



Consejo Superior de Investigaciones Científicas

INSTITUTO DEL FRÍO

Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, ESPAÑA

Tel.: 91 544 56 07 - 91 549 23 00 Fax: 91 549 36 27

Contrato Instituto del Frío (CSIC)-ANAPE

Informe final

CALIDAD DE BOQUERONES Y SARDINAS EN FUNCIÓN DE DISTINTOS SISTEMAS DE ENVASADO

M. Careche, R. García y J. Borderías

Departamento de Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos y del

Pescado y Productos de la Pesca

Ciudad Universitaria s/n 28040 Madrid

Madrid, Diciembre de 1999

Dra. Mercedes Careche

D. Raúl García Díez



Prof. Dr. D. Javier Borderías

INDICE

1. INTRODUCCION.....	4
2. OBJETIVOS Y DISEÑO DEL TRABAJO	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1. Especies estudiadas	8
3.2. Preparación de los lotes.....	8
3.3. Transporte y condiciones de conservación en refrigeración.....	9
3.4. Análisis realizados.....	11
3.4.1. Análisis <i>in situ</i>	11
3.4.2. Composición porcentual	11
3.4.3. Análisis periódicos.....	11
3.4.3.1. Análisis fisico-químicos	12
3.4.3.2. Análisis microbiológicos	14
3.4.3.3. Análisis sensorial.....	15
3.4.3.4. Análisis estadístico.....	15
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	16
4.1. Características iniciales de la materia prima.....	16
4.2. Evolución de la temperatura en la preparación de los lotes y durante la conservación en refrigeración.....	16
4.3. Efecto del tiempo de conservación en agua y hielo durante el transporte.....	19
4.3.1. Evolución de índices fisico-químicos.....	19
4.3.2. Análisis microbiológicos.....	33
4.3.3. Inspección sensorial.....	51
4.4. Efecto del tiempo de conservación en agua y hielo una vez que llegan las muestras a destino.....	59
4.5. Consideraciones generales.....	67

5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS	69
6. CONCLUSIONES.....	70
7. BIBLIOGRAFIA	71
8. TABLAS	75
9. ANEXO.....	94
10. AGRADECIMIENTOS	97

Contrato Instituto del Frío (CSIC)-ANAPE

Informe final

CALIDAD DE BOQUERONES Y SARDINAS EN FUNCIÓN DE DISTINTOS SISTEMAS DE ENVASADO

M. Careche, R. García y J. Borderías

Departamento de Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos y del Pescado y

Productos de la Pesca

Ciudad Universitaria s/n 28040 Madrid

Madrid, Diciembre de 1999

1. INTRODUCCION

El deterioro que sufren las especies pelágicas pequeñas como el boquerón y la sardina es más rápido que el de otras especies de pescado. Esto es debido principalmente a sus características intrínsecas y de captura y a las prácticas procesado utilizadas para estas especies. Moral (1985a) y Burt y Hardy (1992) han revisado los factores asociados al deterioro de estas especies. Entre los factores intrínsecos, destaca su tamaño, alta fragilidad muscular y alta actividad metabólica. Debido a que la relación superficie/volumen del pescado es en estas especies superior que en pescados de mayor tamaño, y a que los procesos deteriorativos ocurren principalmente en la superficie (Sewan, 1971), estos pescados de pequeño tamaño tenderán a deteriorarse a mayor velocidad. Otro aspecto relacionado con el tamaño, es la fragilidad muscular, de tal forma que son muy susceptibles al daño mecánico, pesentando escasa resistencia a la rotura de la piel a las presiones más mínimas (Moral, 1985a). Como consecuencia de su biología, estas especies presentan un metabolismo muy rápido, con enzimas que permanecen activas tras la muerte del pez, causando hidrólisis de proteínas y lípidos, así como otros cambios químicos que alteran rápidamente la calidad organoléptica de estos productos (Sikorski, et al. 1990). Una de las consecuencias de la actividad enzimática es la lisis de las paredes abdominales, fundamentalmente en los meses de verano, cuando presentan una mayor voracidad (Huss, 1988). Este fenómeno es también importante debido a

la imposibilidad de eviscerar estos individuos, práctica por otro lado común en especies de mayor tamaño y valor comercial. En las condiciones en las que se realiza de la pesca de estas especies se requiere la manipulación a bordo de gran cantidad de pescado en tiempos cortos, presentando un riesgo en la producción de daños mecánicos. El daño físico es indeseable no únicamente desde un punto de vista de aceptabilidad visual, sino que al romper el pescado se pueden liberar vísceras y contenido enzimático al medio, acelerando de esta manera el deterioro bioquímico (Burt y Hardy 1992).

La adecuada conservación de estos pescados desde su captura hasta su preparación para el consumo o posterior procesado es fundamental para evitar un rápido deterioro. Esta conservación implica la necesidad de aplicar frío a estos pescados lo antes posible en unas condiciones que eviten daños físicos. La aplicación del frío ralentiza la degradación de los constituyentes del músculo disminuyendo la pérdida de frescura y como consecuencia la velocidad de aparición de fenómenos como el estallido de la pared abdominal o la producción de enranciamiento. A su vez minimiza la contaminación bacteriana que haría el pescado no apto desde un punto de vista sanitario. La aplicación del frío puede, por ejemplo, reducir el crecimiento bacteriano cuatro veces por cada 10 °C (Burt y Hardy, 1992). Por otra parte, estos pescados sufren unas grandes variaciones estacionales en composición debido a cambios relacionados con el ciclo reproductivo y disponibilidad de alimento, de tal forma que el contenido porcentual en proteínas y fundamentalmente lípidos (Pozo et al., 1992) puede ser muy variable, condicionando su calidad inicial y su velocidad de deterioro durante la conservación (Moral, 1985a).

Existen diversos métodos de refrigeración y conservación que se utilizan para estas especies. Excepto en casos en los que la temperatura ambiental es muy baja y el tiempo desde la captura hasta su descarga en puerto es muy corto, es imprescindible aplicar a bordo métodos de refrigeración (Sorensen y Mjelde, 1992). Hansen y Jensen (1982), observaron, por ejemplo, que la sardina refrigerada en hielo inmediatamente después de la captura, prolongaba su vida comercial 4 días, con respecto a la enfriada 5 horas después de la captura. Moral (1985b) revisa los distintos métodos de refrigeración del pescado a bordo y los clasifica en métodos de refrigeración por hielo, por agua de mar refrigerada o enfriada o métodos mixtos, combinación de los anteriores. El Instituto Internacional del Frío (IIF, 1979) recomienda para la refrigeración de los pescados enteros los métodos de refrigeración por hielo y agua de mar

refrigerada. En la región del Mediterráneo, la refrigeración mediante hielo de agua dulce es el método más profusamente empleado a bordo para las especies pelágicas pequeñas. Según Moral (1985a), dadas las características de la flota, la colocación de los pescados en cajas con hielo es prácticamente la opción momentánea aconsejable. El sistema de agua de mar refrigerada (RSW) es mayormente utilizado por grandes embarcaciones. Olsen (1992) revisa el equipamiento y tecnologías más utilizadas por estos barcos. El sistema de agua de mar enfriada (CSW) está más indicado en la pesca de bajura, llevando normalmente tanques de 0.5 a 1m³ de capacidad (Moral, 1985; Sorensen y Mjelde, 1992). Este sistema ha sido utilizado por parte de la flota del Mediterráneo (Barhoumi, 1981) con buenos resultados y ha sido adoptado en los últimos años en el Sur de la Península (Punta Umbría) colocando el pescado en pequeños contenedores con agua y hielo hasta su desembarco. Los métodos de refrigeración mixtos, como la utilización de RSW o CSW (durante 6 a 24 horas) hasta un enfriamiento del pescado y posterior colocación en cajas con hielo se considera que pueden ser muy adecuados (Moral, 1985).

La preparación del pescado a bordo en cajas con hielo no siempre es correcta, de tal forma que en la práctica, el pescado llega en cajas de madera con poco hielo o mucha cantidad de pescado, la temperatura final es alta y se producen aplastamientos que deterioran el producto. Desde hace algún tiempo los procesadores de pescado del Sur de la Península han adoptado un sistema en tierra que sirve para paliar en parte estos problemas. El sistema consiste en el volcado del pescado contenido de las cajas de madera en cajas de poliestireno expandido con agua y hielo. Este método se aplica desde su procesado en puerto hasta su venta en los mercados de distribución, de tal forma que puede considerarse un método de enfriamiento y transporte. Este método, que es en definitiva la aplicación de CSW en tierra y durante el transporte, ha dado lugar a un mayor valor añadido de estos productos en el mercado.

A pesar de que los métodos RSW y CSW son ampliamente utilizados a bordo, no está contemplada explícitamente en la legislación como posibilidad de método de refrigeración durante el transporte. La directiva de la Unión Europea (91/493/CEE) en la que se fijan las normas sanitarias aplicables a la producción y a la puesta en el mercado de los productos pesqueros, establece en el capítulo IV referente a los "Requisitos especiales para la manipulación en tierra de productos pesqueros en los establecimientos de tierra" que los recipientes utilizados para despachar o almacenar productos pesqueros frescos deberán

estar diseñados de manera que los protejan de toda contaminación, los conserven condiciones higiénicas satisfactorias y permitan evacuar con facilidad el agua de fusión. Esto ha suscitado problemas que pueden limitar o prohibir el uso del sistema de enfriamiento por agua y hielo durante el transporte.

En la literatura existen trabajos en los que se detectan ventajas e inconvenientes asociados a los distintos sistemas de refrigeración a bordo que han sido revisados por varios autores (Moral, 1985a y b; Huss, 1990; Olsen 1992, Sorensen y Mjelde, 1992). El uso del agua de mar enfriada o refrigerada da lugar a un lavado más eficiente, reducción en la pérdida de peso, menor daño mecánico y más fácil manipulación, así como un retraso en la rancidez. Entre las desventajas se encuentran una estratificación de la temperatura en los tanques de agua de mar refrigerada o enfriada, y durante tiempos prolongados y para algunas especies, un incremento en el contenido salino del pescado y una textura más blanda (Huss, 1990). La adopción del sistema de enfriamiento y transporte en agua y hielo en tierra se realiza en recipientes de pequeña capacidad, y no presenta en principio problemas de estratificación de la temperatura o aumento en el contenido salino, esto último debido a que el tiempo de permanencia en este sistema es corto.

En vista de los antecedentes y consideraciones anteriores, se ha suscitado la necesidad de evaluar la calidad tecnológica y sanitaria del pescado sometido a este sistema de enfriamiento y transporte en tierra.

2. OBJETIVOS Y DISEÑO DEL TRABAJO

El objetivo del trabajo fue el evaluar desde un punto de vista tecnológico y sanitario las ventajas y/o inconvenientes que ofrece el sistema de preparación y transporte de boquerón y sardina que ha venido utilizándose por los exportadores de pescado de puertos del Sur de España durante los últimos años. Este sistema consiste en el envasado de estas especies en agua y hielo [7 Kg de pescado + agua con hielo en cajas de poliestireno expandido (50×30×15 cm)] y transporte en estas condiciones hasta su llegada a los mercados de distribución, donde las cajas se desaguan. Se pretendió comparar este sistema frente al sistema de enfriamiento y transporte del producto en hielo, tanto en las tradicionales cajas de madera (que contienen 12-

14 Kg de producto), como en cajas de poliestireno expandido perforadas (50×30×15 cm, conteniendo 7 Kg de pescado), de más reciente implantación.

Los parámetros de calidad tecnológica y sanitaria que se determinaron en este trabajo pueden agruparse en métodos sensoriales, físico-químicos y microbiológicos. La evolución de los parámetros que miden estos métodos puede verse altamente modificada inicialmente y durante la conservación en refrigeración tanto por variaciones ambientales relacionadas con aspectos tales como la hora de captura (P.e. alba o prima), temperatura ambiental, climatología (Presencia o ausencia de viento de Levante, etc), como con aspectos relacionados con el estado fisiológico del pez (Contenido en grasa, etc). Por ello, el estudio se realizó hasta deterioro en tres campañas por especie, de tal forma que se tuvo en cuenta el efecto de otras variables como cambios fisiológicos asociados a la estacionalidad, tamaño de los individuos o temperatura ambiente, de las cuales se posee información, pero que no se incluyeron como variables explícitas.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Especies estudiadas

Se utilizó boquerón (*Engraulis encrasicolus*) capturado en los meses de febrero, mayo y junio (Experimentos denominados en esta memoria como 1ª, 2ª y 3ª campaña, respectivamente) y sardina (*Sardina pilchardus*) capturada en los meses de marzo, julio y septiembre (Asimismo denominados para esta especie ,1ª, 2ª y 3ª campaña, respectivamente). Para cada campaña, el pescado provenía del mismo barco. Este pescado se conservó a bordo en cajas de madera con hielo, conteniendo aproximadamente 12-14 Kg de producto.

3.2. Preparación de los lotes

En todos los casos, se reprodujeron las condiciones de procesamiento, envasado y transporte de estos productos utilizadas por los exportadores del Puerto de Cádiz. Las muestras se prepararon por los operarios del almacén de procesado y expedición Mayke S.L. (Cádiz), supervisando la operación miembros del Instituto del Frío y representantes de la Asociación

Nacional de Poliestireno Expandido (ANAPE). Para cada especie se estudiaron tres lotes que consistieron en pescado conservado con hielo en cajas de madera (lote CM), pescado conservado en hielo en cajas de poliestireno expandido (EPS) perforadas (lote P) y pescado conservado durante el transporte en agua con hielo en cajas de EPS estancas (lote E). Las condiciones de preparación de los lotes (figura 1) son las que se indican a continuación. El **lote CM** consistió en pescado conservado en cajas de madera desde el barco, por lo que no precisó preparación, excepto la adición de hielo (aproximadamente 1 Kg) en el almacén de procesado Mayke. Para la preparación del **lote P** se volcaron 7 Kg de pescado proveniente de cajas de madera en cajas de EPS perforadas de tal forma que permitían el drenaje del agua de fusión. A este pescado se adicionó 1 Kg de hielo cubriendo el pescado. El **lote E** se preparó volcando el contenido de las cajas de madera en cajas EPS estancas. Al pescado conservado en estas cajas estancas (7 Kg) se añadieron 3 litros de agua fría (a la que se adicionaba hielo previamente) y 1 Kg de hielo. El agua añadida a la sardina fue salada, mientras que el boquerón se transportó en agua dulce. Las fechas de captura y tamaño muestral en cada caso se indican en la tabla 1.

Durante la segunda y tercera campaña de sardina se preparó un lote adicional que consistió en mantener el pescado en agua con hielo en cámaras frigoríficas una vez que llegan las muestras a destino, no únicamente durante el transporte. Este lote adicional, denominado ND (no desaguado), se desaguó a distintos tiempos y en algunos casos se combinó con conservación en hielo. En la segunda campaña de sardina, se desaguó parte del pescado a las 48h y se mantuvo en hielo posteriormente. Este lote se denominó E48.

3.3. Transporte y condiciones de conservación en refrigeración

Los distintos lotes de pescado, se transportaron en camión isotermo desde el puerto de Cádiz hasta MercaMadrid, donde fueron recogidos por miembros del grupo investigador (a las 20 horas de su preparación en puerto, aproximadamente) y trasladados al Instituto del Frío. En este momento el pescado conservado en agua y hielo (lote E) se desaguó (practicando orificios en las cajas EPS), y los distintos lotes de pescado se conservaron hasta deterioro en una cámara frigorífica a 1 °C. Periódicamente se repuso el hielo en las cajas, según requerimiento de cada lote.

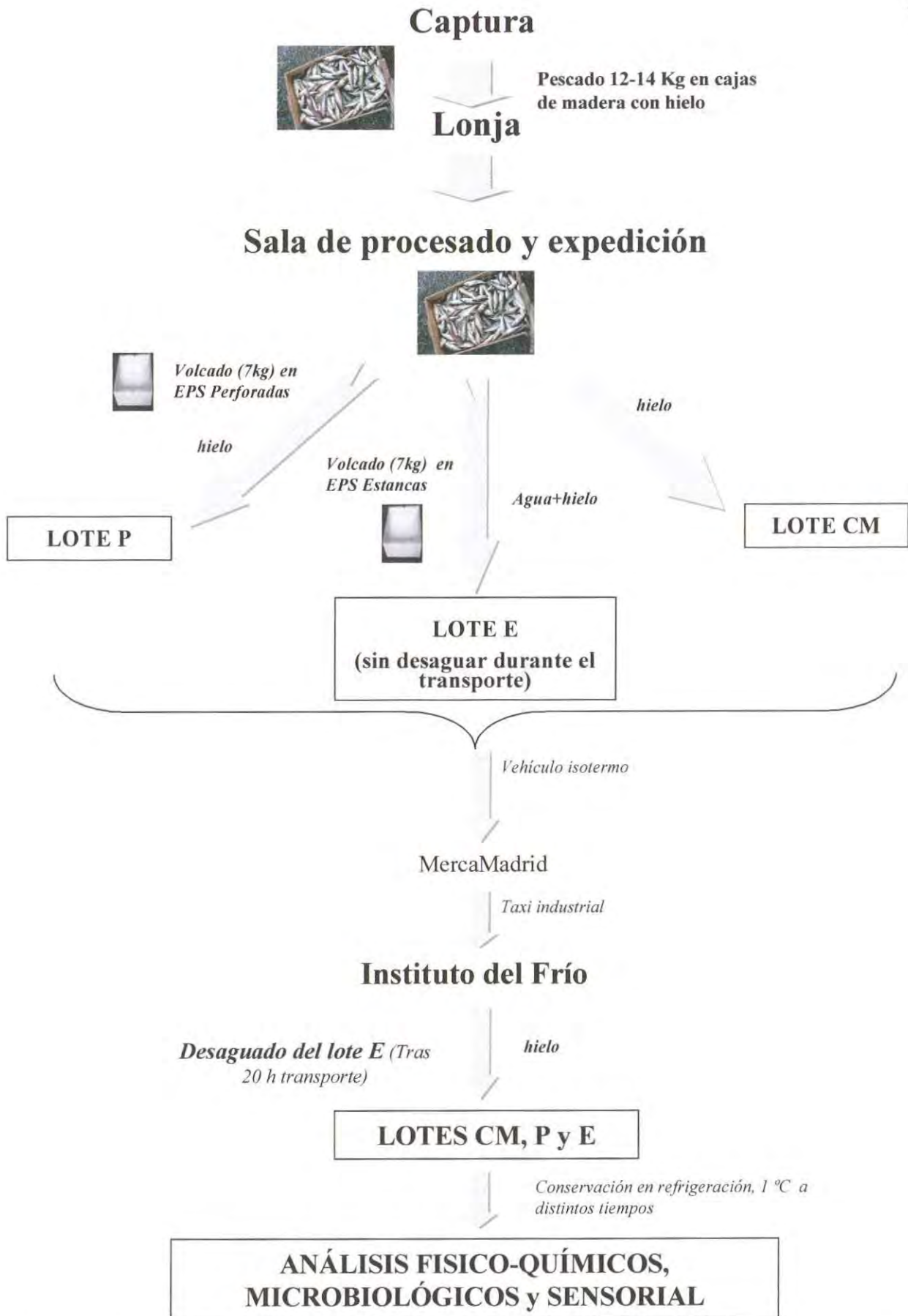


Figura 1.- Esquema del procedimiento de preparación, transporte y conservación de los distintos lotes de boquerón y sardina hasta su análisis

3.4. Análisis realizados

3.4.1. Análisis *in situ*

Una vez adquirido el pescado en el puerto de Cádiz y previo a su preparación en lotes, se realizó una inspección del pescado según las tablas de puntos deméritos del **método de índice de calidad QIM** desarrolladas para ambas especies por Nielsen (1992) con ligeras modificaciones introducidas a lo largo de este estudio (Anexo). Se hizo un **seguimiento de la temperatura** del músculo del pescado en diferentes zonas de las cajas (superficie/fondo, centro/extremos) para los distintos lotes, con un termómetro digital de pincho, con sensor de acero afinado. En los lotes conservados en agua y hielo, se determinó la **ganancia de peso**. Para ello, se introdujo en una red de nylon una cantidad conocida de pescado (aproximadamente 2 kg), que se pesó tras un tiempo de permanencia en agua y hielo, expresándose los resultados en porcentaje de peso ganado respecto al inicial de la muestra.

3.4.2. Composición porcentual

Para las dos especies estudiadas, se determinó por triplicado en todas las campañas el porcentaje de grasa (Bligh y Dyer, 1959), proteínas, humedad y cenizas (A.O.A.C., 1984) de porciones provenientes de un homogeneizado de músculo perteneciente a un mínimo de 20 individuos.

3.4.3. Análisis periódicos

Periódicamente y hasta deterioro se realizaron análisis sensoriales, fisico-químicos, microbiológicos y en algunas campañas se determinaron parámetros texturales.

3.4.3.1. Análisis físico-químicos

Los análisis físico-químicos se realizaron por triplicado a partir de un homogeneizado resultante de músculo de al menos 20 individuos/lote. El número de individuos se eligió de acuerdo con el esquema de muestreo sugerido por Woyewoda et al. (1986). Cada día de muestreo, el pescado se evisceró, descabezó, se eliminó la espina, la cola y aleta dorsal, se lavó ligeramente con agua para eliminar restos de sangre, etc. y se trituró en una homogeneizadora tipo Braun Control Plus 418, durante 1 minuto. El homogeneizado resultante se guardó en hielo hasta su utilización en la medida del pH y en la preparación de extractos para determinación del Índice del Acido 2-tiobarbitúrico (SRTBA), Nitrógeno de Trimetilamina (N-TMA), Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT), histamina y proteolisis.

La determinación de **pH** se realizó según la técnica recomendada por Vyncke (1981). Para la determinación del **N-TMA**, **TBA**, **proteolisis** y **histamina** se partió de 25 g del homogeneizado de músculo descrito anteriormente. Este se trituró con 50 ml de ácido tricloroacético al 7.5% que contenía 0.1% propil galato y 0.1% EDTA en una homogeneizadora Osterizer (modelo 867-50E) durante 1 minuto, en posición 2. La suspensión resultante se centrifugó en una centrífuga de mesa (Sorvall® RTB6000B, DuPont, EEUU) a 1240g durante 15 minutos. El sobrenadante se filtró a través de papel Whatman nº1 y el filtrado resultante se dividió en alíquotas en tubos que se almacenaron a -20 °C hasta su análisis (máximo tres semanas). La determinación de **N-TMA** se realizó según la técnica de Dyer (1959) descrita por la AOAC (1995), expresándose los resultados en N-TMA/100g de músculo. El índice del TBA se realizó según el método de Vyncke (1970) y los resultados se expresaron en μ moles de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)/100g músculo. El grado de proteolisis se determinó de acuerdo con Chalmers et al. (1992), determinando los péptidos del sobrenadante por el método de Lowry (Lowry et al., 1951). La curva patron se realizó con tirosina (tyr) y los resultados se expresaron en micromoles tyr/100g músculo. La determinación de **histamina** se realizó mediante cromatografía de intercambio iónico con derivatización post-columna, en un cromatógrafo de líquidos Perkin-Elmer, compuesto por una bomba cuaternaria modelo LC200 (Perkin Elmer, España) de doble pistón con purga de helio, un sistema de

derivatización post-columna PCX 3100 (Pickering Labs., Mountain View, CA. EEUU) que incorpora un horno de temperatura programable para la columna y un detector de fluorescencia LC240 (Perkin Elmer), realizándose el control del sistema desde un integrador de datos, modelo 1022 PE Nelson. La determinación se realizó según el método de Tracy et al. (1996) modificado en nuestro laboratorio por Sánchez et al. (1999) y los resultados se expresaron en ppm.

Los extractos para la determinación del **NBVT** se obtuvieron como se indica a continuación. Se homogeneizaron en una homogeneizadora "Osterizer" (1 minuto, posición 2), 10 g de triturado de músculo descrito anteriormente en 90 ml de ácido perclórico al 6% y la suspensión resultante se filtró a vacío (Whatman 1). El filtrado resultante se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su utilización (máximo 3 semanas). El NBVT se determinó según la técnica de Antonacopoulos y Vyncke (1989) en un destilador "Tecator" (Tecator Kjeltex System, Modelo 1002, Suecia). Los resultados se expresaron en mg de NBVT/100g de músculo.

En algunas campañas se estudió periódicamente la evolución del porcentaje de relajación del pescado tras someterlo a compresión. Los análisis se realizaron con un texturómetro Universal Instron 4501 (Instron Corporation, Canton, MA, EEUU) y se analizaron con programas de la Serie IX del Instron (Automated Materials Testing System V.5). El **análisis de compresión** se realizó directamente sobre la parte dorsal media de los individuos con un cilindro de 14 mm de diámetro, ejerciendo 2mm de compresión a una velocidad inicial de 50 mm/min y posterior de 0.006 mm/min, con un cabezal de 0.1 KN. Una vez comprimidos los 2mm, el cilindro se mantuvo comprimiendo el pescado durante un minuto. Las muestras se mantuvieron en hielo hasta su análisis. Se realizaron 10 réplicas para cada lote y día de muestreo y el porcentaje de relajación se calculó como $\% (F_m - F_{60})/F_m$, siendo F_m la fuerza máxima y F_{60} la fuerza a los 60 segundos de compresión.

En algunas campañas se realizó un seguimiento de la **temperatura de conservación** del pescado conservado en cámara frigorífica. Para ello, se introdujeron en el músculo termopares de cobre constantan conectados a un registrador (Yokogawa Hokushin Electric, modelo 3087 Tokio, Japón). El equipo se ajustó para realizar mediciones cada cuatro horas durante los 12-13 días de conservación.

3.4.3.2. Análisis microbiológicos

La toma de muestras se realizó en condiciones estériles siguiendo las recomendaciones del APHA (1993). El músculo (con piel) proveniente de diez individuos, se obtuvo recogiendo un total de 10 gramos de distintas zonas del pescado. Se homogeneizaron con 90 ml de agua de peptona tamponada en un homogeneizador "Stomacher" (Stomacher modelo Colworth 400, Seward, Gran Bretaña). El resto de las diluciones decimales se efectuaron en este mismo medio.

Las siembras se realizaron por duplicado en condiciones asépticas en cabina de flujo laminar (Telstar AV 30/70, España). Las placas se inocularon según el caso, en profundidad o en superficie. En profundidad se depositó 1 ml de la dilución apropiada en placa Petri con posterior vertido de agar fundido y enfriado a 45 °C. Para la siembra en superficie, se extendió 0.1 ml de la dilución correspondiente sobre el agar previamente solidificado en placa.

