



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**ESTUDIOS SOBRE LA REESTRUCTURACIÓN EN FRÍO DEL
MÚSCULO ABDUCTOR EN MOLUSCOS PECTÍNIDOS**

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Biotecnología)

Presenta

Ana Isabel Beltrán Lugo

La Paz, Baja California Sur, diciembre de 2005

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las **10:00** horas del día **12** del Mes de **diciembre de 2005**, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

“Estudios sobre la reestructuración en frío del músculo abductor en moluscos pectínicos”

Presentada por la alumna:

Ana Isabel Beltrán Lugo

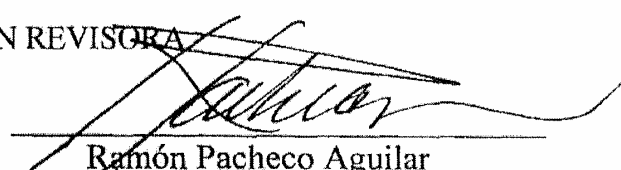
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **Biotecnología**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

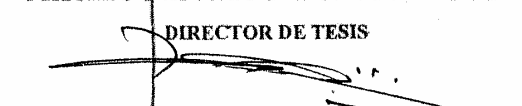
LA COMISION REVISORA


Alfonso Nirvado Maeda Martínez

DIRECTOR DE TESIS


Ramón Pacheco Aguilar

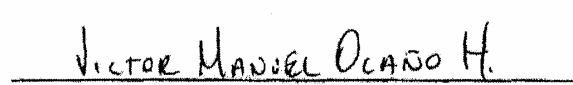
CO-DIRECTOR


Héctor Gerardo Nolasco Soria

CO-TUTOR


Natalia González Méndez

CO-TUTOR


Victor Manuel Ocaño Higuera

Victor Manuel Ocaño Higuera

CO-TUTOR


DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CONFORMACIÓN DE COMITÉS

Comité tutorial

Dr. Alfonso N. Maeda Martínez	CIBNOR	Director de tesis
Dr. Ramón Pacheco Aguilar	CIAD	Co-director de tesis
Dr. Héctor G. Nolasco Soria	CIBNOR	Co-tutor
Dra. Natalia González Méndez	CIAD	Co-tutor
Dr. Michael Morrissey	OSU	Co-tutor

Comité revisor de tesis

Dr. Alfonso N. Maeda Martínez	CIBNOR
Dr. Ramón Pacheco Aguilar	CIAD
Dr. Héctor G. Nolasco Soria	CIBNOR
Dra. Natalia González Méndez	CIAD
Dr. Víctor Manuel Ocaño-Higuera	UNISON

Jurado de examen de grado

Dr. Alfonso N. Maeda Martínez	CIBNOR
Dr. Ramón Pacheco Aguilar	CIAD
Dr. Héctor G. Nolasco Soria	CIBNOR
Dra. Natalia González Méndez	CIAD
Dr. Víctor Manuel Ocaño-Higuera	UNISON

Suplente:

Dr. Pedro Saucedo Lastra	CIBNOR
--------------------------	--------

RESUMEN

La almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y la almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) son los moluscos pectínidos de mayor importancia comercial en México. El valor de estas especies radica en el músculo abductor que constituye la principal fracción comestible. En los mercados de pectínidos, los músculos se clasifican en diferentes calibres dependiendo del número de piezas por unidad de peso. Los precios por calibre son mas altos entre menor sea el número de piezas por unidad de peso. En 1994, el precio de músculos de calibre pequeño como el de la almeja catarina se colapsó debido a la introducción masiva de músculos similares producidos en China al mercado estadounidense. Esto produjo la desaparición de los cultivos comerciales que entonces iniciaban. La producción de músculos reestructurados en frío de estas especies podría ser una alternativa para incrementar su valor y reactivar su cultivo. La reestructuración en frío es el proceso mediante el cual, piezas de materia prima original o materia prima sujeta a troceado o molido, se unen entre sí para formar una pieza con la forma y características del producto original pero de mayor tamaño. El reestructurado en frío se logra mezclando la materia prima con sistemas enzimáticos como el sistema transglutaminasa-caseinato de sodio (CT), o el fibrinógeno-trombina (FT). Otra alternativa sería producir una especie de mayor tamaño como la almeja mano de león, cuyos músculos alcanzan calibres superiores con precios mas elevados. A pesar de que se han iniciado cultivos comerciales en fondo muy rentables en Laguna Manuela y en Laguna Guerrero Negro, es posible que en un futuro la depredación natural se incremente y obligue a los productores a usar artes de cultivo como protección, con lo cual se incrementarán los costos y bajará la rentabilidad. Mientras tanto, resulta conveniente desarrollar alternativas para dar valor agregado a los músculos a través del reestructurado en frío. Al plantear la reestructuración como una alternativa de reducción de costos de cultivo, es necesario tomar en cuenta que la calidad de los músculos abductores utilizados como materia prima así como la eficiencia de los sistemas de adhesión pueden ser variables en función de la condición fisiológica de los organismos y de la especie. Tomando en cuenta lo anterior, el presente trabajo plantea estudiar la variabilidad estacional en la calidad del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), y su efecto en la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío. Además pretende comparar la eficiencia de estos sistemas de reestructurado en frío, en músculos de almeja mano de león vs. almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). Para ello se realizaron tres experimentos. En el primero se determinó la relación entre la condición fisiológica antemortem de la almeja mano de león y la calidad del músculo abductor, en función de las variables ambientales temperatura y concentración de clorofila *a* en las diferentes estaciones del año. En el segundo se evaluó la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío (caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina) en músculos de *N. subnodosus* preservados por congelación, provenientes de los mismos grupos de organismos del experimento anterior. Finalmente en el tercer experimento se comparó la eficiencia de los métodos de reestructuración ensayados, en músculos de almeja mano de león y de almeja catarina, independientemente de la estación del año.

Los resultados del primer experimento mostraron que las variaciones observadas en el índice de rendimiento muscular y en los componentes químicos del músculo

abductor de almeja mano de león, fueron determinadas por la temperatura y la concentración de clorofila *a*, más no por la actividad reproductiva de la especie en ese sitio. De los indicadores fisiológicos estudiados, el glucógeno mostró ser el principal componente que influyó de manera indirecta en la mayoría de los parámetros de calidad del músculo. Un mayor contenido de glucógeno observado en el verano originó un menor pH posmortem el cual determinó a su vez una menor capacidad de retención de agua. Asimismo las variaciones en pH influyeron en el color percibido en el músculo abductor. Por otra parte el pH y la capacidad de retención de agua influyeron considerablemente sobre las propiedades de textura del músculo. Estas propiedades fueron asimismo afectadas por la variación en la estructura del músculo. El cambio observado en el perfil de aminoácidos libres sugiere un posible sabor menos dulce en músculos obtenidos en verano. Los resultados obtenidos en los experimentos 2 y 3 indicaron que es factible obtener productos reestructurados a partir de músculo abductor congelado-descongelado de almeja mano de león y almeja catarina. En conjunto los resultados de estos dos experimentos mostraron que la estación, el sistema de reestructuración y la especie tienen un efecto sobre la calidad de los productos. Una mejor calidad de productos reestructurados a partir de músculo abductor de almeja mano de león, se obtiene al utilizar materia prima colectada en las estaciones de invierno y otoño. El sistema de reestructuración más apropiado para pectínidos es el sistema caseinato-transglutaminasa.

Palabras clave: variación estacional, pectínidos, reestructuración en frío, *Nodipecten subnodosus*, *Argopecten ventricosus*.

Revisado por

Dr. Alfonso Nivardo Maeda Martínez

Director de tesis

ABSTRACT

The Pacific lions-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*) and the catarina scallop (*Argopecten ventricosus*) are the native scallop species of Mexico with the greatest economic importance. The portion of the tissues with economic value is the abductor muscle. In the scallop markets, the muscles are classified into categories, depending on the number of pieces per unit weight. The prices vary depending upon the category, being higher in those with lower counts per unit weight. In 1994, the price of small scallop meats such as those of the catarina scallop collapsed from >4.0 to 2 USD/Kg because of a mass introduction of scallop meats into the US from China. At that time, this species started to be cultured with a unique technology in Mexico but because of the loss of value, the projects were abandoned. Cold-binding technology seems to be a promising alternative to increase the value of the species and to restart aquaculture. This technology is defined as the process used for binding small pieces of muscle into a larger one, without affecting the original properties of the raw material. This consists of a mixture of muscle with enzymatic systems such as the sodium caseinate-transglutaminase system (CT) and the fibrinogen-trombin system (FT). Another alternative could be, focusing aquaculture on a larger species such as *N. subnodosus* which produce meats classified in a higher category with higher value. Commercial aquaculture of this species has already started in Laguna Manuela and Laguna Guerrero Negro with remarkable profits, since a negligible predation has been recorded in those sites, making unnecessary the use of nets to protect the organisms from predators and to spend money on labor for maintenance, once they attain >4-5 cm shell height. It is not known if this low predation pressure on the scallops will remain unchanged or not, and there is always the risk of this to increase, which will obliged aquaculturists to spend money on the growout phase reducing the profits. Meanwhile, it would be convenient to investigate if the cold-binding technology will be appropriate for restructuring abductor muscles of both species. It would be interesting to investigate if the environmental conditions have an effect on the physiological state of the organisms, and if this modifies the quality of the scallop muscles. Thus, the objective of the present study was to confirm if the quality of *N. subnodosus* meats fluctuates seasonally, and if these changes have an influence on the efficiency of the two cold-binding systems. In addition, it was also investigated the efficiency of the systems prepared with raw materials from different species (*N. subnodosus* and *A. ventricosus*). Three experiments were carried out. In the first one the relationship between the physiological state of the lion's paw scallop and the quality of the meats, in relation with two environmental variables (temperature and chlorophyll *a* concentrations). The second experiment aimed for testing the efficiency of the cold-binding systems on frozen *N. subnodosus* meats from experiment 1. Finally, in the third experiment the efficiency of the cold-binding systems on *N. subnodosus* and *A. ventricosus* was compared. Results from experiment 1 showed that the variations observed in the muscular index and in the chemical components of the adductor muscle of lion's paw scallop were not determined by the gonadal development, but rather they were influenced by temperature and food concentrations. Glycogen showed to be the main component that influenced an indirect way in most of the quality parameters of the adductor muscle. The higher glycogen content observed in the summer originated a lower postmortem pH value which was responsible for the lower water holding capacity

observed in summer muscles. The variations in pH also influenced in the color perceived in adductor muscle. On the other hand the lower pH and water holding capacity values influenced on the softer texture perceived on summer. The texture properties were also affected by the variation in the muscle structure. The change observed in the free amino acids profile suggests a possible less sweet flavor in muscles obtained in summer. The results obtained in the experiments 2 and 3 indicated that it is feasible by means of the low-temperature restructuring systems to obtain restructured products from frozen-thawed adductor muscle of catarina and lions-paw scallops. Results of these two experiments showed that the quality of the restructured scallops was affected by season, restructuring system and species. A better quality of restructured products from lions-paw is obtained by using raw material collected in the winter and autumn seasons, also a better global quality is obtained in products restructured with the Caseinate-transglutaminase cold-set binding system in comparison with those produced by the system fibrinogen-thrombin binder.

Key words: seasonal variation, restructured scallops, muscle quality, *Nodipecten subnodosus*, *Argopecten ventricosus*

Revisado por

Dr. Alfonso Nivardo Maeda Martínez

Director de tesis

DEDICATORIA

A mis padres

Sra. Rosina Lugo Gerardo y Sr. Roberto Beltrán Beltrán a quien agradezco su amor, su gran esfuerzo y sus enseñanzas.

Con todo mi amor

A mi esposo César Arturo Ruíz Verdugo y a mis hijos Ana Patricia, César Arturo e Ildefonso Alejandro

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. por todo el apoyo recibido durante mi estancia como estudiante. El presente trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto G-33593-B) a quien se agradece por la beca de estudios otorgada. De igual forma se agradece al Programa de Mejoramiento al profesorado (PROMEP) por la beca complementaria otorgada

De manera muy especial agradezco a mi director de tesis Dr. Alfonso Maeda Martínez por haberme brindado la oportunidad de desarrollar el presente trabajo así como por su apoyo y por la confianza que depositó en mí. De igual forma deseo agradecer al Dr. Héctor Nolasco Soria y al Dr. Ramón Pacheco Aguilar por los conocimientos adquiridos durante las estancias realizadas en sus respectivos laboratorios.

A mi comité tutorial: Dr. Alfonso Maeda Martínez, Dr. Ramón Pacheco Aguilar, Dr. Héctor Nolasco Soria, Dra. Natalia González Méndez y Dr. Michael Morrissey por sus valiosas aportaciones para el desarrollo del presente trabajo, así como al Dr. Víctor Manuel Ocaño Higuera por el invaluable apoyo que me brindó durante el desarrollo de mi tesis y por sus aportaciones como parte del comité revisor, asimismo agradezco al Dr. Pedro Saucedo Lastra por sus y valiosos comentarios y aportaciones al documento.

El presente trabajo ha sido posible gracias a la colaboración de diversas personas e instituciones a quien deseo expresar mi más profundo agradecimiento.

A las empresas Marimex S.A. de C.V. y Cultivos Técnicos del Mar Sudcaliforniano S.A. de C.V por el cultivo y la donación de los organismos utilizados en el presente trabajo, en especial a Phillipe Danigo y a Carlos Reyes.

