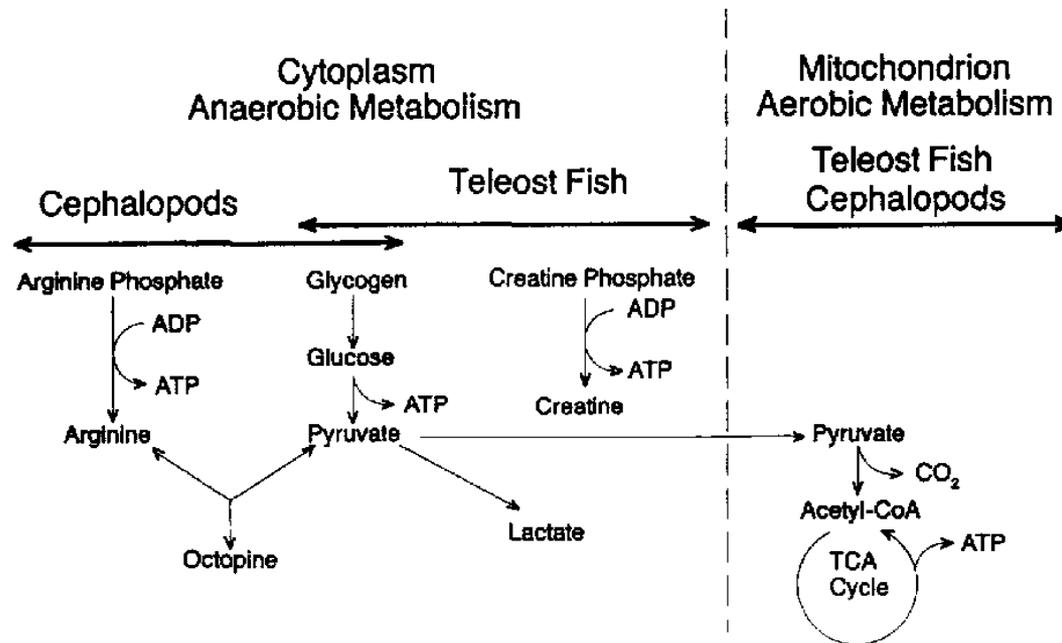
- **Cambios Fosfatos orgánicos**

- ATP molécula de proporcionar energía química a diversos procesos celulares
- Síntesis de ATP en el músculo: **Glucólisis** y fosforilación oxidativa (solo si hay aporte de O₂)
- Consumo de ATP: contracción del músculo (**ATPasa Miosina**) y la **CaATPasa** de la membrana de RE (responsable de la relajación muscular)



Cambios Bioquímicos en el músculo

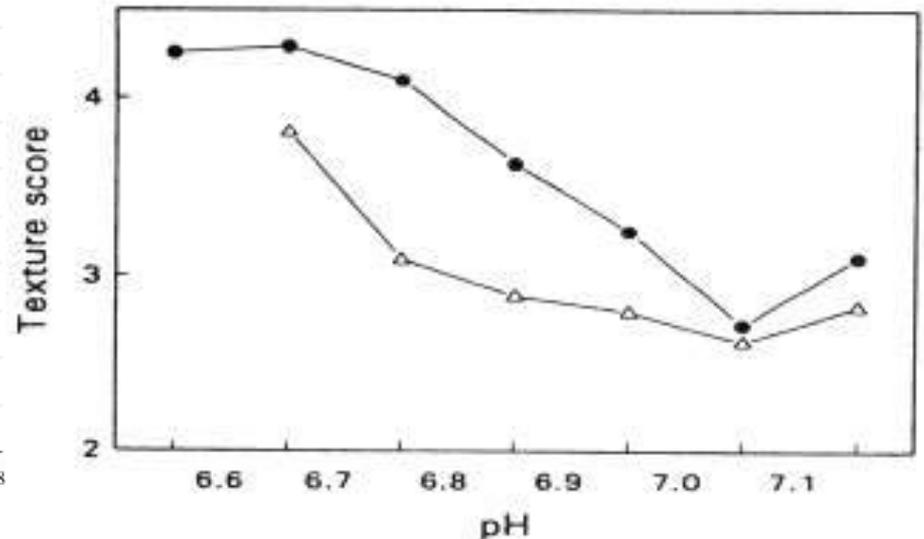
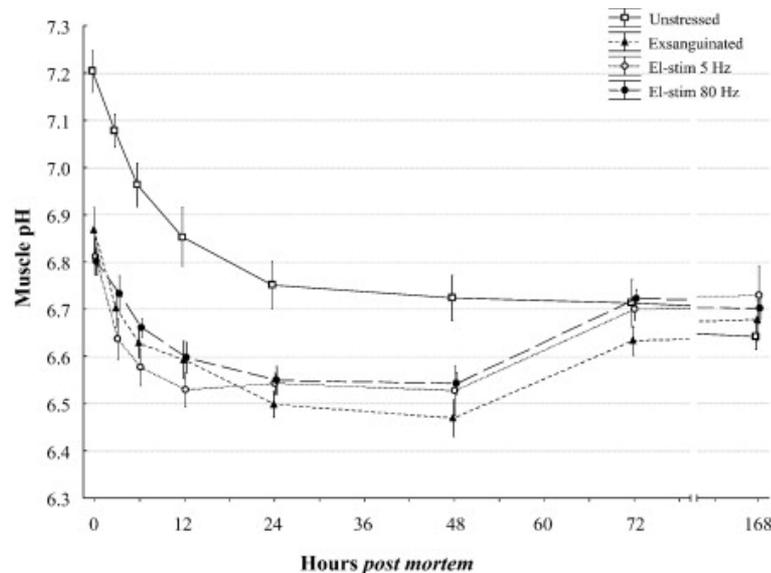
- **Cambios Carbohidratos y Fosfágenos**
 - Glucólisis anaerobia: Consumo de **Glucosa**
 - Degradación del **Glucógeno** muscular
 - Degradación de Fosfágenos: **Creatina Fosfato**
 - Producción de ATP mediante la actividad **Creatin Kinasa**