El **recuento de microorganismos totales** se realizó mediante el medio de "Iron" Agar (Gram et al., 1987). Las placas sembradas con las diluciones apropiadas, en profundidad con doble capa de agar, se incubaron a 20 °C durante 72 horas. Para el **recuento de microorganismos productores de SH₂** se emplearon las condiciones anteriores de incubación de microorganismos totales. Las bacterias capaces de producir SH₂ a partir de tiosulfato o cisteína formaron colonias negras debido a un precipitado de sulfuro ferroso (FeS). La doble capa se adicionó con el fin de prevenir el desvanecimiento del color negro de la colonia, que tiene lugar cuando el FeS se oxida. Se consideró microorganismo productor de SH₂ aquel que forma colonias de color negro en este medio.

El **recuento de aerobios psicrotrofos** se realizó por medio de siembra en superficie en medio Agar Glutamato Almidón e incubación a 20°C durante 5 días (Pascual Anderson, 1992). El **recuento de enterobacteriáceas** se llevó a cabo en medio Violet Red Bile Dextrosa (VRBD) Agar, mediante siembra en profundidad con doble capa e incubación a 37°C durante 48 horas (Mossell, 1962). **El recuento de coliformes**, en medio

cromogénico selectivo (Coli ID) para detección y recuento de coliformes (Norma AFNOR) mediante siembra en profundidad e incubación a 37°C durante 48h. En todos los casos el recuento se realizó en las placas que contenían entre 25 y 250 colonias.

3.4.3.3. Análisis sensorial

Se realizaron inspecciones sensoriales según el método QIM desarrollado para boquerón y sardina por Nielsen (1992), modificado ligeramente para este trabajo (Anexo). Cada día de análisis el QIM fue realizado por un mínimo de 6 inspectores, reclutados entre los miembros del Departamento, dando puntuaciones a 10 individuos por lote, proporcionando puntos separadamente para cada uno de ellos. La puntuación resultante por inspector se determinó por la media aritmética de los puntos deméritos para cada pescado.

3.4.3.4. Análisis estadístico

Se realizaron análisis exploratorios iniciales para cada una de las variables, con objeto de estudiar la distribución de los datos y corregir desviaciones a la normalidad en caso necesario. Posteriormente se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías con el tiempo de conservación como covariante, para estudiar el efecto del tratamiento [Pescado conservado en caja de madera (CM), en cajas EPS perforadas (P) o en EPS con agua y hielo (E)] y de la campaña. Para cada campaña, se realizaron ANOVAs de 1 vía con el tiempo de conservación como covariante. Debido a la fuerte no linealidad del efecto del tiempo de conservación en algunas variables, para cada campaña y tratamiento se plantearon análisis de regresión lineal, tomando como variables dependientes t y t^2 , siendo t =tiempo de conservación. En cada campaña, se realizó un análisis de la varianza de los coeficientes de regresión de cada lote. La bondad del ajuste de los modelos se estimó con una prueba F. Para estos análisis, se utilizaron los programas BMDP 2D, 2V, 7D, 3S y 1R (BMDP Statistical Software 7.1, 1995 ejecutado en Open VMS) y SPSS 8.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago Illinois).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Características iniciales de la materia prima

La tabla 2 recoge los **pesos y tamaños** de las especies estudiadas en las distintas campañas realizadas y la tabla 3, el **porcentaje de humedad, proteína, grasa y cenizas**. Estos valores están dentro de los límites habituales encontrados para estas especies (Burt y Hardy 1992). Mientras que el contenido en grasa del boquerón no sufrió apenas variaciones en función de la campaña, en la sardina capturada en los meses de julio y septiembre se observó un mayor porcentaje de ésta, en relación a la capturada en marzo. Esto se corresponde con el incremento en lípidos de reserva que manifiesta esta especie en los meses de verano y después del periodo de freza. La preparación del pescado en agua y hielo (lote E) lleva asociado un **aumento de peso** por absorción de agua que osciló entre un 2 y un 5% en boquerón y entre un 5-6% en sardina.

4.2. Evolución de la temperatura en la preparación de los lotes y durante la conservación en refrigeración

Un aspecto importante para asegurar la calidad de los productos de la pesca frescos es la aplicación del frío lo mas rápidamente posible y a temperaturas lo más cercanas a 0 °C. El pescado contenido en las cajas de madera proveniente de los barcos no siempre llegó a la lonja con suficiente hielo para asegurar estas temperaturas. La figura 2 recoge los valores medios de temperatura del pescado en las cajas de madera (diagrama de barras) y los valores máximos y mínimos de temperatura en cada caja (barras de error) al llegar al almacén de procesado. Se observó una gran variación de temperatura en las diferentes campañas, siendo esta especialmente alta en los meses de julio y septiembre (segunda y tercera campaña de sardina, respectivamente), cuando la temperatura ambiental fue de 27 y 24 °C respectivamente. El gradiente de temperatura fue también considerable, de tal forma que el pescado en ciertas zonas de la caja presentó en algunos casos temperaturas tan altas como 18 °C. La preparación del pescado en cajas EPS en el almacén de procesado, tanto por el sistema de enfriamiento en hielo como por agua y hielo permitió bajar la temperatura del pescado en tiempos cortos y uniformizar esta en distintas zonas de la caja. Sin embargo, la

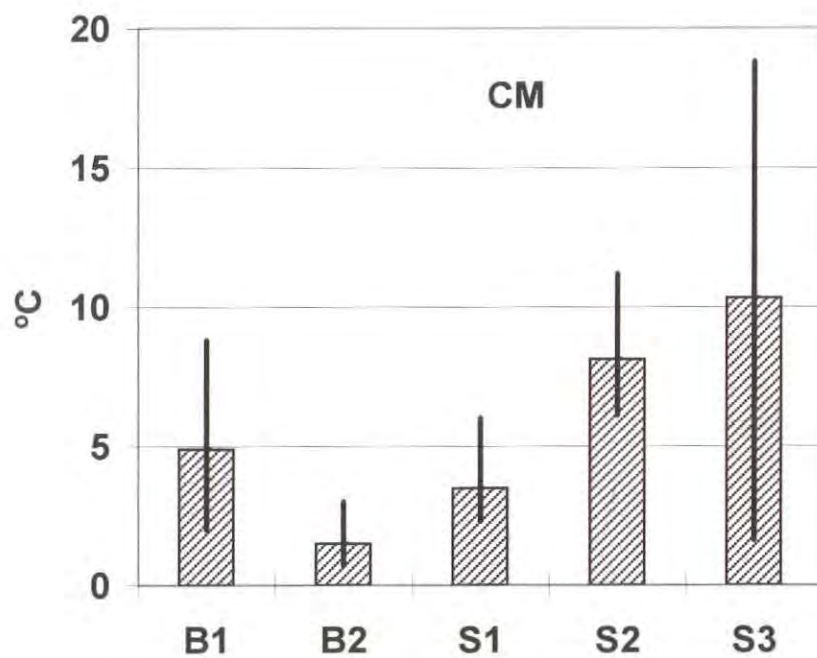


Figura 2. - Valores medios de temperatura (diagrama de barras) en los lotes CM en boquerón, para las campañas de febrero (B1) y mayo (B2) y sardina, para las campañas de marzo (S1), julio (S2) y septiembre (S3). Las barras de error indican los valores máximos y mínimos en cada caso.

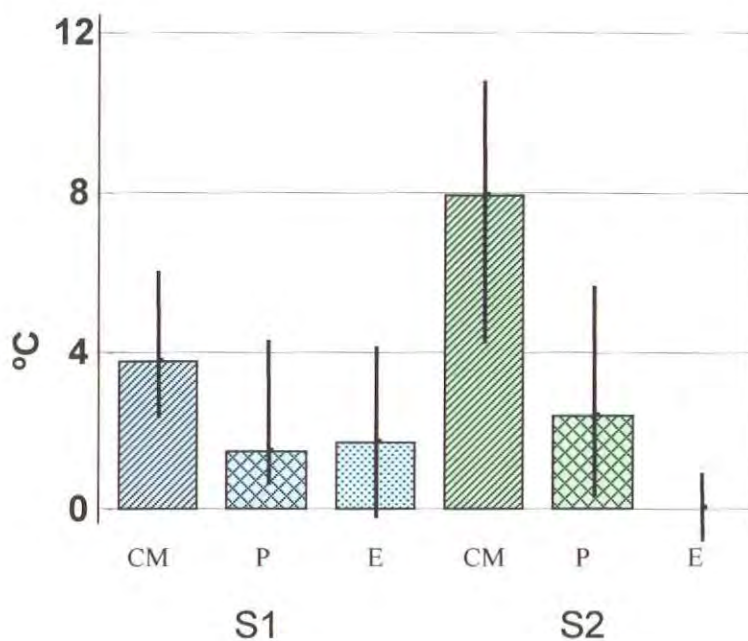


Figura 3a.- Temperatura media (barras) a los 15 minutos de preparación de los lotes (CM,P,E) de sardina, para las campañas de marzo (S1) y julio (S2). La temperatura del agua antes de añadir hielo: 10 y 0 °C para S1 y S2 respectivamente. Las barras de error indican los valores máximos y mínimos en cada caso.

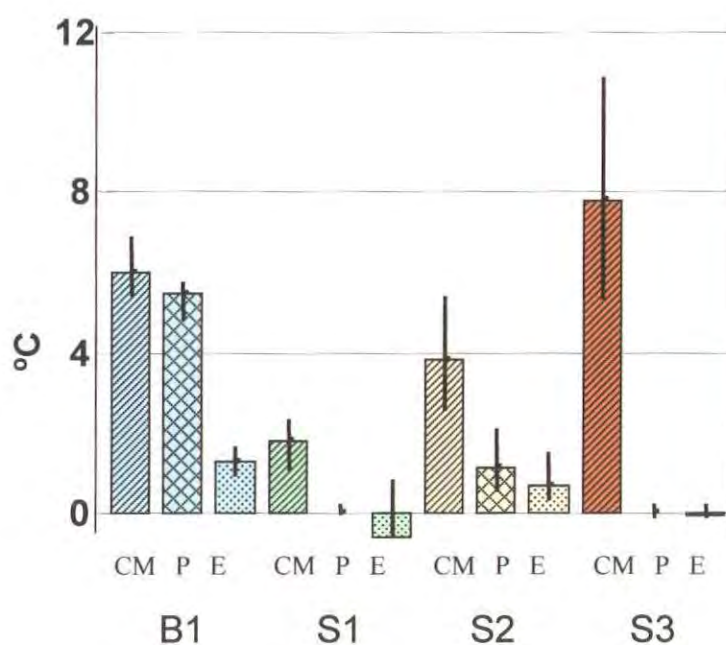


Figura 3b.- Temperatura media (diagrama de barras) de los lotes (CM,P,E) a su llegada a MercaMadrid. Campañas: Boquerón (febrero, B1) y Sardina (marzo (S1), julio (S2) y septiembre (S3)). Las barras de error indican los valores máximos y mínimos en cada caso.

velocidad de enfriamiento no fue constante en todas las campañas. La figura 3a muestra la temperatura alcanzada por los distintos lotes a los 15 minutos de enfriamiento en dos campañas cuya diferencia estriba en la temperatura del agua añadida a la mezcla de agua y hielo. Se observó cómo para el lote E la temperatura alcanzada en este periodo de tiempo fue la adecuada cuando el agua añadida estuvo cercana a los 0 °C, mientras que cuando ésta fue de 10 °C, el pescado se enfrió más lentamente. Hay que destacar que en todas las campañas el lote E llegó con suficiente hielo al mercado de distribución (figura 3b), mientras que no siempre fue el caso de los lotes P y CM. En este último se registraron temperaturas medias cercanas a los 8 °C en el experimento de septiembre (Campaña 3 de sardina, figura 3b). El pescado del lote E (agua + hielo) se encontró siempre a las temperaturas más bajas, mientras que el lote P alcanzó en algunos casos temperaturas cercanas al las del pescado contenido en las cajas de madera (5-6 °C) y con poca cantidad de hielo. Mientras que el sistema de enfriamiento de los lotes E y P es muy rápido, la velocidad de enfriamiento en las cajas de madera, incluso con la combinación de adición de hielo y almacenamiento en cámara frigorífica es muy lenta. Las figuras 4a y b muestran cómo el pescado contenido en las cajas de madera requirió hasta 6 horas para enfriarse a 2 °C cuando la temperatura inicial del producto fue de 5 °C. La temperatura de conservación en las cámaras y la constante reposición de hielo favorecieron la conservación del pescado a una temperatura similar para los tres lotes (figura 5a y b).

Los presentes resultados indican que el volcado en cajas EPS (con hielo o con agua mas hielo) del pescado proveniente de los barcos en cajas de madera es un método eficaz para su rápido enfriamiento. Por otro lado, el sistema de transporte en agua y hielo (lote E) ha tenido en estos experimentos la ventaja adicional, frente al sistema con hielo (P), de asegurar temperaturas más bajas a su llegada al punto de destino.

4.3. Efecto del tiempo de conservación en agua y hielo durante el transporte

4.3.1. Evolución de índices físico-químicos

Tras la muerte del pez se producen una serie de cambios relacionados tanto con la propia bioquímica *post-mortem* del animal como con el desarrollo y metabolismo de

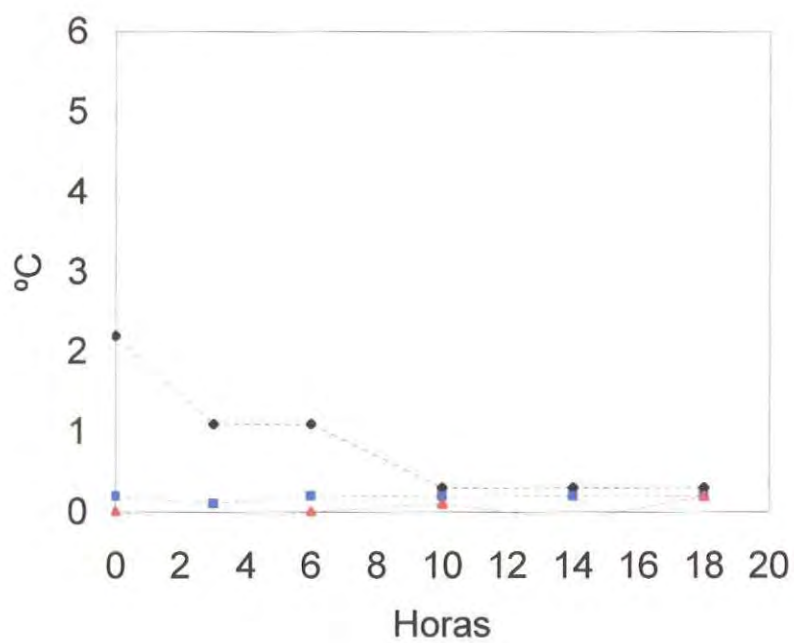
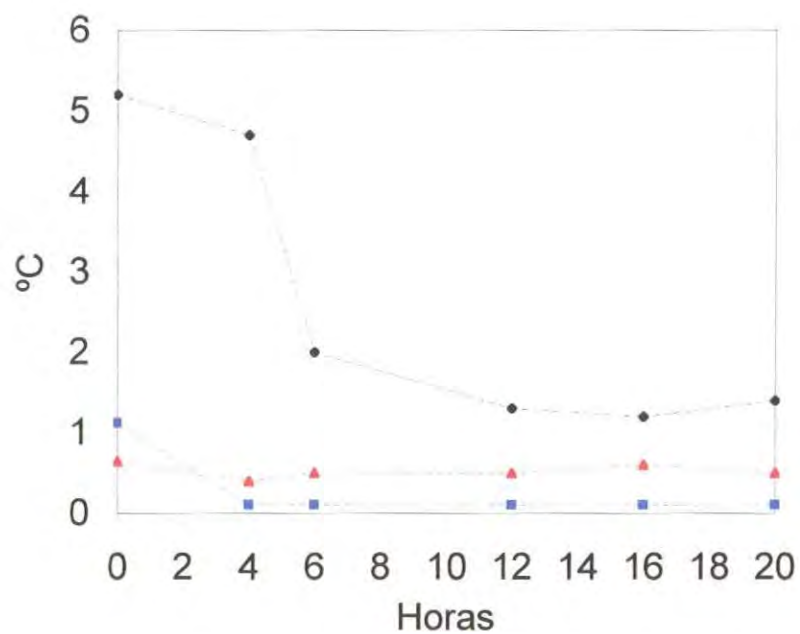


Figura 4.- Velocidad de enfriamiento en cámara de los lotes CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) de sardina, para las campañas de junio (C2, superior) y septiembre (C3, inferior).

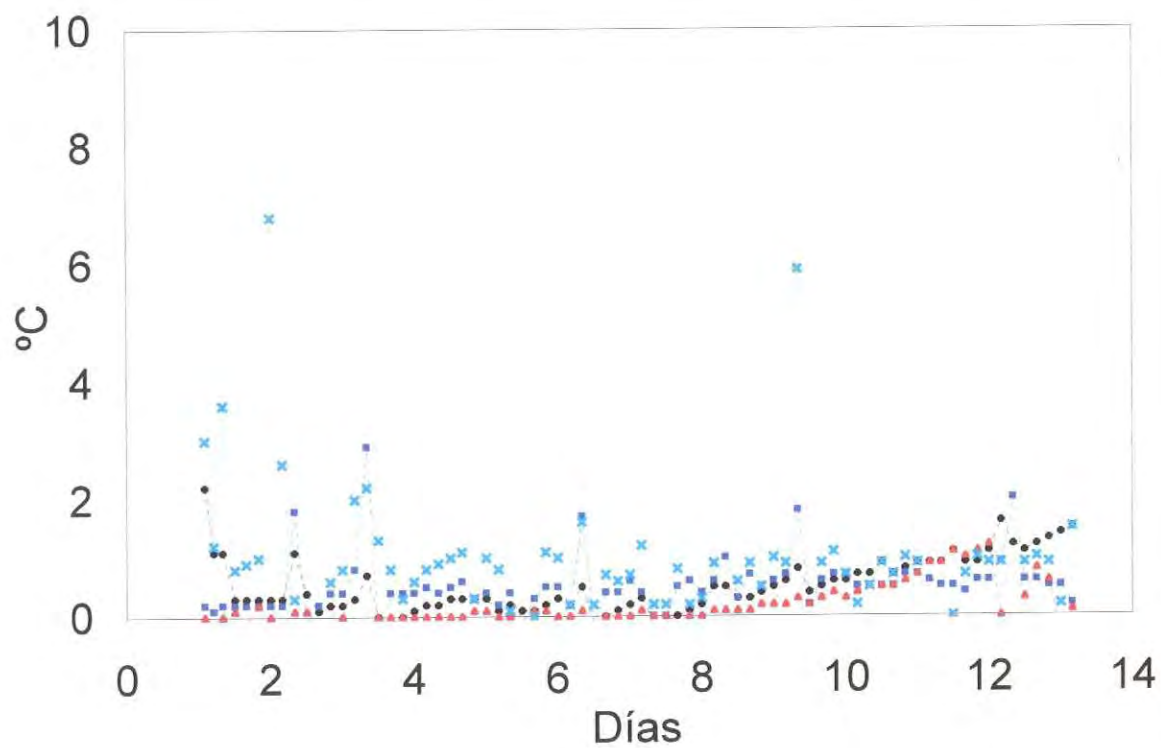
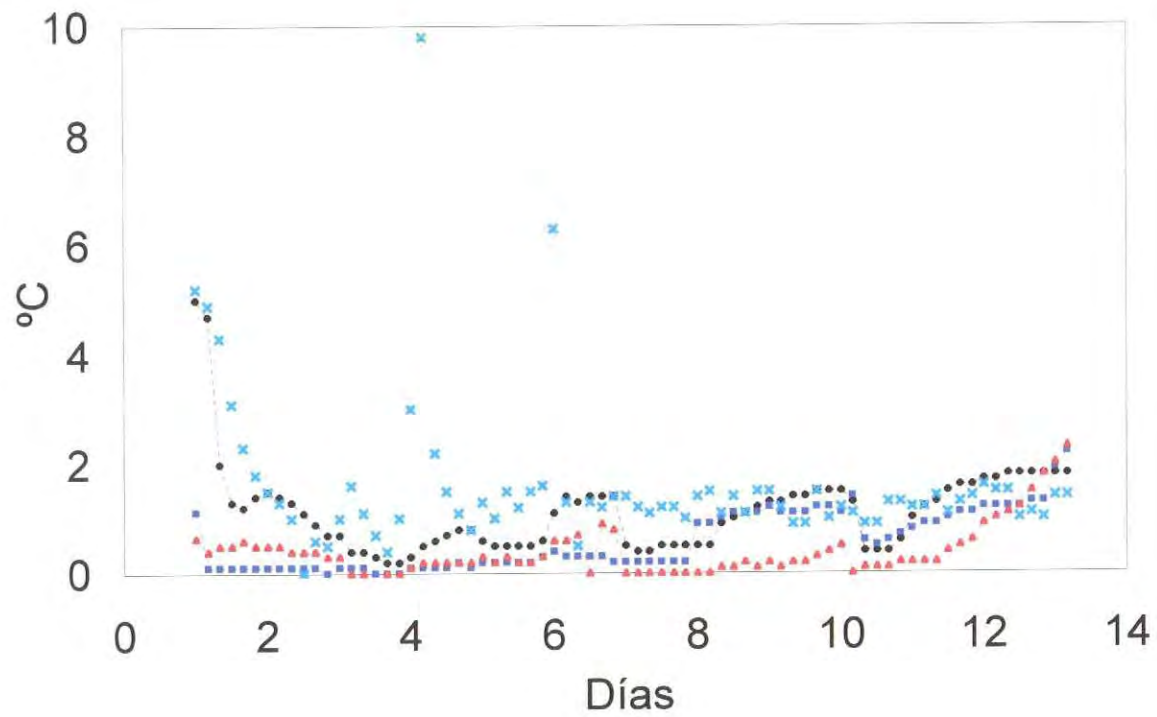


Figura 5.-Temperatura durante la conservación del producto en refrigeración en los distintos lotes de sardina CM(—●—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de julio (C2, superior) y septiembre (C3, inferior). Temperatura de la cámara (—×—)

microorganismos. Como consecuencia de esto, aumentan con el tiempo de conservación ciertos compuestos. Entre ellos destacan la trimetilamina o el amoniaco, provenientes respectivamente de la utilización del óxido de trimetilamina como fuente de oxígeno y de la desaminación oxidativa de aminoácidos y aminas causada por las bacterias y constituyen la principal fuente de olor a “pescado pasado”. Por esta razón, el nivel alcanzado por estos compuestos se utiliza como indicativo de deterioro en pescado refrigerado. Los índices más habituales y los utilizados en la legislación son el índice de trimetilamina (N-TMA) y el nitrógeno básico volátil total (NBVT). Las figuras 6 y 7 muestran la evolución de la **trimetilamina** durante las tres campañas de boquerón y sardina. El análisis de la varianza de dos vías, en función de tratamiento (lotes CM, P y E) y campaña, con el tiempo como covariante mostró para ambas especies diferencias significativas en campaña y en el tiempo de conservación (tablas 4 y 5), mientras que no existieron diferencias significativas en el tratamiento. Un análisis más detallado por campañas mostró que el ANOVA en función de tratamiento con tiempo como covariante (tablas 6 y 7) únicamente detectó diferencias significativas entre lotes en la campaña de junio (campaña 3) para boquerón. El análisis de regresión (tablas 8-19) detectó diferencias entre lotes en la evolución de este parámetro, fundamentalmente en boquerón, donde esta fue más lenta para el lote E en las tres campañas.

La evolución del **Nitrógeno Básico Volátil Total** se presenta en las figuras 8 y 9, que muestran los valores de este parámetro en cada campaña de boquerón y sardina, respectivamente. Para ambas especies, existieron diferencias significativas en función de campaña y tiempo de conservación, pero no en función de tratamiento. Esto se refleja tanto en los ANOVA de dos vías en el que se agrupan todos los datos por especie (tablas 4 y 5) como en el de una vía, que plantea los modelos separadamente para cada campaña (tablas 6 y 7). Sin embargo, análogamente a lo que ocurre en TMA, el análisis de regresión permitió encontrar diferencias significativas entre lotes en algunas campañas, fundamentalmente en la tercera campaña de boquerón, siendo la evolución de NBVT en el lote E inferior al P o CM.

