

Nota. Evolución de aminas volátiles en dos tipos de merluza (*Merluccius australis* y *Merluccius capensis*) y en rosada (*Xiphiurus capensis*) durante el almacenamiento a -18°C

J. M. Gallardo, R. Pérez-Martín, C. G. Sotelo, S. Aubourg y J. R. Banga

Instituto de Investigaciones Marinas del CSIC. Eduardo Cabello, 6. 36208 Vigo.

Original recibido 4-04-1989. Versión revisada 27-12-1990.

RESUMEN

Se realiza un estudio de la evolución de aminas volátiles en dos tipos de merluza (*Merluccius australis* y *Merluccius capensis*) y en rosada (*Xiphiurus capensis*) durante 4 meses de almacenamiento a -18°C .

Se han observado diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para la dimetilamina, mientras que para las bases volátiles totales no se observaron diferencias entre *Merluccius australis* y *Xiphiurus capensis*. Las diferencias del contenido en bases volátiles totales frente al tiempo de almacenamiento sólo son significativas ($p \leq 0.05$) para *Merluccius capensis* y las correspondientes a la dimetilamina frente al tiempo, en todas las especies ($p \leq 0.01$). El aumento detectado en el contenido en bases volátiles totales se explica, en cierta medida, por la variación en el contenido de dimetilamina.

Se concluye que la dimetilamina es un compuesto químico que refleja los cambios que se producen en las tres especies durante el almacenamiento congelado y se sugiere su utilización en el control de calidad.

Note. Evolution of volatile amines during storage at -18°C of hake (*Merluccius australis* and *Merluccius capensis*) and kinglip (*Xiphiurus capensis*)

ABSTRACT

The evolution of volatile amines was determined in frozen hake (*Merluccius australis* and *Merluccius capensis*) and kinglip (*Xiphiurus capensis*) stored for 4 months at -18°C .

Significant differences for dimethylamine ($p \leq 0.05$) but not for total volatile bases were found between *Merluccius australis* and *Merluccius capensis*. Differences of total volatile bases as a function of storage time were significant ($p \leq 0.05$) for *Merluccius capensis*, and differences for dimethylamine as a function of time were significant for all species ($p \leq 0.01$). The increase in total volatile bases may be explained by the variation in dimethylamine.

It is concluded that dimethylamine reflects chemical changes in the three species during frozen storage, and its use in quality control is suggested.

INTRODUCCION

Uno de los problemas que presenta el músculo de determinadas especies, como los gádidos, durante su almacenamiento en estado congelado, es que su textura se vuelve fibrosa y seca (Dyer y Hiltz, 1974; Gill *et al.*, 1979; Grendon, 1980). Este cambio de textura se debe principalmente a la capacidad del formaldehído (FA) para inducir enlaces intermoleculares entre moléculas de proteínas adyacentes (Dingle y Hines, 1975; Gill *et al.*, 1979; Crawford *et al.*, 1979), y también a la formación de productos intermedios y finales de la oxidación de lípidos, que reaccionan con las proteínas para formar complejos lípido-proteína, produciendo una pérdida en el valor nutricional y en la calidad (Sikorski *et al.*, 1976).

Se ha comprobado que la producción de FA se debe a la acción de la enzima TMAO-asa, que cataliza la descomposición del óxido de trimetilamina (OTMA) a FA y dimetilamina (DMA) (Tokunaga, 1974; Dingle *et al.*, 1977). Castell *et al.* (1970) sugirieron que la DMA puede ser usada como un índice de deterioro durante el almacenamiento congelado de los gádidos, de la misma forma que lo es la trimetilamina en la alteración microbiana en el pescado no congelado. Según estos autores, la temperatura más alta que asegura de forma razonable la calidad es de -26°C . Por otra parte, la producción máxima de DMA en los gádidos tiene lugar a -5°C (Castell *et al.*, 1973).

El aumento del número de especies marinas que se congelan, así como el

gran crecimiento de su consumo, han motivado que los cambios químicos que ocurren durante el almacenamiento hayan sido objeto de estudio, como se puede observar en la revisión realizada por Flick *et al.* (1986).