Cambios Bioquímicos en el músculo

- **Descenso del pH**

- Degradación de Glucógeno/Glucosa a ácido láctico
- Factores: estado nutricional del pez, stress. El bajo pH afecta de manera negativa a las cualidades del pescado e influye en la rapidez con la que se alcanza el rigor.



Cambios Bioquímicos en el músculo

- **Instauración del rigor: Stress**

- El stress previo a la muerte determina la rapidez con la que se alcanza el rigor.
- Tratamientos que prolonguen el estado pre-rigor retardan la pérdida de calidad e incrementan la vida útil del producto

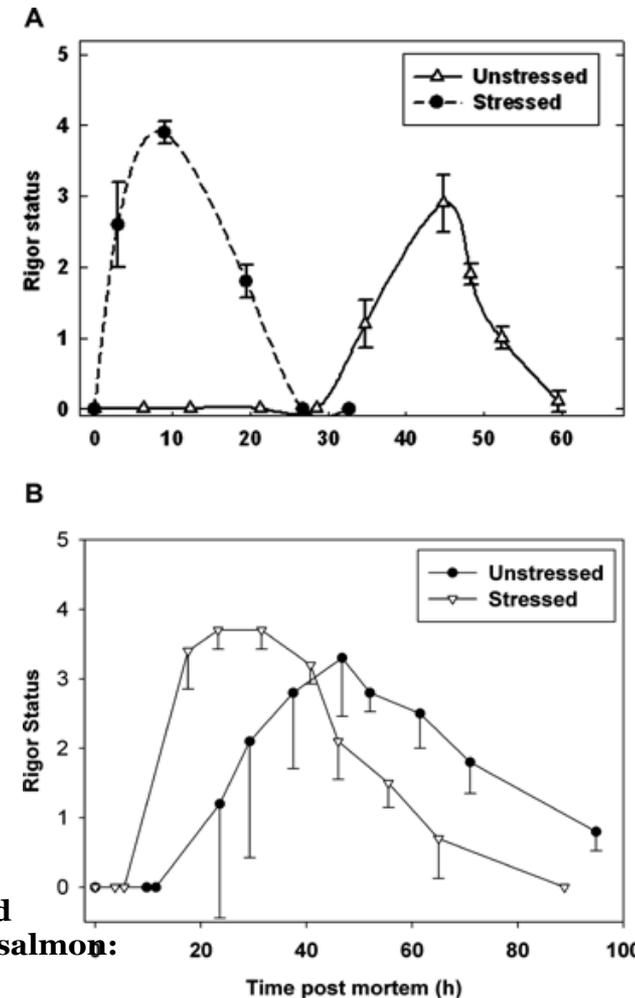


Figure 4—. Development of rigor mortis during ice storage of unstressed and stressed whole gutted (A) Atlantic salmon and (B) Atlantic cod. Mean \pm SD (salmon: $n= 25$; cod: $n= 5$).

Cambios Bioquímicos en el músculo

- **Instauración del rigor: Temperatura**
 - Temperaturas altas después de la muerte del pez (15-20°C) conllevan tiempos muy cortos hasta rigor
 - “*Gaping*” o resquebrajamiento del músculo: temperatura muy alta inicio del rigor

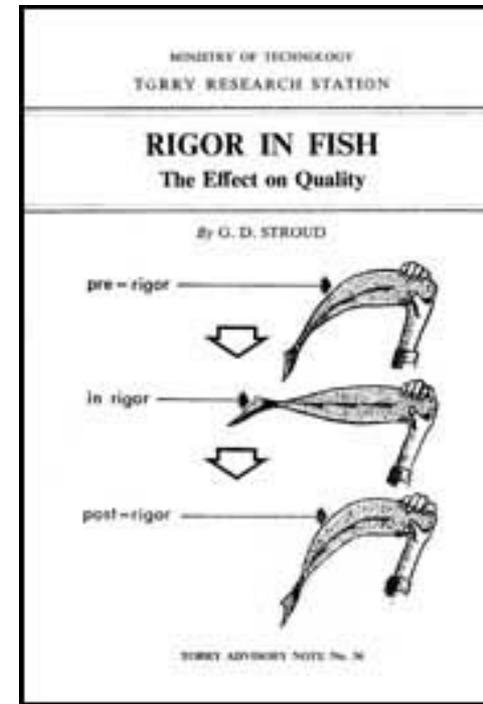


Cambios Bioquímicos en el músculo

- **Duración del rigor:**
- Importante en la conservación del pescado
- Durante esta fase se bloquea la permeabilidad de las membranas: procesos enzimáticos y/o bacterianos ralentizados
- Comienza en la mayoría de las especies por la zona de la cabeza, y se va extendiendo de manera gradual hacia la zona caudal