Una de las acciones de los microorganismos sobre los aminoácidos libres presentes en músculo de pescado es la descarboxilación oxidativa, con la producción de aminas y CO₂. Entre estas aminas, la más conocida debido al síndrome asociado a su consumo es la **histamina**, formada por la descarboxilación del aminoácido histidina, pudiendo tener

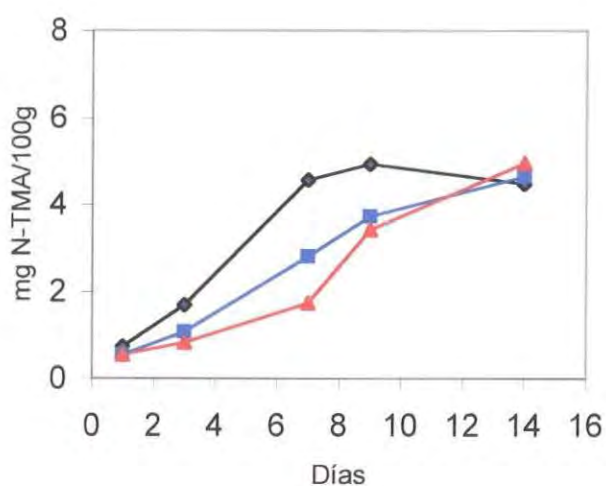
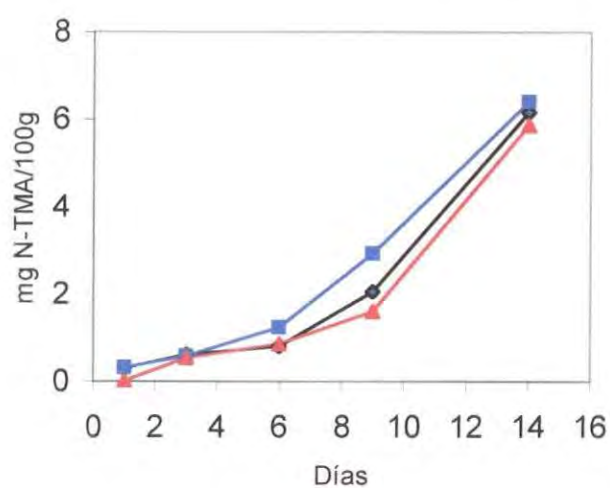
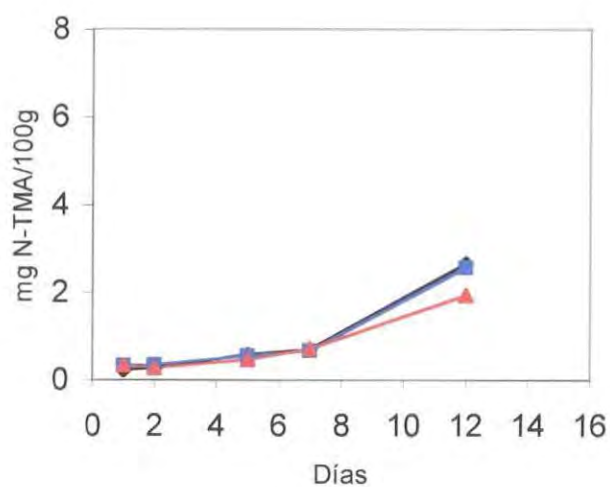


Figura 6.- Producción de Nitrógeno de Trimetilamina (N-TMA) en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—●—), P(—■—) y E(—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

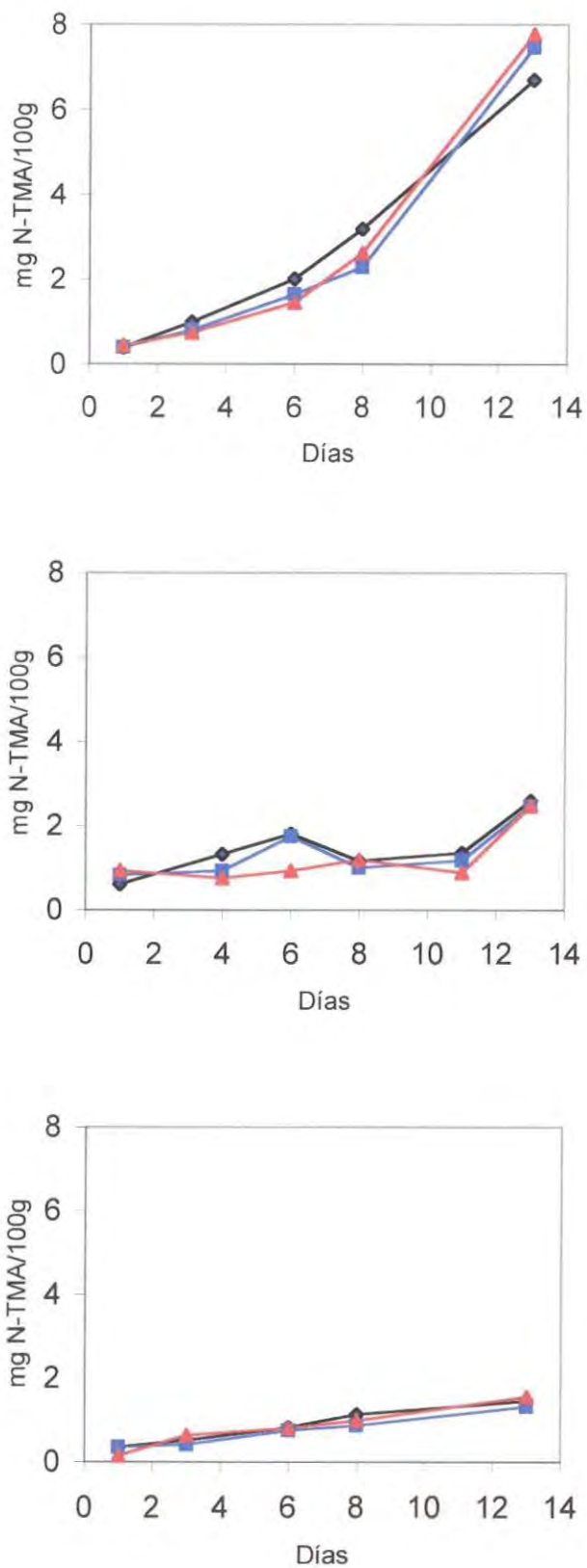


Figura 7.- Producción de Nitrógeno de Trimetilamina (N-TMA) en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—●—), P(—■—) y E(—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

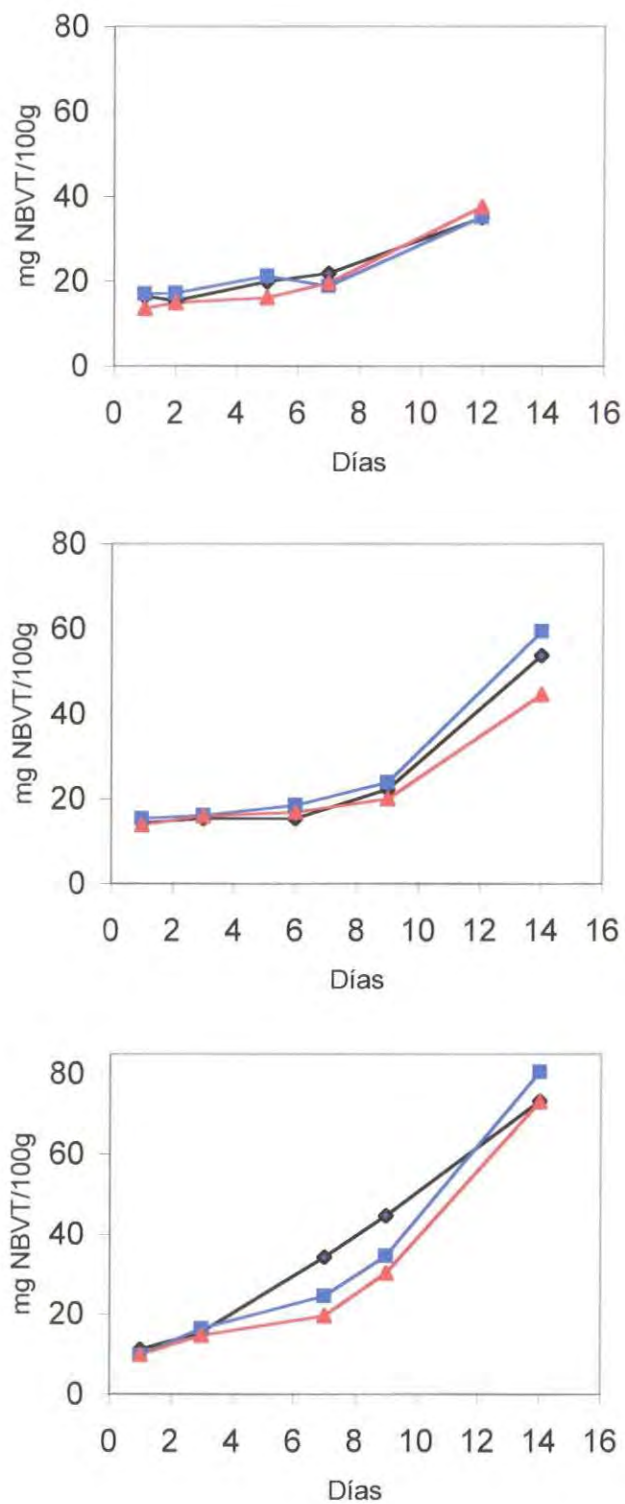


Figura 8.- Producción de Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

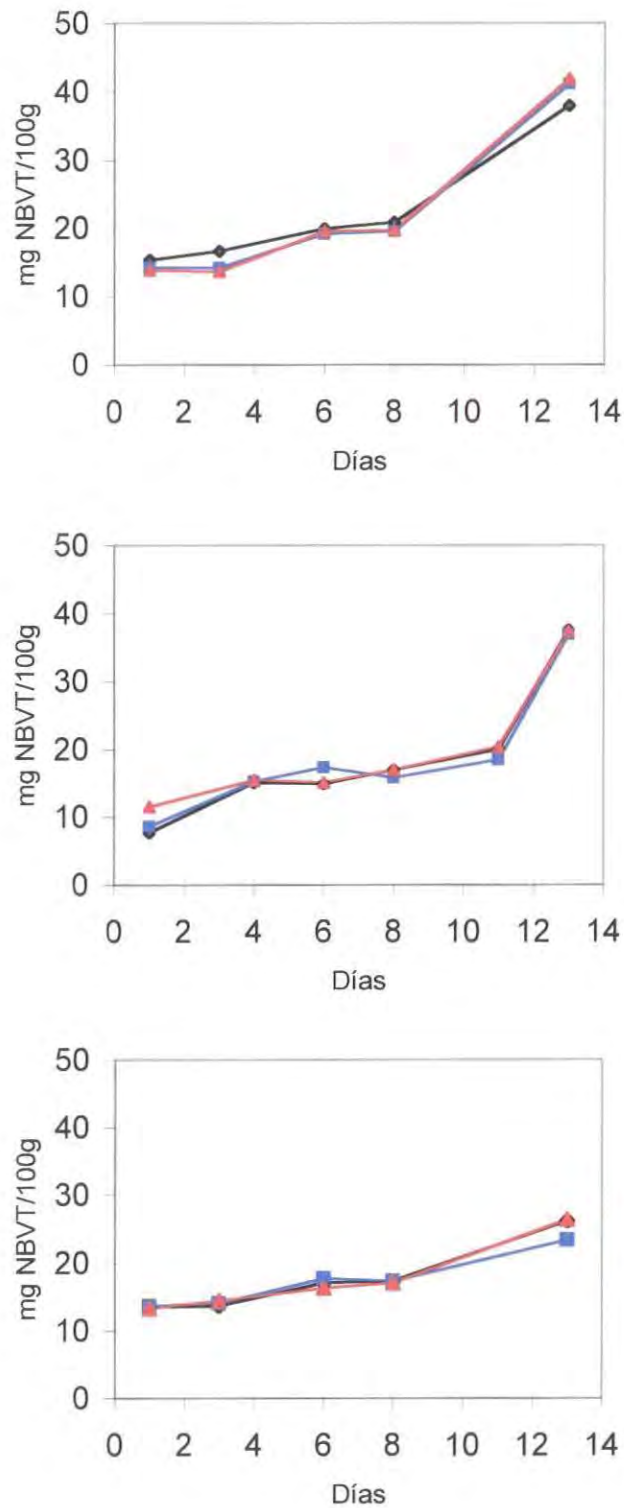


Figura 9.-Producción de Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

relevancia en las dos especies objeto de este estudio. Aunque en la legislación de la Unión Europea se establece 100mg/100g como límite, la FDA considera 50 mg/100g como peligroso para su consumo y a partir de 20 mg/100g considera el pescado como deteriorado (Taylor 1988). Las figuras 10 y 11 muestran la evolución de este parámetro durante la conservación en refrigeración en 2 campañas de boquerón y las tres de sardina. El análisis de la varianza mostró (tablas 4 y 5) diferencias significativas en función del tiempo pero no de la campaña o el tratamiento. Al separar el análisis por campañas, se detectaron diferencias significativas en tratamiento. El lote E presentó valores más bajos que el lote CM. Los valores de esta amina biógena fueron muy inferiores a los límites máximos establecidos por la legislación. Sin embargo, cabe destacar que en algún caso, el pescado conservado en cajas de madera, (aunque únicamente al final de la conservación) presentó valores muy superiores a los lotes conservados en EPS. Es conocido que la formación de esta amina biógena es dependiente de la temperatura y por lo tanto, la utilización de sistemas que permitan mantener el pescado a bajas temperaturas durante el transporte y almacenamiento, pueden asegurar un bajo riesgo de aparición de este compuesto.

El alto contenido en lípidos insaturados de estas especies y la pérdida del equilibrio entre activadores e inhibidores de la oxidación tras la muerte del pez, hace que estos pescados sean especialmente susceptibles a presentar problemas de rancidez oxidativa. Esto se ve reflejado en la evolución en el tiempo de los **índices del ácido 2-tiobarbitúrico** (figuras 12 y 13). El análisis de la varianza de dos vías (tablas 4 y 5) mostró, para ambas especies, diferencias significativas en función de la campaña, tratamiento y tiempo de conservación. Los valores máximos alcanzados en los niveles de sustancias que reaccionan con el ácido 2-tiobarbitúrico son superiores en sardina, y dentro de esta especie, en las campañas de julio y septiembre, atribuible al mayor contenido en grasa en estos casos. Los cambios en el tiempo son los esperados para este parámetro, con el que se determinan productos secundarios de la oxidación de los lípidos, y cuya evolución puede presentar un máximo con el tiempo de conservación ya que los productos secundarios que aparecen pueden reaccionar con otros compuestos, por ejemplo proteínas, pasando a formar parte de los denominados compuestos terciarios de la oxidación de los lípidos (Careche y Jiménez-Colmenero, 1988).

El análisis de la varianza de una vía con el tiempo como covariante realizado para cada campaña, mostró para boquerón (tabla 6) diferencias significativas entre lotes únicamente en

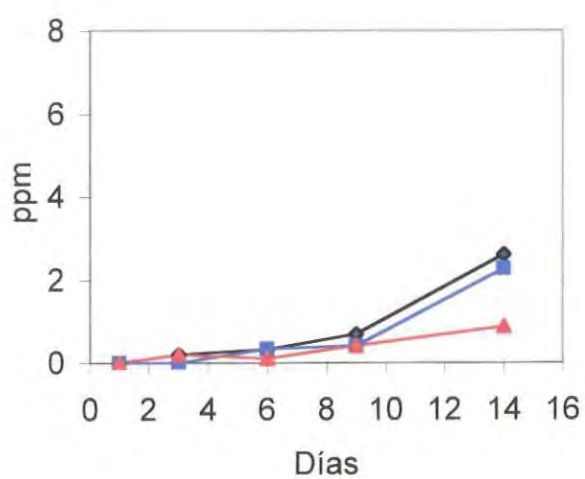
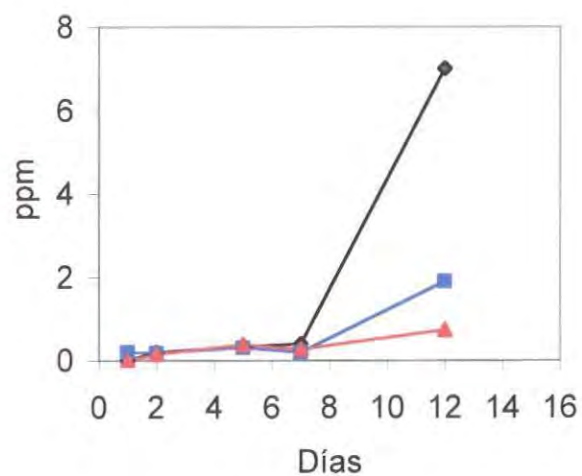


Figura 10.- Producción de Histamina en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de mayo (C2, superior) y junio (C3, inferior).

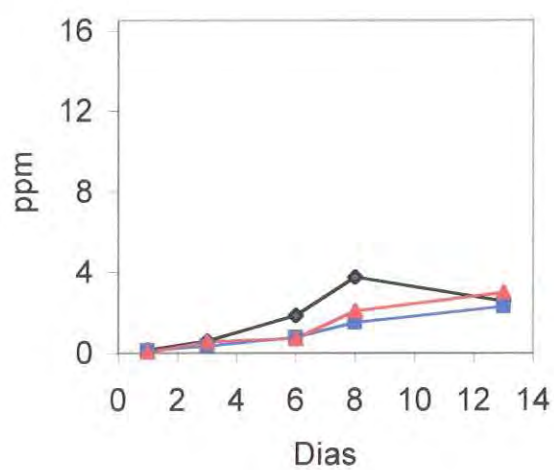
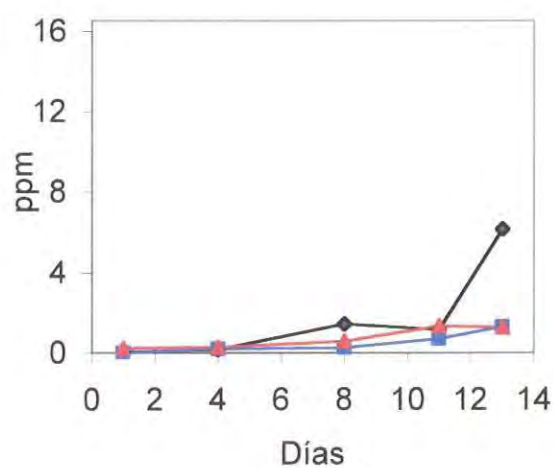
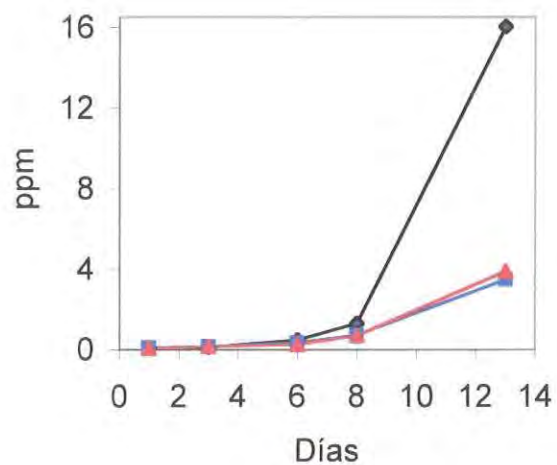


Figura 11.- Producción de Histamina en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior) y julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

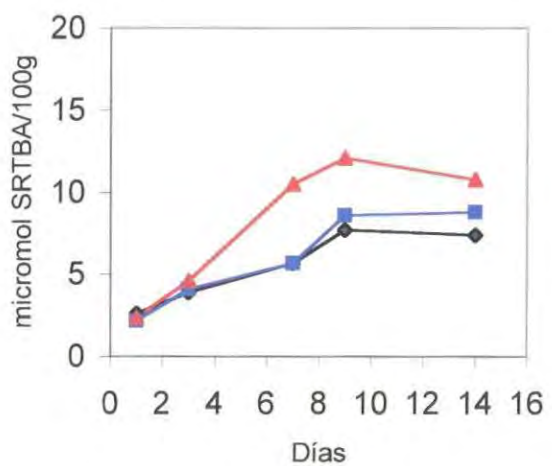
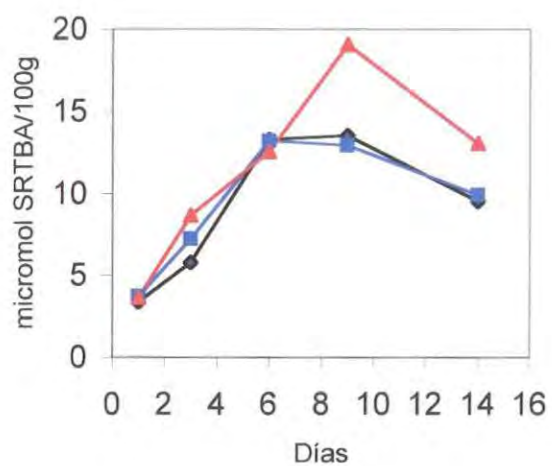
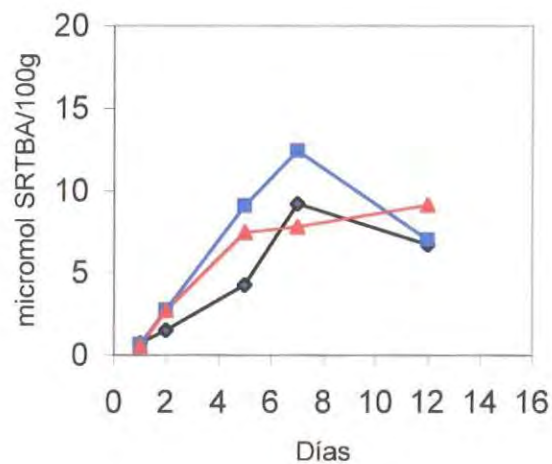


Figura 12.- Índice del ácido 2-tiobarbitúrico (SRTBA) en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E(—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

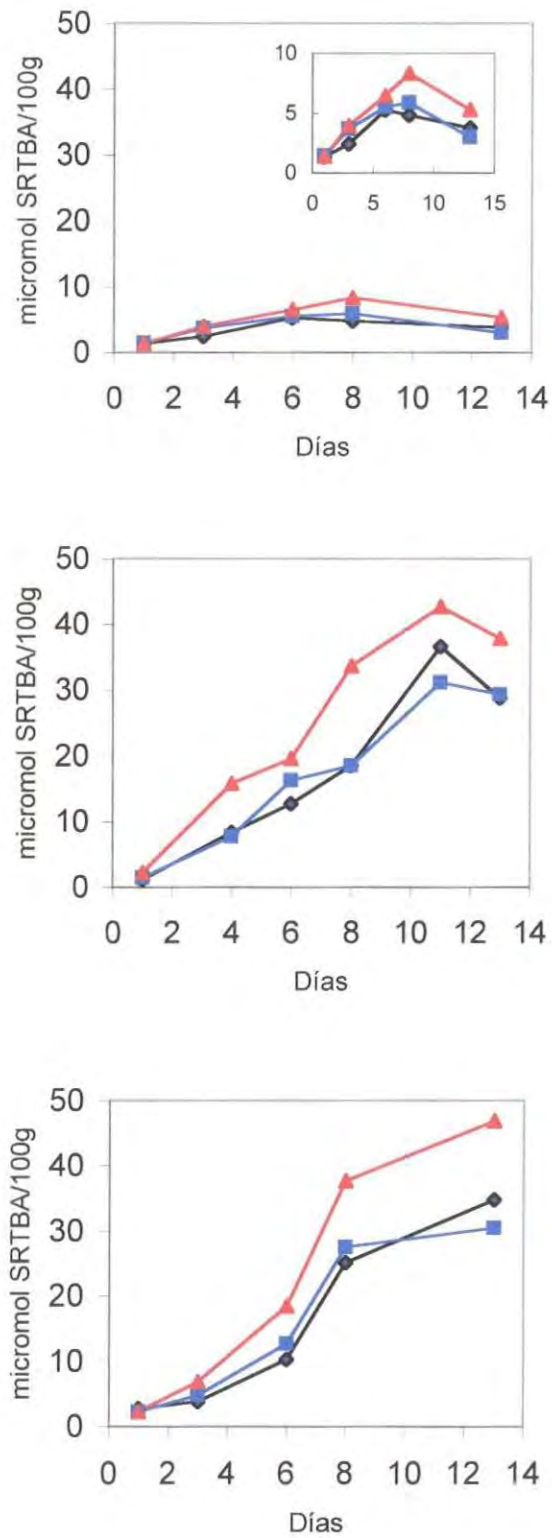


Figura 13.- Índice del ácido 2-tiobarbitúrico (SRTBA) en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E(—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior). La figura superior incluye una ampliación de la misma.

el experimento realizado en junio, donde se observó que la evolución de los TBARS es más rápida y alcanzó valores superiores en el lote E. Esta misma tendencia se observó en la campaña 2, que no se vió confirmada con los resultados obtenidos de la primera campaña. Los datos de esta primera campaña han de tomarse sin embargo con precaución, ya que el tamaño muestral en la campaña 1 fue mucho menor que el del resto de los experimentos (tabla 1). El análisis de la varianza en función del tratamiento tomando el tiempo como covariante, asume la no existencia de interacciones entre tratamiento y tiempo; asimismo, asume una tendencia lineal de la evolución de las variables en el tiempo que no es el caso para esta variable. Estas asunciones pueden estar enmascarando el posible efecto del tratamiento, por lo que se procedió a realizar análisis de regresión para cada lote y en cada campaña en función del tiempo de conservación. Las tablas 8, 10 y 12 muestran la bondad del ajuste de los modelos planteados y las tablas 9, 11 y 13, los coeficientes de regresión y el análisis de la varianza de los mismos en función de tratamiento para cada campaña. Para la variable TBA todos los modelos son altamente significativos y las tres campañas presentan diferencias en los coeficientes de regresión.

En sardina, el efecto del tratamiento fue más claro que en boquerón, reflejándose tanto en los ANOVA con el tiempo como covariante (tablas 5 y 7), como en el análisis de la varianza de los coeficientes de regresión lineal (tablas 15, 17 y 19). En esta especie, el lote E presentó siempre una evolución más rápida y alcanzó valores superiores a los lotes P y CM. Esta mayor velocidad de aparición de rancidez oxidativa en el lote E ha de matizarse en los periodos de tiempo en los que esta especie es consumida habitualmente fresca. En este sentido, en la segunda campaña de boquerón, a los tres días de conservación, se realizó un análisis sensorial que tuvo por objeto detectar el umbral de rancidez y determinar diferencias entre los lotes. Se observó una mayor rancidez en el lote E, aunque no todos los catadores fueron capaces de detectarlo.

La legislación no contempla este parámetro como medida higienico-sanitaria o de calidad. Los resultados de la evolución del índice del TBA indican que la conservación tanto de boquerón como sardina en agua con hielo durante el transporte, desaguando a las 20 horas y posterior conservación en hielo, podrían plantear en algunos casos problemas de rancidez oxidativa cuyo efecto podría ser detectado por algunos consumidores y provocar un rechazo sensorial de este lote. En este estudio no se ha planteado un análisis sensorial exhaustivo (únicamente

se realizó en una campaña a los tres días de conservación) que indique cual es el nivel de rancidez oxidativa medida por índice de TBA que se corresponde con la detección de rancidez por un jurado de degustación. Esto, junto con la aplicación de medidas encaminadas a minimizar el proceso oxidativo, serían acciones necesarias a llevar a cabo para optimizar las condiciones de preparación de estos lotes conservados en agua y hielo.

Las figuras 14 y 15 muestran la evolución de la **fracción peptídica soluble en ácido tricloroacético** (TCA) durante la conservación en refrigeración en boquerón y sardina. Existen diferencias significativas en función de campaña y tiempo de conservación, pero no se observa una tendencia consistente del efecto del tratamiento. La proteólisis que tiene lugar durante la refrigeración, se asocia a un ablandamiento del pescado, que se puede medir instrumentalmente (Barroso et al., 1997). Las figuras 16 y 17 muestran el **porcentaje de relajación** en las tres campañas de boquerón y en la primera de sardina. Este parámetro mide la pérdida de elasticidad del pescado, de tal forma que valores crecientes indican menor elasticidad, y, por lo tanto, mayor ablandamiento. Se observó un ablandamiento significativo (tablas 4-7) que dependió de la campaña, aunque no se observó una tendencia clara en función del lote. El pH inicial que presentaron estas especies (figuras 18 y 19) fue el esperado tras la instauración del *rigor mortis*. Durante la conservación en refrigeración se produjo un incremento significativo de este parámetro, siendo este más acusado en boquerón. Existieron diferencias significativas en función de la campaña para ambas especies, pero no se observó en ninguna de ellas un efecto consistente del efecto del lote.