Sin embargo, los resultados son bastante contradictorios en función de la distinta metodología empleada (diferentes condiciones iniciales de la materia prima, temperatura de almacenamiento, fluctuaciones de temperatura) y a la gran variedad de especies estudiadas (zonas geográficas distintas), resultando difícil su agrupamiento y análisis.

La falta de información bibliográfica sobre dos tipos de merluza (*Merluccius capensis* y *Merluccius australis*) y rosada (*Xiphiurus capensis*), que constituyen un recurso de importancia para la flota congeladora motivó el presente trabajo, en el que se analizan los cambios producidos en el contenido en bases volátiles totales (BVT), dimetilamina (DMA) y formaldehído (FA) durante su almacenamiento en estado congelado a -18°C .

MATERIAL Y METODOS

Material

Merluccius australis fue capturada en Malvinas; *Merluccius capensis* y *Xiphiurus capensis* en Africa del Sur. Los especímenes fueron eviscerados y descabezados a bordo del buque, siendo después congelados a -40°C y almacenados a -24°C durante tres meses antes de su llegada al laboratorio. Después, las muestras fueron almacenadas en cámara

ra a -18°C se utilizaron 30 individuos de cada especie.

Métodos

Preparación de los extractos en ácido tricloroacético (TCA). El extracto de pescado fue preparado mediante homogeneización de 20 g de músculo descongelado con 60 ml. de una disolución acuosa de TCA al 5% durante dos minutos en un Waring Blender y posterior filtración (Whatman n.º 1), de acuerdo con Pérez-Martín *et al.* (1987).

Determinación de bases volátiles totales. Las bases volátiles fueron determinadas de acuerdo con el método de Lücke y Gjedel (1935), utilizando el equipo y condiciones descritas en un trabajo previo por Gallardo *et al.* (1979). Los análisis se hicieron por triplicado.

Determinación de aminas volátiles. Las aminas volátiles fueron determinadas por cromatografía gas-líquido de acuerdo con el método de Pérez-Martín *et al.* (1987). La determinación de óxido de trimetilamina (OTMA) del extracto fue realizada mediante reducción con tricloruro de titanio (Parking y Hultin, 1982), calculándose como la diferencia entre

el contenido en TMA de la muestra reducida y sin reducir.

Los análisis se hicieron por duplicado.

Determinación de formaldehído libre. El formaldehído libre fue determinado directamente en el extracto tricloroacético de acuerdo con el método de Nash (1953).

Análisis estadístico. Se realizaron análisis de la varianza, comparándose las medias por el método de la diferencia mínima significativa (DMS) y el de regresión lineal.

RESULTADOS Y DISCUSION

El contenido inicial de óxido de trimetilamina fue de 105'3, 89'5 y 77'9 mg de N-OTMA/100 g para *Merluccius australis*, *Merluccius capensis* y *Xiphiurus capensis*, respectivamente. Los resultados obtenidos están de acuerdo con los datos recopilados por Harada (1975).

La evolución de N-BVT y N-DMA durante el almacenamiento en estado congelado se muestra en las tablas I y II. El

Tabla I

EVOLUCIÓN DE LA CANTIDAD DE BASES VOLÁTILES TOTALES (N-BVT) (mg/100 g) PARA LAS TRES ESPECIES DURANTE SU ALMACENAMIENTO A -18°C Y VALORES MEDIOS DE CADA UNA DE ELLAS (\bar{x}) Y PARA CADA TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (\bar{y})⁽¹⁾⁽²⁾

Tiempo (meses)	M. aust.	M. cap.	X. cap.	\bar{y}
0	17'1 (0'80)	17'8 (0'45)	17'4 (0'50)	17'44a
1	17'5 (0'90)	18'5 (0'80)	17'7 (0'60)	17'91ab
2	17'8 (0'80)	18'9 (0'50)	18'1 (0'55)	18'27bc
3	18'2 (1'10)	19'5 (0'85)	18'2 (0'75)	18'61bc
4	18'6 (0'60)	20'2 (0'65)	18'5 (0'75)	19'10c
\bar{x}	17'85a	18'98b	17'98c	-

(1) Los valores entre paréntesis son la desviación estándar.

