

Mètodes per a avaluar la frescor del peix

Teresa Veciana Nogués

Professora titular del Departament de Nutrició i Bromatologia,
Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona

Resum

El grau de frescor del peix pot ser avaluat mitjançant un ampli ventall de mètodes que inclouen tant tècniques sensorials com microbiològiques, químiques o físiques. L'elecció d'un o altre tipus d'avaluació dependrà en gran part del producte a avaluar.

Els mètodes organolèptics o sensorials no requereixen equips ni materials especials, són ràpids i permeten la valoració simultània de més d'un paràmetre en diferents mostres de peix, però el resultat està sotmès a les impressions subjectives del panel de tastadors. A més, en l'extrem en què s'intenti distingir entre el denominat límit de frescor i un estat d'alteració incipient, s'ha demostrat la necessitat de disposar d'altres mesures objectives de caràcter físic i/o químic que permetin resoldre aquest problema.

Atès que l'activitat dels microorganismes és el principal factor que limita la durabilitat del peix fresc, també les determinacions microbiològiques resulten una eina útil en l'avaluació de la frescor. El principal inconvenient dels mètodes microbiològics tradicionals és que, en la majoria dels casos, es requereixen de 2 a 3 dies per a l'obtenció de resultats, fet que en limita la utilització. Per això, en els últims anys els esforços se centren en la recerca de mètodes microbiològics ràpids, basats generalment en mesures indirectes de

tipus fisicoquímic que permeten estalviar temps en l'obtenció de resultats.

Els mètodes físics són generalment no destructius, senzills i de fàcil aplicació, per la qual cosa resulten extraordinàriament útils en l'anàlisi de rutina i poden emprar-se fora del laboratori; malgrat això, la informació que proporcionen és sovint limitada i se solen emprar només com a complement d'altres tipus d'avaluacions.

En l'actualitat disposem de nombrosos mètodes químics que permeten avaluar la frescor del peix que generalment aporten resultats objectius, fiables i segurs, però que requereixen, en alguns casos, personal experimentat i instrumentació que de vegades té un cost elevat. La pèrdua de frescor i l'alteració del peix comporten un seguit de modificacions químiques complexes. Atès que la majoria dels mètodes químics d'avaluació impliquen la mesura d'una sola substància o de més d'una que pertanyen a una mateixa família, cap d'aquests mètodes proporciona una idea tan global com la que s'obté després de l'avaluació organolèptica. En canvi, alguns dels mètodes químics són aplicables no només a l'avaluació de la frescor del peix sense processar, sinó també a l'avaluació de la frescor del peix emprat com a matèria primera per a l'obtenció de derivats en què els tractaments tecnològics que s'hi apliquen modifiquen sovint el sabor, l'olor i el color.

La frescor és una de les característiques que més influeixen en la qualitat del peix i dels seus derivats. Aquesta frescor es perd amb facilitat per les peculiars característiques d'estructura i composició del peix que fan que, tot i garantir el manteniment de la cadena del fred, resulti apte per al consum directe o per a la seva transformació en derivats només durant períodes de temps relativament curts.

El grau de frescor del peix pot ser avaluat mitjançant un ampli ventall de mètodes que inclouen tant tècniques sensorials com microbiològiques, químiques o físiques (taula 1). Per a aconseguir una avaluació objectiva que permeti establir criteris comparatius s'han de conèixer amb profunditat els descriptors i les propietats del peix just després de la seva captura, a més de conèixer les transformacions que el peix patirà al llarg del temps d'emmagatzematge. L'elecció del tipus d'avaluació dependrà en gran part del producte que cal avaluar. Així, per a peix fresc de consum directe, el més habitual és l'ús d'avaluacions basades en criteris de tipus organolèptic o sensorial en què tenen especial importància atributs com l'aspecte i l'olor del peix, i és només en casos de dubte que es recorre a determinacions d'un altre tipus. En canvi, en l'avaluació de la

frescor del peix emprat com a primera matèria per a l'elaboració de derivats gairebé sempre és necessari recórrer a mètodes de tipus químic.

1. Mètodes organolèptics o sensorials

L'avaluació sensorial és la disciplina científica que mesura, analitza i interpreta les característiques dels aliments tal com s'aprecien pels sentits (olor, gust, tacte o oïda). Les proves de tipus sensorial poden ésser dividides en tres grups: tests de discriminació, per a trobar diferències entre mostres, tests descriptius i tests afectius. Els dos primers tipus requereixen l'ús d'equips o panells de tastadors entrenats, mentre que els tests afectius són proves subjectives basades en la mesura de preferència o acceptació. L'elecció del mètode depèn de l'objectiu [1]. Així, mentre que en el desenvolupament de nous productes és habitual utilitzar tests afectius, per avaluar la frescor del peix s'empen proves de tipus descriptiu estructurades en escales.

L'ús de mètodes organolèptics per a avaluar la frescor del peix presenta diversos avantatges: no necessita equips ni materials especials, és ràpid i permet la valoració simultània de més d'un paràmetre en diferents mostres de

peix. És per això que aquest tipus d'avaluació ha estat emprada per l'home des de l'antiguitat. Però, malgrat tot, l'avaluació organolèptica no està exempta d'inconvenients; el més important dels quals és, potser, que el resultat està sotmès a les impressions subjectives del panel de tastadors. Per a minimitzar aquest efecte és necessària la intervenció d'un nombre suficientment elevat de qualificadors que obligatòriament han de disposar de patrons de comparació establerts prèviament. A més, en l'extrem en què s'intenti distingir entre el denominat limit de frescor i un estat d'alteració incipient, s'ha demostrat la necessitat de disposar d'altres mesures objectives de caràcter físic i/o químic que permetin resoldre aquest problema [2].