4.3.2. Análisis microbiológicos

El músculo del pez se considera estéril, pero tras su muerte, este es invadido por microorganismos presentes en la piel, agallas y vísceras, contaminando en mayor o menor medida el pescado, en función de factores como hábitat, manipulación o temperatura. Los análisis microbiológicos que se realizaron estuvieron encaminados a estudiar posibles diferencias de la calidad microbiológica entre lotes. La evolución de los recuentos microbiológicos fue en general dependiente de campaña y tiempo de conservación (tablas 4 y 5). Este es el caso, por ejemplo, del **recuento de viables totales** (figuras 20 y 21). Se observaron asimismo diferencias significativas entre lotes. En este caso, y en general en todos

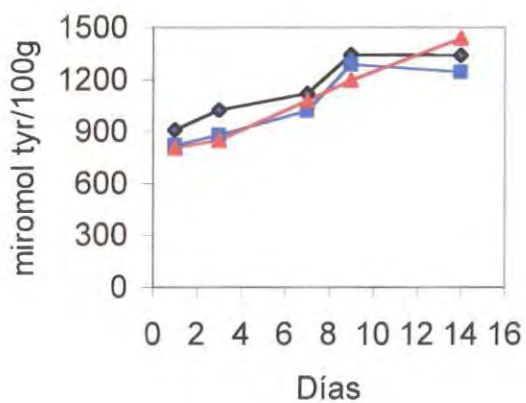
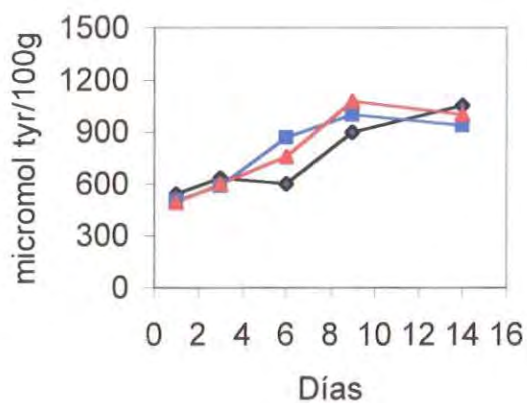
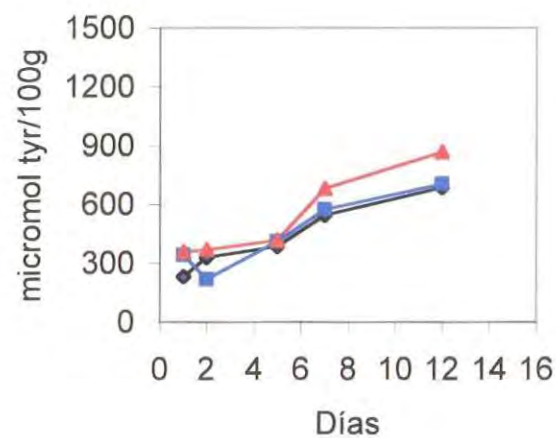


Figura 14.- Proteólisis en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

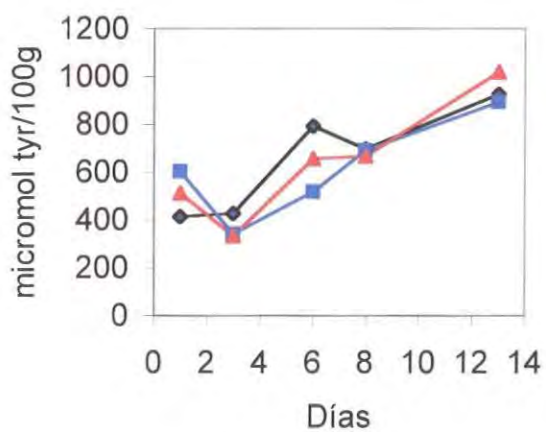
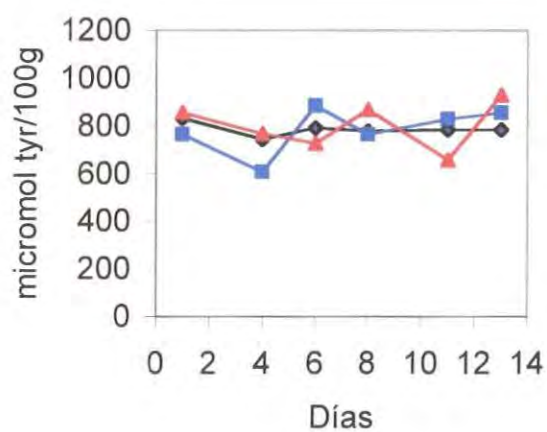
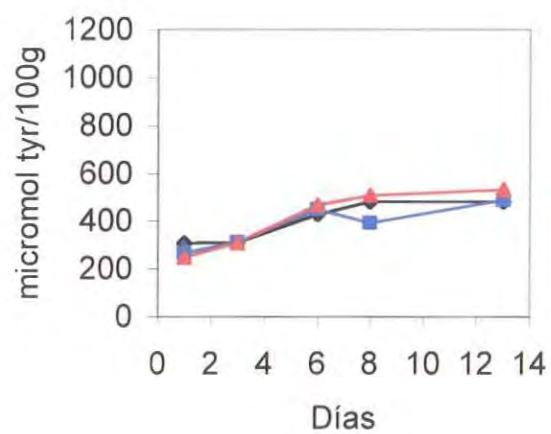


Figura 15.- Proteólisis en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

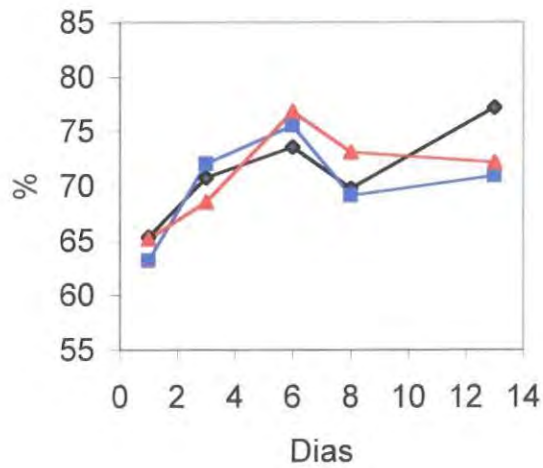
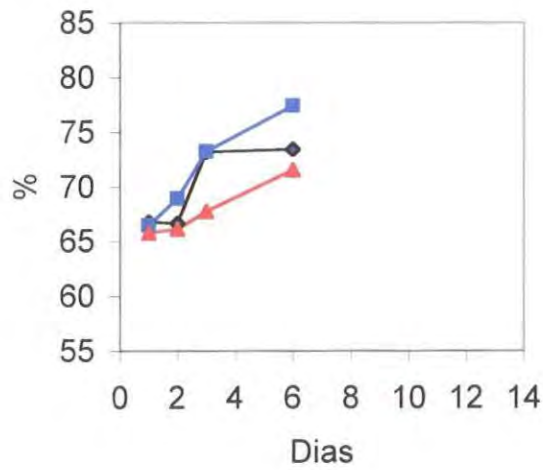
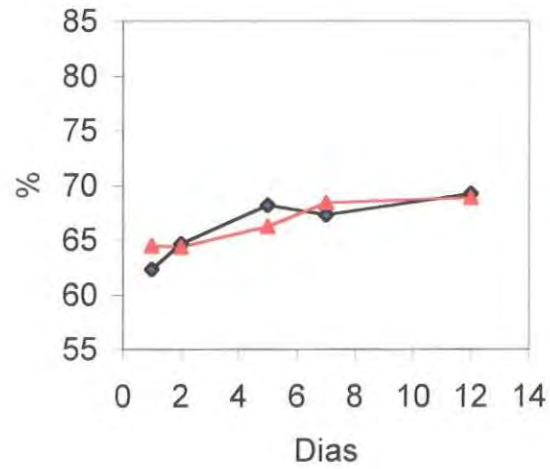


Figura 16.- Cambios en el porcentaje de relajación en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

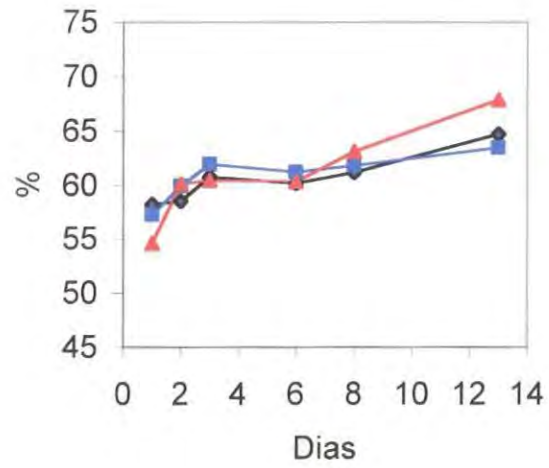


Figura 17.- Cambios en el porcentaje de relajación de los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E(—▲—) para la campaña de marzo (C1).

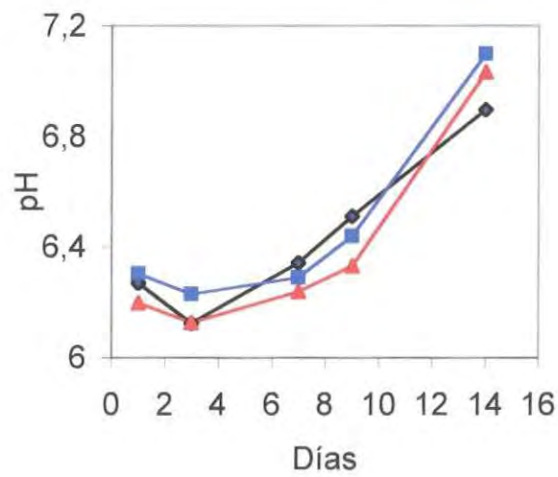
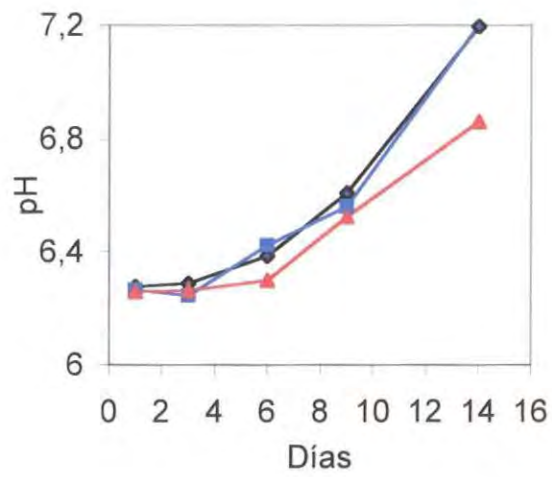
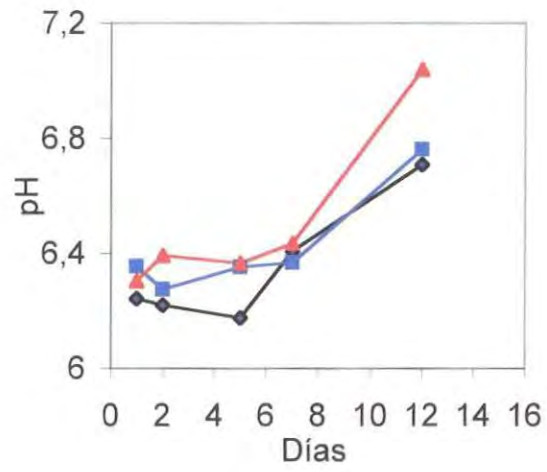


Figura 18.- pH de los distintos lotes CM(◆), P(■) y E (▲) de boquerón conservado en refrigeración, para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

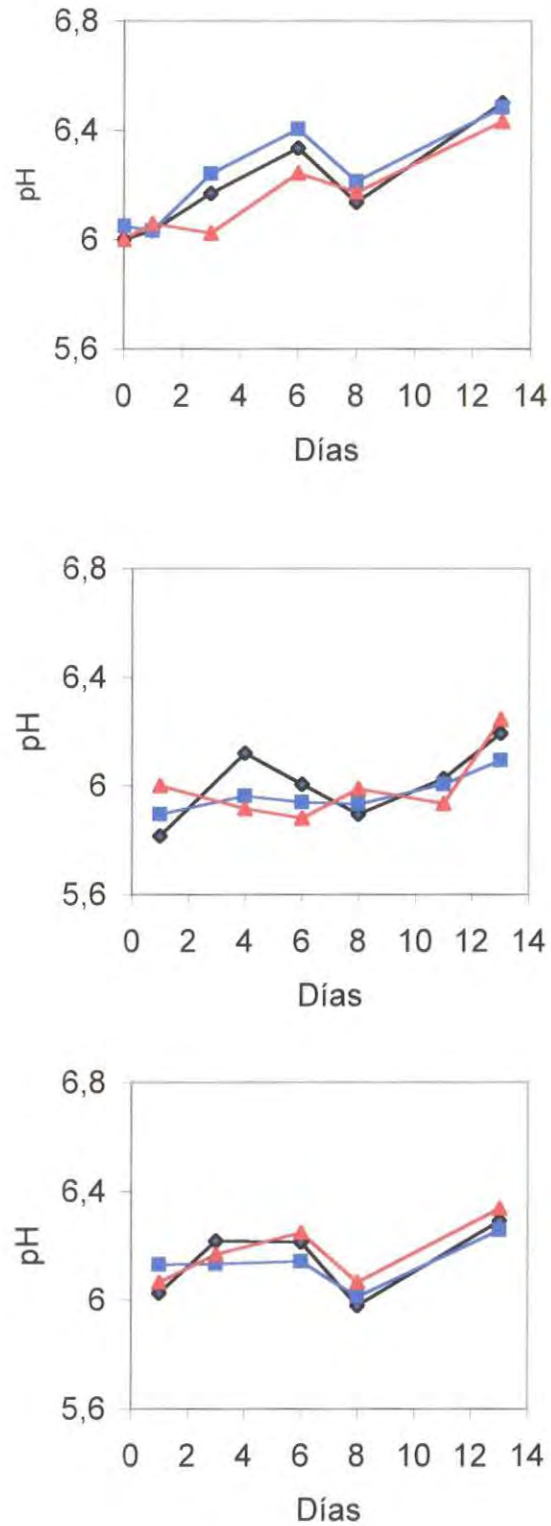


Figura 19.- pH de los distintos lotes CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—)de sardina conservada en refrigeración, para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3,inferior).

los grupos de microorganismos estudiados, estas diferencias se establecieron en la carga microbiológica inicial o en los primeros días de conservación. Tanto en boquerón como sardina, los valores iniciales fueron constantes a lo largo de las campañas para el pescado que se conservó en agua con hielo durante el transporte (lote E), mientras que estos fueron variables para el lote P y CM a lo largo de las campañas. Esto se refleja en las figuras 20 y 21 y en la ordenada en el origen de los modelos de regresión planteados (tablas 11, 13, 15, 17 y 19). Las diferencias iniciales entre lotes se mantuvieron únicamente durante los primeros días de conservación. El lavado y arrastre de los microorganismos que se produjo en el pescado contenido en agua con hielo (cuatro partes de agua y hielo frente a 7 de pescado) puede ser el responsable de esta menor carga microbiana inicial, así como las condiciones que retrasan el crecimiento de microorganismos aerobios (Huss, 1988).

El recuento de **microorganismos productores de SH₂**, considerados como microorganismos específicos de deterioro de pescado, se muestra en las figuras 22 y 23. Al igual que en el recuento de viables totales, existieron diferencias en campaña y tiempo de conservación, así como en tratamiento en algunas campañas (tablas 4-7). En sardina, los valores iniciales fueron menores en el lote E, no encontrándose diferencias entre lotes a medida que aumenta el tiempo de conservación. En boquerón, el lote E presentó valores menores iniciales únicamente en la tercera campaña. Durante la conservación en refrigeración, las diferencias entre lotes fueron pequeñas, pero dependientes de campaña: Mientras que en el experimento de febrero, los recuentos de SH₂ fueron más altos en el lote E, se observó el fenómeno contrario en las campañas de mayo y junio. Como se ha mencionado anteriormente, al describir los resultados de TBA, este primer experimento de boquerón ha de tomarse con precaución debido al pequeño tamaño muestral (tabla 1).

Los **microorganismos psicrotrofos** en medio GSP presentaron los niveles más altos de recuentos, al ser la flora predominante en condiciones de refrigeración. Los valores iniciales y la evolución en el tiempo se muestran en las figuras 24 y 25. Se observaron diferencias significativas en función de campaña, tratamiento y tiempo de conservación (tablas 4-7). En general el lote E tendió a presentar valores inferiores al lote CM, presentando el lote P valores intermedios.

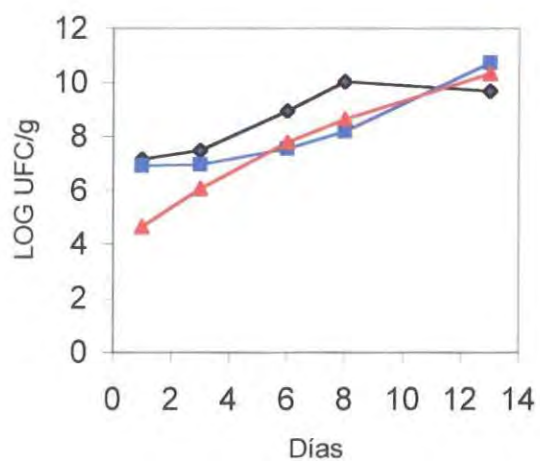
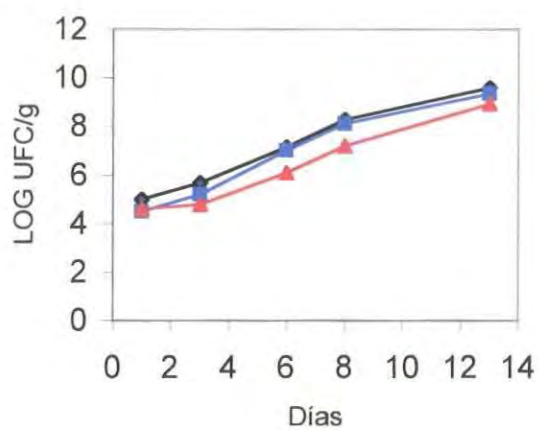
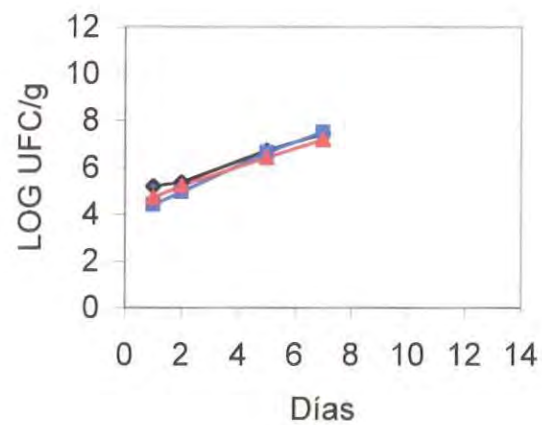


Figura 20.- Recuentos de viables totales en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—●—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

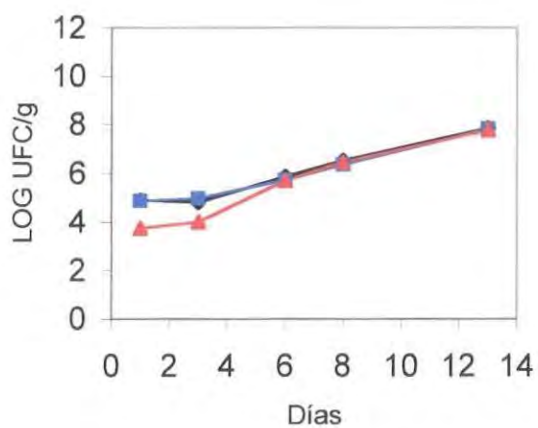
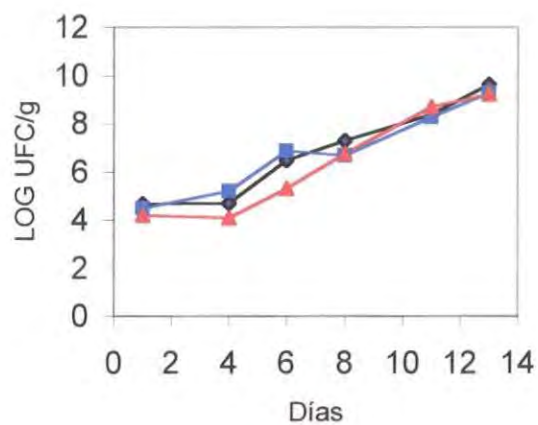
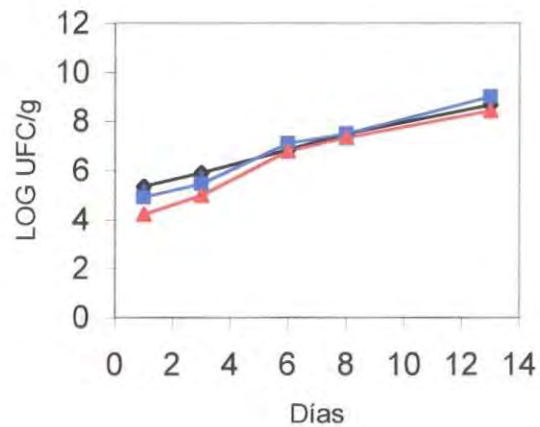


Figura 21.- Recuentos de viables totales en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

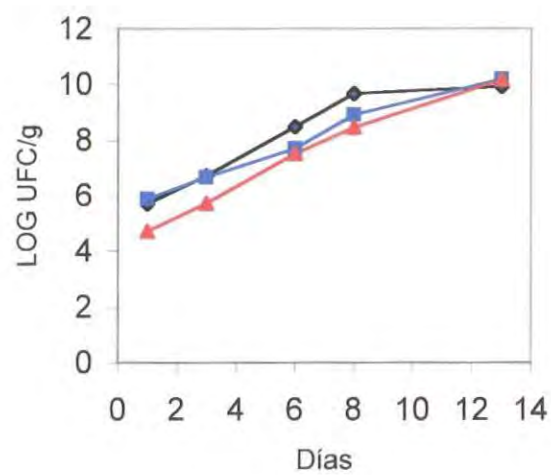
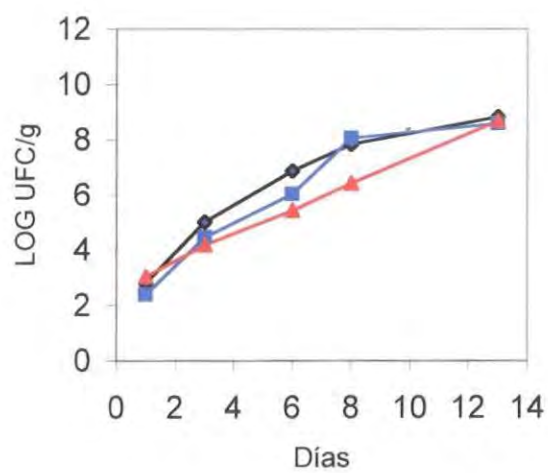
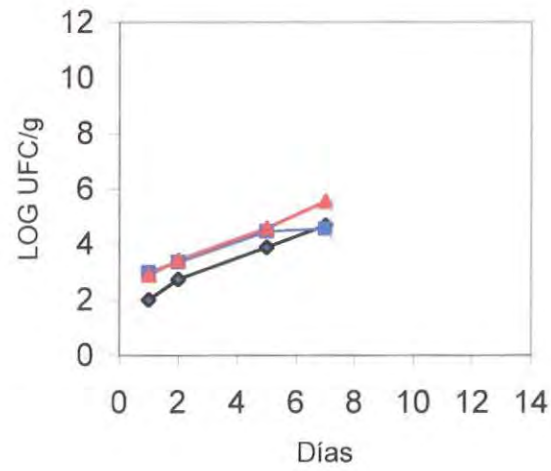


Figura 22.- Recuentos de microorganismos productores de SH_2 en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(\blacklozenge), P(\blacksquare) y E (\blacktriangle) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

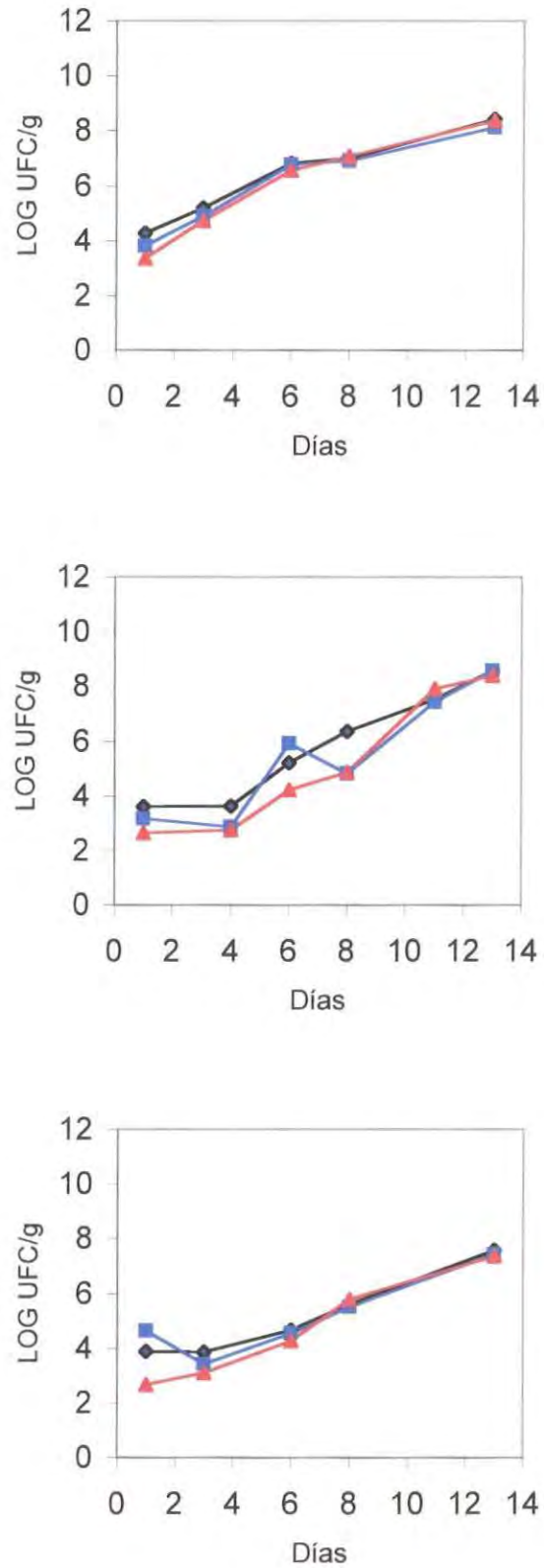


Figura 23.- Recuentos de microorganismos productores de SH_2 en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(●), P(■) y E (▲) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