Cambios Bioquímicos en el músculo

- **Intensidad del rigor:**
- Visualmente: evidencia por un endurecimiento del tejido muscular
- Cuantificación: midiendo la dureza de los músculos, el desarrollo de tensión y el acortamiento, ángulo que forma la cabeza con un eje vertical al cual se engancha la cola del pez
- En algunas especies si se extraen los filetes antes de alcanzar el rigor, el acortamiento puede llegar a alcanzar el 20%





Cambios Bioquímicos en el músculo

- **Resolución del rigor:**
- Ablandamiento del tejido
- Aumento moderado del pH
- Incremento de la capacidad de retención de agua de las proteínas
- Aumento de la jugosidad del tejido
- Causas: acción de enzimas proteolíticas (catepsina, colagenasas)



Autolysis



Procesos autolíticos

- Los cambios organolépticos son la manifestación de procesos autolíticos que tienen lugar en los tejidos tras la muerte
- Descenso de pH actúa como disparador de la ruptura de membranas lisosomales (enzimas autolíticas)
- El comienzo de la autólisis depende de la especie: tras la captura
- Degradación inicial: enzimas endógenas (importancia enzimas digestivas)
- Degradación avanzada: enzimas bacterianas

Procesos autolíticos

- Alteración de la Textura: **Ablandamiento**
 - Desaparición de la línea Z
 - Disociación del complejo ACTOMIOSINA
 - Destrucción de Conectina y Colágeno
- Actividad de Proteasas Endógenas:
 - Responsables de la hidrólisis de estas proteínas
 - Muy activas a pHs 5.5 – 6.5
 - Catepsinas
 - Colagenasas



Cambios Bioquímicos durante la conservación en congelado del pescado

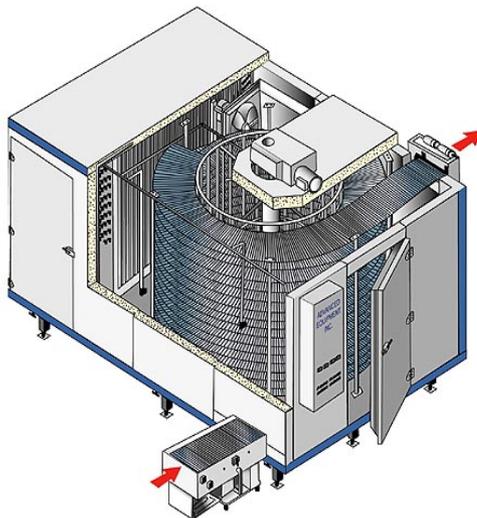
Características de los alimentos congelados

- **Baja Temperatura:**
 - ralentiza la mayoría de reacciones químicas, mediante la disminución de la movilidad molecular.
 - Desnaturalización por frío, las interacciones hidrófobas se desestabilizan
- **Formación de cristales de hielo:**
 - separación de fase líquida y solutos
 - Crioconcentración de solutos que da lugar a reacciones indeseadas



Factores que influyen en la calidad de los productos de la pesca congelados

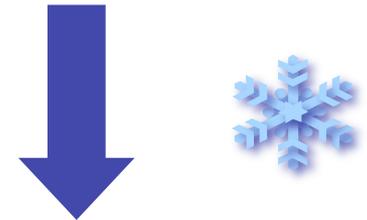
- Aplicación de tratamientos tras la captura y antes del proceso de congelación
- Tecnología empleada para realizar el proceso de congelación
- Naturaleza del pescado



Cambios que tienen lugar



- Alteración de la Textura: endurecimiento
- Alteración del olor
- Alteración del Sabor
- Alteración del Color



Etapas en el proceso de congelación

- Manipulación del pescado previa a la congelación
- Proceso de congelación
- Conservación en estado congelado
- Descongelación



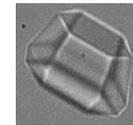
Manipulación del pescado previa a la congelación

- Especie
- Procesamiento a bordo
 - Descabezado
 - Evisceración
 - Fileteado
- Rapidez
- Baja Temperatura



Proceso de congelación

- Reducción de la temperatura hasta -18°C
- Cristalización del agua
- Velocidad: tamaño de los cristales de hielo



Velocidad



Conservación en estado congelado

- Tiempo de conservación
- Temperatura de conservación



Tiempo

Conservación en estado congelado: Cambios

- Fase acuosa: crecimiento y formación de cristales de hielo
 - Deshidratación de proteínas
- Cambios relacionados con la fase lipídica: hidrólisis / oxidación de TG y PL
- Cambios relacionados con otros metabolitos
 - OTMA (producción de FA y DMA)