El precursor dels estudis per a avaluar la frescor del peix emprant tècniques objectives de valoració organolèptica fou Anderson, qui, el 1907, establí les bases per aquest tipus d'anàlisi [3]. Ehrenberg i Shewan (1953) desenvoluparen un esquema, amb àmplies bases estadístiques, per a l'avaluació del peix magre que constituí la base de les actuals tècniques d'avaluació organolèptica de la frescor del peix [4]. Avui aquests models segueixen, en general, dos tipus de pautes que estan representades per:

a) la indicada en l'actual reglamentació de la Unió Europea [5], basada en el mètode organolèptic xifrat francès

b) l'esquema establert per la Torry Station (Aberdeen, Escòcia) usat àmpliament al Regne Unit i en nombrosos treballs de recerca

Ambdós tipus de pauta classifiquen el peix destinat al consum humà en tres categories: **E**, peix molt fresc; **A**, peix menys fresc però sense contaminació bacteriana; **B**, peix que presenta contaminació bacteriana però que encara resulta apte per al consum humà. S'estableix a més un quart estat, **C**, que no és una veritable categoria, per a aquell peix que en no ésser apte per al consum humà ha d'ésser decomissat i destruït de manera que no sigui comercialitzat de nou [6]. La inclusió del peix en cadascuna d'aquestes categories es realitza en funció d'un valor numèric, obtingut després de la inspecció. La directiva de la Unió Europea, per exemple, estableix que a cada paràmetre estudiat se li assignarà

1. Mètodes organolèptics o sensorials

2. Mètodes microbiològics

- Recomptes inespecífics
- Recomptes de microorganismes específics del deteriorament

3. Mètodes físics

- Mesura de la resistència elèctrica
- Mesures en el líquid ocular
- Índex de refracció
- Intensitat d'enterboliment
- Determinació del pH
- Mesura de la rigidesa cadavèrica
- Mesura de color

4. Mètodes químics

4.1 Mesures sobre la fracció nitrogenada bàsica

- Pèptids i aminoàcids lliures
- Amines biògenes
- Compostos de degradació de l'òxid de trimetilamina (OTMA)
- Trimetilamina (TMA)
- Dimetilamina (DMA)

4.2 Mesura de la degradació de l'ATP i els seus metabòlits

4.3 Mesura de les modificacions en la fracció lipídica

Taula 1. Mètodes per a avaluar la frescor del peix

Caràcter a examinar	Aspecte del peix i marge d'apreciació			
	3	2	1	0
Pell	Pigmentació viva i tornassolada, sense decoloració. Mucus aquós i transparent.	Pigmentació viva però sense llustre. Mucus lleugerament tèrbol.	Pigmentació en fase de decoloració i marcida. Mucus lletós.	Pigmentació marcida. Mucus opac.
Ulls	Convexos (bombats). Còrnia transparent. Pupil·la negra i lluent.	Convexos, lleugerament aplanats. Còrnia amb lleugera opalescència. Pupil·la negra marcida.	Aplanats o plans. Còrnia opalescent. Pupil·la opaca.	Còncavos (al centre). Còrnia lletosa. Pupil·la grisa.
Brànquies	Color brillant, sense mucus.	Menys colorades, tals lleugers de mucus.	Decolorant-se i amb mucus opac.	Groguenques amb mucus lletós.
Carn (tall en l'abdomen)	Blavenca, translúcida, llisa i lluent. Sense cap canvi en la coloració original.	Vellutada, cerosa i apagada. Color lleugerament modificat.	Lleugerament opaca.	Opaca.
Color de la columna vertebral	Sense coloració.	Lleugerament rosada.	Rosada.	Vermella.
Òrgans	Ronyons i restes d'altres òrgans, vermell brillant, així com la sang de l'interior de l'aorta.	Ronyons i restes d'altres òrgans, vermell mat. Sang decolorant-se.	Ronyons i restes d'altres òrgans i sang, vermell pàl·lid.	Ronyons, restes d'altres òrgans i sang, marronosos.

Taula 2. Criteris per a l'avaluació organolèptica del peix segons la legislació espanyola i de la Unió Europea. (1)

una puntuació de 0 a 3, essent 3 el màxim grau de frescor. Les puntuacions obtingudes se sumen i el total es divideix pel nombre de característiques estudiades. Així, s'estableix en funció de la xifra obtinguda la classificació següent: > 2,7 categoria **E**, de 2 a 2,7 categoria **A**; de 1 a 2 categoria **B** i < 1 per a la **C**. A la taula 2 s'especifiquen com a exemple les característiques i les puntuacions assignades segons la legislació espanyola vigent [7] que segueix un criteri idèntic al de la directiva de la Unió Europea abans esmentada [5].

En els mètodes d'avaluació de la frescor del peix que segueixen el model de la Torry Station s'han d'estudiar tant les característiques del peix cru com les del peix cuit en les condicions descrites en el protocol analític. Aquest esquema assigna dos tipus de puntuació dependent del paràmetre estudiat. Puntuació en una escala d'1 a 10 per olor, aroma o gust, i d'1 a 5 per la valoració de l'aspecte visual o tàctil. D'aquesta manera, una puntuació de 5

indicaria que es tracta d'un peix poc fresc en el cas del primer grup de característiques, mentre que en el segon grup correspondria a un peix de categoria excel·lent. La llista de característiques que cal estudiar és molt àmplia i, de vegades, en anàlisi rutinària només s'aplica l'estudi de l'olor del peix cru i cuit, i és especialment determinant l'olor de les brànquies [6].

Els esquemes que cal seguir per a l'avaluació organolèptica poden ésser aplicables a grups d'espècies de peix similars, encara que també és freqüent treballar amb esquemes específics per a una determinada espècie. Així, per exemple, nombrosos autors modifiquen els esquemes d'ús general per a adequar-los millor a l'avaluació de les espècies de peix autòctones de les seves costes [8].