Al personal de CIBNOR por su valiosa colaboración, asesoría y apoyo. Al personal de posgrado, especialmente a Osvelia, Lety, Horacio, Bety; al personal de biblioteca. Ana María Talamantes, Tony Díaz, Estercita. Al personal Técnico, Roberto Hernández (Bioquímica Fisiológica), Sonia Rocha y Lolita (Bromatología), Lilia Ibarra (Cromatografía) de manera muy especial a La M.en C. Carmen Rodríguez por su invaluable apoyo en la parte correspondiente al trabajo de histología.

Al Dr. David Raúl López Aguilar director del CIBNOR-Gro Negro por las facilidades brindadas en sus instalaciones, en las cuales recibí el apoyo de la Dra. Ma. Eugenia Valdez y de Fabián Viñeyra.

Al personal del CIAD-Hillo. por sus atenciones durante mi estancia en el Laboratorio de Productos Pesqueros en especial a Enrique Márquez, Guillermina García, Maria Elena Lugo y Gisela Carvallo,

A la Dra. Aida Martínez y al M. en C. José Hernández por su valiosa colaboración en la parte correspondiente al estudio de la variación de los niveles de clorofila *a*.

A la UABCS por las facilidades otorgadas en el Taller de alimentos marinos así como por el apoyo recibido a través del Programa PIFI.

Mi más profundo agradecimiento a mi esposo, César Arturo Ruíz Verdugo de quien siempre he recibido un gran apoyo y quien ha jugado un papel muy importante apoyándome en el desarrollo del presente trabajo. A mis hijos Ana Patricia, César Arturo e Ildefonso Alejandro agradezco infinitamente su paciencia por todas aquellas ausencias

Muchas Gracias

CONTENIDO

	Página
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS.....	i
CONFORMACIÓN DE COMITÉS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTOS.....	viii
CONTENIDO.....	x
LISTA DE PUBLICACIONES.....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xv
ÍNDICE DE TABLAS.....	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xix

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1 Moluscos pectinidos.....	5
2.1.1 Producción y cultivo de moluscos pectínidos en México.....	5
2.1.2 Almeja mano de león.....	6
2.1.3 Almeja catarina.....	7
2.2 Productos reestructurados.....	8
2.2.1 Sistema Caseinato-Transglutaminasa.....	9
2.2.2 Sistema Fibrinógeno-Trombina.....	11
2.3 Factores relacionados con la calidad del músculo abductor natural y reestructurado.....	13
2.3.1 pH.....	13
2.3.2 Capacidad de retención de agua.....	14
2.3.3 Color.....	14
2.3.4 Composición química proximal.....	16
2.3.5 Textura.....	17
3. OBJETIVOS.....	19
3.1 Objetivo general.....	19
3.2 Objetivos específicos.....	19
4. HIPOTESIS.....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
5.1 Planteamiento de los experimentos.....	21
5.2 Sitios de cultivo y organismos experimentales.....	23
5.2.1 Registro de temperatura.....	27

	Página
5.2.2 Concentración de clorofila <i>a</i>	28
5.3 Índices de rendimiento muscular y gonadosomático.....	28
5.4 Fases de desarrollo gonádico.....	29
5.5 Contenido de glucógeno.....	30
5.6 Preparación de los productos reestructurados.....	31
5.7 Evaluación de la calidad de los músculos frescos y reestructurados.....	33
5.7.1 pH de superficie.....	33
5.7.2 Capacidad de retención de agua.....	33
5.7.3 Color.....	34
5.7.4 Composición química proximal.....	34
5.7.5 Aminoácidos libres.....	35
5.7.6 Análisis instrumental de textura.....	37
5.7.6.1 Prueba de corte Warner-Bratzler.....	38
5.7.6.2 Análisis de perfil de textura.....	38
5.7.7 Colágeno.....	39
5.7.8 Análisis histológico de la estructura muscular.....	40
5.8 Actividad proteolítica total.....	42
5.9 Análisis de la microestructura de las matrices y zonas de unión en los productos reestructurados.....	43
5.10 Análisis estadísticos.....	43
6. RESULTADOS.....	45
6.1 Estudio de las variaciones de temperatura y concentración de clorofila <i>a</i> en Laguna Manuela BC durante un ciclo anual.....	45
6.2 Determinación de las variaciones estacionales en la calidad del músculo abductor fresco de <i>Nodipecten subnodosus</i> durante un ciclo anual y su relación con las variables ambientales estudiadas.....	46
6.2.1 Variación estacional en los índices de condición fisiológica.....	46
6.2.1.1 Índice de rendimiento muscular e índice gonadosomático.....	46
6.2.1.2 Desarrollo gonádico.....	47
6.2.1.3 Variación estacional en el contenido de glucógeno.....	50
6.2.2 Variación estacional de la calidad del músculo abductor fresco.....	51
6.2.2.1 pH y capacidad de retención de agua.....	51
6.2.2.2 Color.....	52
6.2.2.3 Composición química proximal.....	53
6.2.2.4 Aminoácidos libres.....	54
6.2.2.5 Textura.....	56
6.2.2.6 Colágeno.....	58
6.2.2.7 Estructura muscular.....	59
6.3 Evaluación de la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío (caseinato- transglutaminasa y fibrinógeno-trombina), en músculos de <i>Nodipecten</i> <i>subnodosus</i> preservados por congelación, en las cuatro estaciones del año.....	64
6.3.1 Apariencia macroscópica de los reestructurados.....	64
6.3.2 pH y capacidad de retención de agua.....	65

	Página
6.3.3 Color.....	67
6.3.4 Composición química proximal.....	69
6.3.5 Actividad proteolítica total.....	72
6.3.6 Textura.....	72
6.3.6.1 Prueba de corte WB.....	72
6.3.6.2 Perfil de textura.....	74
6.4 Comparación de la eficiencia de los dos sistemas de reestructurado en frío, en músculos de <i>Nodipecten subnodosus</i> y de <i>Argopecten ventricosus</i>	80
6.4.1 Índices de condición fisiológica.....	81
6.4.2 pH de superficie y composición química proximal.....	81
6.4.3 Capacidad de retención de agua (CRA).....	82
6.4.4 Color.....	83
6.4.5 Textura.....	84
6.4.5.1 Prueba de corte Warner-Bratzler.....	84
6.4.5.2 Análisis de Perfil de Textura.....	85
6.4.6 Microestructura de las matrices de unión y zonas de unión en los productos reestructurados.....	87
7. DISCUSIÓN.....	89
7.1 Determinación de las variaciones estacionales en la calidad del músculo abductor fresco de <i>Nodipecten subnodosus</i> durante un ciclo anual y su relación con las variables ambientales estudiadas.....	89
7.1.1 Variación estacional en los índices de condición fisiológica.....	89
7.1.1.1 Índice de rendimiento muscular (IRM) e índice gonadosomático (IGS).....	89
7.1.1.2. Estadio de desarrollo gonádico.....	91
7.1.1.3 Contenido de glucógeno.....	92
7.1.2 Variación estacional en los parámetros relacionados con la calidad del músculo abductor fresco.....	94
7.1.2.1 pH y capacidad de retención de agua.....	94
7.1.2.2 Parámetros relacionados con el color.....	97
7.1.2.3 Composición química proximal.....	100
7.1.2.4 Aminoácidos libres.....	102
7.1.2.5 Parámetros de textura.....	105
7.1.2.6. Colágeno.....	108
7.1.2.7 Estructura muscular.....	110
7.2 Evaluación de la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío (caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina), en músculos de <i>Nodipecten subnodosus</i> preservados por congelación, en las cuatro estaciones del año.....	114
7.2.1 pH y capacidad de retención de agua.....	114
7.2.2 Color.....	116
7.2.3 Composición química proximal.....	117
7.2.4 Actividad proteolítica total.....	118
7.2.5 Textura.....	120

	Página
7.3 Comparación de la eficiencia de los dos sistemas de reestructurado en frío, en músculos de <i>Nodipecten subnodosus</i> y de <i>Argopecten ventricosus</i>	121
7.3.1 Índices de condición fisiológica.....	121
7.3.2 Composición química proximal y pH.....	121
7.3.3 Capacidad de retención de agua.....	122
7.3.4 Color.....	124
7.3.5 Propiedades texturales.....	125
7.3.6 Microestructura de las matrices de unión y zonas de unión en los productos reestructurados.....	127
8. CONCLUSIONES.....	129
9. LITERATURA CITADA.....	132
ANEXO 1. Primera publicación.....	147
ANEXO 2. Segunda publicación.....	155

LISTA DE PUBLICACIONES

1. Beltrán-Lugo AI, Maeda-Martínez AN, Pacheco-Aguilar R, Nolasco-Soria HG, and Ocaño-Higuera VM. 2005. Physical, Textural, and Microstructural Properties of Restructured Adductor Muscles of 2 Scallop Species Using 2 Cold-binding Systems. *J Food Sci* 70(2):E78-84.
2. Beltrán-Lugo AI, Maeda-Martínez AN, Pacheco-Aguilar R, Nolasco-Soria HG. Seasonal variations in chemical, physical, textural, and microstructural characteristics of adductor muscles of giant lions-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*). *Aquaculture*. SOMETIDO.
3. Beltrán-Lugo AI, Maeda-Martínez AN, Pacheco-Aguilar R, Nolasco-Soria HG. Effect of raw material condition and cold-set binders on the chemical, physical and textural properties of restructured giant lions-paw scallops (*Nodipecten subnodosus*). EN PREPARACIÓN.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Título	Página
1	Morfología externa de la concha de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).....	6
2	Sitios de explotación, de granjas y sitios potenciales de cultivo de almeja mano de león, en el noroeste de México.....	7
3	Morfología externa de la concha de almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>).....	8
4	Entrecruzamiento de proteínas catalizada por acción de la enzima transglutaminasa.....	10
5	Secuencia de la formación de la red de fibrina a partir de fibrinógeno.....	12
6	Espacio de color CIE, 1976 (L* a* b*).....	16
7	Fotografía satelital de Laguna Manuela, B.C., México.....	25
8	Fotografía satelital de Rancho Bueno, B.C.S., México.....	26
9	Temperatura promedio mensual durante el año de 2003 en Laguna Manuela, B.C.....	45
10	Concentración promedio mensual de clorofila <i>a</i> durante el año de 2003 en Laguna Manuela, B.C.....	46
11	Imágenes selectas representativas de las diferentes fases de desarrollo de la porción femenina de la gonáda de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela, B.C., México durante el año de 2003.....	48
12	Frecuencias de las fases de desarrollo de la porción femenina de la gónada de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela, B.C., México, en diferentes estaciones del año 2003.....	49
13	Imágenes representativas de la sección transversal del músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela en las cuatro estaciones del año 2003 (100×).....	60
14	Imágenes representativas de la sección transversal del músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela en las cuatro estaciones del año 2003 (1000 ×)....	61
15	Imágenes representativas de la sección longitudinal del músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela en las cuatro estaciones del año 2003 (1000×).....	62
16	Fotografías de la materia prima (a) y de los productos reestructurados en frío con caseinato-transglutaminasa (b) y fibrinógeno-trombina (c), de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivado en Laguna Manuela B.C., México.....	65

17	Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la firmeza de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) obtenida mediante la prueba de corte Warner-Bratzler.....	73
18	Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la dureza de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).....	75
19	Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la cohesividad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).....	76
20	Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la elasticidad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).....	77
21	Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la masticabilidad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).....	78
22	Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la gomosidad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).....	79
23	Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la adhesividad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>).....	80
24	Valores de fuerza de corte obtenidos mediante la prueba de Warner-Bratzler en músculo abductor congelado-descongelado y productos reestructurados de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) y almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>), utilizando los sistemas de reestructuración en frío caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT).....	85
25	Análisis de perfil de textura en músculo abductor congelado-descongelado y productos reestructurados de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) y almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>), utilizando los sistemas de reestructuración en frío caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT).....	86
26	Imágenes representativas de las matrices de unión y de las interfases matriz-musculo de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) y almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>), reestructuradas con los sistemas caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinogeno-trombina (FT).....	88

INDICE DE TABLAS

Tabla No.	Título	Página
1	Gradiente utilizado para la determinación de hidroxiprolina por HPLC.....	37
2	Gradiente utilizado para la determinación de hidroxiprolina por HPLC.....	40
3	Índice de rendimiento muscular e índice gonadosomático de la almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivada en Laguna Manuela, B.C., en diferentes estaciones del año, en 2003...	47
4	Variación estacional del contenido de glucógeno en músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela, B.C., México durante 2003.....	50
5	Variación estacional del pH de superficie y de la capacidad de retención de agua, en músculos abductores de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela, B.C., México, durante el año 2003.....	51
6	Evaluación del color del músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivada en Laguna Manuela, B.C., México, en las diferentes estaciones del año.....	52
7	Variación estacional en la composición química proximal del músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivada en Laguna Manuela, B.C., México.....	54
8	Variación estacional de la concentración y perfil de aminoácidos libres, en músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivada en Laguna Manuela durante el año de 2003.	55
9	Variación estacional de la prueba de corte Warner-Bratzler en músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela BC México durante el año de 2003.....	57
10	Variación estacional del perfil de textura en músculo abductor fresco de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivada en Laguna Manuela BC, México durante el año 2003.....	58
11	Variación estacional en el contenido de colágeno en músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivada en Laguna Manuela BC México, durante el año 2003....	59
12	Variación estacional del área de cobertura de las fibras musculares de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) cultivada en Laguna Manuela BC México, en cortes histológicos seccionados transversalmente y amplificadas a 1000×.....	63
13	Variación estacional del pH y de la capacidad de retención de agua (CRA%) en el músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) descongelado (Control), y reestructurado con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT).	66

14	Variación estacional de los parámetros de color L*, a*, b*, ángulo de matiz (H° _{ab}), cromaticidad, e índice de blancura de la materia prima (Control) y de los productos reestructurados con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT), en músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela durante 2003.....	68
15	Variación estacional de la composición química proximal de la materia prima (Control), y de los productos reestructurados con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT), en músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>), cultivada en Laguna Manuela durante 2003.....	71
16	Variación estacional en la actividad proteolítica total en músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) utilizado como materia prima para la elaboración de productos reestructurados.....	72
17	Índice de rendimiento muscular e índice gonadosomático de la almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) y almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>) cultivadas en Rancho Bueno, B.C.S. durante 2002.....	81
18	Variación estacional en el pH y en la composición química proximal del músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) y almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>) cultivadas en Rancho Bueno, B.C.S., México.....	82
19	Capacidad de retención de agua del músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) y de almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>) descongelado (control), y reestructurado con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT).	83
20	Parámetros de color L*, a*, b*, ángulo de matiz (H° _{ab}), cromaticidad (C), e índice de blancura en la materia prima (Control) y en los productos reestructurados con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT), de músculo abductor de almeja mano de león (<i>Nodipecten subnodosus</i>) y almeja catarina (<i>Argopecten ventricosus</i>), cultivadas en Rancho Bueno, B.C.S. durante 2002.....	84

ABREVIATURAS

a*= Parámetro colorimétrico rojo-verde.