(2) Cifras seguidas de letras distintas son diferentes significativamente ($p \leq 0'05$). DMS (\bar{x}) = 0'5452. DMS (\bar{y}) = 0'700.

Tabla II

EVOLUCIÓN DE LA CANTIDAD DE DIMETILAMINA (N-DMA) (mg/100 g) PARA LAS TRES ESPECIES DURANTE SU ALMACENAMIENTO A -18°C Y VALORES MEDIOS DE CADA UNA DE ELLAS (\bar{x}) Y PARA CADA TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (\bar{y})⁽¹⁾⁽²⁾

Tiempo (meses)	M. aust.	M. cap.	X. cap.	\bar{y}
0	0'27 (0'02)	0'32 (0'02)	0'18 (0'02)	0'26a
1	0'72 (0'05)	0'90 (0'04)	0'32 (0'03)	1'65b
2	1'13 (0'07)	1'53 (0'06)	0'48 (0'02)	1'05c
3	1'59 (0'08)	2'08 (0'07)	0'74 (0'05)	1'47d
4	1'96 (0'18)	2'67 (0'06)	1'05 (0'10)	1'89e
\bar{x}	0'55a	1'14b	1'50c	

(1) Los valores entre paréntesis son la desviación estándar.

(2) Cifras seguidas de letras distintas son diferentes significativamente ($p \leq 0'05$). DMS (\bar{x}) = 0'055. DMS (\bar{y}) = 0'071.

contenido inicial en N-BVT y N-DMA en las tres especies es similar en todas las muestras.

El análisis de varianza (tabla III), en donde los dos factores tiempo y especie se consideran fijos, muestra una diferencia significativa tanto en las especies como en el tiempo; sin embargo, la interacción especie-tiempo no es significativa para el N-BVT. Hay diferencias significativas ($p \leq 0'05$) para la dimetilamina, mientras que para las bases volátiles no se observan diferencias entre *Merluccius australis* y *Xiphiurus capensis* (tablas I y II).

En las tablas I y II se muestran las variaciones de las medias a lo largo del tiempo de almacenamiento. Se observa que para el N-BVT hay diferencias significativas con solapamientos y para la dimetilamina, cada mes se diferencia significativamente de los demás.

Por el análisis de regresión para cada una de las especies se obtienen las siguientes ecuaciones, que relacionan la producción de bases volátiles (N-BVT) y dimeti-

lamina (N-DMA) con el tiempo de almacenamiento en meses (t):

Merluccius australis

$$\text{N-BVT (mg/100 g)} = 0'37t + 17'10, \\ r^2 = 0'998 \quad F = 4'03^*$$

$$\text{N-DMA (mg/100 g)} = 0'42t + 0'28, \\ r^2 = 0'999 \quad F = 5'41^{**}$$

Merluccius capensis

$$\text{N-BVT (mg/100 g)} = 0'56t + 17'85, \\ r^2 = 0'993 \quad F = 9'52^{**}$$

$$\text{N-DMA (mg/100 g)} = 0'58t + 0'33, \\ r^2 = 0'999 \quad F = 10'28^{**}$$

Xiphiurus capensis

$$\text{N-BVT (mg/100 g)} = 0'27t + 17'44, \\ r^2 = 0'975 \quad F = 2'24^*$$

$$\text{N-DMA (mg/100 g)} = 0'22t + 0'12, \\ r^2 = 0'973 \quad F = 1'40^{**}$$

Las diferencias del contenido en N-BVT frente al tiempo sólo son significativas para *Merluccius capensis* al nivel del 5%, sin embargo, la regresión de N-BVT

Especie
Tiempo
Especie x tiempo
Error

N-BVT
N-DMA

(*) , significativo

frente al tiempo
especies.

La prueba d
de las tres líne
BVT respecto a
tres reclamos
(tabla IV). Así
contenido en di
po son signific
al nivel del 5%
frente al tiempo
las especies co
igualdad de par
regresión para l
rectas son signi
bla IV).