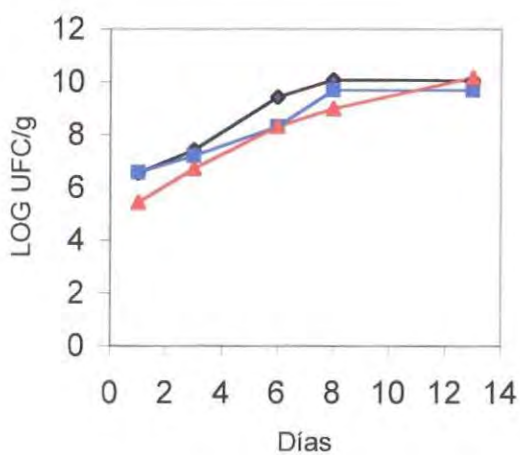
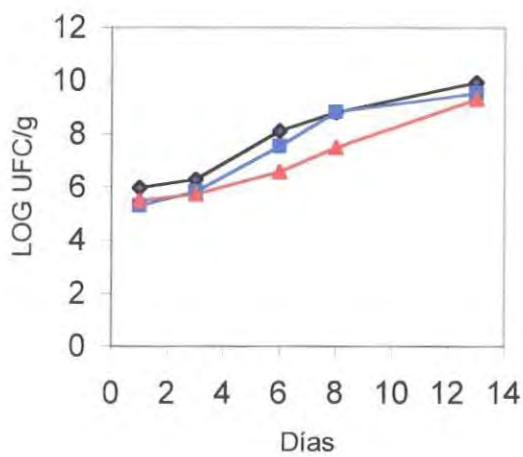
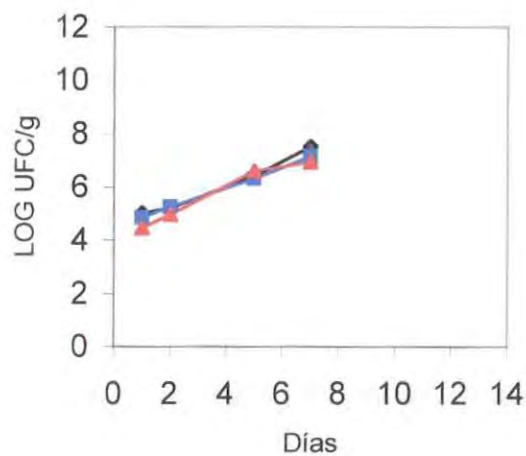


Figura 24.- Recuentos de microorganismos psicrotrofos en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—●—), P(—■—) y E(—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

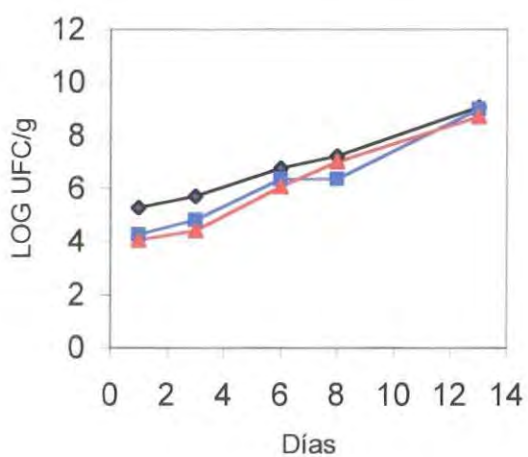
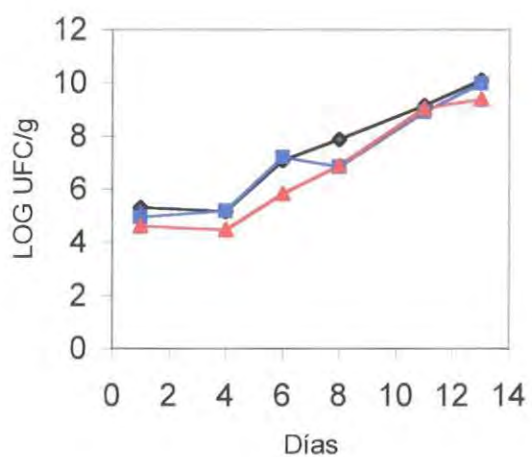
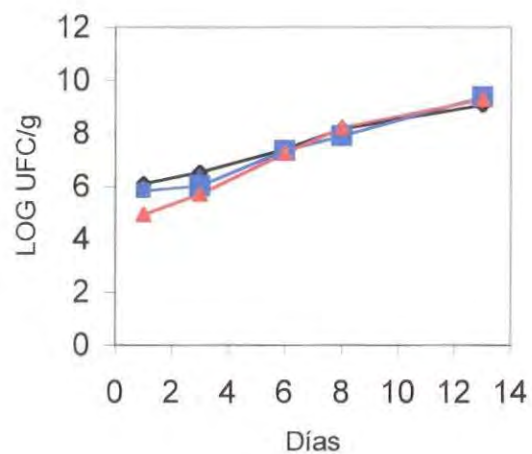


Figura 25.- Recuentos de microorganismos psicotrofos en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM (—♦—), P (—■—) y E (—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

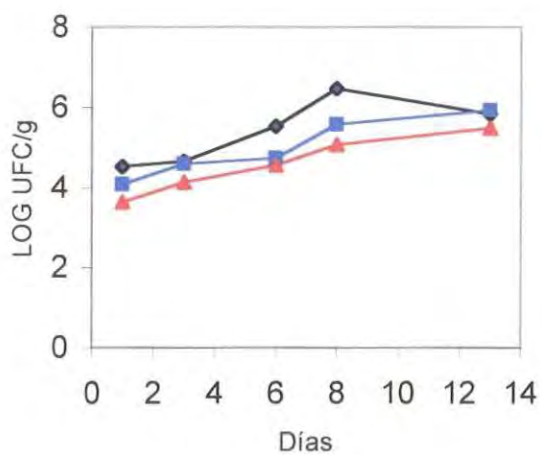
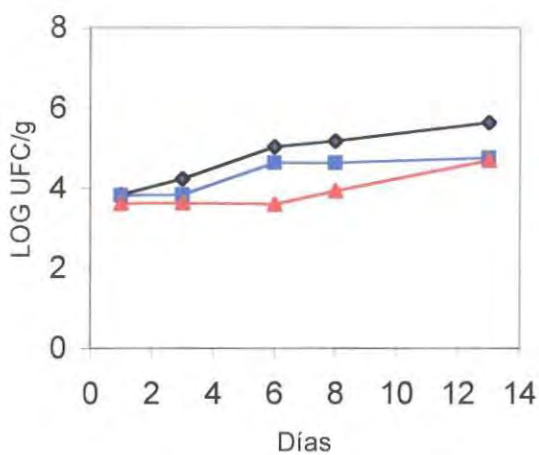
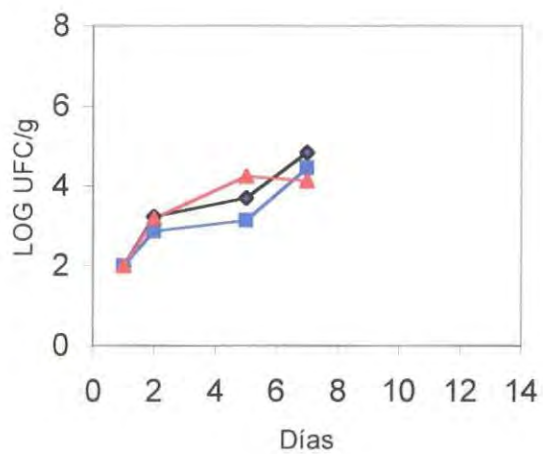


Figura 26.- Recuentos de enterobacterias en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

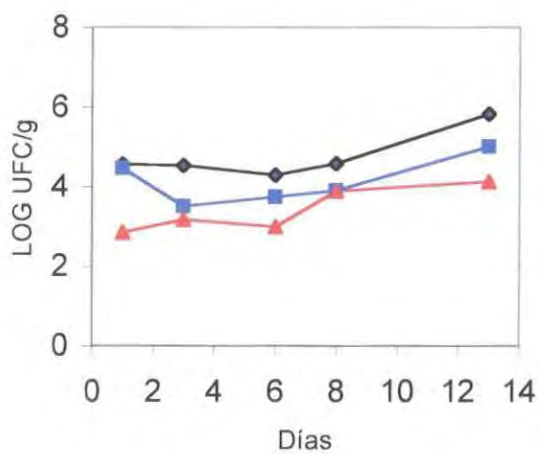
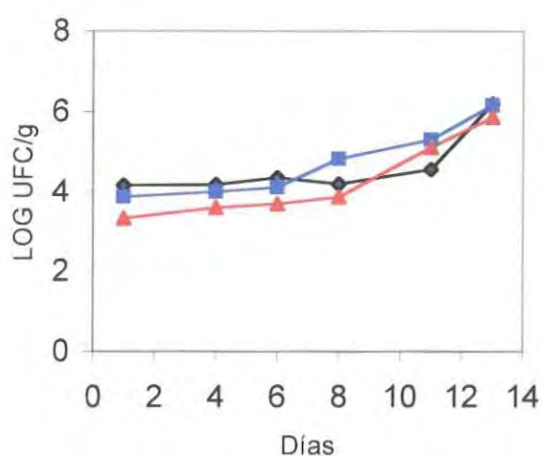
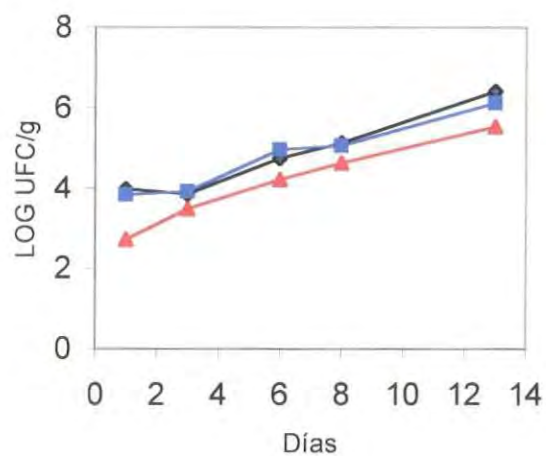


Figura 27.- Recuentos de enterobacterias en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—♦—), P(—■—) y E(—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

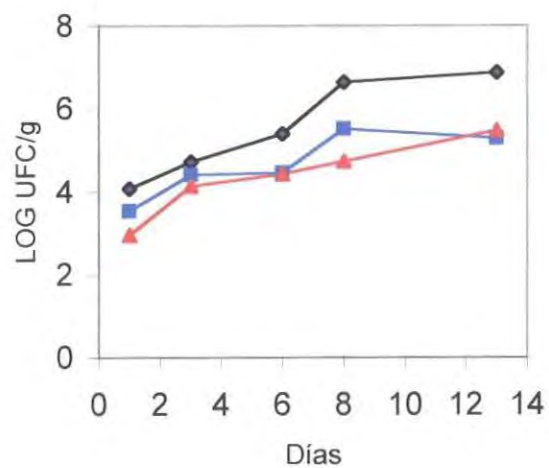
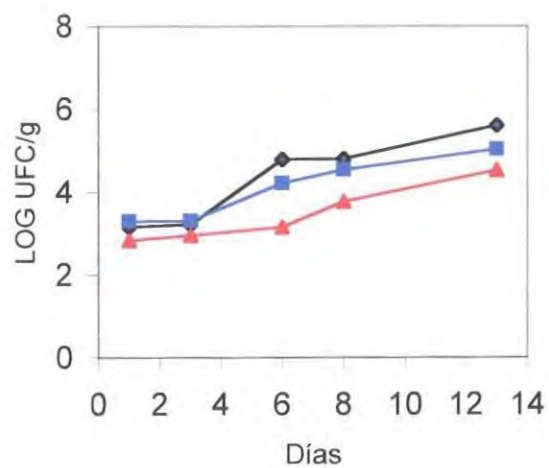
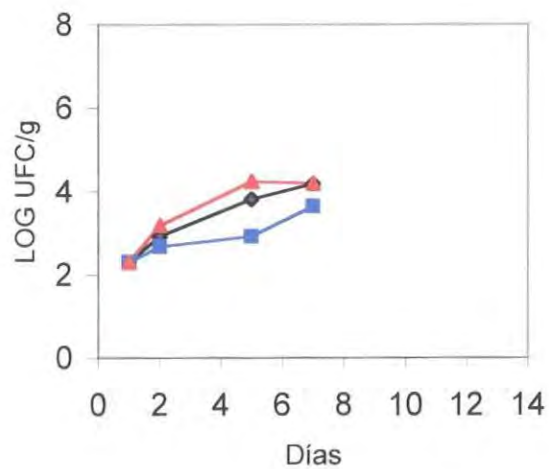


Figura 28.- Recuentos de coliformes en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(♦), P(■) y E (▲) para las campañas de febrero (C1, superior), mayo (C2, media) y junio (C3, inferior).

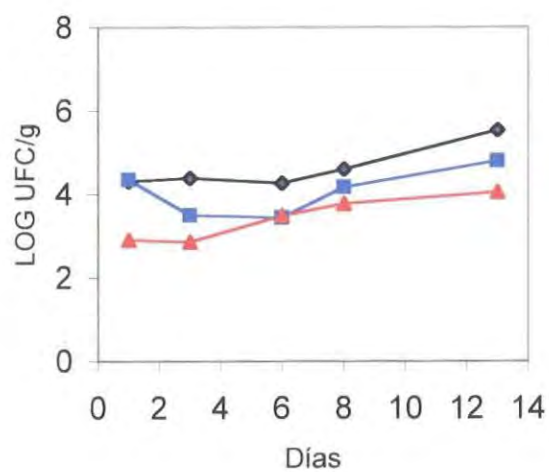
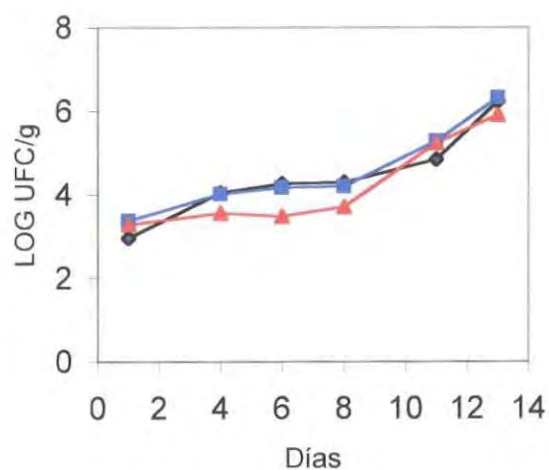
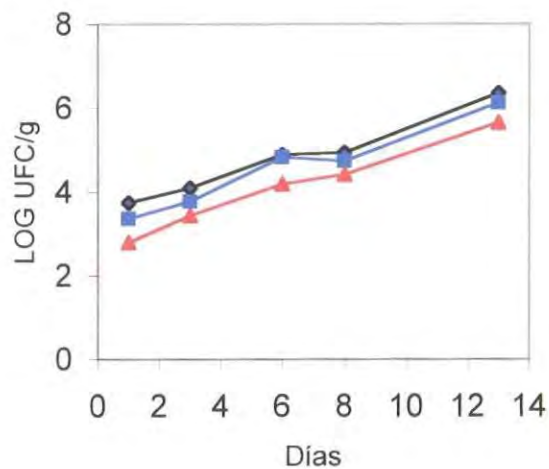


Figura 29.- Recuentos de coliformes en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para las campañas de marzo (C1, superior), julio (C2, media) y septiembre (C3, inferior).

Los valores iniciales del recuento de **enterobacterias** y **coliformes** fueron para la mayoría de las campañas inferiores en el lote E (figuras 26-29). Estos microorganismos presentaron, durante la conservación en refrigeración, un menor crecimiento, debido a su óptimo de temperatura. La evolución del recuento de microorganismos siguió una tendencia paralela entre lotes, de tal forma que, estas dos variables marcan las mayores diferencias entre el lote E y CM. En los microorganismos viables totales, productores de SH₂, y psicrotrofos, por el contrario, las diferencias iniciales en recuentos se compensaron con una mayor velocidad de crecimiento en los lotes E.

4.3.3. Inspección sensorial

En los últimos años se ha desarrollado un sistema de inspección basado en cambios en atributos sensoriales como la apariencia, el color o el olor del pescado, de tal forma que es posible estimar diferencias relativas a calidad y frescura. Este método, denominado índice de calidad QIM se basa en puntuar la pérdida de una serie de atributos de tal forma que el pescado muy fresco tiene una puntuación 0 y el pescado deteriorado (establecido cuando se detecta rechazo sensorial o alcanza un determinado nivel de recuentos microbianos), la máxima puntuación. Cada atributo tiene un "peso" en la puntuación final dependiendo de la importancia del mismo en el deterioro general del pescado, de tal forma que pueden variar las puntuaciones máximas de cada atributo entre 1 y 3. La suma total de puntuaciones parciales constituye el índice QIM, y puede calibrarse de tal forma que se construya como una función lineal en el tiempo. Las tablas de QIM para boquerón y sardina se desarrollaron por Nielsen (1992), y han sido utilizadas en este trabajo con ligeras modificaciones introducidas a lo largo de este estudio (Anexo). Las figuras 30 y 31 muestran la evolución de estos índices en las dos últimas campañas de boquerón y sardina. Los resultados de la primera campaña en cada especie (no mostrados) sirvieron para modificar algunos atributos, constituyendo de esta manera tablas QIM más acordes con la apreciación sensorial del panel de inspección y con las características específicas del boquerón y sardina de nuestras costas.

El QIM en boquerón siguió una tendencia lineal hasta los cuatro días de conservación ($R^2 = 0,98$) (figura 30a) donde se estableció el límite microbiológico en esa campaña (10^6 ufc/g viables totales). No se observaron diferencias entre lotes en la puntuación general. Un análisis de los atributos por separado (figura 32) mostró sin embargo diferencias en aspectos como la

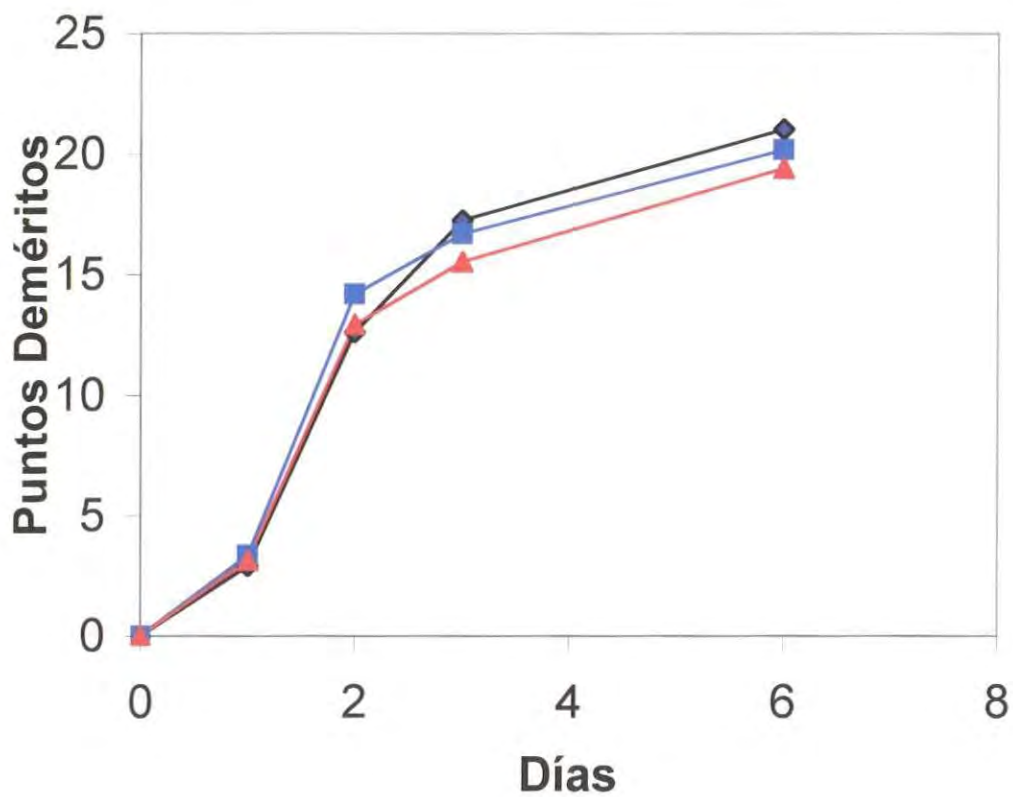
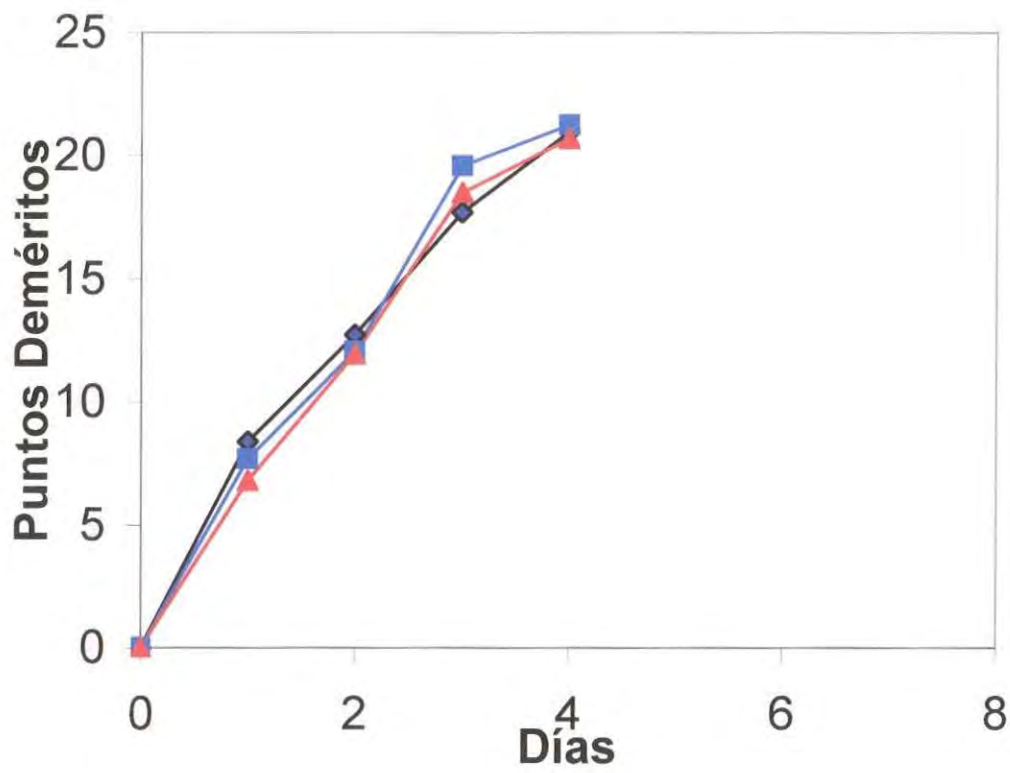


Figura 30.- Índice de calidad QIM en los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(◆), P(■) y E(▲) para las campañas de mayo (C2, superior) y junio (C3, inferior).

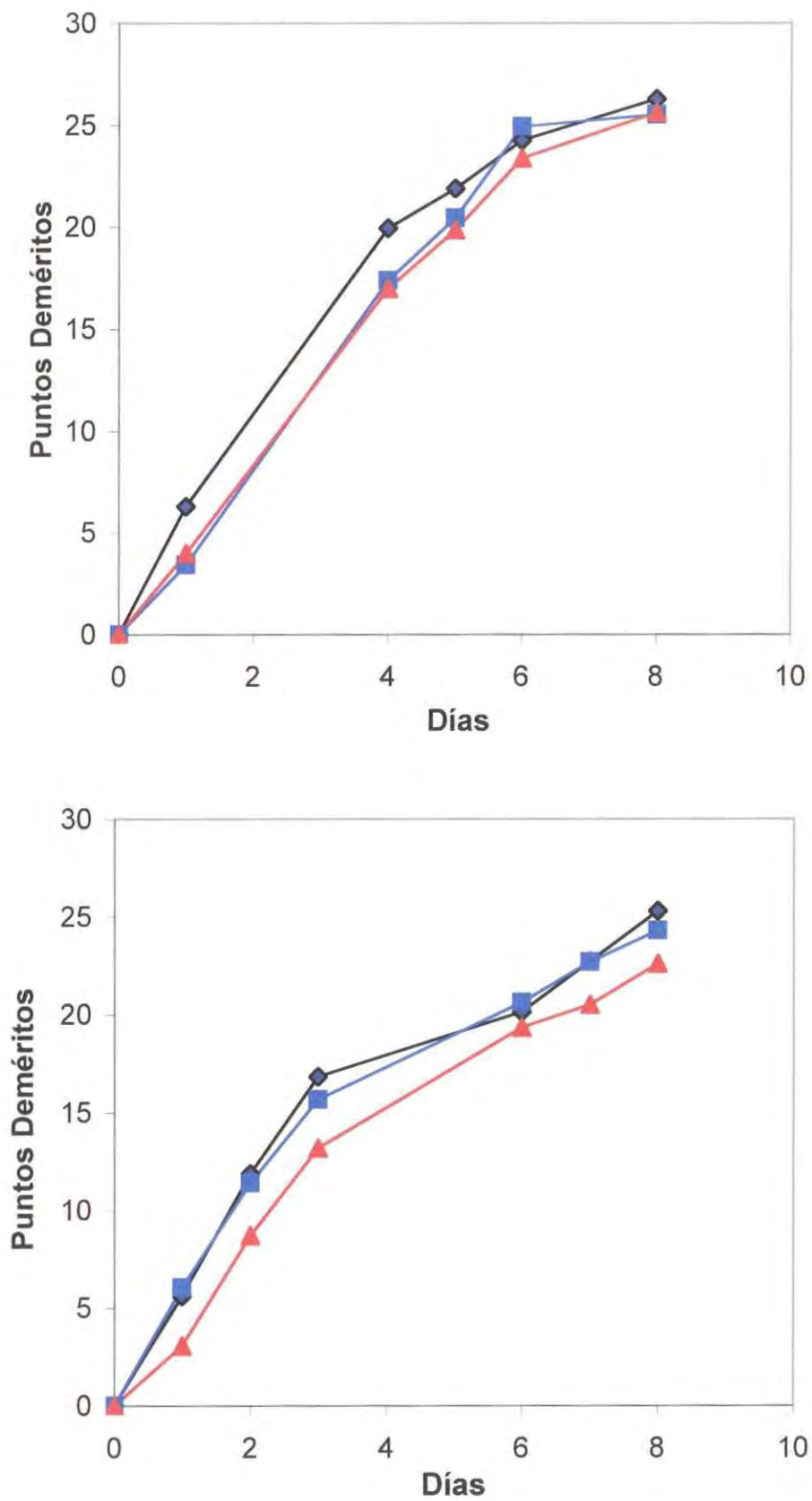


Figura 31.- Índice de calidad QIM en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E(—▲—) para las campañas de julio (C2, superior) y septiembre (C3,inferior).