AOAC= Association of Official Analytical Chemists.

b*= Parámetro colorimétrico amarillo-azul.

C*= Cromaticidad.

CIAD= Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo

CRA: Capacidad de retención de agua.

CT: Caseinato-Transglutaminasa.

FNA: Food needs assesement.

FT: Fibrinógeno-Trombina.

HE: Hematoxilina y eosina.

H°_{ab}= Ángulo de matíz.

HPLC= High performance liquid chromatography (Cromatografía líquida de alta resolución)

IG: Índice gonadosomático.

IRM: Índice de rendimiento muscular.

JPEG: Joint photographic experts group (Grupo de expertos fotográficos)

kgf: Kilogramos fuerza.

L*= Luminosidad.

mg: Miligramos.

μL= Microlitros

μm: Micrómetros

mm= Milímetros

MTGasa: Transglutaminasa microbiana.

NBD= Nitrobenzofurazan

nm= Nanómetros.

OPA: Orthophthalaldehyde.

TCA= Ácido tricloroacético.

Tm= Toneladas métricas.

1. INTRODUCCIÓN

Las almejas mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y catarina (*Argopecten ventricosus*) son las especies de moluscos pectínidos nativas de México, que poseen potencialidad de ser cultivadas y una elevada importancia económica. El valor de estas especies radica en el músculo abductor que constituye la principal fracción comestible (Ocaño-Higuera, 1999). En los mercados de pectínidos, los músculos se clasifican en diferentes categorías dependiendo del número de piezas por unidad de peso (lb ó Kg). Los precios por cada categoría son mas altos entre menor sea el número de piezas por unidad de peso (Pacheco-Aguilar et al., 2001). Existen pectínidos de rápido crecimiento pero de vida corta (≈ 1.5 años) como la almeja catarina, que producen músculos pequeños de 5-8g, mientras que hay otras de vida larga (>5 años) como la almeja mano de león, cuyos músculos llegan a pesar 250g. En 1994, la empresa Cultivos Técnicos del Mar Sudcaliforniano SA de CV produjo 25 ton métricas de músculos de almeja catarina cultivada en Rancho Bueno BCS, con una tecnología patentada por el CIBNOR (Maeda y Ormart 1995; Maeda-Martínez et al., 2000).

Antes de ese año, el precio en EE.UU. del músculo abductor calibre 80-100/lb era superior a 8 dólares norteamericanos por Kg, pero debido a la importación masiva de músculos de *Argopecten irradians* provenientes de China al mercado norteamericano (a donde exporta México), el precio cayó a la mitad (Anónimo, 2001). Esto eliminó los márgenes de rentabilidad y en consecuencia, el cultivo fue abandonado. Ante esta situación, se requieren alternativas para aumentar el precio del producto y una de ellas es ponerle valor agregado para diversificar las opciones y segmentos de mercado.

Otra alternativa sería producir una especie de mayor tamaño como la almeja mano de león, cuyos músculos alcanzan categorías superiores con precios mas elevados. Actualmente ya se están desarrollando cultivos comerciales en Laguna Manuela y en Laguna Guerrero Negro, y existe la factibilidad de hacerlo en otros cuerpos de agua como Bahía Magdalena (Koch et al., 2005). La fase de cultivo mas costosa en el cultivo de moluscos es la engorda, debido al alto costo de las artes de cultivo, su mantenimiento y la baja densidad de organismos que se emplea para su óptimo desarrollo. Sin embargo, en los dos primeros sitios está ocurriendo una situación peculiar, en donde la presión de depredación es tan baja o nula, que la fase final de la engorda se realiza liberando los organismos al fondo una vez que han alcanzado 4-5 cm de altura de la concha. Por consiguiente, la engorda está resultando poco costosa y los márgenes de utilidad son muy amplios. Sin embargo, se desconoce si la baja presión de depredación es una situación temporal o permanente, ya que es corta la experiencia con la que se cuenta cultivando esta especie. Los patrones climáticos en Baja California son cambiantes y cíclicos (Lluch-Belda et al., 2003) y es posible que debido a ello estén ocurriendo condiciones que limiten el desarrollo de poblaciones de depredadores. En otros sitios como Bahía Magdalena, es forzoso el uso de artes de cultivo para proteger a los individuos contra los depredadores, independientemente de la talla de las almejas. En la actualidad no existen estudios de factibilidad económica que mencionen el periodo óptimo de cultivo bajo los escenarios mencionados. Mientras tanto, resulta conveniente desarrollar alternativas para dar valor agregado a los músculos a través del desarrollo de productos procesados.

Pacheco-Aguilar et al. (2001), describieron las alternativas existentes para el

procesamiento de pectínidos. Mencionan presentaciones como las conservas, los productos secos, de humedad intermedia, ahumados, marinados, liofilizados y los reestructurados en frío. La reestructuración en frío consiste en “soldar” músculos de pequeño calibre para producir piezas de mayor tamaño sin perder las características del producto original (Fisher, 1999), y de esa forma lograr acceder a categorías superiores en el mercado. El reestructurado en frío se realiza con sistemas enzimáticos que no requieren calentar la materia prima, lo cual es fundamental en músculos de pectínidos por su alto contenido de humedad (>70%). Sin embargo al plantear la reestructuración como una alternativa de reducción de costos de cultivo es necesario tomar en cuenta que la calidad de los músculos abductores utilizados como materia prima así como la eficiencia de los sistemas de adhesión pueden ser variables en función de la condición fisiológica de los organismos y de la especie. Existen antecedentes de que los pectínidos presentan variaciones significativas en su composición en diferentes estaciones del año (Pazos et al., 1996; Racotta et al., 1998; Hayashi y Kishimura. 1991; Pollero et al., 1979; Ansell, 1974; Acosta y Román, 1991; Thompson et al., 1990; Epp et al., 1988; Martínez, 1991; Arellano-Martínez et al., 2003) lo cual ha sido asociado al efecto de la migración de energía con fines reproductivos (Mathieu y Lubet, 1993). Por lo tanto habría de esperarse que los atributos de calidad del músculo abductor natural así como de los productos reestructurados resultantes reflejen esas variaciones. Los únicos estudios sobre reestructurado de músculos de pectínidos fueron realizados por Fisher (1999) y Suklim et al. (2004), y en ellos no se relacionan las características físicas y bioquímicas del músculo abductor con la calidad de los reestructurados. Tampoco existen antecedentes sobre la relación entre la variación estacional en la condición fisiológica de los organismos con los atributos de calidad del

músculo abductor fresco o reestructurado.

En el presente trabajo se estudió la variabilidad estacional en la calidad del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), y su efecto en la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío. Además se comparó la eficiencia de estos sistemas de reestructurado, en músculos de almeja mano de león vs. almeja catarina (*Argopecten ventricosus*). Para ello se realizaron tres experimentos: En el primer experimento se determinó la relación entre la condición fisiológica antemortem de la almeja mano de león y la calidad del músculo abductor, en función de las variables ambientales temperatura y concentración de clorofila *a* en las diferentes estaciones del año. En el segundo experimento se evaluó la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío (caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina) en músculos de *N. subnodosus* preservados por congelación, provenientes de los mismos grupos de organismos del experimento anterior. Finalmente en el tercer experimento se comparó la eficiencia de los métodos de reestructuración ensayados, en músculos de almeja mano de león y de almeja catarina, independientemente de la estación del año.

2. ANTECEDENTES

En esta sección se presentan los antecedentes bibliográficos relevantes a los temas de este trabajo incluyendo, la información sobre las especies de pectínidos estudiadas, su producción y cultivo en nuestro país, los métodos de reestructurado en frío y su aplicación en músculos de pectínidos, y el conocimiento sobre los factores que definen la calidad comestible de un músculo abductor natural y reestructurado, incluyendo las propiedades

sensoriales (color, apariencia general, textura, sabor, aroma,) composición química, , pH, capacidad de retención de agua y la estructura muscular.

2.1 Moluscos pectínidos.

Los pectínidos son moluscos bivalvos marinos que presentan dos conchas de forma aproximadamente circular y dos protuberancias cerca de la charnela comúnmente conocidas como lóbulos auriculares. Las valvas presentan una serie de costillas que se despliegan en abanico desde la charnela, acompañadas de numerosas estrías finas y concéntricas (Dore, 1991). Existen descripciones muy completas que abordan aspectos de la biología y el cultivo de pectínidos a nivel mundial (Shumway, 1991), y a nivel Iberoamérica (Maeda-Martínez, 2001) en donde se incluyen las especies de este trabajo.

2.1.1 Producción y cultivo de moluscos pectínidos en México.

La almeja catarina y la almeja mano de león son las dos especies de pectínidos de mayor importancia comercial en México. De acuerdo con las estadísticas de producción de almejas en general registradas de 1966 al 2001, la almeja catarina representó el 54.5 % de la captura total, seguida por la almeja mano de león con un 11.1% (Carta Nacional Pesquera, 2004). Según la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), actualmente existen once unidades de producción de moluscos pectínidos, dos en el estado de Baja California, seis en Baja California Sur y tres en Sonora. Los cultivos se realizan en suspensión o en fondo. En los sistemas en suspensión se utiliza una línea madre (long-line) de donde se suspenden las artes de cultivo como linternas japonesas ó canastas Nestier y en los cultivos en el fondo se emplean sistemas

acondicionados (Carta Nacional Pesquera, 2004). En el 2002 se reporta una producción de 4.97 toneladas de músculos de almeja mano de león cultivada en los estados de B.C. y B.C.S., mientras que para almeja catarina, la producción fue de 7 toneladas (Carta Nacional Pesquera, 2004).

2.1.2 Almeja mano de león

La almeja mano de león (Figura 1) es una de las especies de pectínidos de mayor tamaño en el mundo. Su distribución geográfica se localiza desde Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, hasta las costas de Perú (Peña, 2001), aunque prospecciones recientes del Instituto Nacional de la Pesca, revelan que también se encuentra incluso mas al norte de Laguna Ojo de Liebre, en la Laguna de Guerrero Negro, y en el litoral del Golfo de California, desde la Isla Ángel de la Guarda, hasta la Isla Espíritu Santo. Esta especie habita en lagunas, bahías y canales con una profundidad mayor a los 6 m y con fuertes corrientes (Keen, 1971). En la Figura 2 se muestra la localización de los sitios de explotación, las granjas de cultivo y los sitios potenciales de cultivo en el noroeste de México.



Figura 1. Morfología externa de la concha de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*).