Descongelación



Cambios químicos y bioquímicos en congelación

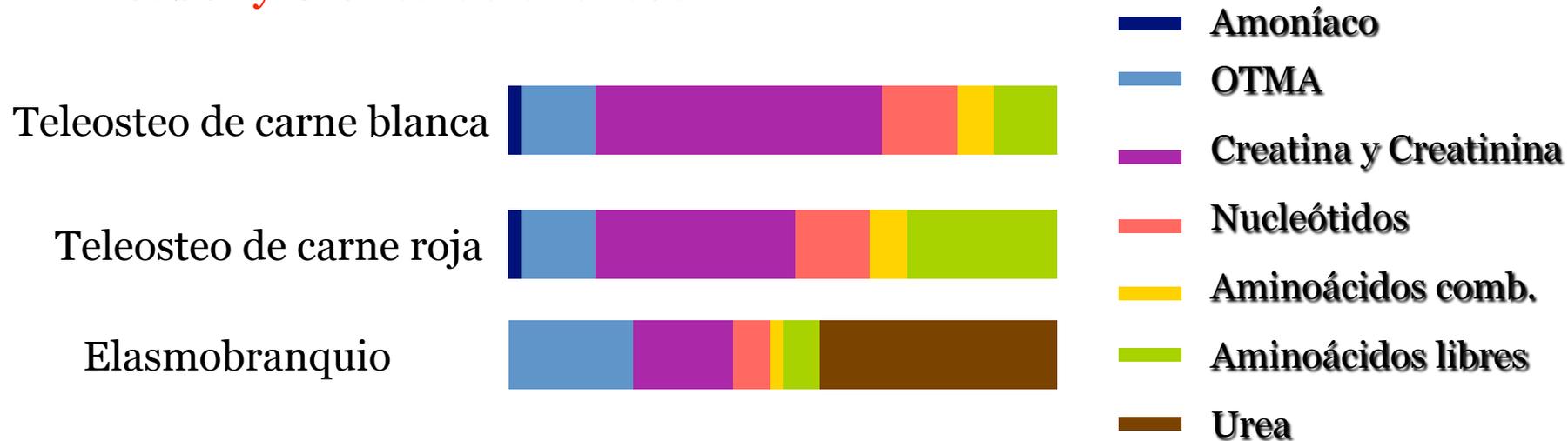
- Compuestos Nitrogenados No Proteicos
 - Aminoácidos Libres
 - Dipéptidos
 - Nucleótidos
 - OTMA
- Lípidos
- Proteínas



Compuestos nitrogenados no proteicos

- Extractos acuosos de los tejidos de peces: nitrógeno no proteico

– Sabor y Olor característicos



Compuestos nitrogenados no proteicos: Aminoácidos libres y Dipéptidos

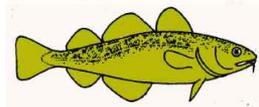
- Contenido en Aminoácidos Libres Elevado
 - Distribución cualitativa parecida en especies
 - Distribución cuantitativa diferente
- Contenido en Dipéptidos dependiente de especies
 - Carnosina (beta-alanilhistidina)
 - Anserina (beta-alanil- 1- metilhistidina)



Histidina y Anserina

Anguilidae

Carnosina



Anserina

Clupeidae

Histidina

Compuestos nitrogenados no proteicos: Aminoácidos libres y Dipéptidos

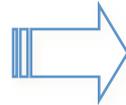
Enzimas que degradan dipéptidos

Anserinasa en Bacalao: 1-metil histidina + b-alanina

Histidasa en músculo de caballa

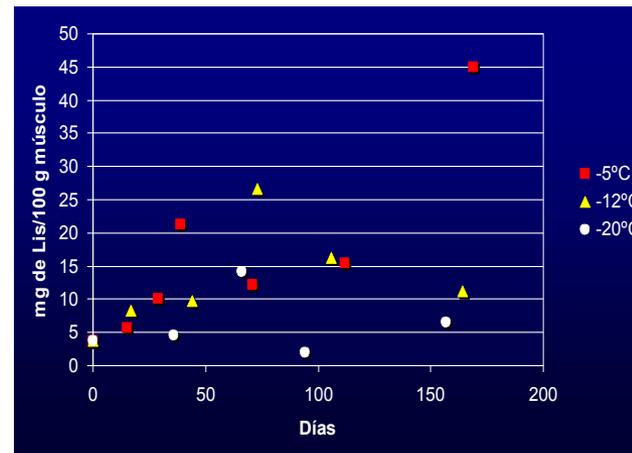
Actividad Proteolítica

Lisina y Histidina



inestabilidad de proteínas

LYS PRODUCIDA A -5°C Y -12°C
MERLUZA CONGELADA



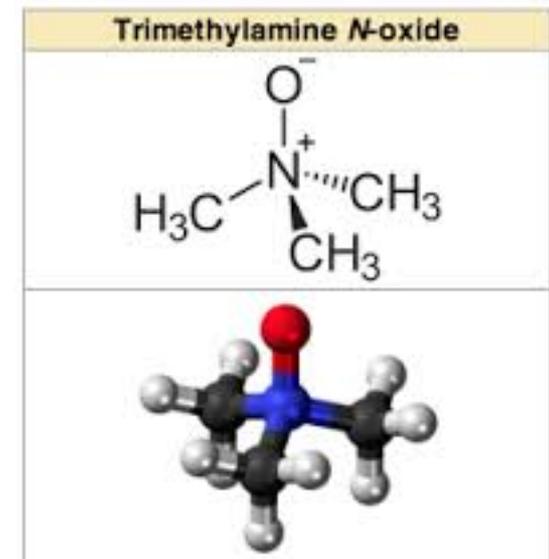
Compuestos nitrogenados no proteicos: OTMA

Cantidades de OTMA dependiente de especies

- **Elasmobranchios: 750-1480 mg de N/100 g**
- **Gádidos: 44-166 mg de N/100 g**
- **Peces Planos: 20 mg de N/100 g**
- **Moluscos Cefalópodos: 100-200 mg N/100g**

Localización del OTMA

- **Teleósteos de carne blanca: mayor conc. OTMA en músculo blanco**
- **Mayor concentración en músculo que en vísceras**