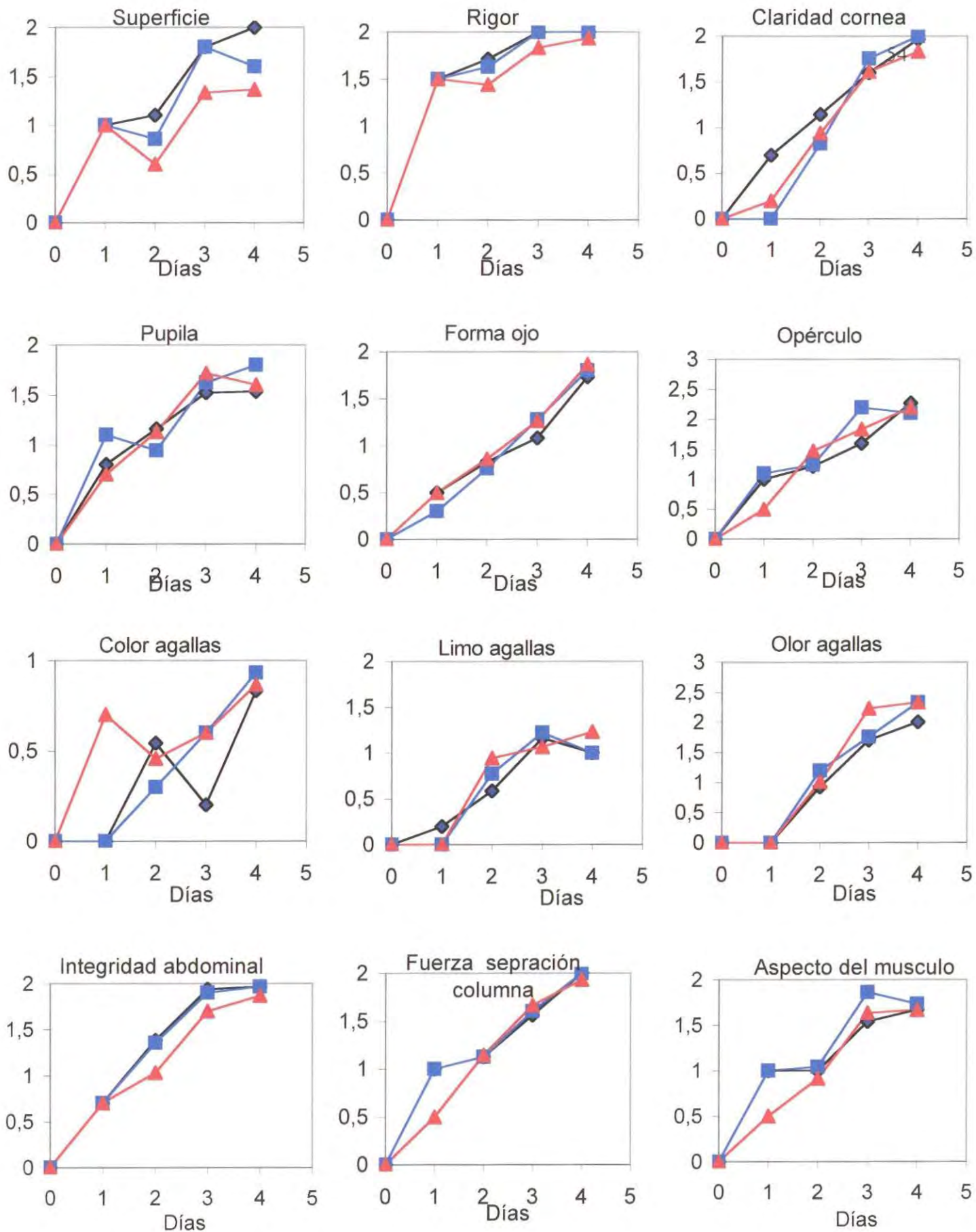


Figura 32.- Evolución de los atributos sensoriales utilizados en QIM de los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para la campaña de mayo (C2).

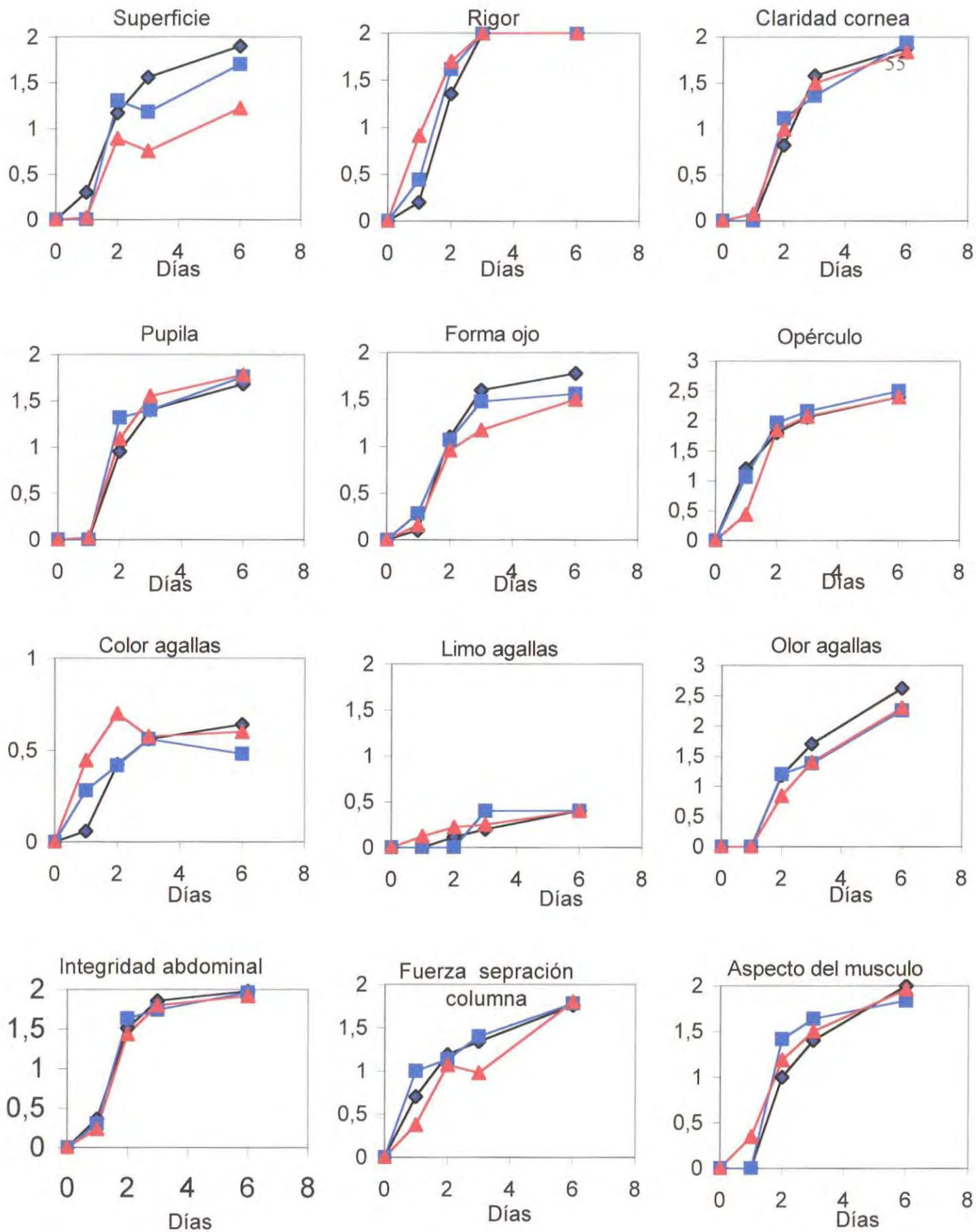


Figura 33.- Evolución de los atributos sensoriales utilizados en QIM de los distintos lotes de boquerón conservado en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E (—▲—) para la campaña de junio (C3).

aparición de la superficie, siendo más brillante en el lote E que en el P o CM. También se establecieron diferencias iniciales en el atributo claridad de córnea y apariencia del músculo entre el pescado conservado en cajas de madera y el conservado en el lote E en los primeros días de conservación. El lote E presentó asimismo un menor número de individuos que presentaban ruptura abdominal, comparado con los lotes P y CM. Un aspecto comentado por el panel de inspección y que no aparece como atributo en las tablas QIM, fue el hecho de que el boquerón conservado en agua mas hielo presentó un aspecto más redondo, mientras que el conservado en hielo, fundamentalmente en cajas de madera, estaba aplastado presentando deformaciones, de tal forma que el jurado discriminaba fácilmente, a través de esta característica, entre los lotes E y los CM y P. Este aspecto mas redondo y brillante está de acuerdo con la apreciación de los transformadores y comercializadores de pescado. En la tercera campaña de boquerón la pérdida de calidad sensorial fue más rápida (figura 30b). Esto está probablemente relacionado con una peor calidad inicial del pescado, ya que existió un mayor número de recuentos de viables totales a las 24 horas en los lotes P y CM (figura 20) y se observó una mayor velocidad de producción de TMA y NBVT en esta campaña (figuras 6 y 8). El lote E presentó valores en general inferiores a los lotes CM y P. Estos resultados parecen indicar que las diferencias entre sistemas de envasado se hacen más patentes cuando el pescado presenta una menor calidad en origen. En esta campaña, las principales diferencias se observaron en la apariencia del pescado, en relación al brillo e iridiscencias de la superficie (figura 33). No se observaron diferencias en la ruptura abdominal, pudiendo esto atribuirse a una defectuosa manipulación anterior a la preparación de los lotes o a una peor calidad inicial, al ser este un parámetro tan sensible en esta especie.

Los resultados de QIM de sardina en la segunda campaña (figura 31a) reflejan una alta linealidad hasta el sexto día de conservación. En esta especie, las diferencias entre lotes fueron más acusadas, siendo los lotes E y P los que presentaron mejor calidad y el CM el que se deterioró más rápidamente. Los principales atributos responsables de estas diferencias entre lotes fueron la apariencia superficial y la integridad abdominal (figura 34). La diferencia entre el lote E y los lotes CM y P fue mas acusada en septiembre (figura 31b), en este caso atribuible no únicamente a la apariencia superficial y a la integridad del abdomen sino también a otros atributos como la cantidad de sangre en el opérculo o "corbata" que fue menor en los lotes tratados con agua y hielo, y a la firmeza del músculo (figura 35). En este caso, el

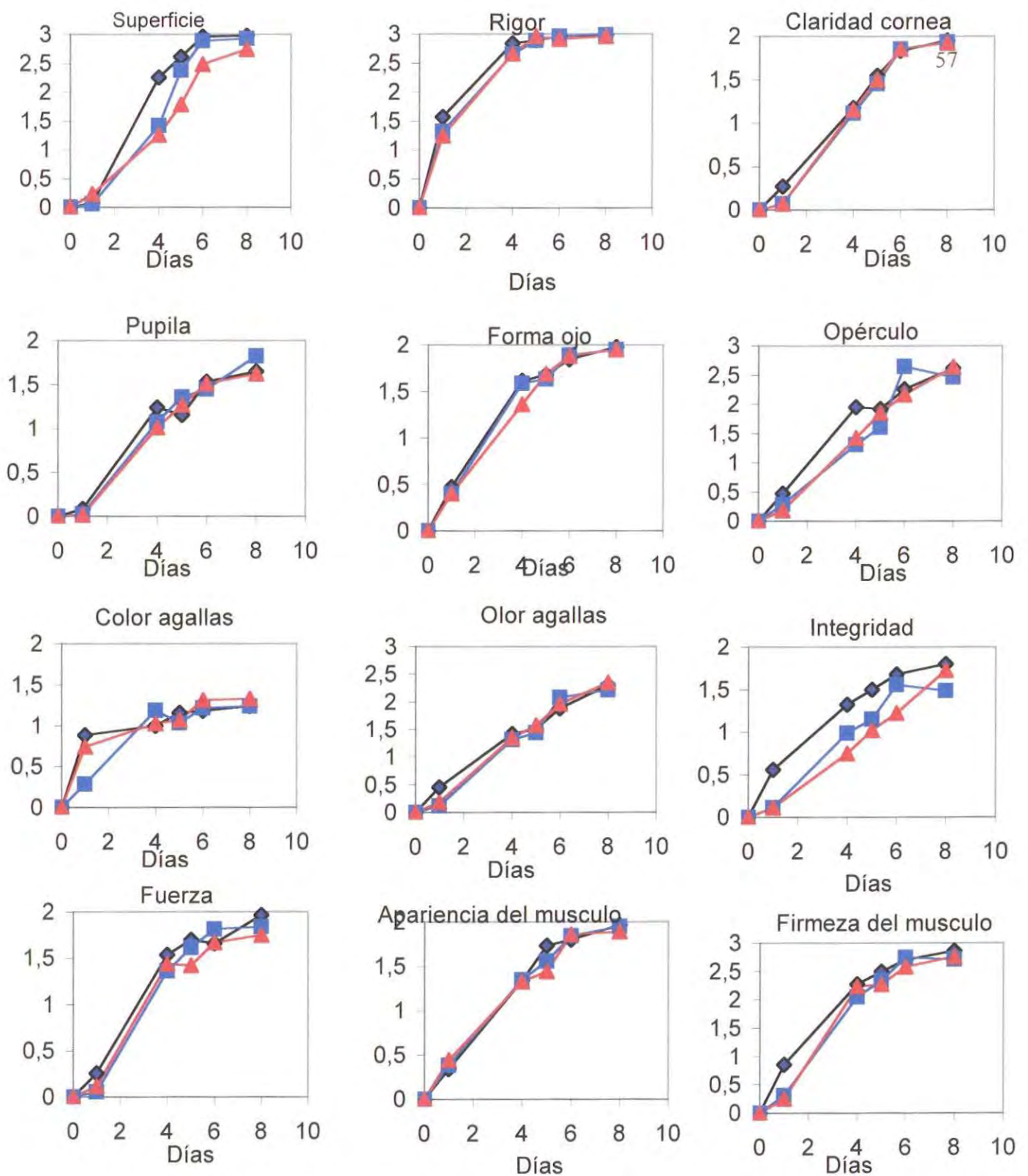


Figura 34.- Evolución de los atributos sensoriales utilizados en QIM en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E(—▲—) para la campaña de julio (C2).

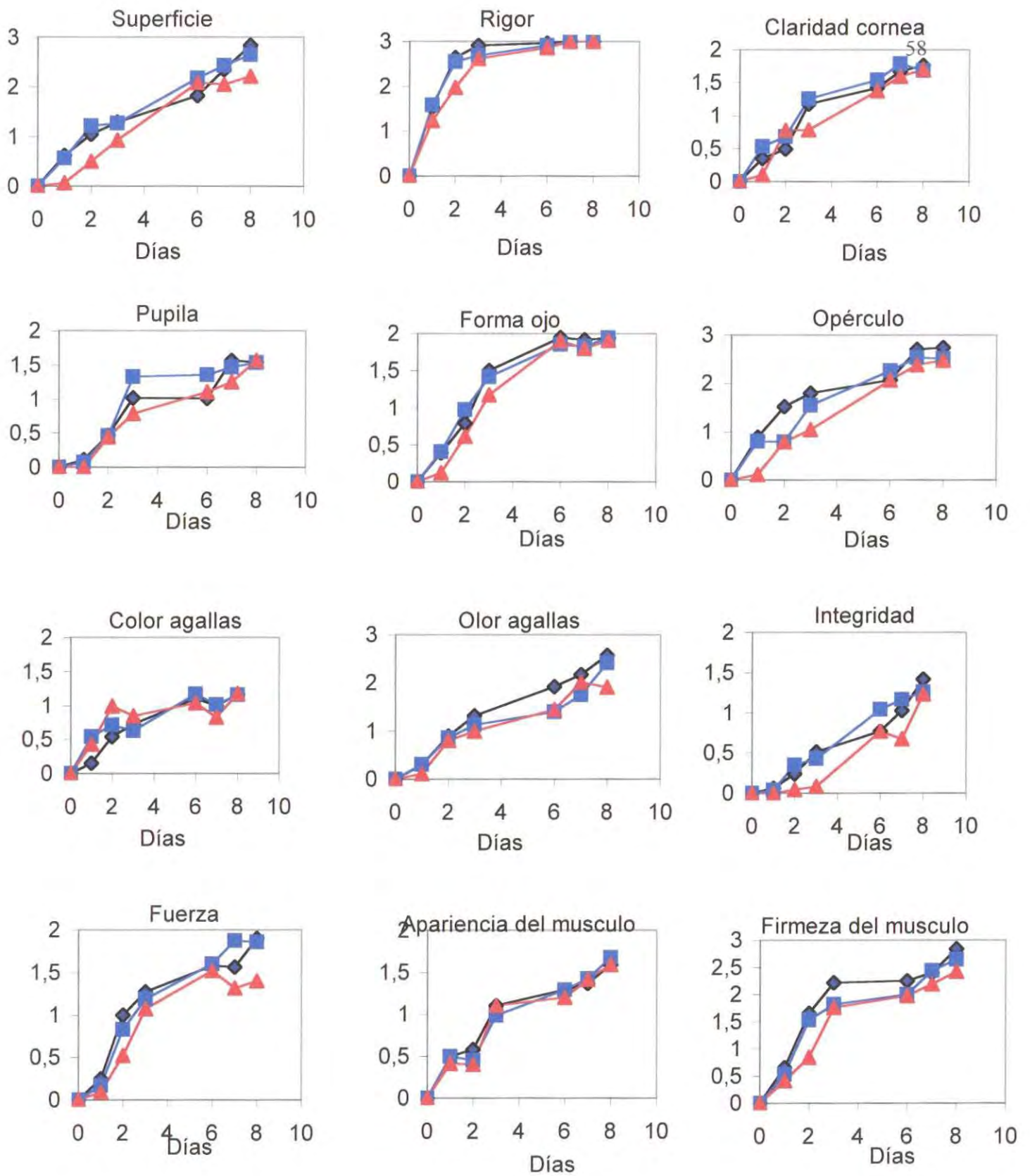


Figura 35.- Evolución de los atributos sensoriales utilizados en QIM de los distintos lotes sardina conservada en refrigeración CM(—◆—), P(—■—) y E(—▲—) para la campaña septiembre (C3).

pescado conservado en las cajas de madera presentó una textura mas blanda que los lotes P y E.

Por lo tanto, se apreciaron ventajas sensoriales entre el lote conservado en agua y hielo y los lotes conservados en hielo en ambas especies, siendo estas ventajas mas acusadas en sardina. La diferencia fundamental estriba en la apariencia superficial (brillo e iridiscencias) y en la integridad del abdomen. Este último atributo se observó mas claramente en sardina. Los resultados en boquerón sugieren que una pobre manipulación previa o baja calidad intrínseca debido a factores como temperatura en los meses de verano, puede acelerar mecanismos que conduzcan a una ruptura abdominal más rápida, de tal forma que se requiere extremar las precacuciones de manipulación en estos casos.

4.4. Efecto del tiempo de conservacion en agua y hielo una vez que llegan las muestras a destino

Hasta ahora se ha considerado el efecto del enfriamiento del pescado en agua con hielo únicamente durante el transporte y hasta su venta en los mercados de distribución, desaguando las cajas de pescado y adicionando hielo a las 20 horas, aproximadamente. En la segunda campaña de sardina se realizó un experimento preliminar, estudiando el efecto de la conservación en agua y hielo a tres tiempos: 20 horas, 8 y 14 días (denominado lote ND). Los parámetros analizados fueron **N-TMA**, **NBVT** y **TBA**. La figura 36 muestra los lotes conservados en agua y hielo durante todo el periodo de refrigeración, junto con los lotes E y P. La evolución de los tres parámetros estudiados fue más lenta en el lote no desaguado. No se pudo establecer en este caso significatividad estadística debido a la falta de réplicas. Sin embargo, los resultados indicaron un efecto beneficioso de la conservación en agua y hielo. Por otro lado, en la misma campaña, se desaguó una caja de pescado a las 48 h y se conservó posteriormente este pescado en hielo (lote E48). Se determinaron los índices de **N-TMA**, **NBVT** y **TBA** transcurridos 2 y 9 días de su colocación en hielo. Los resultados mostraron valores similares o incluso ligeramente superiores a los del lote E a tiempos similares de conservación. Esto sugirió que el posible efecto beneficioso de la conservación en agua y hielo pudo verse enmascarado e incluso revertido al cambiar el sistema de refrigeración. Estos resultados tienen importancia a la hora de explicar diferencias en el

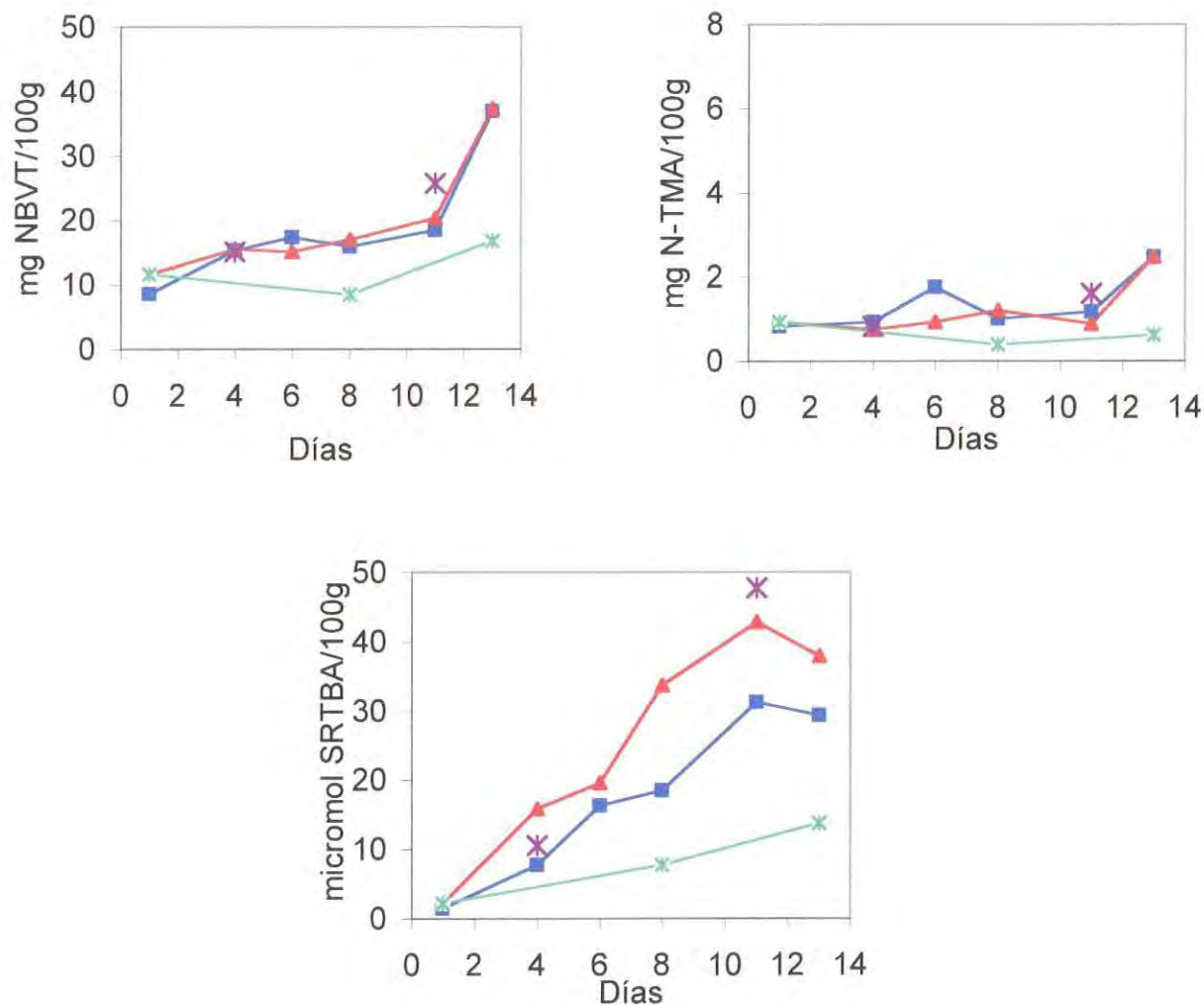


Figura 36.- Efecto del tiempo de conservación en agua y hielo una vez que llegan las muestras a destino. Producción de NBVT (superior izquierda), N-TMA (superior derecha) e índice de TBA (inferior) en los lotes ND (—x—), P (—■—) y E (—▲—) de sardina conservada en refrigeración, para la campaña de julio (C2). El lote E48 (*) fue desaguado a las 48 horas y mantenido en hielo posteriormente.

comportamiento del TBA en los lotes E y ND. La conservación del lote ND se realizó en condiciones que pronto se tornan anaerobióticas, debido a la baja solubilidad del oxígeno en agua (Huss, 1988). La ausencia de oxígeno no permite que se de lugar la oxidación de los lípidos, y por ello los lotes no desaguados presentan menores valores de rancidez oxidativa. Sin embargo, al cambiar el sistema de refrigeración, sustituyendo agua con hielo por hielo únicamente, se permite el contacto de los lípidos del pescado con el oxígeno. Asimismo, se difunden compuestos prooxidantes del pescado solubles en agua, como por ejemplo los compuestos hemínicos de la sangre. Esta acción combinada de accesibilidad al sustrato y aumento en la cantidad de prooxidantes, acelera las reacciones de oxidación, y por lo tanto los valores de TBA son superiores en el lote E. Desde un punto de vista práctico, sería posible optimizar el sistema de tal forma que se minimizasen los efectos de estos cambios indeseables.

Los resultados anteriores se confirmaron en la tercera campaña de sardina (figura 37). Los análisis de la varianza indicaron la existencia de diferencias significativas entre los lotes ND, P y E (tabla 20), siendo en todas las variables fisico-químicas estudiadas (**N-TMA**, **NBVT**, **Proteolisis** y **TBA**) los valores de ND significativamente inferiores a los de P o E. Hay que destacar que en el lote ND, el tiempo requerido para alcanzar 10^6 ufc/g en viables totales fue doble del tiempo requerido en el lote P. La causa de la menor rancidez oxidativa puede atribuirse a la ausencia de oxígeno, como se ha indicado anteriormente. La disminución del resto de los parámetros podría deberse a un efecto de inhibición de microorganismos responsables de la aparición de estos compuestos, o bien a un efecto de dilución de estos compuestos en el agua. La figura 38 muestra los recuentos de **viables totales**, de microorganismos **productores de SH₂** y **psicrotrofos** y la figura 39 los recuentos de **enterobacteriáceas** y **coliformes**. En todos los casos se encontraron diferencias significativas entre lotes, presentando el lote ND una velocidad mas baja de crecimiento de microorganismos. Esto puede atribuirse a la inhibición que sufren estos microorganismos en agua y hielo, dadas las condiciones del medio, que inhiben o retrasan el crecimiento de microorganismos aerobios, flora mayoritaria que crece en estos medios.