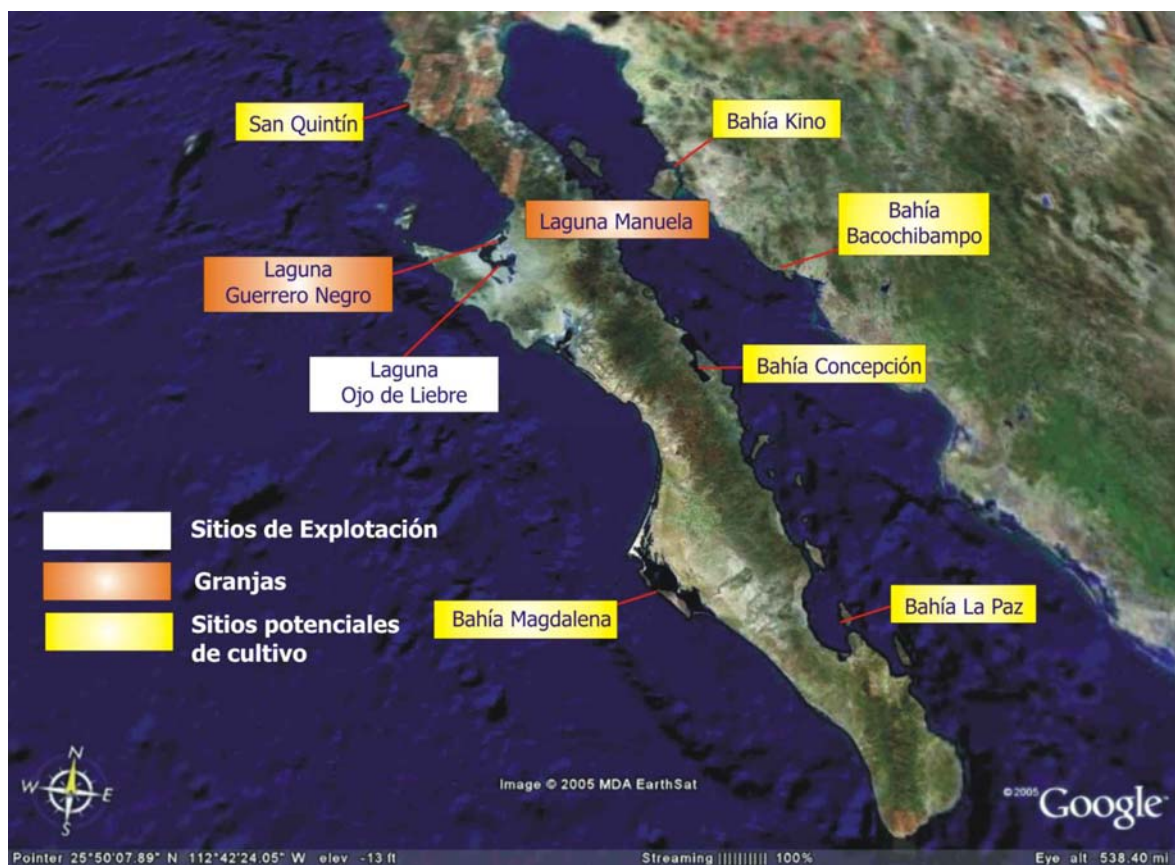


Figura 2. Sitios de explotación, granjas y sitios potenciales de cultivo de almeja mano de león, en el noroeste de México.

2.1.3 Almeja catarina

La almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) (Figura 3) es un pectínido hermafrodita funcional que se distribuye desde California EE.UU. hasta Perú. La pesquería de la almeja catarina es una de las más importantes en el estado de Baja California Sur, ya que en algunos años (1989 y 1990), se han llegado a producir hasta 2,500 tm de músculos (Maeda-Martínez et al., 1993).

Esta especie ha sido objeto de múltiples estudios científicos (Maeda-Martínez, 2001) y ya se cuenta con una tecnología de cultivo probada a nivel comercial (Maeda-

Martínez et al., 2000). La explotación de la almeja catarina está regulada por la norma oficial mexicana NOM-004-PESC-1993 donde se establece talla mínima de captura por zona en la Península de Baja California, y determina la forma para autorizar las cuotas de captura y esfuerzo. Se determina una veda del 15 de diciembre al 31 de marzo (Carta Nacional Pesquera, 2004).



Figura 3. Morfología externa de la concha de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*)

2.2 Productos reestructurados

La reestructuración de alimentos es el proceso mediante el cual, piezas de materia prima en su forma original o sometida a un proceso de troceado o molido, se unen entre sí para formar una pieza con la forma y características del producto original pero de mayor tamaño (Fisher, 1999). Los sistemas más comunes utilizados en la elaboración de productos reestructurados, son materiales que fijan o unen bajo tratamiento térmico. El mecanismo básico de estos sistemas involucra la incorporación de sales y/o fosfatos los cuales solubilizan parcialmente las proteínas miofibrilares. Estas proteínas al ser calentadas, forman una matriz de gel a través de interacción proteína-proteína la cual actúa

como “pegamento” dando como resultado la unión de las partículas de carne (Schmidt et al., 1981). Los productos sometidos a tratamiento térmico, adquieren un color, sabor y textura distintos al del producto fresco. Por lo tanto, cuando se desea producir un alimento reestructurado con características similares al producto fresco, existe la alternativa de utilizar agentes de unión que gelifiquen a baja temperatura. Cuando se hace uso de esos agentes, el proceso recibe el nombre de reestructuración en frío. Actualmente se producen en EE.UU. músculos de pectínidos reestructurados conocidos como “scallop medallions”, mediante la tecnología de reestructuración en frío (Fisher, 1999). Estos productos han sido elaborados con alginatos (Suklim, 2004), caseinato y transglutaminasa microbiana y fibrinógeno y trombina (Fisher, 1999). Los dos últimos son sistemas enzimáticos que promueven reacciones de entrecruzamiento en las proteínas, formando una red que sirve como sustrato de unión entre las diferentes piezas de materia prima. En base a la literatura, los dos sistemas enzimáticos son los que han dado resultados más prometedores y por lo tanto han sido seleccionados para el presente trabajo.

2.2.1 Sistema Caseinato-Transglutaminasa

La enzima transglutaminasa (EC 2.3.2.13) promueve reacciones de entrecruzamiento inter e intramolecularmente en las proteínas. Esta enzima cataliza la reacción de transferencia de un grupo acilo en el cual el grupo γ carboxiamida de los residuos de glutamina unidos a proteínas, actúan como los donadores de los grupos acilo. Cuando los grupos aceptores son grupos ϵ amino de residuos de lisina unidos a la proteína, ocurre el entrecruzamiento de proteínas a través de enlaces ϵ -(γ -glutamin) lisina (Matheis y Whitaker, 1987) (Figura 4).

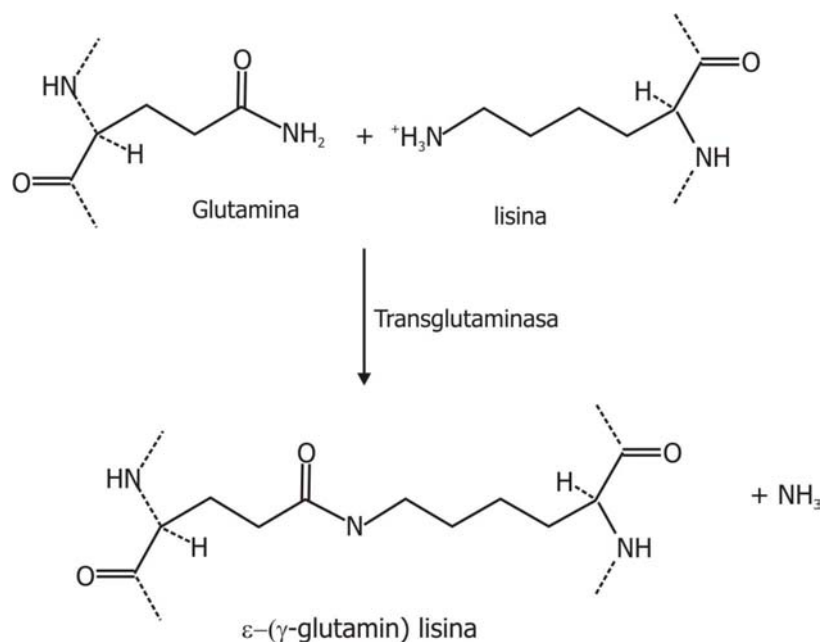


Figura 4. Entrecruzamiento de proteínas catalizada por acción de la enzima transglutaminasa

La enzima transglutaminasa ha sido aislada de varias especies incluyendo mamíferos, aves, peces, moluscos, microorganismos y plantas (Ashie y Lanier, 2000). El uso de la transglutaminasa con fines de modificación de las propiedades funcionales de las proteínas alimenticias han sido previamente estudiadas en surimi (Sakamoto et al., 1995; Kumazawa et al., 1995; Jiang et al., 1998), en geles de proteínas extraídas de peces (Tsukamasa et al., 1993; Joseph et al., 1994; Tsai et al., 1996; Lee et al., 1997a; Lee et al., 1997b, Ni et al., 1998; Ni et al., 1999), en geles de músculo de calamar (Pérez-Mateos et al., 2004), cereales (Tseng y Lai, 2002), proteínas lácteas (Liu y Damodaran, 1999; Nonaka et al., 1992), proteínas del músculo de pollo (Ruiz-Carrascal y Regenstein, 2002), así como en caseinato de sodio, gelatina, globulinas y albuminas de huevo (Sakamoto et al., 1994). Dentro de los diferentes tipos de transglutaminasa existe una preferencia por el uso de la

transglutaminasa microbiana (MTGasa) derivada del *Streptovercillium mobaraense* ya que la enzima es secretada en el caldo de cultivo y su purificación es relativamente fácil para su producción a escala comercial (Dickinson, 1997). Por otra parte, ésta transglutaminasa presenta actividad en un amplio rango de temperatura (2 a 60° C) y de pH (5 a 8), y a diferencia de otras transglutaminasas, es independiente del calcio (Pszczola, 1999) lo cual simplifica los procesos en los cuales se utiliza esta enzima. Actualmente existen en el mercado algunos sistemas enzimáticos grado alimenticio, las cuales contienen además de la enzima, caseinato de sodio ó caseína así como agentes surfactantes (Kawasaki et al., 1996). Al mezclar la transglutaminasa microbiana con el caseinato de sodio, se produce un gel viscoso que actúa como “pegamento” de músculo en carnes, pescado y pectínidos (Motoki y Seguro, 1998). La reacción de entrecruzamiento inicia en la caseína, la cual actúa como substrato de gelificación, y posteriormente continúa entre el substrato y las proteínas de la materia prima (Fisher, 1999). Por lo tanto, es posible que la eficiencia del sistema dependa de la condición en la que se encuentre la materia prima. Existen evidencias de que la reacción desarrollada por este sistema depende en mayor medida de la conformación del substrato que la de la enzima (Dickinson, 1997; Ashie y Lanier, 2000).

2.2.2 Sistema Fibrinógeno-Trombina.

La trombina (EC 3.4.21.5) es una serin proteinasa involucrada en la etapa final del proceso de coagulación sanguíneo. La trombina promueve el rompimiento de 4-arginil-glicil en el fibrinógeno para producir monómeros de fibrina, la cual espontáneamente

polimeriza para formar una red insoluble de moléculas de fibrina polimerizadas (Blombäk y Laurent, 1958) (Figura 5).

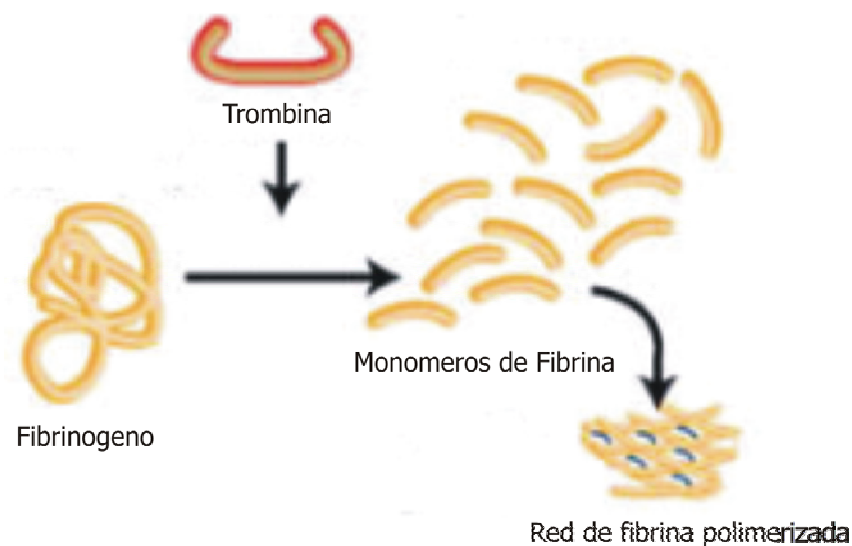


Figura 5. Secuencia de la formación de la red de fibrina a partir de fibrinógeno según Blombäk y Laurent, (1958).

En 1996, el Food Needs Assesement (FNA) desarrolló un sistema de reestructurado en frío que se comercializa con el nombre de Fibrimex™. Este sistema emplea fibrinógeno y trombina extraídos de las proteínas del plasma bovino, el cual se comercializa congelado. El producto se descongela justo antes de su utilización y al mezclarlo, forma un gel adhesivo el cual se forma bajo el mismo proceso de coagulación de las proteínas sanguíneas (Yoon et al., 1999). La mezcla Fibrimex es clasificada dentro de la categoría de aditivos “estabilizadores”, los cuales son sustancias que conservan el

estado fisicoquímico de un alimento mientras ocurren reacciones de entrecruzamiento de las proteínas. Esto permite la unión de las piezas de alimento buscadas (Anónimo, 2005^a).

2.3. Factores relacionados con la calidad del músculo abductor natural y reestructurado.

Los atributos más importantes del músculo abductor como producto comestible, son la composición química, pH, capacidad de retención de agua, las propiedades sensoriales de color, sabor, aroma, apariencia general y textura, y la estructura muscular. Estos atributos están relacionados entre sí en mayor o menor grado, y su interacción determina la calidad del músculo. Por lo tanto, estos factores no pueden considerarse de manera independiente. Uno de los problemas existentes para obtener productos marinos con calidad constante, es la variación en la calidad de la materia prima derivada de la variabilidad ambiental que afecta la fisiología y bioquímica del animal. Esto se debe a que el tejido muscular responde a los cambios estacionales inducidos principalmente por la reproducción, la temperatura y la disponibilidad de alimento (Lee, 1992).