2. Mètodes microbiològics

L'activitat dels microorganismes és el principal factor que limita la durabilitat del peix fresc. En l'anàlisi micro-

biològic rutinari del peix s'utilitzen habitualment dos tipus de mètodes: els que mesuren el nombre total de microorganismes presents i els que mesuren el nombre de microorganismes d'un determinat grup [9]. L'estimació dels *microorganismes viables totals sota unes condicions generalment reconegudes com a estàndard* ha estat emprada com a criteri per a acceptar o rebutjar el peix. En peix acabat de capturar són freqüents recomptes de 10^2 - 10^5 ufc/g mentre que en el punt de rebuig sensorial es poden assolir recomptes de 10^7 - 10^8 ufc/g. L'emmagatzematge del peix en refrigeració o en gel afavoreix la proliferació de microorganismes de caràcter psicròfil per la qual cosa també, sobretot en el passat, fou proposada la *diferència entre el recompte de microorganismes totals i psicròfils* com a criteri per a avaluar la frescor del peix [1]. Més recentment, s'ha proposat l'ús de tècniques microbiològiques més específiques. Entre elles destaca l'estudi de la presència de la bactèria *Shewanella putrefa-*

ciens, que produeix sulfidric i es considera un *microorganisme específic de deteriorament (MED)*, en alguns peixos mantinguts en refrigeració en condicions anaeròbies o la determinació de *Photobacterium phosphoreum*, bactèria identificada com a microorganisme específic de deteriorament del peix guardat en atmosferes modificades [1, 9].

Alguns autors consideren que el límit de 10^5 - 10^6 ufc/g per al recompte total de microorganismes aeròbics és problemàtic perquè la correlació amb la pèrdua de frescor del peix sovint s'assumeix però no sempre es coneix. En general, la correlació obtinguda entre el nombre de microorganismes específics del deteriorament i la frescor del peix és superior a l'obtinguda entre aquesta i el recompte total de microorganismes aeròbics [1].

Un altre inconvenient dels mètodes microbiològics tradicionals és que, en la majoria dels casos, es requereixen de 2 a 3 dies per a l'obtenció de resultats, fet que en limita la utilització. En el últims anys els esforços se centren en la recerca de mètodes microbiolò-

gics ràpids, basats generalment en mesures indirectes de tipus fisicoquímiques que permeten estalviar temps en l'obtenció de resultats. Així, per exemple, s'estudia la modificació en la resistència elèctrica causada en el medi de cultiu quan un microorganisme hi creix, ja que canvis d'aquest tipus poden ésser apreciats en estats molt poc avançats del desenvolupament microbià [9].

3. Mètodes físics

Són generalment mètodes no destructius, senzills i de fàcil aplicació, per la qual cosa resulten extraordinàriament útils en l'anàlisi de rutina. Aquest tipus de mesures poden ésser efectuades amb facilitat fora del laboratori i, a diferència de l'avaluació de tipus organolèptic, per personal no experimentat. En contrapartida, la informació que proporcionen és sovint limitada i per això aquest tipus de mètodes s'empren generalment com a complement de la inspecció visual del peix.

Entre els mètodes físics d'ús ja tradi-

cional destaca la *mesura de la resistència elèctrica*. Després de la mort del peix hi ha modificacions que condueixen a una desorganització de les proteïnes musculars, a un increment de la proporció de compostos de pes molecular baix i al conseqüent increment de la conductivitat elèctrica a través seu [10]. Malgrat la correlació existent entre la pèrdua de frescor i l'increment de la conductivitat ha de tenir-se en compte a l'hora d'avaluar els resultats que, per exemple, abrasions a la pell, el rentat o el simple fet d'agafar el peix amb massa fermesa poden traduir-se en l'obtenció de mesures de conductivitat més baixes que conduiran a judicis equivocats. És per això que el principal inconvenient d'aquest mètode és que requereix efectuar la determinació sobre un nombre elevat d'exemplars per a obtenir un valor mitjà que constitueixi un resultat fiable. A més, aquest tipus de mesures, si bé són aplicables a l'avaluació del peix refrigerat o mantingut en gel, no ho són per al peix en estat de congelació, per al peix que ha estat prèviament congelat o per aquell que



Caràcter a examinar	Aspecte del peix i marge d'apreciacions			
	3	2	1	0
Carn	Ferma i elàstica. Superfície llisa	Elasticitat disminuïda.	Lleugerament tova (relaxada), elasticitat disminuïda. Superfície cerosa (vellutada) i marcida.	Tova (fluixa). Escates que es desprenen de la pell amb facilitat. Superfície granulosa.
Columna vertebral	Es trenca en lloc de separar-se	Adherent	Poc adherent	No adherent

Caràcter a examinar	Olor del peix i marge d'apreciacions			
	3	2	1	0
Branquies, pell, cavitat abdominal	Alga marina	Neutre	Lleugerament agre	Agre

Taula 3. Criteris per a l'avaluació organolèptica del peix segons la legislació espanyola i de la Unió Europea (II).

s'ha mantingut en aigua de mar sobre-refredada [9].

S'han desenvolupat nombrosos mesuradors de resistència que es comercialitzen sota diferents noms. El mesurador de Hennins o Fish-tester, efectua lectures sobre una escala d'1 a 100, i informa, a més, amb valors marginals a l'escala, dels dies de reserva que el peix de les espècies més comunes es pot mantenir en gel. També existeix el Torrimeter que utilitza una escala d'1 a 14 i s'acompanya d'unes taules en què figuren els valors límit d'acceptabilitat en les espècies de peix en què ha estat estudiat. Sigui quin sigui l'instrument utilitzat sempre s'ha de tenir en compte la temperatura a què es realitza la determinació conductimètrica per a efectuar la correcció pertinent quan aquesta temperatura és molt diferent de la de referència [11].

A mesura que el peix perd frescor s'origina una dessecació que cursa amb enterboliment dels líquids oculars. La substància líquida, espessida per la dessecació, presenta, davant d'un raig de llum que la traspassi, un *índex de refracció* diferent del que presentava el líquid ocular del peix immediatament després de la seva captura. L'ús d'aquesta mesura permet obtenir un valor numèric més objectiu que la simple observació de l'aspecte de l'ull que s'utilitza en l'avaluació organolèptica. La mesura és senzilla ja que només requereix l'extracció de part del líquid ocular amb l'ajuda d'una xeringa i la lectura en un refractòmetre. Presenta la limitació d'ésser apli-

cable només a peix acabat de capturar ja que els tractaments a què se sotmet el peix destinat a l'obtenció de derivats, fins i tot els més senzills, poden provocar per acció mecànica, física o química profundes modificacions en el resultat [11]. En aquesta mateixa línia s'ha proposat també l'ús de la mesura de la *intensitat d'enterboliment* del cristal·lí [12] que presenta avantatges i inconvenients similars als presentats per la mesura de l'índex de refracció. En qualsevol cas, cap d'aquestes dues propostes és d'ús habitual en l'actualitat.