Rep.	\bar{y}
02)	0'26a
03)	1'65b
02)	1'05c
05)	1'47d
10)	1'89c

DMS (\bar{x}) = 0'055. DMS

el tiempo de alma-
(1):
0'37t + 17'10,
998 F = 4'03*
0'42t + 0'28,
999 F = 5'41**

0'56t + 17'85,
993 F = 9'52**
0'58t + 0'33,
999 F = 10'28**

0'27t + 17'44,
975 F = 2'24*
0'22t + 0'12,
973 F = 1'40**

l contenido en N-
sólo son significati-
capensis al nivel del
regresión de N-BVT

l. Aliment., 31/1 (1991)

Tabla III

CUADRO RESUMEN DEL ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL N-BVT Y PARA EL N-DMA

Fuente	G. L.	M. S.		F	
		BVT	DMA	BVT	DMA
Especie	2	5'68	3'41	10'73	624'4
Tiempo	4	3'63	3'76	6'86	687'7
Especie-tiempo	8	0'18	0'26	0'33	47'9
Error	30	0'53	0'01		

Tabla IV

COMPARACIÓN DE PENDIENTES DE REGRESIÓN PARA N-BVT Y PARA N-DMA

Fuente de variación		G. L.	CM	F ⁽¹⁾
N-BVT	Pendientes	2	0'736	40'89*
	Error	9	0'018	
N-DMA	Pendientes	2	1'026	183**
	Error	9	0'0056	

(1) *, significativo ($p \leq 0'05$); **, significativo ($p \leq 0'01$).

frente al tiempo es significativa en las tres especies.

La prueba de igualdad de pendientes de las tres líneas de regresión para el N-BVT respecto al tiempo muestra que las tres rectas son significativamente distintas (tabla IV). Asimismo, las diferencias en el contenido en dimetilamina frente al tiempo son significativas en todas las especies al nivel del 1% y la regresión de N-DMA frente al tiempo, es significativa en todas las especies estudiadas. La prueba de igualdad de pendientes de las tres líneas de regresión para la DMA indica que las tres rectas son significativamente distintas (tabla IV).

De los resultados obtenidos se deduce que hay una actividad enzimática en las tres especies responsables de la formación de DMA, que es mucho más acusada en la *Merluccius capensis*.

El aumento detectado en N-BVT se puede explicar en cierta manera por la variación del N-DMA, siendo especialmente significativo en *Merluccius capensis* (tabla V). El que no se pueda explicar este incremento de las bases volátiles de una manera absoluta por el de la dimetilamina puede atribuirse a la formación de otros metabolitos químicos englobados en las bases volátiles. Para comprobarlo, se llevaron a cabo análisis cromatográficos de

Tabla V

ANÁLISIS DE LA VARIANZA DEL CONTENIDO EN N-BVT FRENTE A LA DMA

Fuente de variación	G. L.	CM		
		M. aust.	M. cap.	X. cap.
Modelo	1	5'06**	9'92**	2'75**
Error	13	0'48	0'31	0'28
Total	14			
Raíz cuadrada error		0'69	0'56	0'53
R-cuadrado		0'69	0'71	0'43

Tabla VI

EVOLUCIÓN DE FORMALDEHIDO LIBRE (mg/100 g) PARA LAS TRES ESPECIES DURANTE SU ALMACENAMIENTO A -18°C .⁽¹⁾

Tiempo (meses)	M. aust.	M. cap.	X. cap.
0	0'31 (0'16)	0'34 (0'20)	0'04 (0'15)
1	0'57 (0'20)	1'22 (0'35)	0'24 (0'10)
2	0'81 (0'30)	2'05 (0'40)	0'35 (0'15)
3	1'04 (0'20)	2'82 (0'40)	0'46 (0'25)
4	1'21 (0'25)	3'52 (0'25)	0'58 (0'15)

⁽¹⁾ Los valores entre paréntesis son la desviación estándar.

aminas volátiles y los valores iniciales de TMA detectados oscilan entre 0'04 y 0'08 mg de N-TMA/100 g para las tres especies, y al cabo de los cuatro meses, entre 0'06 y 0'12 mg/100 g. El análisis cromatográfico no mostró la presencia de otros compuestos distintos a los de la di- y trimetilamina, por lo que el incremento del N-BVT no se puede atribuir a la trimetilamina.