2.3.1 pH

El valor de pH al momento de la muerte del organismo, depende de las condiciones nutricionales y fisiológicas antemortem, del tiempo transcurrido desde la captura, y de la temperatura de almacenamiento (Ruíz-Capillas et al., 2002). El estado nutricional junto con el nivel de estrés y el ejercicio antes de la muerte, modifican la concentración de glucógeno almacenado en el músculo y consecuentemente influyen en el pH postmortem (Massa et al., 2003). El estrés y el ejercicio inducen la glucólisis anaeróbica y en consecuencia ocurre

una caída en el pH (Kiessling et al., 2004; Stien et al., 2005), y el incremento en la concentración de octopinas (Hiltz y Dyer, 1971) y en menor grado de ácido láctico (Kawashima y Yamanaka, 1995).

2.3.2 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) es una de las propiedades funcionales más importantes del músculo como producto comestible. Se define como la capacidad del músculo para retener agua cuando se somete a factores externos como corte, presión, centrifugación y cocimiento. La CRA depende del pH, ya que a medida en que éste disminuye, se reduce la carga neta de la superficie de las proteínas musculares causando su desnaturalización parcial (Hamm, 1986), y disminuye su capacidad de enlazar agua (Huss, 1999; Ashie et al., 1996). La pérdida de agua tiene una gran importancia económica, ya que económicamente es equivalente a la pérdida de carne. Por otra parte, la pérdida de agua durante el almacenamiento, produce la acumulación de agua con nutrientes solubles en el empaque, afectando negativamente la apariencia del producto y su aceptabilidad. Además reduce su valor nutritivo por la pérdida de los nutrientes solubles que se pierden en los fluidos exudados. Finalmente la capacidad de retención de agua es importante en la textura de la carne, ya que mayores contenidos de agua reducen su fuerza mecánica (Foegeding et al., 1996).

2.3.3 Color

El color de los alimentos, es uno de los principales atributos de importancia comercial debido a que es de las primeras características que el consumidor percibe. El

color puede ser evaluado de manera objetiva ya sea mediante el uso de espectrofotómetros que miden la absorbancia a una longitud de onda específica, o bien mediante el uso de colorímetros que utilizan el método de triestímulo de manera similar a lo que ocurre en el ojo humano (Kuntz,1995). Las bases de la colorimetría fueron establecidas por la CIE (Comisión Internationale de l'Éclairage) en 1931. La escala de color CIE, 1976 (L^* , a^* , b^*) conocida también como CIELAB (Figura 6), se basa en la teoría de la percepción de colores opuestos que establece que un color no puede ser verde y rojo, ni azul y amarillo al mismo tiempo. La escala CIELAB incluye los parámetros L^* , a^* y b^* . El parámetro L^* indica la luminosidad, la cual varía desde negro ($L^*=0$ ó 0% de luz reflejada) a blanco ($L^*=100$ ó 100% de luz reflejada). Por otra parte, a^* representa un cambio de rojo ($+a^*$) a verde ($-a^*$) y b^* , un el cambio de amarillo ($+b^*$) a azul ($-b^*$). Para una descripción mas completa del color, se deben analizar dos parámetros adicionales que son, el ángulo de matiz (H°_{ab}) que indica el tono, matiz ó color predominante, y la cromaticidad (C^*) también llamada saturación, la cual indica la relación con la proporción del color puro. Estos dos parámetros están íntimamente relacionados con a^* y b^* . La C^* es igual a cero en el centro del espacio de color 3D, y se incrementa hacia el exterior de la circunferencia. El ángulo de matiz de 0° será $= +a^*$ (rojo), $90^\circ = +b^*$ (amarillo), $180^\circ = -a^*$ (verde) y $270^\circ = -b^*$ (azul) (Kowalisky, 1978).

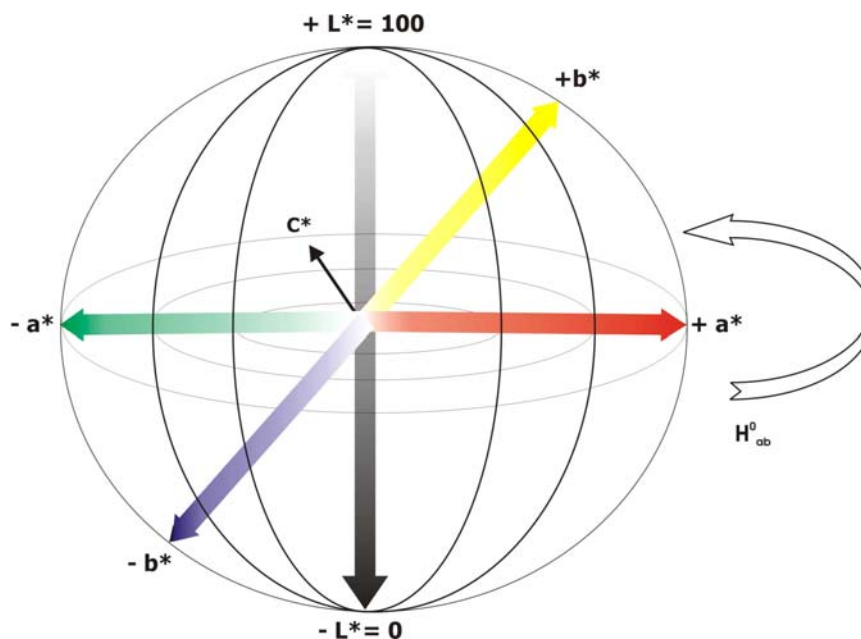


Figura 6. Espacio de color CIELAB. L^* = luminosidad, $+a^*$ =rojo, $-a^*$ =verde, $+b^*$ =amarillo, $-b^*$ =azul, C^* = cromaticidad, H_{ab}° = ángulo de matiz.

2.3.4 Composición química proximal

La composición química del músculo abductor de pectínidos al igual que la del resto de los productos marinos, determina su calidad desde el punto de vista nutritivo y sensorial. Dore (1991) reporta una composición proximal promedio de 16.78% de proteínas, 0.76 % de lípidos y 2.36 % de carbohidratos en músculo abductor de varias especies de pectínidos, por lo que se consideran como una fuente importante de nutrientes. El contenido de carbohidratos y en particular de glucógeno, influye sobre la calidad del músculo porque dependiendo de su concentración se modifica el pH, el cual a su vez interviene en la textura, capacidad de retención de agua, crecimiento bacteriano y color (Foegeding et al. 1996). Por otra parte, el contenido de humedad influye directamente

sobre la textura del músculo, ya que ésta será mas suave entre mayor sea el contenido de humedad (Dunajski . 1979).

2.3.5 Textura

La textura es un parámetro de importancia variable dependiendo del tipo de alimento. Esta importancia es clasificada como crítica, importante o de importancia menor. La textura es crítica cuando se trata de carnes, cereales de desayuno, apio; es importante en la mayoría de las frutas, vegetales, quesos y pan, y de importancia menor en la mayoría de las bebidas y algunas sopas de consistencia ligera (Bourne, 2002). De acuerdo con el criterio anterior, la textura es crítica en los músculos de pectínidos. La textura percibida en el músculo inmediatamente después del sacrificio, es altamente dependiente de factores como la especie, edad, tamaño y composición química. Sin embargo, en una misma especie la textura posmortem experimenta cambios en función de factores como pH, temperatura de manejo y la actividad proteolítica sobre proteínas miofibrilares y tejido conectivo (Andersen et al., 1997). En términos generales la composición química y la estructura muscular han sido considerados como los principales factores que influyen sobre la textura del músculo (Dunajski, 1979). La prueba de corte Warner-Bratzler (WB) utilizada como método objetivo de evaluación de textura, ofrece información sobre la fuerza máxima alcanzada para el corte completo de una muestra. Con este método se intenta simular la primera sensación que experimenta el consumidor al momento de morder y cortar el alimento (Bourne, 2002). Por otra parte, el análisis de perfil de textura determina las propiedades relacionadas con el proceso de masticación, simulando el esfuerzo de la mandíbula al morder (Bourne, 2002). Mediante este análisis, se obtienen los parámetros de

dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, gomosidad y adhesividad. De acuerdo con Szczesniak (1963), la dureza representa la fuerza necesaria para conseguir en el material una deformación dada. La cohesividad representa la fuerza de las uniones internas de un material para construir el cuerpo de un producto. La elasticidad es determinada por la velocidad a la cual un material deformado, regresa a su condición inicial cuando la fuerza es removida. La masticabilidad es la cantidad de trabajo requerido para masticar un alimento hasta el punto en el cual esté listo para ser digerido. La gomosidad representa la energía requerida para desintegrar un alimento semisólido hasta el punto en el cual esté listo para ser digerido y finalmente, la adhesividad es la fuerza necesaria para contrarrestar las fuerzas de atracción entre un material y la superficie con la cual está en contacto.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Estudiar la variabilidad estacional en la calidad del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), y su efecto en la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío. Comparar la eficiencia de estos sistemas de reestructurado en frío, en músculos de almeja mano de león vs. almeja catarina (*Argopecten ventricosus*).

3.2 Objetivos específicos

- 3.2.1 Estudiar las variaciones de temperatura y concentración de clorofila *a* en Laguna Manuela, B.C. durante un ciclo anual.
- 3.2.2 Determinar las variaciones estacionales en la calidad del músculo abductor fresco de *N. subnodosus* durante un ciclo anual, en función de las variables ambientales estudiadas.
- 3.2.3 Evaluar la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío (caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina), en músculos de *N. subnodosus* preservados por congelación, en las cuatro estaciones del año.
- 3.2.4 Comparar la eficiencia de los dos sistemas de reestructurado en frío en músculos de *N. subnodosus* y de *A. ventricosus*.

4. HIPÓTESIS

Hipótesis 1. El estado fisiológico antemortem de la almeja mano de león resultado de las condiciones de temperatura y alimento prevalecientes en el sitio de cultivo, determinará los atributos de calidad del músculo abductor y afectará la eficiencia de los sistemas de reestructurado en frío.

Hipótesis 2. La eficiencia de los sistemas de reestructurado en frío, es específica para cada especie de molusco.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Planteamiento de los experimentos

En el presente trabajo se realizaron tres experimentos para cubrir los objetivos particulares propuestos. En el primer experimento se planteó determinar la relación entre la condición fisiológica antemortem de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* y la calidad del músculo abductor, en función de las variables ambientales temperatura y concentración de clorofila *a* en las diferentes estaciones del año. Para ello se optó por un diseño aleatorio de un factor (efecto) con cuatro niveles, en donde el efecto fue la estación y los niveles correspondieron a los cuatro muestreos realizados: enero (invierno), abril (primavera), septiembre (verano) y noviembre (otoño). Para determinar la condición fisiológica antemortem se midieron los índices de condición muscular y gonádico, y el contenido de glucógeno en músculo. Debido a que ambos índices y el contenido de glucógeno dependen del ciclo reproductivo de los organismos (Reineke-Reyes, 1996; Racotta et al, 2003; Arellano-Martínez, 2005), se realizó un estudio histológico confirmativo del desarrollo gonádico. Para evaluar la calidad del músculo como producto comestible, se determinó el pH de la superficie, la capacidad de retención de agua, color, composición química proximal, textura, contenido de aminoácidos libres, contenido de colágeno y la estructura histológica del músculo abductor. Los resultados se relacionaron con valores de temperatura y concentración de clorofila *a*, que se obtuvieron de un monitoreo continuo de temperatura y de determinaciones quincenales de ese pigmento, realizado en el sitio de cultivo en Laguna Manuela, B.C.

En el segundo experimento se evaluó la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío (caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina) en músculos de *N. subnodosus* preservados por congelación, provenientes de los mismos grupos de organismos del experimento anterior. Para ello, primeramente se descongelaron las muestras de músculo y en una muestra de 10 músculos abductores se analizó el pH, por otra parte por triplicado se seleccionó una mezcla de 30 músculos abductores para el análisis químico proximal y para la determinación de actividad proteolítica total. Posteriormente se aplicó el método de reestructuración empleando caseinato de sodio y transglutaminasa microbiana ó fibrinógeno y trombina. En ambos casos se prepararon lotes por triplicado para cada combinación de método y fecha de muestreo. La eficiencia de los métodos de reestructuración se evaluó midiendo el pH de superficie, la capacidad de retención de agua, color, composición química proximal y textura, usando como controles músculos descongelados no tratados de los mismos lotes.

Finalmente, en el tercer experimento se pretendió conocer si la eficiencia de los métodos de reestructuración ensayados, variaban de acuerdo a la especie de molusco, independientemente de la estación del año. Para ello, se determinó primeramente la condición fisiológica de los pectínidos *N. subnodosus* y almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) cosechados en Octubre 2002 en el estero Rancho Bueno, B.C.S., midiendo los índices de condición muscular y gonádica. Luego los músculos se congelaron y posteriormente fueron descongelados. Una muestra de 10 músculos abductores descongelados de cada especie fue utilizada para la evaluación del pH, mientras que la evaluación química proximal fue realizada por triplicado en una muestra de 30 músculos abductores por especie. Los productos reestructurados fueron preparados aplicando los dos

métodos ensayados anteriormente. Después, se evaluó la calidad de los reestructurados y de músculos descongelados sin tratar (controles), midiendo, la capacidad de retención de agua, el color, y la textura. Finalmente, se estudió la microestructura de las matrices de unión y las zonas de unión de los reestructurados, como un apoyo en la interpretación de los resultados de las evaluaciones instrumentales de textura. A continuación se describen los métodos empleados.