La *determinació del pH* és una mesura física que, com d'altres, reflecteix els canvis químics que es donen després de la mort. S'observa un descens inicial respecte al que seria el pH fisiològic del peix degut a l'acumulació d'àcid làctic. Així, encara que variï lleugerament segons l'espècie i el tipus de captura, en el peix fresc el valor del pH és proper a 6. Aquest valor és més alt que en la carn de vedella o de porc perquè el contingut en glucogen del múscul de peix és escàs i per tant el descens de pH degut a l'establiment de la glucòlisi anaeròbia és inferior. Aquest valor inicial de pH s'incrementa lentament durant l'emmagatzematge i prop del límit d'acceptabilitat, segons criteris microbiològics o organolèptics, s'assoleixen valors pròxims a 7. L'increment del pH és el reflex de diverses transformacions químiques entre les quals destaquen, entre altres, la descomposició de l'òxid de trimetilamina per activitat enzimàtica bacteriana o per enzims del

propi peix, la formació d'amoniac per desaminació d'aminoàcids o a partir de la urea en el cas del elasmobranquis [11]. La determinació analítica del pH es pot fer sobre homogeneïtzat de múscul de peix diluït amb aigua o directament emprant elèctrodes de punció; encara que alguns autors [13,14] proposen mètodes alternatius, el seu ús ha quedat de moment bastant restringit donada la senzillesa dels procediments tradicionals.

A més, s'han proposat també altres mesures de tipus físic (de moment d'ús més restringit) com la mesura de la *rigidesa cadavèrica*, adient per a avaluar la frescor del peix en les seves primeres etapes [15] o la mesura instrumental dels *canvis en el color* al llarg del procés de deteriorament [1]. També hi ha una àmplia gamma de tècniques de tipus espectroscòpic que s'estan assajant per a avaluar la frescor en diferents espècies de peix [1].

4. Mètodes químics

Els mètodes químics han estat, i són, àmpliament emprats per a avaluar la frescor del peix. Generalment aporten resultats objectius, fiables i segurs, però requereixen en molts casos personal experimentat i instrumentació que de vegades té un cost elevat. És per això que actualment cada vegada és més gran l'interès per desenvolupar metodologies senzilles i de menor cost que puguin ésser aplicades en l'anàlisi rutinari.

La pèrdua de frescor i l'alteració del peix comporten un seguit de modifica-

cions químiques complexes i com que la majoria dels mètodes químics d'avaluació impliquen la mesura d'una sola substància o de diverses que pertanyen a una mateixa família, cap d'aquests mètodes proporciona una idea global com la que s'obté després de l'avaluació organolèptica. És per això que es considera millor determinar més d'un d'aquests paràmetres. A més, a diferència d'altres tipus de mètodes, alguns dels mètodes químics són aplicables no sols en l'avaluació de la frescor del peix sense processar, sinó també per a avaluar la frescor del peix emprat com a matèria primera per a l'obtenció de derivats en què els tractaments tecnològics aplicats sovint modifiquen el sabor, l'olor i el color.

Dins dels paràmetres relacionats amb el deteriorament o la pèrdua de la frescor trobem tècniques de tipus general, aplicables a la majoria de les espècies de peix, que es podrien classificar com: *a)* mètodes relacionats amb canvis en la fracció nitrogenada bàsica no proteica; *b)* mètodes basats en la mesura de la degradació de l'ATP, i *c)* mètodes relacionats amb modificacions de la fracció lipídica. A més, s'han proposat altres índexs químics específics per a determinades espècies o grups de peixos. Per exemple, en elasmobranquis, és útil la determinació d'amoniac [16], en crancs la determinació de l'indole derivat del triptòfan [17] o en salmó la determinació de l'etanol [18].

4.1 Mètodes relacionats amb canvis en la fracció nitrogenada bàsica no proteica

La fracció nitrogenada soluble és quantitativament molt més important en el peix que en la carn i és evident que s'incrementa i que la seva composició varia qualitativament i quantitativament a mesura que el peix perd la seva frescor.

S'ha demostrat l'increment dels *peptids* i *aminoàcids* lliures degut a l'acció d'enzims de tipus proteolític. Aquests enzims es troben en molts del teixits del peix i quan escapen dels seus compartiments cel·lulars poden causar un procés generalitzat de solubilització de proteïnes. Aquest procés d'autòlisi es manifesta primer amb un augment del contingut de líquid de

l'abdomen, que acaba esclatant. El peix autolític és un bon mitjà per al desenvolupament de microorganismes que també poden, en molt casos, presentar activitat proteolítica [16]. Cal remarcar, però, que el creixement bacterià pot, en fases més avançades, produir un descens del contingut d'aminoàcids lliures, la transformació dels quals pot donar lloc a altres metabòlits. Malgrat la clara relació entre la pèrdua de frescor i el desenvolupament de processos proteolítics, aquest tipus de determinació s'emprà més com a criteri de potencial risc de formació dels seus metabòlits (les amines biògenes, per exemple) que com a criteri per a avaluar la frescor del peix.

Les *amines biògenes* són bases orgàniques de baix pes molecular que es troben en animals, plantes i microorganismes com a conseqüència de diversos processos metabòlics. En peix s'accepta que l'origen de continguts elevats d'amines biògenes és el fruit de l'activitat de l'aminoàcid descarboxilasa que presenten alguns microorganismes i és per això que la seva determinació ha estat proposada per a reflectir el deteriorament del peix [19]. Algunes d'aquestes amines són compostos termoresistents, per la qual cosa la seva determinació permet ampliar l'avaluació a derivats de peix, l'elaboració dels quals comporta tractaments tèrmics. A més, l'interès de la determinació deriva també de la necessitat de vigilar el contingut d'algunes d'aquestes amines ja que s'han descrit problemes toxicològics relacionats amb el consum de peix que presentaven continguts elevats d'aquestes substàncies [20].