Compuestos nitrogenados no proteicos: OTMA

- Descomposición del OTMA
 - Reducción por enzimas bacterianas



- Reducción por enzimas endógenas



- Hidrólisis Térmica

Compuestos nitrogenados no proteicos: OTMA

OTMAasa

- Producción equimolecular de DMA y FA
- Enzima: dos fracciones proteicas (?) y cofactor no proteico (flavonucleotido: FMNH₂ y FADH₂)
- Inhibida por O₂
- Activada por Cl₂Fe, ascórbico y azul de metileno
- Inhibida por cianuro, riboflavina, azida sódica
- Resiste congelación, inactivada por calentamiento

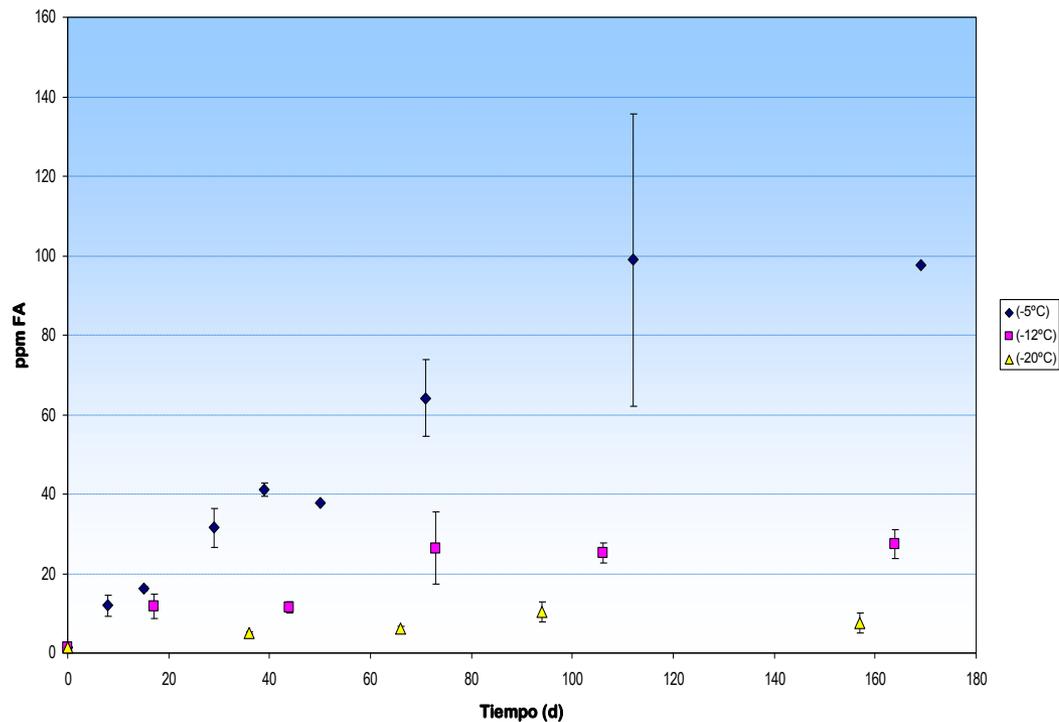


Compuestos nitrogenados no proteicos: OTMA

OTMAasa



Producción de FA en *Merluccius merluccius* congelada



Lípidos

- **Especies**

Magras:	Hígado	< 1% Músculo
---------	--------	--------------