5.2 Sitios de cultivo y organismos experimentales

Los ejemplares de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) empleados en los experimentos 1 y 2 del presente trabajo fueron producidos en el laboratorio de la empresa Marimex SA de CV en Bahía Kino Son. Los juveniles fueron preengordados en suspensión en canastas Nestier (Avendaño et al. 2001) y posteriormente engordados en costales de polietileno de alta densidad de 0.5 m², fijados sobre camas metálicas en la zona submareal de Laguna Manuela BC (Figura 7) (28°07'N: 114°04'W). Aproximadamente novecientos ejemplares de talla similar (66.3 ± 6.9 mm de altura de la concha) fueron recolectados de las bolsas en cada estación del año: invierno (23 enero 2003), primavera (10 de abril 2003), verano (17 de septiembre 2003) y otoño (13 de noviembre 2003). Treinta de estos ejemplares se emplearon para determinar los índices de rendimiento muscular y gonadosomático, el estadio de madurez reproductiva, el pH de la superficie del músculo, la estructura muscular (microestructura), y el contenido de glucógeno y de aminoácidos libres. Para ello, los organismos fueron transportados en una hielera con agua de mar al laboratorio del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) unidad

Guerrero Negro en un viaje que duró 35 min aproximadamente. Al llegar al laboratorio se procedió a realizar las disecciones correspondientes para la obtención de los índices de rendimiento muscular y gonadosomático, analizando al mismo tiempo el pH del músculo abductor así como fijando las porciones correspondientes de gónada y músculo para posterior análisis histológico. De igual forma fueron obtenidas porciones de músculo abductor los cuales fueron colocados en tubos Eppendorf y congelados en nitrógeno líquido para posterior análisis de glucógeno y aminoácidos libres. Otros treinta ejemplares fueron disecados para las determinaciones de textura, color y capacidad de retención de agua. Los músculos fueron lavados con agua potable fría para eliminar residuos de vísceras, escurridos, empacados en bolsas de polietileno, enhielados, y enviados por avión al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) de la ciudad de Hermosillo, Son. Los análisis se hicieron en el laboratorio de productos pesqueros de esa institución en un tiempo de aproximadamente 24 h posteriores a la disección de los organismos. Los músculos del resto de los organismos fueron divididos de manera aleatoria en tres lotes de aproximadamente 20 músculos cada uno, congelados en nitrógeno líquido y almacenados a $- 80^{\circ} \text{C}$ para su posterior análisis de composición química proximal y contenido de colágeno.

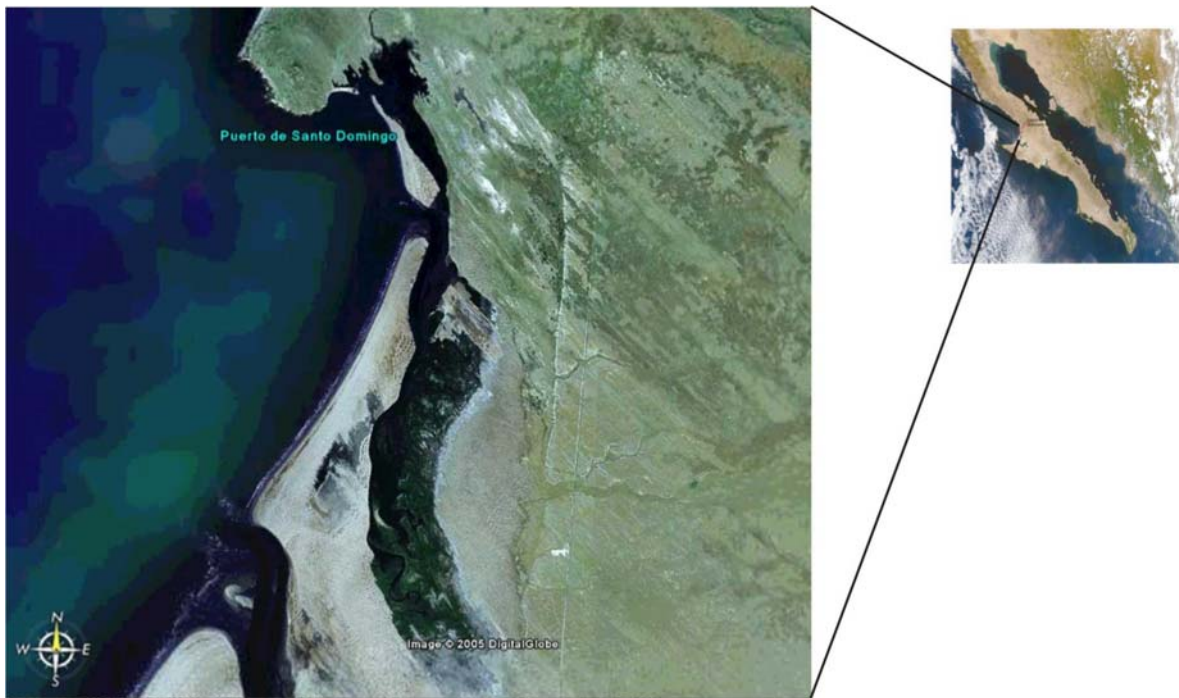


Figura 7. Fotografía satelital de Laguna Manuela BC, México.

Los 780 organismos restantes fueron empleados para el segundo experimento sobre reestructuración de músculos con dos sistemas de soldado en frío. Los organismos fueron desconchados en campo en donde se obtuvo el músculo abductor, el cual fue lavado con agua potable fría, escurrido, empacado en bolsas de polietileno y enhielado utilizando capas alternadas de hielo y músculos. Las muestras fueron transportadas al laboratorio del CIBNOR unidad Guerrero Negro, en donde se congelaron en nitrógeno líquido dentro de bolsas de polietileno, una vez que fueron separadas en lotes de aproximadamente 300 g. Posteriormente las muestras fueron transportadas al laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos del CIBNOR en La Paz BCS, en donde fueron almacenadas a -80

°C, hasta que fueron usadas. Los reestructurados se prepararon en el Taller de Procesos de Alimentos Marinos de la Universidad Autónoma de Baja California Sur.

En el tercer experimento, se emplearon músculos de almeja mano de león y de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) de aproximadamente 8 meses de edad, cultivados en el estero Rancho Bueno, B.C.S. por la empresa Cultivos Técnicos del Mar Sudcaliforniano SA de CV. Este sitio, descrito detalladamente por Maeda-Martínez et al. (2000), es una laguna estrecha de 8 Km de longitud por aproximadamente 1 Km de anchura, localizada al sur de Bahía Magdalena-Almejas (Figura 8) en las coordenadas 24° 20'N; 111° 27'W.

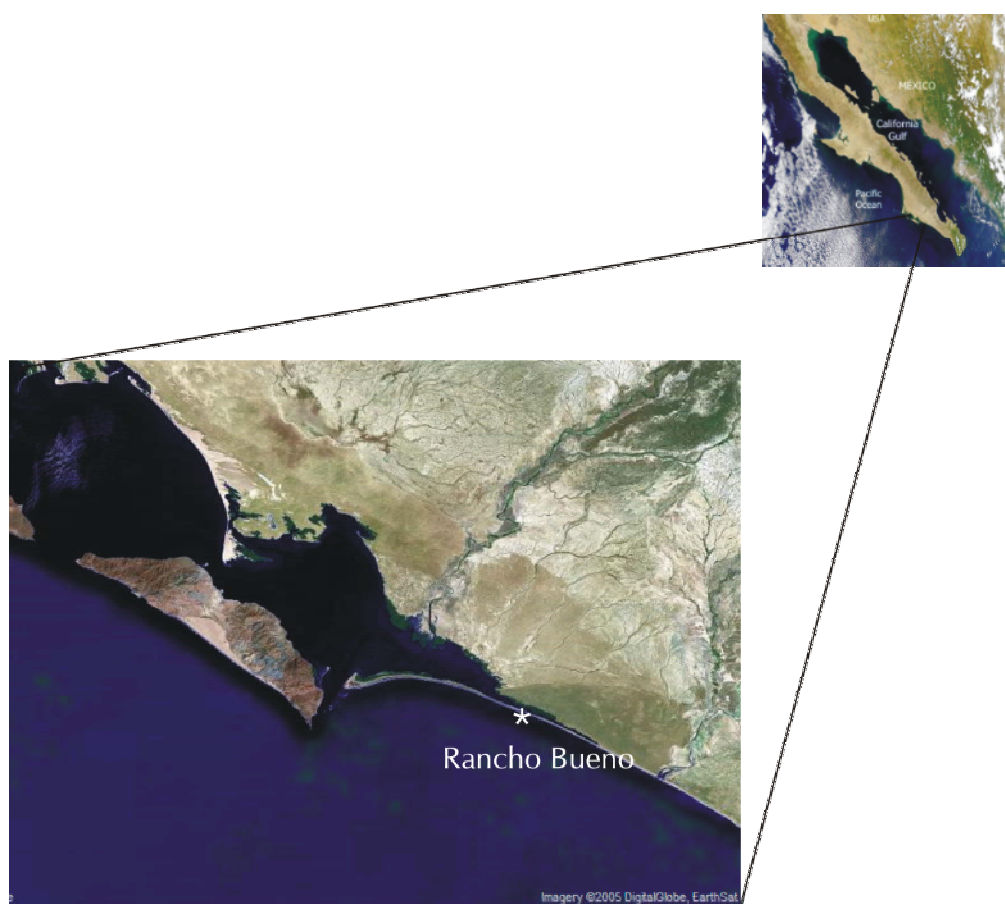


Figura 8. Fotografía satelital de Rancho Bueno BCS, México.

Los juveniles de *N. subnodosus* fueron producidos en el Laboratorio de Moluscos del CIBNOR y los de almeja catarina fueron captados del medio natural. Ambas especies fueron cultivadas en canastas Nestier en suspensión hasta octubre de 2002, cuando alcanzaron 56.9 ± 2.0 mm de altura de la concha en la almeja catarina, y 48.4 ± 5.2 mm en almeja mano de león. Para este experimento se empleó un total de 350 individuos de cada especie, de los cuales, treinta fueron seleccionados al azar y colocados en una hielera con agua de mar para ser transportados al laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos del CIBNOR en aproximadamente 2 h. Estas muestras fueron empleadas para determinar los índices de rendimiento muscular y gonadosomático, los cuales son considerados como buenos indicadores de la condición fisiológica de estos organismos. Los 320 organismos restantes fueron desconchados en el campo y los músculos fueron lavados con agua potable enfriada, escurridos, empacados en bolsas de polietileno, enhielados y transportados al CIBNOR en donde fueron almacenados a -80° C hasta su posterior uso en la preparación de los productos reestructurados.

5.2.1 Registro de temperatura.

Se registró la temperatura del agua en Laguna Manuela durante un año del 12 de diciembre de 2002 al 13 de noviembre de 2003, con un termógrafo digital submarino marca Onset Optic Stow Away® (Onset Computer Corporation, Bourne MA, USA) instalado junto a las camas de cultivo. Este fue programado para registrar la temperatura cada media hora. A partir de los registros obtenidos se calcularon las temperaturas mensuales y estacionales promedio. No se registró la temperatura en el estero Rancho Bueno.

5.2.2 Concentración de clorofila *a*.

Para el análisis de clorofila *a*, se obtuvieron muestras de agua del sitio de cultivo empleando botellas Van Dorn de 2.2 L de capacidad. Aproximadamente un litro de esta agua fue filtrada a través de una membrana de fibra de vidrio, Whatman GF/F, para posteriormente extraer los pigmentos con acetona al 90% durante 24 h de acuerdo con el procedimiento señalado por Strickland y Parsons (1972). Posteriormente se midió la absorbancia del extracto. Los cálculos de la concentración de clorofila *a* se realizaron de acuerdo a las ecuaciones de Jeffrey y Humprey (1975).

5.3 Índices de rendimiento muscular y gonadosomático

Los índices de rendimiento muscular y gonadosomático se determinaron de acuerdo a la metodología descrita por Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez (1996). Treinta organismos fueron disecados y posteriormente los tejidos fueron pesados en una balanza semianalítica marca Mettler (modelo BB240) con una resolución de 0.001 g. Posteriormente se pesaron el músculo abductor y la gónada por separado. Con los datos obtenidos se calculó el índice de rendimiento muscular (IRM) así como el índice gonadosomático (IG) de la siguiente forma:

$$\text{IRM (\%)} = \frac{\text{Peso del músculo abductor}}{\text{Peso total de los tejidos}} \times 100$$

$$\text{IG (\%)} = \frac{\text{Peso de la gónada}}{\text{Peso total de los tejidos}} \times 100$$

5.4 Fases de desarrollo gonádico.

Las fases de desarrollo gonádico de almeja mano de león colectadas en las cuatro estaciones del año en Laguna Manuela, fueron determinadas histológicamente. Para las determinaciones se emplearon veinte de los ejemplares utilizados en los análisis de IRM e IG. Una vez obtenido el peso húmedo, se cortó una sección de la gónada de aproximadamente 3-5 mm de espesor con una navaja de disección. La muestra fue colocada en un tubo Eppendorf de 2 mL, y posteriormente se le agregaron 1.5 mL de solución fijadora de Karnovski refrigerada (4° C). La muestra se mantuvo en el fijador durante 48 h en refrigeración y posteriormente se extrajo la mayor parte del fijador con una jeringa, teniendo cuidado de no dañar el tejido. Para eliminar los residuos de fijador, las muestras fueron sometidas a dos ciclos de lavado de 30 min con la solución de lavado (Karnovsky, 1965). Esta solución fue decantada para posteriormente proceder a deshidratar las muestras progresivamente, colocándolas durante 30 min en soluciones de concentración ascendente de alcohol etílico (30, 50, 70, 80, 90, 96 y 100 % v/v). Posteriormente, las muestras fueron embebidas en parafina y cortadas a 4 µm de espesor con un micrótopo Leica modelo LM2025 (Microsystems, Nussloch, Alemania). Los cortes de gónada fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina (HE) de acuerdo con la metodología descrita por Sheehan y Hrapchak (1973) y montados en laminillas de vidrio para su posterior análisis. Los cortes fueron observados y fotografiados mediante un microscopio compuesto de campo claro marca Olympus modelo BX-41 (Olympus Optical Co., Ltd. Tokio, Japón) equipado con una cámara digital Cool SNAP-Pro™ (Media Cybernetics, Silver Spring Md., U.S.A.), centrando los campos hacia la porción femenina de la gónada. Para definir la fase de

maduración reproductiva de cada gónada, se compararon las imágenes con la escala de madurez descrita por Reineke-Reyes (1996) y Arellano-Martínez (2005) para esta misma especie.