D'entre les amines biògenes la histamina és la que s'utilitza amb més freqüència en l'avaluació de la pèrdua de frescor/deteriorament del peix, probablement degut al fet que ha estat la més estudiada en peix per la seva provada implicació en la denominada escombrototoxicosi o intoxicació histamínica. Nombrosos països com Estats Units, Rússia, Suècia, Suïssa o Alemanya tenen reglamentació respecte al nivell màxim d'histamina en peix des de fa molts anys [20]. La legislació espanyola i comunitària tolera com a límit màxim pel que fa a la histamina un valor mitjà de 100 mg/kg en peix fresc o de 200 mg/kg

per semiconserves de peix com les anxoves [5, 7]. Actualment amb l'avenç experimentat en l'equipament de laboratori que permet l'ús de la cromatografia líquida d'alta eficàcia o de la cromatografia de gasos com a tècniques habituals, s'han multiplicat els estudis que relacionen la formació d'amines biògenes amb el deteriorament del peix i, a més de la histamina, s'ha proposat la determinació dels continguts d'altres amines com la cadaverina [21], la putrescina [22], o l'agmatina [23], així com l'ús d'índexs en què es tingui en compte la concentració de més d'una amina biògena. Mietz i Karmas 1977 proposen com a índex la relació [24]:

$$\frac{(\text{histamina} + \text{putrescina} + \text{cadaverina})}{(1 + \text{espermina} + \text{espermidina})}$$

Després, aquests autors, en funció del valor obtingut, classifiquen el peix en tres categories: *a)* peix fresc per a valors entre 0 i 1; *b)* peix amb inicis de descomposició per a valors entre 1 i 10, i *c)* peix en estat de descomposició avançada per als valors superiors a 10. Altres autors proposen l'ús del sumatori d'aquelles amines biògenes que es formen en quantitats més importants al llarg del deteriorament. Aquestes amines, així com les quantitats assolides, poden ésser diferents en funció de l'espècie de peix de què es tracti. Així, per exemple, en peix blanc es proposa com a contingut màxim de putrescina + cadaverina 50 mg/kg [25] o, pel que fa a la tonyina, un màxim d'histamina + tiramina + putrescina + cadaverina de també 50 mg/kg [26].

Al llarg del deteriorament del peix es formen una sèrie de compostos nitrogenats de caràcter volàtil que es determinen de manera global. La determinació del denominat Nitrogen bàsic volàtil total (NBVT) fou una de les primeres proves químiques aplicades en l'avaluació del peix. En el deteriorament dels teleostis d'hàbitat marí, el principal component d'aquesta fracció és la trimetilamina fruit de la reducció de l'òxid de trimetilamina per bacteris d'origen microbià. En elasmobranquis el component majoritari és l'amoniac que prové de la descomposició de la urea. Segons alguns autors la validesa per a avaluar la frescor del peix a partir de la determinació

del nitrogen bàsic volàtil total està limitada ja que algunes d'aquestes bases volàtils es formen només en estats de descomposició molt avançada. Malgrat tot, el nitrogen bàsic volàtil total presenta una elevada correlació amb el grau organolèptic d'acceptació del peix i s'aplica en assaigs de rutina degut a la senzillesa i el baix cost econòmic de la seva determinació [9]. De fet, juntament amb la histamina és l'únic índex químic per al qual actualment hi ha un límit màxim legislatiu en el nostre país que oscil·la entre 25 i 35 mg de N per 100 g de peix en funció de l'espècie de peix de què es tracti [26].

Per a la determinació del nitrogen bàsic volàtil total el més habitual és emprar mètodes que es basen en la destil·lació dels compostos bàsics volàtils en mitjà alcalí, de manera que quedin retinguts aldehids, cetones o alcohols que també són volàtils. El destil·lat es recull sobre aigua o un àcid i es determina el contingut en nitrogen mitjançant una valoració volumètrica [8]. El mètode oficial de la Unió Europea és un mètode d'a-

quest tipus que comporta una destil·lació en corrent de vapor d'aigua a partir d'un extracte obtingut del peix emprant una unitat de destil·lació automàtica tipus Tecator[®].

Tradicionalment també s'ha emprat el denominat mètode de Conway, que presenta l'avantatge que es pot treballar a temperatures relativament baixes amb la qual cosa es minimitzen possibles errades en l'estimació del valor de nitrogen bàsic volàtil total degudes a la hidròlisi de proteïnes i el subsegüent alliberament d'amoníac per descarboxilació tèrmica d'aminoàcids. Malgrat aquest avantatge, aquesta tècnica presenta l'inconvenient de la seva llarga durada que en dificulta l'aplicació en anàlisis rutinàries ja que són necessàries unes 12 hores per a l'obtenció de resultats satisfactoris [2]. Més recentment s'han proposat també mètodes basats en el concepte de la microdifusió, com el de Conway, on es treballa a temperatura més baixa però en què l'obtenció de resultats és més ràpida. Un exemple d'aquest tipus de mètodes és una determinació per injecció de flux i difusió de gas que a partir d'un

extracte àcid del peix permet, amb una instrumentació relativament senzilla, obtenir resultats en pocs minuts [28]. L'òxid de trimetilamina (OTMA) és un compost que es troba com a component natural del peix en hàbitat marí, encara que també s'ha detectat en quantitats més baixes en alguns peixos d'aigua dolça. A mesura que el peix es deteriora l'OTMA és reduït per l'acció d'enzims microbians a trimetilamina (TMA) que és la principal responsable de la «mala olor» del peix. El contingut de TMA també presenta una bona correlació amb la tradicional avaluació organolèptica del

peix i des de fa molt temps s'utilitza també com a criteri d'avaluació del peix de consum directe. Alguns autors proposen utilitzar el denominat P ratio que és la relació entre el contingut de TMA i el NBVT. D'aquesta manera disminueix la variabilitat en els resultats associada al fet que la quantitat de TMA formada en un determinat grau de deteriorament depèn de l'espècie de peix de què es tracti i de variacions estacionals [29].