Grasas:	Adyacente músculo	18-20%
---------	-------------------	--------

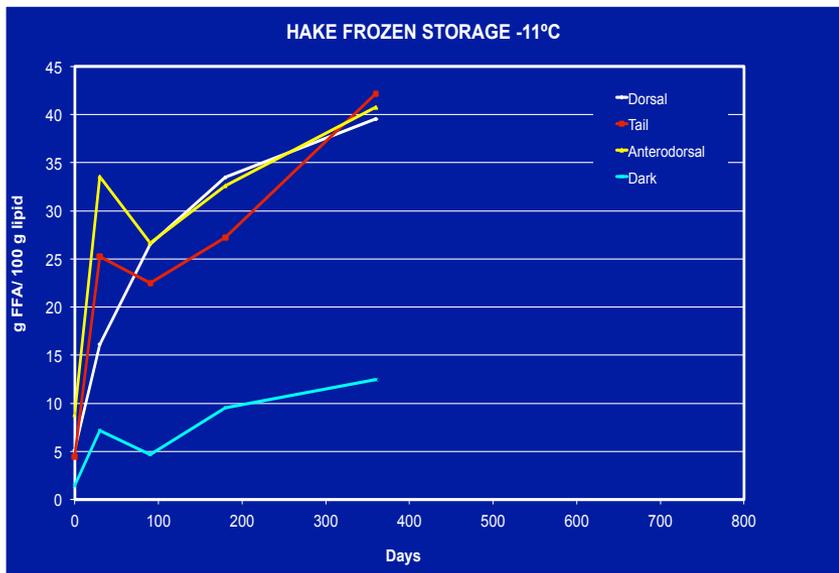
- **Cambios**

Hidrólisis	AGL
------------	-----

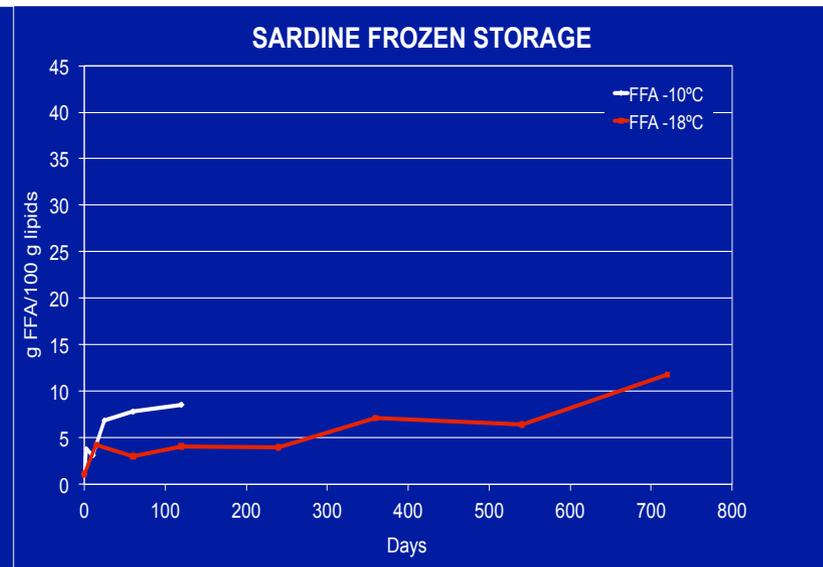
Oxidación

- **Desnaturalización de Proteínas**

Hidrólisis de lípidos durante la conservación en congelado



AUBOURG ET AL. (1999). Z.LEBENS.M.U.FORSCH. A208: 189-193



AUBOURG ET AL. (1998). JAOCS 75(5): 575-579

Desnaturalización de proteínas

- Alteraciones en la textura
 - ⊕ Dureza
 - ⊕ Pérdida de jugosidad (exudado)
 - ⊕ Aspecto fibroso y sin brillo
- Pérdida de funcionalidad
 - ⊕ Capacidad de retener agua



Desnaturalización proteínas

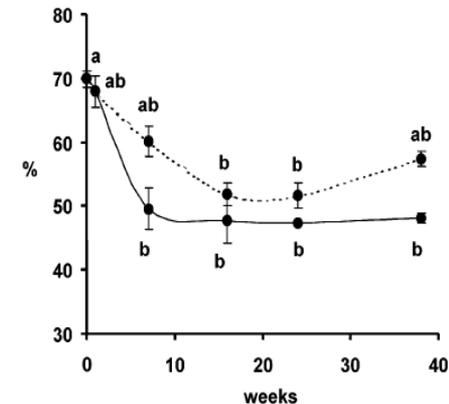
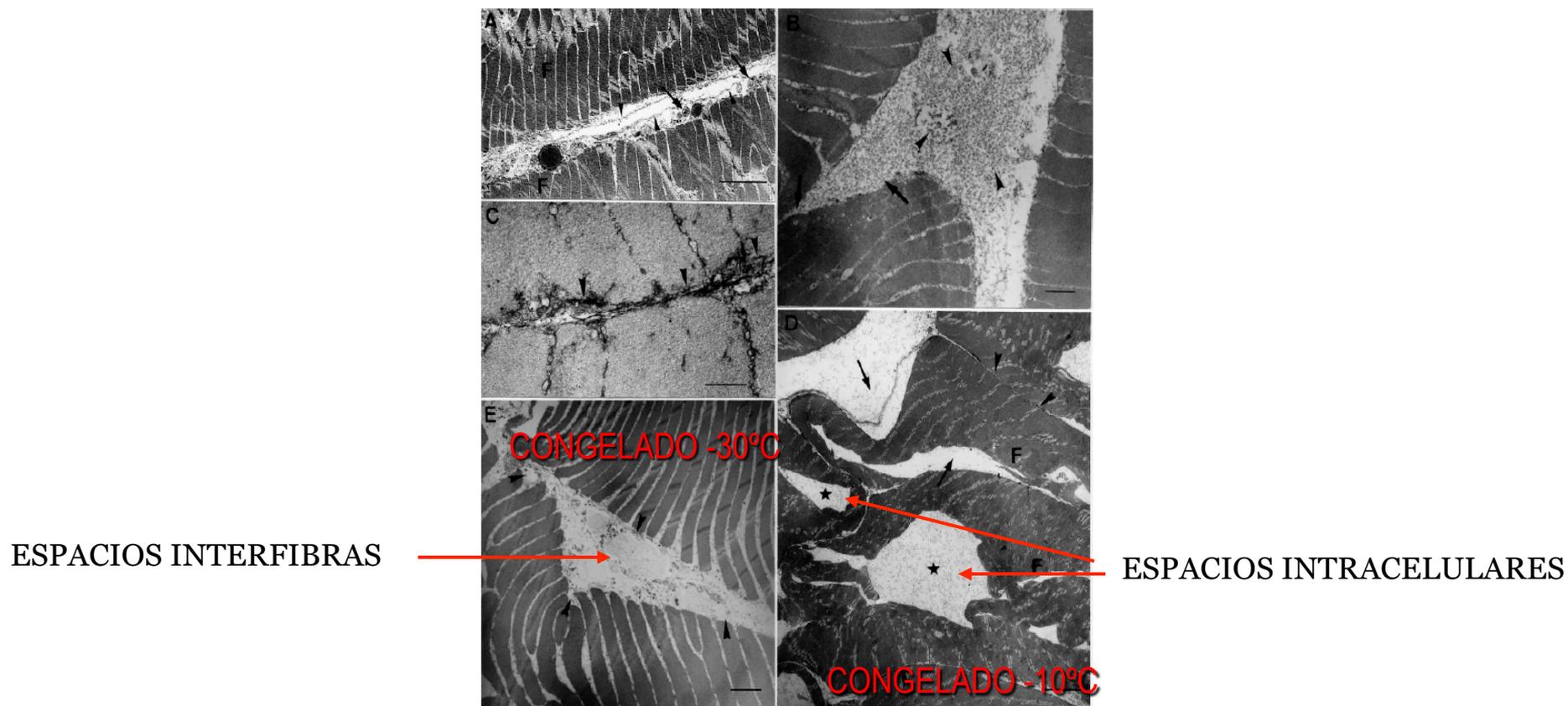