Algunos autores (Good y Stern, 1955; Castell *et al.*, 1968; Kelleher *et al.*, 1982; LeBlanc *et al.*, 1988) observaron una pequeña conversión de OTMA a TMA, cuya explicación puede ser atribuida al procedi-

miento colorimétrico empleado por los citados autores en la determinación de TMA, ya que cuando está presente la DMA se producen interferencias, que se evitan si se emplea el método cromatográfico como técnica analítica.

En la tabla VI se muestra la producción de FA libre durante el almacenamiento de las tres especies a -18°C . Los resultados indican que la evolución de formaldehido es similar a la de la dimetilamina, pero cuando se analiza la relación molar hay importantes diferencias debido a las dificultades analíticas de recuperación del formaldehido y a la reacción con proteínas y

aminoácidos (Bastien y colaboradores, 1987). La evolución de la DMA se consideró en la determinación de la formaldehído en los altos niveles de (Ikeda, 1980), la especie estudiada.

En base al resultado de los resultados se puede concluir que es un metabolito químico producido durante el crecimiento congelado estudiado. Esta información es interesante, ya que la DMA observada puede ser útil. Aunque este hecho no está reconocido oficialmente, los resultados avalan la tesis de que el único defecto ser el índice de los cambios de las especies citadas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Proyecto A-1000 del Proyecto A-1000 financiado por la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología. Los autores desearían agradecer al Dr. A. Castell por su colaboración en el análisis de laboratorio.

A los Dres. A. Castell y J. LeBlanc por su colaboración en el análisis de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

CASTELL, C. H., BASTIEN, J. F., y LEBLANC, J. (1988). Evolution of trimethylamine in fish. *Rev. Chil. Zool.* 15: 1-10.

CASTELL, C. H., BASTIEN, J. F., y LEBLANC, J. (1988).

Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 31/1 (1991)

DMA	
M	X. cap.
cap.	X. cap.
2**	2'75**
1	0'28
6	0'53
1	0'43

SU ALMACENAMIENTO A	
	X. cap.
	0'04 (0'15)
	0'24 (0'10)
	0'35 (0'15)
	0'46 (0'25)
	0'58 (0'15)

aminoácidos (Rehbein, 1987). Por esta razón se considera más fiable y exacta la determinación de la dimetilamina, particularmente en los gádidos, por tener éstos altos niveles de óxido de trimetilamina (Ikeda, 1980), lo que se corrobora en las especies estudiadas en este trabajo.

En base al análisis estadístico de los resultados se puede afirmar que la DMA es un metabolito que refleja los cambios químicos producidos durante el almacenamiento congelado de las tres especies estudiadas. Esta información puede ser interesante, ya que la distinta evolución de DMA observada puede determinar su vida útil. Aunque este índice no está establecido oficialmente, los resultados obtenidos avalan la tesis de que este metabolito químico debe ser considerado como un buen índice de los cambios químicos de las especies citadas.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido realizado al amparo del Proyecto ALI88-0145- C02-02, financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, a quienes los autores desean manifestar su agradecimiento.

A los Drs. A. Ordax y R. A. Malvar, de la Misión Biológica de Galicia, por su colaboración en el tratamiento estadístico.