S'ha descrit també la formació de TMA a partir de l'OTMA al llarg de l'elaboració de derivats de peix salats [30]. A més de la formació de TMA per via enzimàtica, aquest compost també es forma per descomposició tèrmica del seu precursor. La impossibilitat de discernir quin és l'origen de la TMA fa que no sigui útil en l'avaluació de derivats de peix que, com les conserves [2] o els fumats [31], comportin un tractament tèrmic, o en els derivats de peix salat on l'elevada concentració de sal no garanteix la total inhibició de l'activitat enzimàtica responsable de la seva formació.

Com succeeix en el cas d'altres paràmetres relacionats amb el grau de deteriorament del peix, és difícil d'assenyalar un valor límit per a la TMA per sobre del qual el peix es pugui rebutjar. Així, encara que en el passat la legislació espanyola en contemplés un límit [32], la legislació actual ho deixa pendent a l'espera d'estudis que permetin establir aquest tipus de límit amb seguretat.

Malgrat tot, durant molt temps la TMA ha estat un dels criteris clàssics i nombrosos autors assenyalen límits màxims del seu contingut encara que divergeixen segons l'espècie de peix de què es tracti. La xifra de 10 mg/100g ha estat emprada com a límit en peixos com el bacallà, mentre que per al lluç es recomana no superar 5 mg/100g [11].

Quan el peix es manté en congelació, el creixement de microorganismes està dificultat i, en aquest cas a partir de l'OTMA, es pot formar dimetilamina (DMA) i formaldehid en quantitats equimoleculares per l'acció d'enzims del propi peix. Aquest fenomen és especialment important en el peixos que pertanyen a la família dels gàdids (bacallà, abadejo, rosada, lluç...) que presenten una elevada activitat tissular

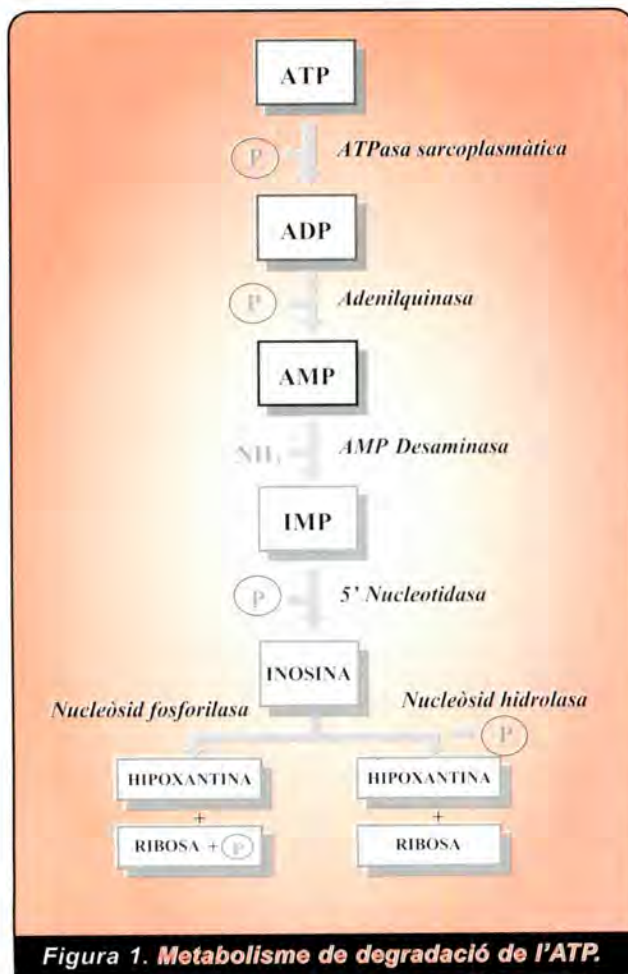


Figura 1. Metabolisme de degradació de l'ATP.

de l'enzim que catalitza aquesta transformació a un límit inferior [16]. La DMA no influeix especialment en els canvis observats en el peix mantingut en congelació durant períodes de temps llarg, però sí que ho fa el formaldehid que accelera el procés de desnaturalització de proteïnes produint canvis en la textura que són, en molt casos, els responsables del refús del peix congelat per part del consumidor. L'elevada reactivitat del formaldehid dificulta la seva determinació analítica; generalment es determina de manera indirecta quantificant la TMA. És per tot això que la DMA ha estat proposada com a índex en l'avaluació de peix congelat, però específicament per a aquelles espècies de peix on està afavorida la formació d'aquest compost [33].

El procediment clàssicament emprat per a la determinació de DMA en peix és un mètode colorimètric que usa el dimetilditricarbamat de coure. Per la determinació de TMA també s'ha utilitzat tradicionalment un mètode colorimètric: el mètode de Dyer o alguna de les seves modificacions. De fet, l'actual mètode oficial de l'AOAC es basa en el de Dyer. Més recentment s'ha proposat l'automatització d'aquests mètodes colorimètrics mitjançant tècniques d'anàlisi per injecció que permeten optimitzar el temps emprat en determinacions rutinàries [28, 34]. Però, mentre que el mètode per a la determinació de DMA resulta suficientment específic no succeeix el mateix amb el procediment colorimètric per a la determinació de TMA, i és per això que també és habitual l'ús de la cromatografia de gasos o de la cromatografia líquida d'alta eficàcia que permeten la determinació simultània de TMA i DMA evitant el problema de les interferències [35].

4.2 Mètodes basats en la mesura de la degradació de l'ATP

En la majoria de les espècies de peix, la degradació de l'ATP segueix la seqüència especificada en la figura 1 encara que la velocitat amb què tots aquests canvis es donen és molt variable. Immediatament després de la mort del peix l'ATP es degrada ràpidament a IMP (inosina monofosfat) mitjançant la formació d'ADP i AMP per a l'acció d'enzims endògens. La posterior degradació de l'IMP a inosina i hipoxantina és més lenta, i en l'últim pas de la seqüència de degradació hi participen tant enzims autolítics com enzims d'origen bacterià.