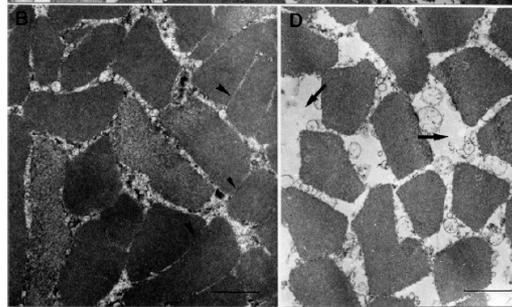
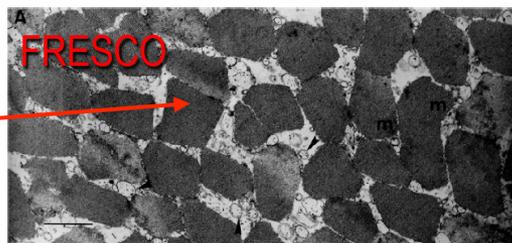
Figure 2. Water holding capacity (%) from fresh hake fillets fresh-stored at $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (solid lines) and $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (dotted lines) (mean \pm SEM). Different letters for the same temperature indicate significant differences ($P < 0.05$).

Cambios en la ultraestructura del músculo

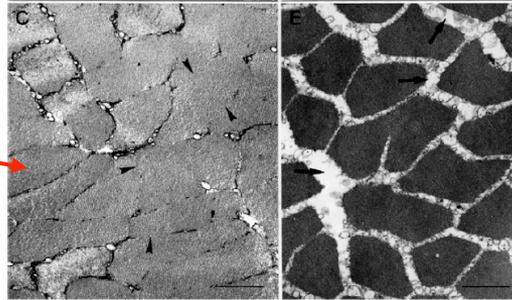


Cambios en la ultraestructura del músculo

MIOFIBRILLAS



MIOFIBRILLAS

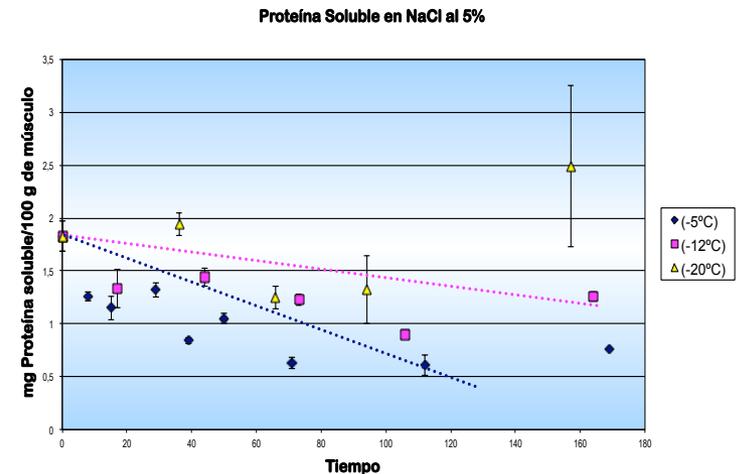


-30°C 9 MESES

-10°C 9 MESES

Desnaturalización de proteínas

- Solubilidad de proteínas en soluciones salinas
 - ⊕ Sarcoplásmicas: solubles en soluciones acuosas de baja fuerza iónica (0.1 M)
 - ⊕ Miofibrilares: solubles en soluciones acuosas de fuerza iónica media-alta (0.3-1 M)
 - ⊕ Estroma: insolubles en soluciones salinas



- Pérdida de solubilidad durante la conservación en congelado
 - ⊕ Miofibrilares

Desnaturalización de proteínas

- Solubilidad de proteínas en soluciones salinas
 - ✦ Estrecha correlación entre parámetros sensoriales de calidad y solubilidad de proteínas
 - ✦ Correlación entre disminución del nitrógeno soluble y **Textura**

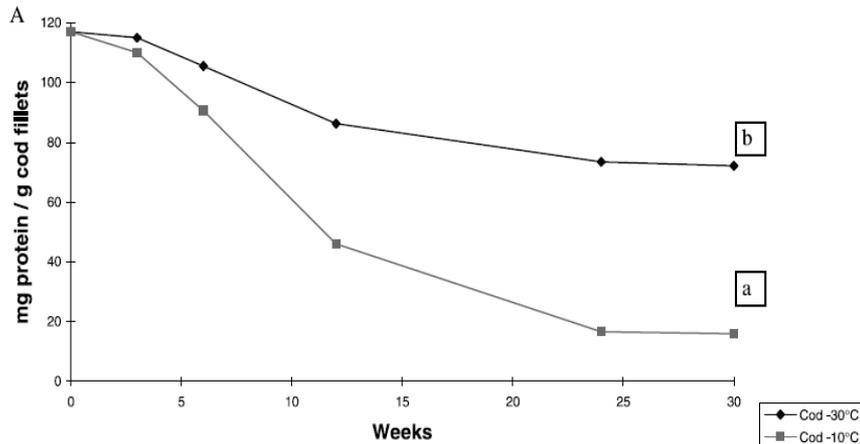


Table 2

Force (kg) required for compression of raw fillets of cod and haddock stored at -10 and -30°C for 18, 24 and 30 weeks