5.5 Contenido de glucógeno

El contenido de glucógeno en músculo, fue determinado por el método de la antrona, descrito por Van Hamdel (1965). Muestras de aproximadamente 0.2 g de tejido provenientes de 10 músculos por estación, fueron pesados en un tubo Eppendorf de 2 mL y posteriormente fueron secados en una liofilizadora Virtis Benchtop ES a $-51\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura y $80\text{ }\mu\text{Bar}$ de presión durante 20 h. Las muestras liofilizadas fueron rehidratadas con 1.5 mL de una solución enfriada de cloruro de sodio al 35%, y homogenizadas en baño de hielo con un homogeneizador Ultra-Turrax T8 (IKA[®] WERKE, GMBH & CO. Staufen Alemania). Posteriormente, las proteínas fueron precipitadas mezclando 200 μL del homogeneizado con 200 μL de ácido tricloroacético (TCA) al 20% para evitar su interferencia en la medición de carbohidratos. La mezcla fue centrifugada a 3600 rpm durante 10 min a 4°C en una centrifuga refrigerada Eppendorf 5810R. Posteriormente se procedió a analizarla por el método de antrona como sigue: Doscientos μL de etanol al 95% fueron añadidos a 100 μL de sobrenadante libre de proteínas para precipitar el glucógeno. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 3600 rpm y el etanol fue eliminado completamente, extrayendo el etanol sobrenadante con una pipeta, y el remanente mediante la evaporación de la muestra en un horno-estufa VWR-Sheldon Manufacturing 1350FM, a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min. Al glucógeno precipitado se le añadieron 100 μL de agua destilada y 1mL de solución de antrona al 0.1% en H_2SO_4 al 72%, y

después se calentó la mezcla a 90°C en baño María durante 5 minutos. Posteriormente se enfrió a temperatura ambiente igualmente en baño María y finalmente se leyó su absorbancia a 620 nm. Para calcular la concentración de glucógeno en la muestra, se preparó una curva estándar con soluciones de concentración conocida de glucógeno dentro del rango de 0.078 a 5.0 mg/mL.

5.6 Preparación de los productos reestructurados

Para la preparación de los productos reestructurados se utilizaron dos métodos de reestructuración en frío, basados en sistemas enzimáticos, los cuales fueron empleados experimentalmente por Fisher (1999) en la reestructuración de músculos de *Argopecten irradians* y *Chlamys farreri*. El primer método se basa en el uso de la enzima transglutaminasa microbiana (MTGasa) (en lo sucesivo CT). Esta enzima entrecruza las moléculas del substrato proteico caseinato de sodio, dando como resultado la formación de un gel adhesivo que permite la unión de piezas musculares. En este estudio, la MTGasa se adquirió como una mezcla comercial llamada Activa TG-TI™ (Ajinomoto, Teaneck, NJ., U.S.A.) a través de Protebases S.A. de C.V., y el caseinato de sodio (EM25) por medio de la empresa Helm de México, S.A. de C.V. El segundo método se basa en la adición de una mezcla de trombina y el substrato proteico fibrinógeno. En este trabajo el sistema Fibrinógeno-Trombina (FT) se adquirió como un producto comercial llamado Fibrimex™ (Harimex, Loenen, Netherlands) distribuido por Harimex, Inc., el cual contiene por separado las soluciones de fibrinógeno y trombina en estado congelado.

Previamente a la preparación de los reestructurados, las muestras de músculo abductor fueron descongeladas durante toda la noche en refrigeración (4° C). Una muestra de 10 músculos fue seleccionada para determinar el pH de la superficie, y una muestra por triplicado de 30 músculos abductores se usó para el análisis químico proximal y la determinación de actividad proteolítica total. Para el reestructurado con el sistema CT, tres muestras de 250 g de músculos fueron mezcladas con 0.5% p/p de Activa TG-TI (actividad de 100 unidades de MTGasa/100g), previamente disuelta en 11 mL de agua y con 1.7% p/p de caseinato de sodio. Los músculos con la mezcla del sistema CT se agitaron manualmente durante un minuto, se empacaron en bolsas de plástico y se sellaron al vacío. Posteriormente se colocaron en moldes de forma cuadrada de 10 × 10 cm y fueron prensadas hasta una altura de 2 cm durante 24 horas en refrigeración (4 °C). Este procedimiento propició las reacciones de entrecruzamiento de proteínas. Los moldes y la prensa fueron diseñados y construidos específicamente para este trabajo en los talleres CIBNOR. Para la reestructuración con el sistema FT, se procedió a descongelar las soluciones de fibrinógeno y trombina en un baño de agua a 26 °C y posteriormente se mezclaron entre ellas en una proporción 20:1 fibrinógeno/trombina. La solución resultante fue mezclada con muestras de músculos de 250 g a razón de 8% v/p, las cuales fueron empacadas y prensadas en moldes de la misma forma que las muestras del tratamiento CT. Una muestra control de 250 g de músculo abductor sin tratar (materia prima), fue empacada y almacenada bajo las mismas condiciones que los productos reestructurados, y fue considerada como un tratamiento mas en los análisis estadísticos.

5.7 Evaluación de la calidad de los músculos frescos y reestructurados

La calidad de los músculos frescos y reestructurados se evaluó comparando los valores de pH de superficie, la capacidad de retención de agua, color, composición química proximal, colágeno, aminoácidos libres, textura y la estructura muscular.

5.7.1 pH de superficie

Se midió el pH de la superficie del músculo abductor fresco, descongelado o reestructurado, con un potenciómetro Hanna TM Modelo HI9025C (Hanna Instruments, Norfolk, Va., U.S.A) equipado con un sensor de superficie plana modelo HI1413. Las mediciones se realizaron colocando el sensor sobre la superficie del músculo.

5.7.2 Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua del músculo abductor fresco, descongelado o reestructurado fue analizada mediante la metodología descrita por Cheng et al. (1979). Muestras de peso conocido (P_i) de aproximadamente 5g de muestra (músculo fresco, músculo congelado-descongelado ó músculo reestructurado) fueron colocadas por cuadruplicado en tubos de centrifugación de 50 mL de capacidad. Las muestras se centrifugaron a $28,000 \times g$ a una temperatura de $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, en una centrífuga refrigerada Beckman Coulter Modelo J2-21 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, Ca, U.S.A.) durante 30 min. El líquido liberado después de la centrifugación, fue decantado y el líquido remanente adherido a la superficie del músculo fue absorbido con papel secante. Después de este procedimiento, las muestras de tejido fueron pesadas nuevamente (P_f) y se procedió a estimar la capacidad de retención de agua (CRA) con la fórmula:

$$\text{CRA (\%)} = 100 - [(\text{Pi}-\text{Pf}) / \text{Pi} \times 100]$$

Una muestra de tres a cuatro músculos fue analizada por cada tratamiento.

5.7.3 Color

El análisis de color del músculo abductor fresco, descongelado o reestructurado se realizó mediante el sistema de colorimetría de triestímulo (Francis y Clydesdale 1975), empleando un colorímetro Minolta™ CR-300 (Konica Minolta Photo Imaging USA, Inc., Mahwah, NJ). El colorímetro fue ajustado en el modo de reflectancia, con una apertura en el puerto de lectura de 0.5 cm. El puerto de lectura se colocó perpendicular a la superficie del músculo abductor y posteriormente se hizo incidir sobre él un haz de luz emitido mediante un “disparo” del equipo. Con este procedimiento se registraron automáticamente los parámetros de color L^* (luminosidad), a^* (matiz rojo-verde) y b^* (matiz amarillo-azul) a partir de los cuales se calculó el ángulo de matiz (H°_{ab}), la cromaticidad y el índice de blancura, utilizando las siguientes fórmulas:

$$H^\circ_{ab} = \text{arc tan } (b/a),$$

$$\text{Cromaticidad} = (a^2 + b^2)^{0.5}$$

$$\text{Índice de blancura} = 100 - [(100-L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5}$$

Las determinaciones se hicieron por cuadruplicado.

5.7.4 Composición química proximal

La evaluación de la composición química proximal de músculos abductores frescos o reestructurados incluyó el contenido de humedad, proteínas, lípidos, cenizas y carbohidratos. Las determinaciones se realizaron bajo los procedimientos descritos en el manual de la AOAC (1995), a excepción de los carbohidratos, los cuales se calcularon por

la diferencia contra el 100%, después de sumar el porcentaje de humedad, proteínas, lípidos y cenizas. En el primer experimento se prepararon tres muestras de 20 músculos abductores provenientes de organismos colectados en cada una de las estaciones del año, Cada muestra se considero como una unidad experimental y el análisis proximal se realizó por triplicado en cada una de ellas. Las muestras remanentes del análisis de lípidos (muestras secas y desgrasadas) fueron empleadas para el posterior análisis de colágeno. De manera similar en el segundo y tercer experimento se analizaron por triplicado tres muestras conteniendo 30 músculos abductores descongelados de cada estación y especie respectivamente. La composición química proximal de los productos reestructurados se analizó igualmente por triplicado.

5.7.5 Aminoácidos libres

El contenido de aminoácidos libres en músculos de almeja mano de león, se determinó de acuerdo con las metodologías de Gandolfi (1981) y Umagat et al. (1982) con algunas modificaciones consistentes en el uso de una columna de mejor resolución la cual se describe posteriormente, así como de un detector de arreglo de diodos en lugar del detector de fluorescencia. Primeramente, los aminoácidos libres contenidos en muestras de 0.5 g de músculo abductor fresco, fueron homogeneizados durante 2 min en 1 mL de ácido tricloroacético al 6% en un homogeneizador Ultra-Turrax T8 (IKA® WERKE, GMBH & CO. Staufen Alemania). Para evitar la elevación de la temperatura en la muestra por efecto de la homogeneización, la solución de ácido tricloroacético fue previamente refrigerada y durante la homogeneización el tubo con la muestra se mantuvo sumergido en un baño de hielo. El extracto obtenido fue centrifugado a $10,000 \times g$ durante 15 minutos a

4 °C en una centrifuga Eppendorf 5810 R (Brinkmann Instruments Inc. Westbury NY), y el sobrenadante obtenido fue sometido a un segundo ciclo de centrifugación. El nuevo sobrenadante fue utilizado para el análisis de aminoácidos en un cromatógrafo de líquidos de alta presión (HPLC) Agilent Technologists 1100 Series, acoplado a un detector de arreglo de diodos y provisto con un “loop” de 100 µL. Se empleó el método de derivatización en precolumna descrito por Umagat et al. (1982), el cual consistió en mezclar 250 µL del extracto de aminoácidos con 250 µL de OPA (5 mg de OPA + 125 µL metanol + 18.8 µL de Brij 35 + 12.5 µL de 2-mercaptoetanol, aforados a 5 mL con solución de borato de potasio a pH 10.4). Esta mezcla fue realizada de manera automática por el cromatógrafo así como la inyección al HPLC de 10µL de la mezcla derivatizada. La separación de los aminoácidos se efectuó en una columna de RP C18 octa-decil dimetilsilano de 15 cm x 4.6 mm I.D, Microsorb Short-ones diameter spherical (Rainin Instrument Co. Inc., Emeryville, CA, USA) conectada a una precolumna de 3 cm x 4.6 mm de diámetro, empacada con el mismo material. Se aplicó un flujo de 1.5 mL/min de 2 eluyentes: Fase A = Acetato de Sodio:Metanol: Tetrahidrofurano (90:9.5:0.5 v/v), Fase B =Metanol HPLC de acuerdo con el gradiente indicado en la Tabla 1.

Tabla 1. Gradiente utilizado para la determinación de aminoácidos libres por HPLC.

Tiempo (min.)	% A	%B
0.50	100	0.0
17.00	83	17.0
17.01	81	19.0
27.00	66	34.0
27.01	60	40.0
37.00	60	40.0
42.00	30	70.0
43.00	30	70.0
43.01	0	100.0
45.00	0	100.0

El área producida por la absorbancia de cada aminoácido, fue registrada e integrada por el programa Chemstation (Agilent Technologies). Los aminoácidos fueron identificados de acuerdo al tiempo de retención, comparado con una solución estándar de 15 aminoácidos.

5.7.6 Análisis Instrumental de Textura

En el presente trabajo, el análisis instrumental de textura incluyó la prueba de corte Warner-Bratzler y el perfil de textura que incluyó la determinación de dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, gomosidad y adhesividad.

5.7.6.1 Prueba de corte Warner-Bratzler

La prueba de corte Warner-Bratzler representa el esfuerzo máximo requerido para el corte de una muestra. Para hacer esta prueba en músculos frescos y congelados-descongelados, se empleó una máquina universal de textura Instron 1130 (Instron Corp., Canton, Mass., USA), empleando una celda de compresión de 50 kgf y una velocidad de cabezal de 20 cm/min. Para las muestras de productos reestructurados se cortaron cubos de 2 cm y se analizaron de la misma forma. El número de repeticiones fue de 10 músculos por estación y/o por especie, y al menos 8 muestras de cada reestructurado.