El pas d'inosina a hipoxantina presenta una major variabilitat entre espècies que les reaccions que el precedeixen, en un grau tan alt, que ha portat a establir una classificació de les espècies de peix en funció de la velocitat amb què es dona aquesta transformació [36]. Així, podem trobar: *a)* espècies formadores d'inosina com el sorrell, el seitó, la tonyina o l'esturió, en les quals s'acumula aquest compost degut a la baixa activitat dels enzims que catalitzen la seva transformació en hipoxantina; *b)* espècies formadores d'hipoxantina com la palaia o el rèmol, i *c)* espècies de tipus intermig com el salmó o el congre.

El principal avantatge de la determinació de l'ATP i els seus metabòlits és que permet avaluar la pèrdua de frescor del peix prèviament a la proliferació bacteriana. Per exemple, en països com el Japó, on és usual el consum del peix cru i és molt important garantir-ne la frescor, s'utilitza el denominat índex o relació ATP/IMP [37,38] que permet observar modificacions en el peix fins i tot abans que s'estableixi el rigor mortis [39].

Malgrat aquest avantatge, en l'actualitat la majoria dels índexs centrats en la degradació de l'ATP es basen només en la determinació de l'IMP, la inosina i la hipoxantina donada la rapidesa amb què es dona el pas d'ATP a IMP [40]. La determinació d'aquests últims metabòlits de la seqüència, que resulten relativament estables al tractament tèrmic, permet avaluar la frescor del peix emprat en l'elaboració de derivats tractats a partir de la calor [41].

Inicialment, l'índex K es determina mitjançant tècniques de cromatografia en columna amb resines de bescanvi iònic que permeten obtenir dues fraccions; una que conté l'ATP i els seus derivats fosforilats i un altra que conté els no fosforilats (hipoxantina i inosina). En aquests mètodes es determinava la concentració en conjunt en cadascuna d'aquestes dues fraccions per espectrofotometria aprofitant l'absorció a l'UV que presenten l'ATP i tots els seus derivats. També alguns mètodes enzimàtics utilitzen aquest criteri simplificador [39]. No obstant, la cromatografia líquida d'alta eficàcia permet la identificació i quantificació de cadascun d'aquests compostos per separat en un període de temps raonablement curt.

4.3 Mètodes basats en modificacions de la fracció lipídica

Aquests mètodes tenen en general poca importància en l'avaluació del peix fresc, ja que en la majoria del casos aquest es considera no apte per al consum molt abans que les modificacions de la fracció lipídica es comencin a fer evidents. Són, en canvi, d'utilitat en l'avaluació del peix congelat, ja que la congelació inhibeix el creixement microbià però evita a llarg termini l'aparició de fenòmens de tipus oxidatiu.



Aquest fenomen de ranciessa és més evident en els peixos de les espècies grasses (sardina, tonyina...). Els seus lípids altament insaturats reaccionen amb l'oxigen formant hidroperòxids que després es transformaran en altres compostos responsables de l'olor i el gust ranci. Tradicionalment, per a la mesura de la ranciessa oxidativa del peix, s'han emprat dues proves: la determinació de l'índex de peròxids que mesura aquest primer pas i la

prova de l'àcid tiobarbitúric on es mesuren les modificacions posteriors [9].

La determinació de l'índex de peròxids, com altres proves que es basen en la determinació de metabòlits intermitjos, és útil per a seguir l'evolució del procés al llarg del temps, però aporta una informació limitada quan es dona en forma de determinació puntual. Així, un índex de peròxids de 10-20 correspon a peix ranci,

però valors més baixos poden indicar tant un baix grau de ranciessa com estats molt més avançats de deteriorament.

En el cas de la prova de l'àcid tiobarbitúric ha de tenir-se en compte que en les espècies de peix riques en OTMA el formaldehid que es forma a partir d'ell per acció dels propis enzims del peix també reacciona amb aquest àcid originant una sobreestimació en el grau de ranciessa [41].