BIBLIOGRAFIA

CASTELL, C. H., BISHOP, D. M. y NEAL, W. E. "Production of trimethylamine in frozen cod muscle." *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 25 (1968), 921-933.
 CASTELL, C. H., NEAL, W. y SMITH, B. "Formation of

dimethylamine in stored frozen sea fish." *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 27 (1970), 1.685-90.
 CASTELL, C. H., NEAL, W. E. y DALE, J. "Comparison of changes in trimethylamine, dimethylamine and extractable protein in iced and frozen gaidoid filets." *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 30 (1973), 1.246-8.
 CRAWFORD, D. L., LAW, K. K., BABBIT, J. K. y MCGILL, L. A. "Comparative stability and desirability of frozen Pacific hake fillet and minced flesh blocks." *J. Food Sci.*, 44 (1979), 363-367.
 DINGLE, J. R. e HINES, J. A. "Protein instability in minced flesh from filets and frames it several commercial Atlantic fishes during storage at -5°C." *J. Fish Res. Bd. Can.*, 32 (1975), 775-783.
 DINGLE, J. R., KEITH, R. A. y LALL, B. "Protein instability in frozen storage induced in minced muscle of flatfishes by mixture with muscle of red hake." *Can. Inst. Food Sci. Technol.*, 10 (1977), 143-146.
 DYER, W. J. y HILTZ, D. F. *Sensitivity of hake muscle to frozen storage.* Environ. Can. Fish. Mar. Serv., Technol. Stn. Halifax, New Ser. Circ. 45 (1974).
 FLICK, J. G., ENRIQUEZ, G. L. y HUBBARD, B. J. "Shelf-life of fish and shellfish." En: *Handbook of Food and Beverage Stability: Chemical, Biochemical, Microbiological and Nutritional Aspects.* Academic Press, Londres (1986), pp. 113-351.
 GALLARDO, J. M., LÓPEZ-BENITO, M., PASTORIZA, L. y GONZÁLEZ, P. "Determinación de bases volátiles en productos pesqueros." *Inf. Tecn. Inst. Inv. Pesq.*, 65 (1979), 3-15.
 GILL, T. A., KEITH, R. A. y SMITH, B. "Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in the myofibrillar proteins." *J. Food Sci.*, 44 (1979), 661-667.
 GOOD, C. M. y STERN, J. A. "Effect of iced and frozen storage upon the trimethylamine content of flounders (*Parophrys vetulus*)." *Food Technol.*, 9 (1955), 327-331.
 GRENDON, I. S. "Markets for hake." *Mar. Fish. Rev.*, 42 (1980), 50-54.
 HARADA, K. "Studies on enzymes forming formaldehyde in fish and shellfish." *J. Shimonoseki*, 23 (1975), 163-241.
 IKEDA, S. "Other organic components and inorganic components." En: *Advanced in Fish Science and Technology* (Ed. Connell, J. J.). Fishing News (Books), Ltd., London (1980), pp. 111-123.
 KELLEHER, S. D., BUCK, E. M., HULTIN, H. O., PAR-

- KIN, K. L., LICCIARDELLO, J. J. Y DAMON, R. A. "Chemical and physical changes in red hake blocks during frozen storage." *J. Food Sci.*, 47 (1982), 65-70.
- LEBLANC, L. E., LEBLANC, J. R. y BLUM, E. I. "Prediction of quality in frozen cod (*Gadus morhua*) fillets." *J. Food Sci.*, 53 (1988), 328-340.
- LÜCKE, F. y GEIDEL, W. "Bestimmung des flüchtigen basischen Stickstoffs in Fischen als Masstab für ihren Frischezustand." *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 70 (1935), 441-458.
- NASH, T. "The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction." *Biochem. J.*, 55 (1953), 416-421.
- PARKING, K. L. y HULTIN, H. O. "Some facts influencing the production of dimethylamine and formaldehyde in minced and intact red hake muscle." *J. Food Process. Preserv.*, 6 (1982), 73-97.
- PÉREZ-MARTÍN, R. I., FRANCO, J. M., MOLIST, P. y GALLARDO, J. M. "Gas chromatographic method for the determination of volatile amines in seafoods." *Int. J. Food Sci. Technol.*, 22 (1987), 509-514.
- REHBEIN, H. "Determination of the formaldehyde content in fishery products." *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 185 (1987), 292-298.
- SIKORSKI, Z. E., OLLEY, J. y KOSTUCH, S. "Protein changes in frozen fish." *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 7 (1976), 97-128.
- TOKUNAGA, T. "The effect of decomposed products of TMAO on quality of frozen Alaska pollack fillet." *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 40 (1974), 167-174.