La evolución del **índice QIM** (figura 40) fue ligeramente más lenta que en el lote E. Las figuras que describen los atributos por separado (figura 41) muestran, un aspecto mejor en relación a

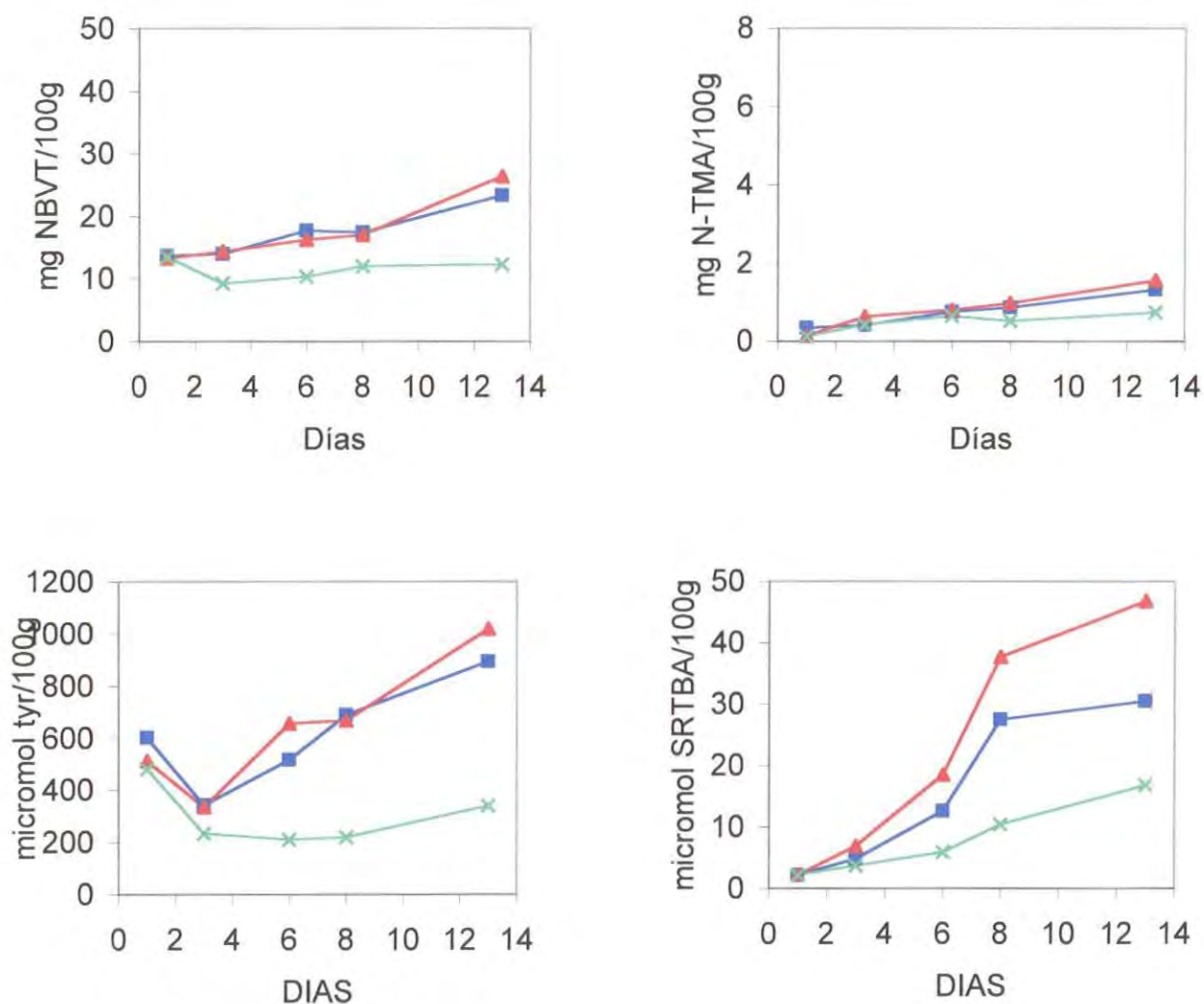


Figura 37.- Efecto del tiempo de conservación en agua y hielo una vez que llegan las muestras a destino. Producción de NVBT (superior izquierda), N-TMA (superior derecha), Proteólisis (inferior izquierda) y SRTBA (inferior derecha) en los lotes de sardina ND (—x—), P (—■—) y E (—▲—) conservada en refrigeración, para la campaña de septiembre (C3).

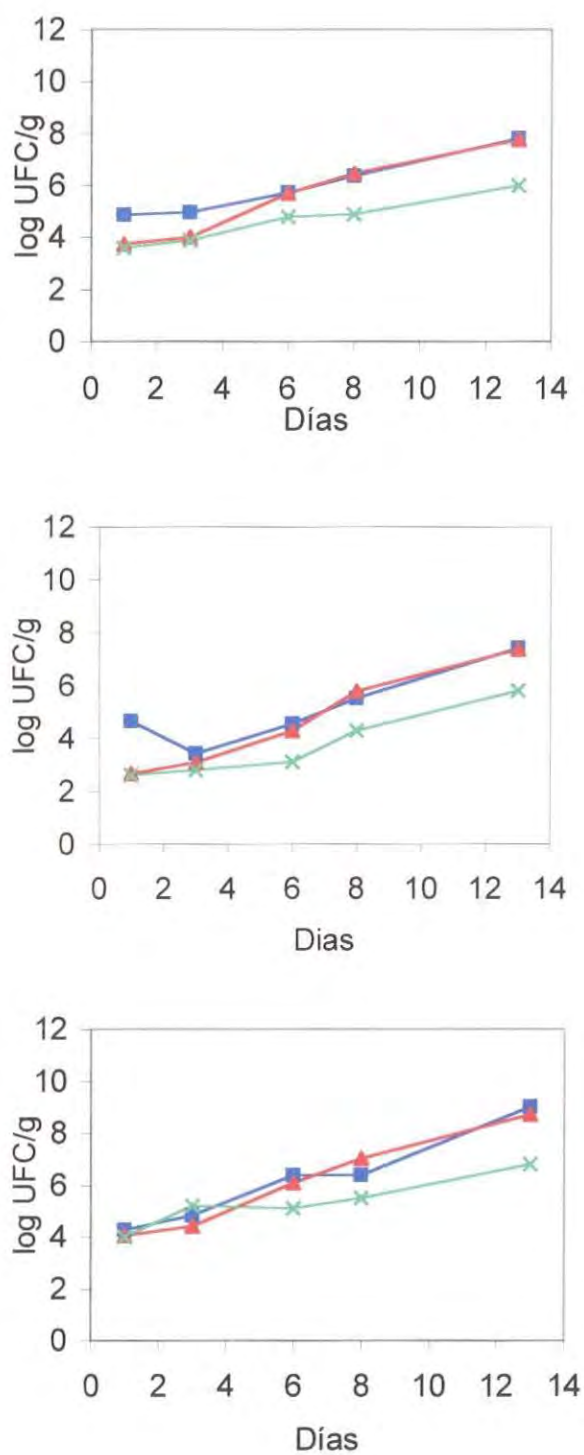


Figura 38.- Recuentos de microorganismos viables totales (superior), productores de SH₂ (medio) y psicrotrofos (inferior) en los distintos lotes ND (—x—), P (—■—) y E (—▲—) de sardina conservada en refrigeración, para la campaña de septiembre (C3).

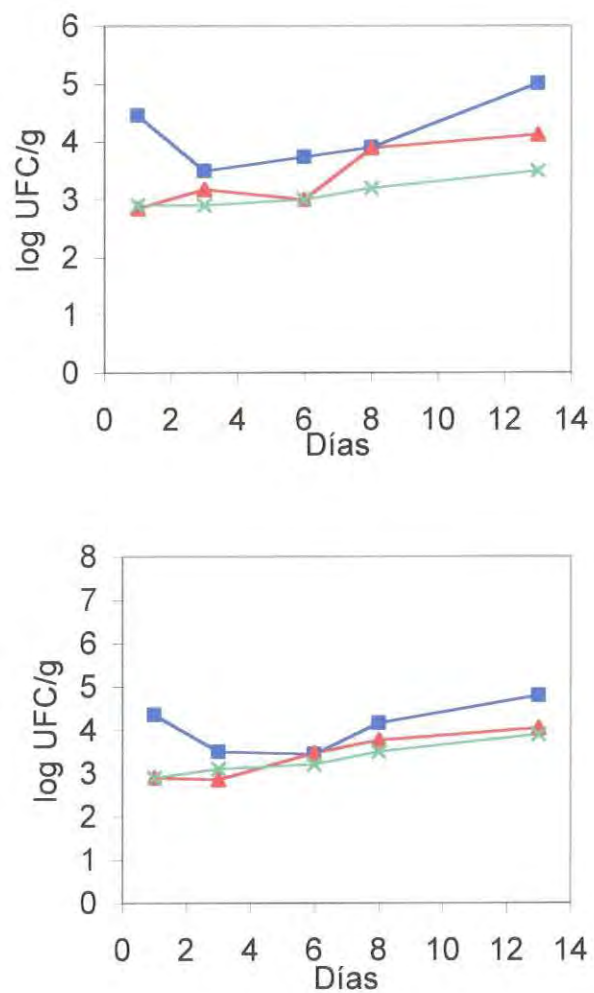


Figura 39.- Recuentos de enterobacterias (superior) y coliformes (inferior) en los distintos lotes de sardina ND (x), P (■) y E (▲) conservada en refrigeración, para la campaña de septiembre (C3).

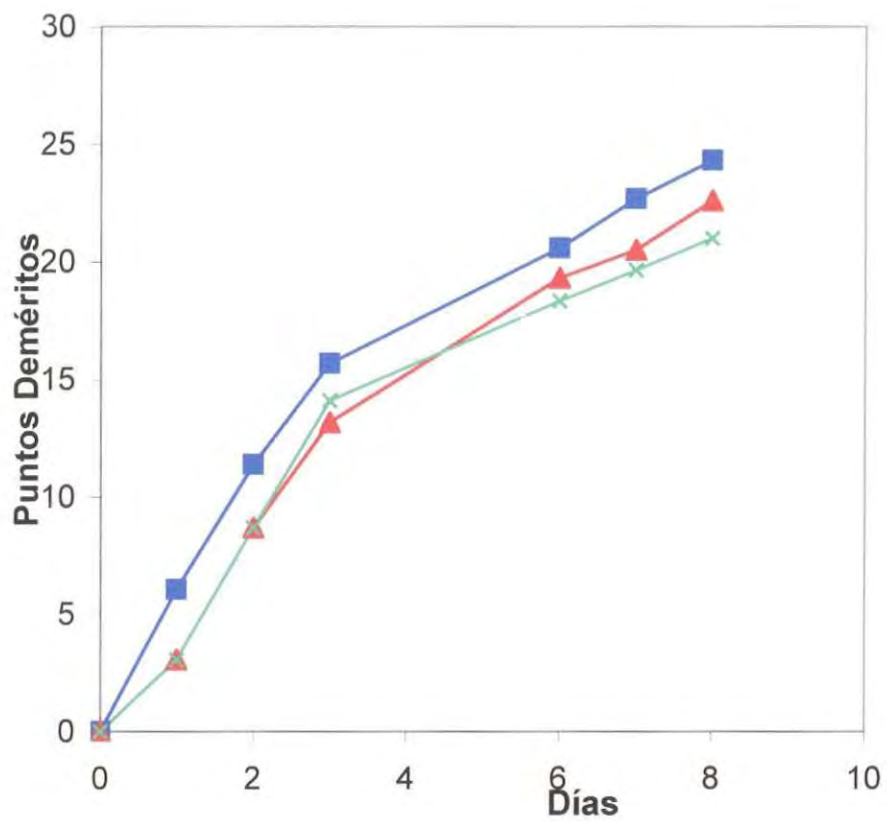


Figura 40.- Índice de calidad QIM en los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración ND (—x—), P (—■—) y E (—▲—) para la campaña de septiembre (C3).

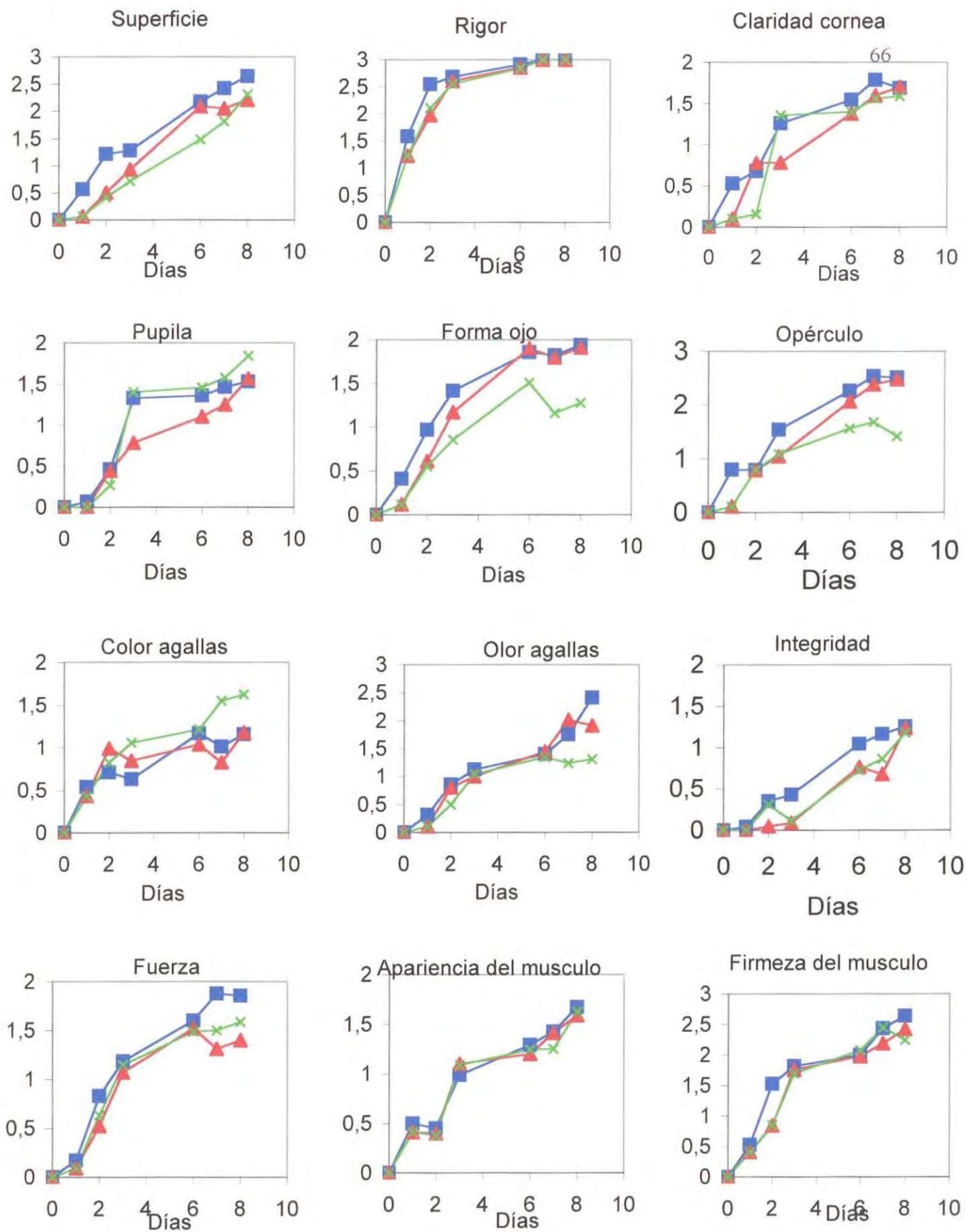


Figura 41.- Evolución de los atributos sensoriales utilizados en QIM de los distintos lotes de sardina conservada en refrigeración ND (x), P (■) y E (▲) para la campaña de septiembre (C3).

la superficie del pescado que en los lotes E y P, si bien, al final del estudio se observó pérdida de escamas, que se consideró un atributo negativo. Estos lotes presentaron asimismo una mayor integridad abdominal, menor cantidad de sangre en el opérculo, una pérdida de convexidad del ojo mas lenta y mejor olor al final del estudio. Sin embargo, parte de estos aspectos positivos se vieron enmascarados por el atributo color de pupila que se volvió gris, a diferencia de los otros lotes. El aspecto general del ojo, era, sin embargo mejor que el aspecto de los lotes E y P.

4.5. Consideraciones generales

Los tres sistemas estudiados presentan diferencias en factores que pueden tener influencia en la calidad del producto final, como son la cantidad de pescado por caja, aislamiento térmico de las cajas y proporción de pescado/hielo. Este estudio pretendió comparar los tres procedimientos habituales de preparación y transporte para estas especies y en la discusión de los resultados se ha tenido en cuenta todo el conjunto de factores asociados a cada sistema, sin poder atribuir unívocamente a uno u otro factor las causas de ciertas diferencias.

La evolución en el tiempo de los parámetros determinados en este trabajo se considera como normal para el boquerón y sardina conservados en refrigeración, y da muestra de un deterioro típico para estas especies. La influencia de la campaña en los valores iniciales de estos parámetros y en su evolución en el tiempo fue también la esperada. Como se discutió en el planteamiento del trabajo, las diferencias entre campañas son atribuibles tanto a aspectos relacionados con la propia bioquímica del pez (intrínsecos) como a aspectos ambientales o de procesado. El estudio en distintas campañas ha permitido de esta manera aleatorizar determinadas variables que no pueden ser controlables, como temperatura ambiente o tratamiento a bordo.

En general, los resultados que han conformado la mayor parte de este estudio, en los que se ha considerado el caso de conservar el pescado en agua y hielo durante el transporte, muestran únicamente pequeñas diferencias entre los distintos sistemas. Las principales diferencias en índices fisico-químicos a lo largo de las campañas se encuentran en los parámetros trimetilamina, histamina e índice de ácido 2-tiobarbitúrico. En los dos primeros parámetros, la evolución en el tiempo es más lenta en el lote E lo que indica una más lenta

degradación. El índice del ácido 2-tiobarbitúrico es el único parámetro en que el lote E puede presentar, en ciertos casos, valores superiores que los lotes CM o P, y por lo tanto ser un indicativo de un deterioro en rancidez oxidativa superior en este lote. Como se ha discutido previamente, la rancidez oxidativa a los niveles que se obtienen en este estudio, puede tener importancia para algún sector de la población únicamente desde un punto de vista organoléptico y no sanitario (Este parámetro no está, de hecho, contemplado en la legislación). Por otro lado, el fenómeno que ocurre es el contrario cuando el sistema de agua y hielo se utiliza hasta el consumo del producto. Por lo tanto, este es un factor que puede corregirse fácilmente, optimizando el sistema. En cuanto al análisis microbiológico, las diferencias han sido más marcadas a favor del lote E, fundamentalmente en los recuentos de enterobacterias. Como se discutió en la sección correspondiente, el pescado conservado en agua y hielo, podría presentar la ventaja de un lavado y arrastre de microorganismos, disminuyendo la carga inicial. La inspección sensorial ha mostrado que efectivamente existe un mejor aspecto exterior y, en ciertos casos, una menor ruptura del abdomen lo que confiere al producto una mejor calidad comercial en los pescados conservados en agua y hielo. Los resultados demuestran que siguiendo el procedimiento de este estudio, el conservar boquerón y sardina en agua y hielo durante el transporte no presenta problemas de calidad, teniendo por el contrario ciertas ventajas desde un punto de vista microbiológico. Debido a que el tiempo transcurrido entre la preparación de los lotes y adquisición del pescado es pequeño (menos de 24 horas), puede considerarse que el riesgo asociado a esta práctica es mínimo, ya que no requiere reposición de hielo. Sería conveniente, sin embargo, establecer ciertas especificaciones mínimas a través de un pequeño manual de prácticas, de tal forma que se garantice el uso adecuado del método.

El tratamiento aplicado en la primera parte de este estudio y que ha sido objeto de la mayor parte del trabajo, se ha circunscrito a un tiempo de desaguado determinado. Se estimó, a la vista de los resultados parciales que se obtuvieron, que tiempos de permanencia en agua y hielo más prolongados podían maximizar las diferencias entre lotes, tanto positivas como negativas. En conversaciones mantenidas con procesadores de pescado, se puso de manifiesto que aunque el desaguado se realiza en la mayoría de los casos en menos de 24 horas, es posible que haya circunstancias en las que el pescado se siga manteniendo en este sistema durante tiempos más prolongados, por lo tanto este estudio tendría relevancia desde un punto de vista práctico. Como consecuencia de esto se incorporó al plan de trabajo el lote

que hemos denominado ND. En las condiciones estudiadas, se ha visto con mayor claridad cuáles son las ventajas del sistema de envasado en agua y hielo, no observándose inconvenientes de relevancia. Las ventajas estriban a) en el mejor mantenimiento de la cadena del frío (comparado con las prácticas habituales utilizadas en la zona). b) en el efecto “colchón” que ejerce el agua, evitando daños mecánicos, c) en las condiciones de menor proporción de oxígeno, que inhiben reacciones de oxidación y crecimiento de parte de los microorganismos responsables del deterioro. Los aspectos b y c cobran mayor importancia al aumentar el tiempo de permanencia en agua y hielo. El aumento del tiempo de conservación en agua y hielo, reportó por lo tanto claras ventajas. Sin embargo el uso de este sistema durante tiempos prolongados puede requerir en algunos casos, la adición de más hielo al sistema. Para asegurar los beneficios reportados por este método sería imprescindible informar al usuario (detallista) de los riesgos que supondría romper la cadena de frío, al igual que ocurre en el resto de los sistemas de conservación en refrigeración que se utilizan en la actualidad.

5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS

1. Tanto el sistema de enfriamiento en EPS con hielo como en agua más hielo produjeron un enfriamiento rápido del pescado que se adquirió en lonja. Con el sistema de agua y hielo se recepcionó en MercaMadrid el pescado a temperaturas inferiores a 2 °C en todas las campañas. El pescado transportado en cajas de madera presentó en destino temperaturas medias entre 4 y 8 °C, en función de la campaña.
2. El lote definido como E (conservación del pescado en agua y hielo durante el transporte, posterior desaguado y adición de hielo para la conservación) no presentó diferencias importantes respecto a los lotes definidos como CM (conservación del pescado en cajas de madera desde el barco, y refrigeración por hielo) o P (conservación del pescado en hielo en cajas EPS que permiten el drenaje del agua de fusión). Sin embargo, hay datos que indican una mayor seguridad en el pescado conservado en agua y hielo respecto del conservado en caja de madera con hielo, fundamentalmente debido a que, en general, el desarrollo microbiano es más bajo. El único aspecto negativo del lote E lo constituyó un mayor incremento de la rancidez oxidativa, medida por el índice del TBA.

3. Los resultados obtenidos en sardina conservada hasta deterioro en agua y hielo (sin desaguar) mostraron que todos los índices estudiados (microbiológicos, físico-químicos y sensoriales) presentaban valores que indicaban una mejor calidad que los lotes conservados en hielo (CM o P) para tiempos mayores de 24 horas, incluido el índice del TBA.
4. El desagado a las 48h y la conservación posterior de la sardina en hielo provocó un incremento de la rancidez oxidativa (lote E48). Esto parece indicar que el incremento del TBA en los lotes denominados como E fue debido a la acción combinada de agua+hielo y posterior conservación en hielo. Podrían encontrarse condiciones de conservación en agua y hielo que minimizasen este problema.

6. CONCLUSIONES

A) Los resultados indican que un correcto uso del sistema de transporte en agua y hielo y desagado en menos de 24 horas (denominado lote E), puede resultar beneficioso desde un punto de vista tecnológico y sanitario. Esta conclusión se fundamenta en un mejor mantenimiento de la temperatura de este lote durante el transporte, un mejor aspecto sensorial, un menor recuento de microorganismos y pequeños beneficios en ciertos índices físico-químicos. La práctica que se ha utilizado en este estudio puede considerarse correcta. Con vistas a un uso normalizado del sistema puede ser necesario el establecimiento de ciertas especificaciones relativas a la proporción de agua/hielo/pescado así como a la temperatura del agua añadida.

B) El mantenimiento del pescado en agua y hielo durante tiempos más prolongados (denominado lote ND) puede tener incluso ventajas adicionales al desagado antes de 24 horas y posterior mantenimiento en hielo. Sin embargo, para realizar una recomendación de este sistema se requerirían estudios adicionales encaminados a optimizar su uso.

7.- BIBLIOGRAFIA

A.O.A.C. (1995). En: Official Methods of the Association Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

A.O.A.C. (1984). En: Official Methods of Analysis, 14th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, D.C.

Antonacopoulus, N. y Vyncke, W. (1989). Determination of volatile basic nitrogen in fish: a third collaborative study by the West European Fish Technologist's Association (WEFTA). Z. Lebensm. Unters. Forsch., 113, 113-116.

Barhoumi, M. (1981). Pruebas de conservación de la sardina en agua de mar enfriada. Consulta técnica sobre utilización de las especies pelágicas en el area mediterránea. Ed. D.G. Ordenación Pesquera. Subsecretaría de Pesca. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Pp. 143-151.

Barroso, M., Careche, M. y Borderías, A.J. (1997). Evaluation of fish freshness using mechanical methods. En: Methods to determine the freshness of fish in research and industry. Eds. Instituto Internacional del Frío, G. Olafsdóttir; J. Luten; P. Dalgaard; M. Careche; V. Verrez-Bagnis; E. Martinsdóttir; K. Heia, Paris, Francia. Pp. 355-362, ISBN:2-903633959.

Bligh, E.G. y Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Phys., 37, 911-917.

Burt, J.R. y Hardy, R. (1992). Composition and deterioration of pelagic fish. En: Pelagic Fish. The Resource and Its Explotation. Eds. J.R. Burt, R. Hardy y K.J. Whittle. Fishing News Books, Oxford, Reino Unido. Pp. 115-141.

Careche, M. y Jiménez-Colmenero, F. (1988). Oxidación de lípidos en pescado: procedimientos de determinación. Aceites y Grasas, 39, 387-396.

Chalmers, M., Careche, M. y Mackie, I.M. (1992). Properties of actomyosin isolated from cod (*Gadus morhua* L.) after different periods of storage in ice

J. Sci. Food Agric. 58, 375-

Directiva de la Unión Europea. (1991). Normas sanitarias aplicables a la producción y a la puesta en el mercado de los productos pesqueros. DOCE 91/493/CEE, del 22 de julio, 1991. Pp. 15-34.

Dyer, W.J. (1959). Report on trimethylamine in fish. Journal of AOAC. 42:292-294.

Gram, L, Trolle, G. y Huss, H.H. (1987). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 °C) and high (20 °C) temperatures. Int. J. Food Microbiol. 4, 65-72.