Bibliografia

1. ÓLAESDÓTTIR, G.; MARÍNSDÓTTIR, E. *et al.* «Methods to evaluate fish freshness in research and industry.» *Trends Food Sci. Technol.*, núm. 8 (1987), p. 258-265.
2. GALLARDO, J.M.; LÓPEZ-BENITO, M. *et al.* «Determinación de bases volátiles en productos pesqueros.» *Informe Técnico del Instituto de Investigaciones Pesqueras*, núm. 65 (1979), p. 1-17.
3. BURGESS, G.H.O.; CUTTING, C.L. *et al.* *El pescado y las industrias derivadas de la pesca*. Zaragoza, Editorial Acribia, 1979.
4. EHRENBERG, A.C.S.; SOHEWMAN, J.M. «The objective approach to sensory test of food.» *J. Food Agric.*, núm. 4 (1953), p. 482-490.
5. CEE, «Directiva de 22 de julio de 1991. (91/439/CEE).» *DOCE*, L268 (1991), p. 15-34.
6. Howgate, P. «Fish inspection and quality control.» A: KRAMER, D.E.; LISTON, J. (Ed.) *Seafoods quality determination. Proceedings of an international symposium coordinated by the University of Alaska*. Anchorage, Alaska, USA., Elsevier Publishers, 1986.
7. REAL DECRETO 1443/1992, de 27 de noviembre. *BOE*, núm. 11, 1993, p. 808-820.
8. RODRIGUEZ, C.F.; VELASCO, F. *et al.* «Evaluación sensorial y química de la sardina (Sardina pilchardus).» *Alimentaria*, Gener-Febrer, p. 87-92, (1991).
9. CONELL, J.J. (1995). *Control of fish quality*. 4th Edition. Blackwell Science Ltd., Oxford.
10. GIBSON, M.D. «Preservation Technology and Shelf life of fish and fish products.» A: MAN, C.D.M.; JONES, A.A. (Eds.) *Shelf life evaluation of foods*. London, Chapman & Hall, p. 72-84.
11. LUDORFF, W.; MFYER, V. *El pescado y los productos de la pesca*. Zaragoza, Editorial Acribia, 1978.
12. WITTFOGEL, H. «Die messung postmotaler augenlinsentrübung in diense objektiver frischezustandsbeurteilung von seefische.» *Arch. Lebensmittelhyg.*, núm. 10 (1959), p. 49-53.
13. BAGER, F.; PETERSEN, G.V. (1983). «The relative precision of different methods of measuring pH in carcass muscles.» *Nort. Vet. Med.*, 35, p. 86-91.
14. SOLOMON, M.B. «Comparison of methods used for measuring pH in muscle.» *J. Food Sci.*, núm. 52 (1987), p. 1428-1429.
15. BITO, M.; YAMADA, K. *et al.* «Studies on the rigor mortis of fish. Differences on the mode of rigor mortis among the varieties of fish by the modified Cutting's method. Bull.» *Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, núm. 109 (1987), p. 89.
16. HUSS, H.H. *Quality and Changes in fresh fish*. Roma, FAO, 1995.
17. CHANG, O.; CHEUK, W.L. *et al.* «Indole in shrimp: effect of fresh storage temperature freezing and boiling.» *J. Food Sci.*, 48 (1983), p. 813-816.
18. HOLINGWORTH, T.A.; THROM, H.R. *et al.* «Headspace gas chromatographic method for determination of ethanol in canned salmon. J. Assoc. Off. Anal. Chem., núm. 69 (1986), p. 324-326.
19. MARINE-FONT, A.; VIDAL-CAROU, M.C. *et al.* «Les amines biogènes dans les aliments: leur signification, leur analyse.» *Ann. Fals. Exp. Chim.*, núm. 88 (1995), p. 119-140.
20. POECHANECK, U.; PFANNHAUSER, W. *et al.* «Histamingehalte von fischen im lichte gesetzlicher und empfohlener grenzverzte.» *Ernahrung/Nutrition*, núm. 7 (1983), p. 683-687.
21. YAMANAKA, H.; SHIOMI, K. *et al.* «Cadaverine as potential index for decomposition of salmonoid fishes.» *J. Food Hyg. Soc. Japan*, núm. 30 (1989), p. 170-174.
22. YAMANAKA, H.; MATSUMOTO, M. «Simultaneous determination of polyamines in red meat fishes by high performance liquid chromatography and evaluation of freshness.» *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 30 (1989), p. 396-400.
23. YAMANAKA, H.; SHIOMI, K. *et al.* «Agmatine a potential index for freshness of common squids (Todarodes pacificus).» *J. Food Sci.*, núm. 52 (1987), p. 936-938.
24. MIETZ, J.L.; KARMAS, E. «Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography.» *J. Food Sci.*, núm. 42 (1977), p. 155-158.
25. STEDE, M.; STOCKEMER, J. «Bildung von histamin in fischen heringen und makrelen.» *Fleischwirtschaft*, núm. 61 (1981), p. 1746.
26. VECIANA-NOGUÉS, M.T.; MARINE-FONT, A. *et al.* «Biogenic amines as hygienic-quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP related compounds, volatile amines and organoleptic changes.» *J. Agric. Food Chem.*, núm. 45 (1997), p. 2036-2041.
27. CEE. (95/149/CE) *DOCE*, L97 (1997), p. 84-87.
28. SADOR, S.; UGLÓW, R.F. *et al.* «Determination of trimethylamine in fish by flow injection analysis.» *Analytica Chimica Acta*, núm. 321 (1996), p. 69-74.
29. MALLÉ, P.; POUMEROL, M. «A new chemical criterion for the quality control of fish: Trimethylamine/total volatile basic nitrogen.» *J. Food Protec.*, 52 (1989), p. 419-423.
30. JEONG, H.K. *et al.* «Condition of processing and change of chemical composition on the salted-dried sardine during storage.» *Bull. Korean Fish. Soc.*, núm. 16 (1983), p. 231-238.
31. BELTRÁN, A. «Control de calidad del pescado ahumado.» *Alimentaria*, març 1990, p. 27.
32. REAL DECRETO 1521/1977, de 3 de mayo. *BOE*, núm. 11 (1977), p. 808-820.
33. GALLARDO, J.M.; MONTEMAYOR, M. «Métodos generales de análisis utilizados en el examen del pescado.» *Inf. Téc. del Inst. de Investigaciones Pesqueras*, núm. 95 (1982).
34. LEÓN, A.; CHICA, A. *et al.* «Determination of trimethylamine in fish by flow injection analysis.» *Quim. Anal.*, 55 (1994), p. 712-24.
35. VECIANA-NOGUÉS, M.T. *et al.* «Validation of a gas chromatographic method for volatile amine determination in fish samples.» *Food Chem.*, núm. 57 (1996), p. 569-573.
36. EIHIRA, S.; UCHIYAMA, H. «Determination of fish...» A: KRAMER, D. E.; LISTON, J. (Ed.) *Seafoods quality determination. Proceedings of an international symposium coordinated by the University of Alaska*. Anchorage, Alaska, USA Elsevier Publishers, Amster-dam, 1986, p. 185-207.
37. SAITO, T.; ARAI, K. *et al.* «A new method for stimating the freshness of fish.» *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, núm. 24 (1959), p. 749-750.
38. WATANABE, A.; TOYAMA, K. *et al.* «Determination of inosine-5' monophosphate in fish tissue with an enzyme sensor.» *J. Food Sci.*, núm. 49 (1984), p. 114-116.
39. KORHONEN, R. W. *et al.* «An evaluation of a simple method for following rigor development in fish.» *J. Food Sci.*, núm. 55 (1990), p. 346.
40. GREENE, D. H. *et al.* «Adenosin triphosphate catabolites as flavor compounds and freshness indicators in Pacific cod and pollock.» *J. Food Sci.*, núm. 55, p. 257-258.
41. ALMANDROS, M.E. *et al.* «Formaldehyde as an interference of the 2-thiobarbituric acid test.» *J. Sci. Food Agric.*, núm. 37 (1986), p.54-58.