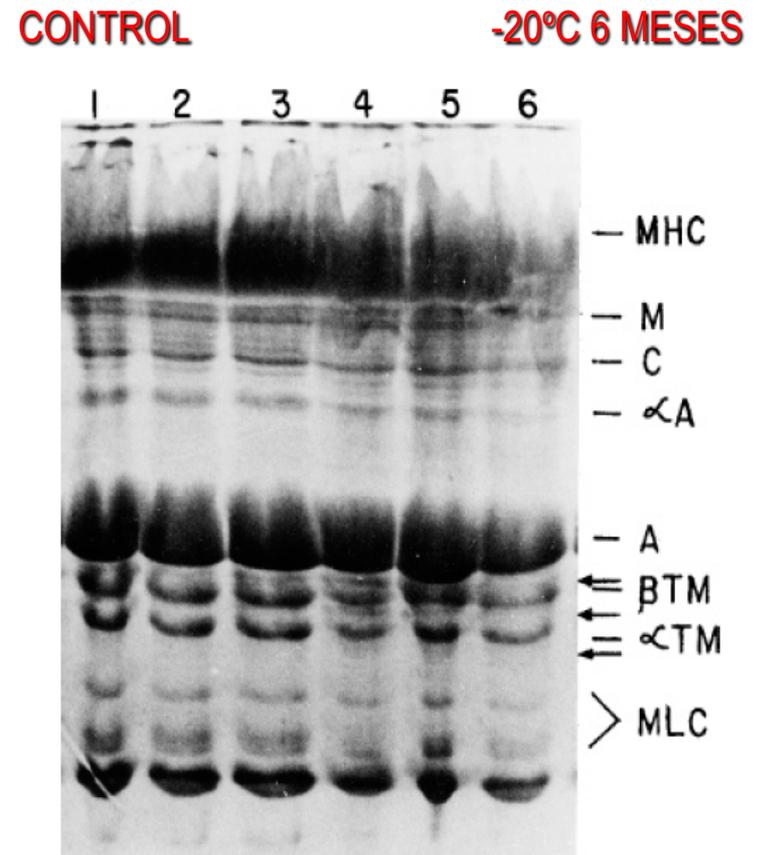
Sample	Storage time (weeks)	Force (kg)	
		-10°C	-30°C
Cod	18	8.04 ± 2.98	1.63 ± 0.26
	24	12.1 ± 7.5	1.98 ± 0.94
	30	24.55 ± 3.4	3.2 ± 0.34
Haddock	18	8.7 ± 2.36	3.65 ± 1.8
	24	10.84 ± 7.9	4.65 ± 0.58
	30	36.14 ± 0.2	14.7 ± 5.75

Desnaturalización de proteínas

- ⊕ Descenso de la solubilidad debido a dos fenómenos
 - ⊕ Desnaturalización
 - ⊕ Enlaces intermoleculares: agregados
- ⊕ Proteínas miofibrilares (miosina y actomiosina): cambios más acusados
- ⊕ Naturaleza de los agregados proteicos:
 - ⊕ Utilización de agentes que rompen enlaces intermoleculares
 - ⊕ Detergentes (SDS)
 - ⊕ Beta-mercaptoetanol
 - ⊕ Urea

Desnaturalización de proteínas

- ⊕ Disminución de las cadenas pesada de Miosina (MHC)
- ⊕ Formación de agregados de alto peso molecular
- ⊕ Agregados: enlaces covalentes entre proteínas
 - ⊕ Insolubles en SDS





Conclusiones

Conclusiones

- ⊕ Mecanismos de deterioro de la calidad:
 - ⊕ Punto de partida para encontrar soluciones técnicas que prolonguen la vida útil tanto de pescado refrigerado, como de congelado
- ⊕ Mejoras se centran:
 - ⊕ En los métodos de sacrificio (técnicas de pesca y en peces de acuicultura): disminución de compuesto que influyen en un descenso de pH rápido o acortamiento de periodo en alcanzar el rigor
 - ⊕ Disminución de la carga bacteriana inicial
 - ⊕ Mantenimiento de temperaturas de refrigeración bajas y homogéneas

Conclusiones

- ⊕ Mejoras se centran:
 - ⊕ Elevadas velocidades de congelación : ultra congelación
 - ⊕ Mantenimiento estable de la temperatura de conservación, evitando los ciclos de subida de temperatura (“melting”)
 - ⊕ Eliminación de tejidos ricos en enzimas que contribuyen al deterioro:
 - ⊕ OTMAasa (riñon, desangrado)
 - ⊕ Lipoxigenasas (piel, sangre, músculo rojo)



Conclusiones

Adición de compuestos que ayuden a evitar:

- ⊕ Reacciones no deseadas en el músculo
 - ⊕ crioprotectores,
 - ⊕ antioxidantes,



GRACIAS POR VUESTRA ATENCIÓN