Hansen, P. y Hensen, J.G. (1982). Bulk handling and chilling of large catches of small fish. Part 1. Quality and storage life. Infofish Market. Dig., 6, 26-28.

Huss, H.H. (1988). Quality and storage life of chilled fish. En: Fresh Fish-Quality and Quality Changes. A training manual prepared for the FAO/DANIDA training programme on Fish Technology and Quality Control. FAO Fisheries Series. Ed. FAO, Roma, Italia. Pp. 77-102.

Instituto Internacional del Frío (IIF) (1979). Fishery Products. En: Recommendations for chilled storage of perishable produce. Ed. IIF, Paris, Francia. Pp. 102-119.

Lowry, O.H., Posebroght, N.J., Farr, A.L., y Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.

Moral, A. (1985a). Report of the second technical consultation on the utilization of small pelagic species in the mediterranean area. General Fisheries Council for the Mediterranean Area. Report de la FAO n° 331.

Moral, A. (1985b). Tecnología de la refrigeración del pescado. Alimentación, Equipos y Tecnología, marzo-abril, 141-151.

Mossel, D.A.A. Mengerink y H.H. Scholts (1962). Use a modified McConkey Agar medium for the selective growth and enumeration of all enterobacteriaceae. J. Bacteriol. 84:381.

Nielsen J. (1992). Quality management of the raw material in the food fish sector based on standardized sensory method & physical dimensions of the raw fish. FAIR Contract nº UP-2-452.

Norme AFNOR NF V 08-017 -Directives generales pour le dénombrement des coliformes fécaux et d'Escherichia coli- Juin 1980.

Olsen, K.B. (1992). Shipboard handling of pelagic fish with special emphasis on fast handling, rapid chilling and the working environment. En: Pelagic Fish. The Resource and Its Exploitation. Eds. J.R. Burt, R. Hardy y K.J. Whittle. Fishing News Books, Oxford, Reino Unido. Pp. 55-69.

Pascual Anderson, M.R. (1992) Microbiología alimentaria. Díaz Santos, S.A., Madrid.

Pozo, R., Pérez-Villarreal, B. y Saitua, E. (1992). Total lipids and omega-3 fatty acids from seven species of pelagic fish. En: Pelagic Fish. The Resource and Its Exploitation. Eds. J.R. Burt, R. Hardy y K.J. Whittle. Fishing News Books, Oxford, Reino Unido. Pp. 142-156.

Shewan, J.M. (1971). The microbiology of fish and fishery products- a progress report. J. Applied Bacteriol., 34, 299-315.

Sikorski, Z.E., Kolakowska, A. y Burt, J.R. (1990). Post-harvest biochemical and microbial changes. En: Marine Food: Resources, Nutritional Composition and Preservation. Pp. 53-75. CRC Press Inc., Boca Raton.

Sorensen, N.K. y Mjelde, A. Preservation of pelagic fish quality for further processing on board and ashore. En: Pelagic Fish. The Resource and Its Exploitation. Eds. J.R. Burt, R. Hardy y K.J. Whittle. Fishing News Books, Oxford, Reino Unido. Pp. 38-54.

Sanchez, J.A. y Moral., A. (1999). Detrminación de aminas biogenas. Manuscrito en preparación.

Taylor, S.L. (1988). Marine toxins of microbial origin. Food Technol. 3, 94-98.

Tracy M.L. Michael V. y Verhulst, T. (1996). Cation-exchange analysis of foods and beverages for biogenic amines. Food Testing and Analysis, Dec. 95/Jan 96, 48-50.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the tiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of the oxidative rancidity. Fette. Seifen, Anstrichmittel. 72: 1084-1087.

Vyncke, W. pH of fish muscle: comparison of methods. Western European Fish Technologist' Association (WEFTA). Copenhagen. Denmark, 1981.

Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J. y Burns, B.G. (1986). Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences, N° 1448. ISSN 0706-6473 Pp. 122-134.

8. TABLAS

Tabla 1.- Fechas de toma de muestra y tamaño muestral en cada campaña

ESPECIE	CAMPAÑA	FECHA DE CAPTURA	TAMAÑO MUESTRAL (Kg)
Boquerón	1	24-2-1999	30
Boquerón	2	4-5-1999	150
Boquerón	3	15-6-1999	150
Sardina	1	22-3-1999	120
Sardina	2	22-7-1999	150
Sardina	3	7-9-1999	150

Tabla 2.- Tamaño y peso de boquerón y sardina en cada campaña

ESPECIE	CAMPAÑA	PESO (g)	TALLA (cm)
Boquerón	1	13.4±0.2	---
Boquerón	2	12.9±5.4	10.6±1.2
Boquerón	3	16.9±1.8	11.8±0.5
Sardina	1	45.7±12.3	15.1±1.5
Sardina	2	47.4±15.9	15.1±1.5
Sardina	3	30.9±8.4	14.6±0.5

Tabla 3.- Análisis porcentual de la composición de músculo de boquerón y sardina en cada campaña

ESPECIE	CAMPAÑA	HUMEDAD (%)	GRASA (%)	PROTEÍNA (%)	CENIZAS (%)
Boquerón	1	76.04±0.08	2.43±0.19	18.46±0.40	1.31±0.02
Boquerón	2	76.83±0.12	2.62±0.14	18.13±0.34	1.41±0.06
Boquerón	3	76.03±0.18	3.32±0.30	19.23±0.22	1.49±0.03
Sardina	1	75.61±0.53	4.88±0.04	19.07±0.45	1.82±0.08
Sardina	2	70.93±0.16	8.04±0.28	18.82±0.16	1.35±0.17
Sardina	3	71.03±0.02	9.12±0.34	18.54±0.47	1.33±0.03

Tabla 4. ANOVA de 2 vías en función de campaña y tratamiento con tiempo como covariante para **boquerón** conservado en refrigeración. Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***). NS= no significativo.

Variable	Campaña	Tratamiento	Interacción	Tiempo
Proteolisis	***	NS	**	***
TBA	***	**	NS	***
NBVT	***	NS	NS	***
TMA	*	NS	*	***
pH	**	NS	**	***
Histamina	NS	NS	NS	***
Relajación	NS	NS	NS	***
Coliformes	***	***	***	***
Enterobacterias	***	***	**	***
Viables totales	**	NS(límite)	*	***
Productores de SH ₂	***	NS	**	***
Psicrotrofos	***	***	NS	***

Tabla 5. ANOVA de 2 vías en función de campaña y tratamiento con tiempo como covariante para **sardina** conservada en refrigeración. Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***). NS= no significativo.

Variable	Campaña	Tratamiento	Interacción	Tiempo
Proteolisis	***	NS	NS	***
TBA	***	***	NS	***
NBVT	***	NS	NS	***
TMA	***	NS	NS	***
Histamina	NS	NS (límite)	NS	***
pH	**	NS	NS	***
Relajación	**	NS	NS	***
Coliformes	***	***	NS	***
Enterobacterias	***	***	*	***
Viables totales	***	*	NS	***
Productores de SH ₂	***	*	NS	***
Psicrotrofos	***	***	NS	***

Tabla 6. ANOVA de 1 vía para campañas 1,2 y 3, en función del tratamiento (CM,P,E) con tiempo como covariante para **boquerón** conservado en refrigeración. Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***). NS= no significativo.

Variable	Campaña 1		Campaña 2		Campaña 3	
	Tratamiento	Tiempo	Tratamiento	Tiempo	Tratamiento	Tiempo
Proteolisis	*	***	NS	***	**	***
TBA	NS	***	NS	***	***	***
NBVT	NS	***	NS	***	NS	***
TMA	NS	***	NS	***	***	***
pH	**	***	*	***	NS	***
Histamina	*	***	NS	***	---	---
Relajación	NS	***	***	***	NS	***
Coliformes	***	***	***	***	***	***
Enterobacterias	NS	***	***	***	***	***
V.Totales	*	***	***	***	*	***
Productores SH ₂	***	***	NS(límite)	***	**	***
Psicrotrofos	*	***	***	***	**	***

Tabla 7. ANOVA de 1 vía para campañas 1,2 y 3, en función del tratamiento (CM,P,E) con tiempo como covariante para **sardina** conservada en refrigeración. Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***). NS= no significativo. limite

Variable	Campaña 1		Campaña 2		Campaña 3	
	Tratamiento	Tiempo	Tratamiento	Tiempo	Tratamiento	Tiempo
Proteolisis	NS	***	NS	NS	NS	***
TBA	*	***	***	***	NS(limite)	***
NBVT	NS	***	NS	***	NS	***
TMA	NS	***	NS	***	NS	***
Histamina	*	***	*	***	**	***
pH	NS	***	NS	***	NS	***
Relajación	NS	***	NS	NS	*	***
Coliformes	***	***	**	***	***	***
Enterobacterias.	***	***	**	***	***	***
V. Totales	NS	***	NS	***	*	***
Productores SH ₂	NS	***	NS	***	NS	***
Psicrotrofos	*	***	**	***	***	***

Tabla 8. Análisis de la varianza del modelo de regresión lineal planteado para cada una de las variables y tratamientos (CM,P,E) en **boquerón** conservado en refrigeración (**Campaña 1**). Niveles de significación 0.05(*),0.01(**) y 0.001(***) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	R ²	P
Proteolisis	CM	0.79	***
	P	0.77	***
	E	0.66	*
TBA	CM	0.71	***
	P	0.86	***
	E	0.86	***
NBVT	CM	0.94	***
	P	0.90	***
	E	0.96	***
TMA	CM	0.98	***
	P	0.98	***
	E	0.99	***
pH	CM	0.85	***
	P	0.90	***
	E	0.95	***
Relajación	CM	0.63	***
	P	--	--
	E	0.47	**
Coliformes	CM	0.89	***
	P	0.82	*
	E	0.98	***
Enterobacterias	CM	0.88	**
	P	0.93	**
	E	0.89	***
Viables totales	CM	0.97	***
	P	0.99	***
	E	0.87	***
Productores de SH ₂	CM	0.98	***
	P	0.90	**
	E	0.99	***
Psicrotrofos	CM	0.98	***
	P	0.95	***
	E	0.98	***

Tabla 9. Coeficientes de regresión (Intersección, tiempo, tiempo²) para cada una de las variables y tratamientos en **boquerón (Campaña 1)**. Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	A	Coeficientes		
			t	t ²	P (modelo)
Proteolisis	CM	198.0	50.42*	-0.80	NS
	P	225.0	43.18	-0.19	
	E	299.5	34.81	1.16	
TBA	CM	-2.00	2.20**	-0.12**	*
	P	-3.58	3.94**	-0.25**	
	E	-1.17	2.07**	-0.09*	
NBVT	CM	15.96	-0.02	0.13**	*
	P	18.19	-0.85	0.19**	
	E	15.00	-0.94	0.23**	
TMA	CM	0.37	-0.11**	2.47×10 ⁻² **	**
	P	0.49	0.15**	2.7×10 ⁻²	
	E	0.37	-7.7×10 ⁻²	1.75×10 ⁻² **	
pH	CM	6.25	-0.02	0.005**	**
	P	6.37	-0.04*	0.006**	
	E	6.43	-0.08**	0.012**	
Relajación	CM	61.60	1.46*	-6.97×10 ⁻²	-
	P	-	-	-	
	E	63.34	0.67	-1.62×10 ⁻²	
Coliformes	CM	1.96	0.58*	-0.03	**
	P	2.47	-0.03	0.03	
	E	1.48	0.99**	-0.09**	
Enterobacterias	CM	2.20	0.33	0.004	*
	P	2.38	-0.06	0.05	
	E	1.20	1.14**	-0.11**	
Viables totales	CM	3.79	0.65**	-0.01	NS
	P	3.80	0.62**	-0.01	
	E	4.23	0.5	-0.01	
Productores de SH ₂	CM	1.59	0.56*	-0.02	**
	P	2.28	0.68	-0.05	
	E	2.62	0.35*	0.01	
Psicrotrofos	CM	4.79	0.16	0.03*	**
	P	4.60	0.34	0.003	
	E	3.57	0.87**	-0.06*	

Tabla 10. Análisis de la varianza del modelo de regresión lineal planteado para cada una de las variables y tratamientos (CM,P,E) en **boquerón** conservado en refrigeración (**Campaña 2**). Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	R ²	P
Proteolisis	CM	0.87	***
	P	0.93	***
	E	0.87	***
TBA	CM	0.92	***
	P	0.95	***
	E	0.93	***
NBVT	CM	0.99	***
	P	0.99	***
	E	0.98	***
TMA	CM	0.98	***
	P	0.99	***
	E	0.98	***
pH	CM	0.98	***
	P	0.97	***
	E	0.97	***
Relajación	CM	0.35	**
	P	0.60	***
	E	0.40	***
Coliformes	CM	0.93	***
	P	0.97	***
	E	0.96	***
Enterobacterias	CM	0.94	***
	P	0.84	**
	E	0.96	***
Viabiles totales	CM	0.99	***
	P	0.98	***
	E	0.98	***
Productores de SH ₂	CM	0.99	***
	P	0.98	***
	E	0.99	***
Psicrotrofos	CM	0.97	***
	P	0.97	***
	E	0.99	***

Tabla 11. Coeficientes de regresión (Intersección, tiempo, tiempo²) para cada una de las variables y tratamientos en boquerón (Campaña 2). Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	Coeficientes			P (modelo)
		A	t	t ²	
Proteolisis	CM	516	23.65	1.12	
	P	350	117**	-5.30**	**
	E	346	108**	-4.28**	
TBA	CM	-0.34	3.11**	-0.17**	
	P	0.87	2.81**	0.16**	**
	E	-0.30	3.60**	-0.19**	
NBVT	CM	18.04	-2.77**	0.38**	
	P	19.17	-2.80**	0.40**	**
	E	16.92	-1.82**	0.27**	
TMA	CM	0.653	-0.23**	0.04**	
	P	0.28	-0.005	0.032**	**
	E	0.47	-0.22*	0.042**	
Relajación	CM	61.30	4.73*	-0.45	
	P	61.90	4.59*	-0.33	
	E	64.91	0.64	7.99×10 ⁻²	
pH	CM	6.29	-0.02	0.6×10 ^{-2**}	
	P	6.26	-0.02	0.6×10 ^{-2**}	**
	E	6.25	-0.007	0.4×10 ^{-2**}	
Coliformes	CM	2.62	0.36**	-0.01	
	P	3.04	0.21**	-0.005	**
	E	2.74	0.06	0.006	
Enterobacterias	CM	3.49	0.3**	-0.01*	
	P	3.49	0.22**	-0.01*	**
	E	3.69	-0.07*	0.01**	
Viables Totales	CM	4.3	0.56**	-0.011*	
	P	3.65	0.67**	-0.02**	**
	E	4.02	0.35**	0.002	
Productores de SH ₂	CM	1.86	1.11**	-0.04**	
	P	1.31	1.15**	-0.05**	**
	E	2.56	0.52**	-0.004	
Psicrotrofos	CM	5.08	0.55**	-0.05	
	P	4.38	0.68**	-0.02**	**
	E	5.24	0.17**	0.01**	

Tabla 12. Análisis de la varianza del modelo de regresión lineal planteado para cada una de las variables y tratamientos (CM,P,E) en **boquerón** conservado en refrigeración (**Campaña 3**). Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	R ²	P
Proteolisis	CM	0.86	***
	P	0.83	***
	E	0.94	***
TBA	CM	0.84	***
	P	0.86	***
	E	0.95	***
NBVT	CM	0.99	***
	P	0.99	***
	E	0.99	***
TMA	CM	0.95	***
	P	0.99	***
	E	0.95	***
pH	CM	0.89	***
	P	0.98	***
	E	0.98	***
Relajación	CM	0.23	*
	P	0.09	NS
	E	0.33	***
Coliformes	CM	0.95	***
	P	0.88	**
	E	0.93	***
Enterobacterias	CM	0.83	**
	P	0.90	***
	E	0.96	***
Viables totales	CM	0.96	**
	P	0.93	***
	E	0.99	***
Productores de SH ₂	CM	0.99	***
	P	0.98	***
	E	0.99	***
Psicrotrofos	CM	0.96	***
	P	0.92	***
	E	0.99	***

Tabla 13. Coeficientes de regresión (Intersección, tiempo, tiempo²) para cada una de las variables y tratamientos en boquerón (Campaña 3). Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	Coeficientes			P (modelo)
		A	t	t ²	
Proteolisis	CM	834.4	66.87**	-2.14	
	P	715.9	72.53**	-2.38	*
	E	740.0	45.98**	0.29	
TBA	CM	1.54	0.93**	-0.04*	
	P	1.18	1.01**	-0.03	**
	E	-0.36	2.27**	-0.10**	
NBVT	CM	7.16	2.92**	0.13**	
	P	12.93	-1.38*	0.44**	**
	E	13.64	-2.19**	0.46**	
TMA	CM	-0.50	1.02**	-0.05**	
	P	-0.12	0.51**	-0.01**	**
	E	0.19	0.22*	0.01	
pH	CM	6.22	-0.02	0.005**	
	P	6.34	-0.07**	0.9×10^{-2} **	**
	E	6.26	-0.07**	0.9×10^{-2} **	
Relajación	CM	67.93	0.62	2.05×10^{-3}	
	P	65.46	2.13*	-0.14*	
	E	61.61	3.06**	-0.175**	
Coliformes	CM	3.56	0.45**	-0.01*	
	P	3.24	0.33*	-0.01	**
	E	2.83	0.35*	-0.01	
Enterobacterias	CM	3.83	0.46**	-0.02*	
	P	3.88	0.22*	-0.004	**
	E	3.39	0.26**	-0.007*	
Viables totales	CM	6.01	0.73**	-0.03*	
	P	6.60	0.15	0.013	**
	E	3.90	0.77**	-0.02**	
Productores de SH ₂	CM	4.68	0.97**	-0.04**	
	P	5.30	0.51**	-0.009	**
	E	4.25	0.63**	-0.02*	
Psicrotrofos	CM	5.51	0.88**	-0.04**	
	P	5.80	0.59**	-0.02	**
	E	4.74	0.73**	-0.02**	

Tabla 14. Análisis de la varianza del modelo de regresión lineal planteado para cada una de las variables y tratamientos (CM,P,E) en **sardina** conservada en refrigeración (**Campaña 1**). Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	R ²	P
Proteolisis	CM	0.82	***
	P	0.78	***
	E	0.96	***
TBA	CM	0.84	***
	P	0.95	***
	E	0.95	***
NBVT	CM	0.96	***
	P	0.98	***
	E	0.98	***
TMA	CM	0.98	***
	P	0.99	***
	E	0.99	***
pH	CM	0.66	***
	P	0.62	***
	E	0.83	***
Relajación	CM	0.24	***
	P	0.18	**
	E	0.47	***
Coliformes	CM	0.99	***
	P	0.94	***
	E	0.99	***
Enterobacterias	CM	0.98	***
	P	0.97	***
	E	0.99	***
Viabiles totales	CM	0.99	***
	P	0.98	***
	E	0.94	***
Productores de SH ₂	CM	0.99	***
	P	0.98	***
	E	0.98	***
Psicrotrofos	CM	0.97	***
	P	0.97	***
	E	0.99	***

Tabla 15. Coeficientes de regresión (Intersección, tiempo, tiempo²) para cada una de las variables y tratamientos en sardina (**Campaña 1**). Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	Coeficientes			P (modelo)
		A	t	t ²	
Proteolisis	CM	244	40.31**	-1.65*	
	P	233.86	34.15**	-1.15	*
	E	174.14	62.94**	-2.70**	
TBA	CM	-0.01	1.20**	-0.07**	
	P	-0.02	1.53**	-0.10**	**
	E	-0.71	1.98**	-0.12**	
NBVT	CM	16.34	-0.64	0.17**	
	P	15.39	-1.10*	0.24**	*
	E	14.76	-0.97*	0.23**	
TMA	CM	0.25	0.14	0.03**	
	P	0.71	-0.21*	0.06**	**
	E	0.70	-0.22**	0.06**	
pH	CM	6.04	3.14×10^{-2}	1.12×10^{-4}	
	P	6.02	5.87×10^{-2}	-2.00×10^{-3} *	-
	E	6.02	2.08×10^{-2}	8.01×10^{-4}	
Relajación	CM	58.17	0.30	1.45×10^{-2}	
	P	57.51	1.06*	-4.88×10^{-2}	
	E	56.28	0.88	-1.30×10^{-3}	
Kramer	CM	-	-	-	
	P	-	-	-	-
	E	-	-	-	
Coliformes	CM	3.63	0.13**	0.006	
	P	3.12	0.24**	-0.001	**
	E	2.59	0.26**	-0.002	
Enterobacterias	CM	3.74	0.09	0.009	
	P	3.53	0.21**	-0.5×10^{-3}	**
	E	2.43	0.35**	-0.008**	
Viables totales	CM	4.94	0.36**	-0.006**	
	P	4.32	0.46**	-0.008	**
	E	2.89	0.98**	-0.004**	
Productores de SH ₂	CM	3.76	0.53**	-0.013**	
	P	3.11	0.70**	-0.02**	**
	E	2.67	0.75**	-0.024**	
Psicrotrófos	CM	5.70	0.32**	0.004	
	P	5.34	0.33**	-0.001	**
	E	4.21	0.61**	-0.023**	

Tabla 16. Análisis de la varianza del modelo de regresión lineal planteado para cada una de las variables y tratamientos (CM,P,E) en **sardina** conservada en refrigeración (**Campaña 2**). Niveles de significación 0.05(*),0.0 1(**) y 0.001(***) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	R ²	P
Proteolisis	CM	0.02	NS
	P	0.15	NS
	E	0.15	NS
TBA	CM	0.94	***
	P	0.95	***
	E	0.93	***
NBVT	CM	0.96	***
	P	0.93	***
	E	0.97	***
TMA	CM	0.75	***
	P	0.67	**
	E	0.91	***
pH	CM	0.37	*
	P	0.76	***
	E	0.70	***
Relajación	CM	0.02	NS
	P	0.02	NS
	E	0.11	NS
Coliformes	CM	0.99	***
	P	0.98	***
	E	0.97	***
Enterobacterias	CM	0.96	***
	P	0.98	**
	E	0.98	***
Viabes totales	CM	0.93	***
	P	0.96	***
	E	0.93	***
Productores de SH ₂	CM	0.97	***
	P	0.84	***
	E	0.97	***
Psicrotrofos	CM	0.94	***
	P	0.93	***
	E	0.96	***

Tabla 17. Coeficientes de regresión (Intersección, tiempo, tiempo²) para cada una de las variables y tratamientos en **sardina (Campaña 2)**. Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	Coeficientes			P (modelo)
		A	t	t ²	
Proteolisis	CM	831.59	-15.78	0.98	
	P	724.35	2.17	0.65	
	E	898.27	-42.91	3.10	
TBA	CM	-3.04	3.76**	-0.16**	
	P	-1.78	2.91**	-0.04	**
	E	-4.00	5.72**	-0.19**	
NBVT	CM	8.94	0.03	0.16**	
	P	9.85	0.09	0.14**	NS
	E	13.58	-1.06*	0.22**	
TMA	CM	0.69	0.09	0.001	
	P	0.84	0.02	0.005	NS
	E	0.99	-0.10*	0.01**	
pH	CM	5.88	1.47×10 ⁻²	3.05×10 ⁻⁴	
	P	5.92	-5.76×10 ⁻³	1.36×10 ^{-3*}	
	E	6.07	-6.22×10 ^{-2**}	5.50×10 ^{-3**}	
Relajación	CM	-	-	-	
	P	-	-	-	-
	E	-	-	-	
Coliformes	CM	4.11	-0.13**	0.02**	
	P	3.44	0.01	0.02**	**
	E	3.57	-0.17**	0.03**	
Enterobacterias	CM	4.46	-0.22**	0.03**	
	P	3.89	-0.04	0.02**	**
	E	3.49	-0.11	0.02**	
Viables totales	CM	4.00	0.43*	-0.005	
	P	3.93	0.45*	-0.008	NS
	E	3.67	0.24	0.014	
Productores de SH ₂	CM	2.98	0.37*	1.30×10 ⁻⁴	
	P	2.49	0.36	0.003	NS
	E	2.16	0.18	0.021	
Pscrótrofos	CM	4.6	0.28	0.011	
	P	4.64	0.19	0.02	NS
	E	4.25	0.11	0.022	

Tabla 18. Análisis de la varianza del modelo de regresión lineal planteado para cada una de las variables y tratamientos (CM,P,E) en **sardina** conservada en refrigeración (**Campaña 3**). Niveles de significación 0.05(*), 0.01(**) y 0.001(***) y NS= no significativo.

Variable	Tratamiento	R ²	P
Proteolisis	CM	0.80	***
	P	0.73	***
	E	0.66	**
TBA	CM	0.91	***
	P	0.76	***
	E	0.99	***
NBVT	CM	0.98	***
	P	0.95	***
	E	0.98	***
TMA	CM	0.96	***
	P	0.96	***
	E	0.93	***
pH	CM	0.45	NS
	P	0.49	*
	E	0.45	*
Relajación	CM	0.26	**
	P	0.04	NS
	E	0.28	***
Coliformes	CM	0.91	***
	P	0.80	*
	E	0.92	***
Enterobacterias	CM	0.93	***
	P	0.84	**
	E	0.80	**
Viables totales	CM	0.99	***
	P	0.99	***
	E	0.98	***
Productores de SH ₂	CM	0.99	***
	P	0.87	**
	E	0.99	***
Psicrotrofos	CM	0.99	***
	P	0.96	***
	E	0.99	***

Tabla 20. ANOVA de 1 vía en función de tratamiento [No desaguado (ND),P,E] con tiempo como covariante. Niveles de significación 0.05 (*). 0.01(**), 0.001(***), NS= no significativo.

Variable	Campaña 3	
	Tratamiento	Tiempo
Proteolisis	***	***
TBA	***	***
NBVT	***	***
TMA	***	***
Coliformes	***	***
Enterobacterias.	***	***
V.Totales	***	***
Productores SH ₂	**	***
Psicrotrofos	*	***

9. ANEXO**TABLAS DEL INDICE DE CALIDAD QIM
BOQUERON Y SARDINA**

10. AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su agradecimiento a los trabajadores de la empresa de exportadores de pescados Mayke S.L. por la preparación de los diferentes lotes utilizados en este estudio, y en especial a D. F. Sanchez Luque por facilitar toda la información requerida y poner a nuestra disposición las instalaciones de su empresa.

Asimismo quieren agradecer al Profesor D. A. Moral por su asesoramiento a lo largo del trabajo, a D. J. A. Sanchez por la realización de las determinaciones de histamina y a Dña. L. Barrios por su ayuda en el análisis estadístico. El jurado de análisis sensorial lo constituyeron miembros del Departamento de Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos y del Pescado y Productos de la Pesca.