5.7.6.2 Análisis de perfil de textura

Para determinar el perfil de textura en músculos frescos y descongelados se utilizó un texturómetro Stable Micro Systems™. TA-XT2i (Stable Micro Systems Godalming, Surrey, U.K.), empleando una celda de compresión de 5 kgf, y una velocidad de deformación de 60 mm/min. Las muestras se colocaron en la parte central del plato del texturómetro y fueron sujetas a una deformación del 75% con respecto a su altura inicial. Se aplicaron dos ciclos de compresión utilizando un cilindro de 5 cm de diámetro adaptado al texturómetro. Como se ha mencionado, los parámetros analizados fueron dureza, cohesividad, elasticidad, gomosidad y adhesividad. La dureza representó la fuerza necesaria para conseguir en el material una deformación dada, mientras que la cohesividad estuvo dada por la fuerza de las uniones internas del material para construir el cuerpo de un producto. La elasticidad representó la velocidad a la cual un material deformado regresó a su condición inicial cuando la fuerza fue removida y la adhesividad fue la fuerza necesaria

para contrarrestar las fuerzas de atracción entre un material y la superficie de contacto (Szczesniak, 1963). Esta determinación se realizó en muestras de 10 músculos y en al menos ocho muestras de músculos reestructurados cortados en cubos de 2 cm.

5.7.7 Colágeno

El contenido de colágeno presente en el músculo abductor de almeja mano de león en las diferentes estaciones del año fue calculado a partir del contenido de hidroxiprolina analizada por HPLC, utilizando la metodología descrita por Vázquez et al. (2004) con algunas modificaciones. Muestras de 5 mg de músculo abductor liofilizado, molido y desgrasado fueron colocadas en tubos de vidrio para hidrólisis (Pierce Biotechnology Inc. Illinois USA), a los cuales se adicionaron 5 mg de ácido tioglicólico (SIGMA Lot.511C1275) y 2.0 mL de HCl 6N. Se aplicó vacío en los tubos durante dos minutos y posteriormente éstos se cerraron. Para llevar a cabo la hidrólisis, los tubos se mantuvieron durante 24 h a 110° C en un termoblock (Pierce Biotechnology Inc. Illinois USA). Los hidrolizados obtenidos fueron liofilizados para ser posteriormente resuspendidos en 1 mL de agua desionizada. Una alícuota de 50 µL de esta solución fue mezclada de manera automatizada en el HPLC (Agilent Technologists 1100 Series, acoplado a un detector de arreglo de diodos) con 100 µL de cloruro de NBD (4-cloro, 7-nitrobenzofurazan). La reacción se dejó estabilizar por 24 h y posteriormente se inyectaron 10 µL del extracto final de las muestras derivatizadas al cromatógrafo de manera automatizada. La separación de la hidroxiprolina se llevo a cabo en una columna Lichrosorb RP-185um (Supleco Inc.) de 250 x 4.6 mm y un tamaño de partícula de 3 µm, la cual fue conectada a una precolumna

30 x 4.6 mm de diámetro empacada con el mismo material. La cuantificación de la hidroxiprolina se llevo a cabo utilizando un flujo de gradiente de 1.5 mL/min de 2 eluyentes (Fase móvil A: Acetato de sodio 0.1 M, pH 6.2, 1% THF y Fase móvil B: Metanol HPLC) (Sigma Chemical Co.) empleando el gradiente que se indica en la tabla 2.

Tabla 2. Gradiente utilizado para la determinación de hidroxiprolina por HPLC.

Tiempo (min.)	%A	%B
0	80	20
5	70	30
8	70	30
10	50	50
12	50	50

El área del pico de absorbancia de la hidroxiprolina se registró e integró por el software cromatográfico Chemstation. La hidroxiprolina se identificó y cuantificó con base al tiempo de retención y área, comparándolos con un estándar. Para la obtención del contenido de colágeno total (mg/g) el contenido de hidroxiprolina se multiplicó por 7.52 (Cross et al., 1973) y se realizaron las relaciones correspondientes para reportar la concentración de colágeno como g/100 g de músculo seco así como g/100 g de proteína

5.7.8 Análisis histológico de la estructura muscular

Se estudió la estructura histológica transversal y longitudinal de la porción estriada del músculo abductor de la almeja mano de león, y se cuantificó la densidad de las fibras

musculares en sección transversa. Músculos de diez organismos seleccionados al azar del grupo de 30 usados en la evaluación de los índices de condición fisiológica, fueron cortados longitudinal y transversalmente en secciones de aproximadamente 2 mm de espesor, con una navaja de disección. Los cortes se fijaron inmediatamente en una solución de formol neutro (formaldehído al 4% neutralizado con 0.4% de fosfato de sodio monobásico) durante un tiempo mínimo de 24 h y posteriormente fueron embebidos en parafina y cortados a 4 μm con un micrótopo Leica Modelo LM2025. Los cortes fueron teñidos empleando la tinción tricrómica de Masson de acuerdo con la metodología descrita por Sheenan y Hrapchak (1973). Los cortes fueron montados en laminillas de vidrio y fueron observados y fotografiados con un microscopio compuesto de campo claro marca Olympus modelo BX-41 (Olympus Optical Co., Ltd. Tokio, Japón) equipado con una cámara digital Cool SNAP-Pro™ (Media Cybernetics, Silver Spring Md., U.S.A.). Se fotografiaron al menos cuatro campos seleccionados al azar de cada músculo, y las imágenes fueron capturadas en formato JPEG a 100 \times y 1000 \times aumentos para las secciones transversales, y a 1000 \times solamente, para las secciones longitudinales. La densidad de las fibras musculares de 237 imágenes de la sección transversa fue cuantificada con la ayuda del procesador de imágenes Image-Pro Plus 4.5.19 (Media Cybernetics LP, Silver Spring, MD, USA), el cual fue optimizado previamente para producir la mejor definición de las fibras. La densidad miofibrilar (%) se calculó mediante la fórmula:

$$\text{Densidad miofibrilar (\%)} = \frac{\text{Área miofibrilar en } \mu\text{m}^2}{\text{Área del campo}} \times 100$$

en donde el área miofibrilar fue el área total ocupada por las fibras musculares en un campo, y el área del campo a 1000× aumentos fue de 12,584 μm^2 .

5.8 Actividad proteolítica total

Considerando que las enzimas proteolíticas endógenas de la materia prima podrían ser un factor de interferencia sobre la eficiencia de unión de los sistemas enzimáticos utilizados en la reestructuración, se analizó el posible efecto de la estación de colecta de los organismos sobre la actividad proteolítica. El análisis se realizó de acuerdo con la metodología de Groninger et al. (1985), aplicando las modificaciones señaladas por Pacheco-Aguilar y Crawford (1994) y adecuando las condiciones para el desarrollo de la actividad, al tiempo y temperatura empleadas en la producción de los productos reestructurados. De cada uno de los tres “pool” de músculos abductores obtenidos en cada estación, 3 g de tejido se pesaron por cuadruplicado en viales de vidrio de 25 mL. A cada vial se le agregó 3 mL de una solución 0.1M de NaCl fría y se mezclaron durante un minuto utilizando un homogeneizador de tejidos Tekmar Tissumizer® (Tekmar Co., Cincinnati, OH, USA). Tres muestras se almacenaron a las mismas condiciones de mantenimiento de los reestructurados (4 °C durante 24 h) para permitir el desarrollo de las reacciones de polimerización. La muestra remanente utilizada como control se mantuvo enhielada, simulando las condiciones en que se mantiene el músculo durante su venta al público. Al transcurrir el periodo de incubación, la reacción se frenó añadiendo 6 mL de TCA al 10% a cada vial. Después la mezcla se agitó y posteriormente se filtró sobre papel Whatman No. 1. El filtrado fue recibido en tubos de ensaye, en donde se analizó el contenido de tirosina libre de acuerdo con el método de Ceriotti y Spandrio (1957). La

actividad proteolítica total se reportó como $\mu\text{g tyr/g}$ proteína liberada durante las 24 h de incubación, así como $\mu\text{g tyr/min/g}$ proteína.

5.9 Análisis de la microestructura de las matrices y zonas de unión en los productos reestructurados.

El análisis microestructural de las matrices y de zonas de unión entre piezas musculares de los productos reestructurados con los sistemas TC y FT, fue realizado histológicamente. Las matrices de unión fueron preparadas de la misma forma que en la fabricación de los reestructurados, mezclando caseinato de sodio con transglutaminasa, y fibrinógeno con trombina, sin músculos. Posteriormente, tres secciones de aproximadamente 3 mm de espesor de estas matrices, fueron cortadas con una navaja de disección y fueron procesadas para su análisis histológico de la misma manera como se procesaron los músculos en la sección anterior. El mismo procedimiento se siguió para el estudio de las zonas de unión, pero en este caso las secciones se obtuvieron de los productos reestructurados previamente con los dos sistemas.

5.10 Análisis estadísticos

En el experimento 1, el efecto de la estación de muestreo sobre los diferentes parámetros de calidad, fue analizado mediante un análisis de variancia de una vía a un nivel de significancia de 0.05. Cuando fue necesario ($P < 0.05$), se efectuó un análisis de comparación múltiple utilizando la prueba de Tukey. Por otra parte, las posibles relaciones entre los índices de condición fisiológica con los índices de calidad del músculo abductor

fueron analizadas mediante un análisis de correlación de Pearson (Zar, 1996). En el experimento 2, la variación de los diferentes parámetros analizados en cada tratamiento en función de la estación de muestreo, fue analizada mediante un análisis de variancia de una vía, con un nivel de significancia de 0.05. Por otra parte, el efecto combinado del método de reestructuración y la estación del año se analizó mediante un análisis de variancia de dos vías a un nivel de significancia de 0.05. Cuando fue necesario ($P < 0.05$), se realizó un análisis de comparación múltiple mediante la prueba Tukey a un nivel de significancia de 0.05. La relación existente entre las variables, fue analizada mediante un análisis de correlación de Pearson. En el experimento 3, los valores de pH y los parámetros de la composición proximal, fueron analizados mediante la prueba *t* de Student ($\alpha \leq 0.05$). Los resultados de los índices de condición fisiológica, capacidad de retención de agua, color y textura fueron analizados mediante un análisis de variancia de una vía a un nivel de significancia de 0.05. En los casos necesarios ($P \leq 0.05$) se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey. Los análisis estadísticos fueron realizados empleando el paquete estadístico Statistica 6[®] (StatSoft, Inc., Tulsa, Okla., U.S.A).

6. RESULTADOS

6.1 ESTUDIO DE LAS VARIACIONES DE TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA *a* EN LAGUNA MANUELA, B.C. DURANTE UN CICLO ANUAL.

En la Figura 9 se muestran los registros de temperatura del agua en el sitio donde se encontraban las camas de cultivo de almeja mano de león en Laguna Manuela. Aquí se puede apreciar que la temperatura varió entre 18.03 ± 1.16 °C en el mes de mayo y 24.6 ± 1.86 °C en el mes de septiembre. Las concentraciones de clorofila *a* (Figura 10) variaron a lo largo del año con valores mínimos de 0.52 µg/L en julio y máximos de 4.47 µg/L en septiembre.

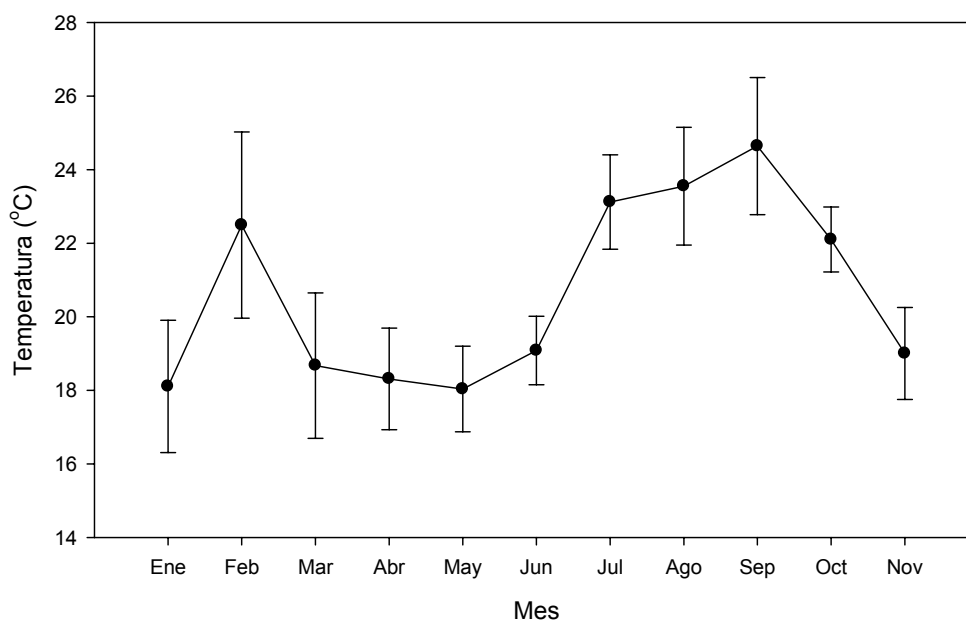


Figura 9. Temperatura promedio mensual durante el año de 2003 en Laguna Manuela, B.C. Los valores son el promedio \pm la desviación estándar. $n = 1440$

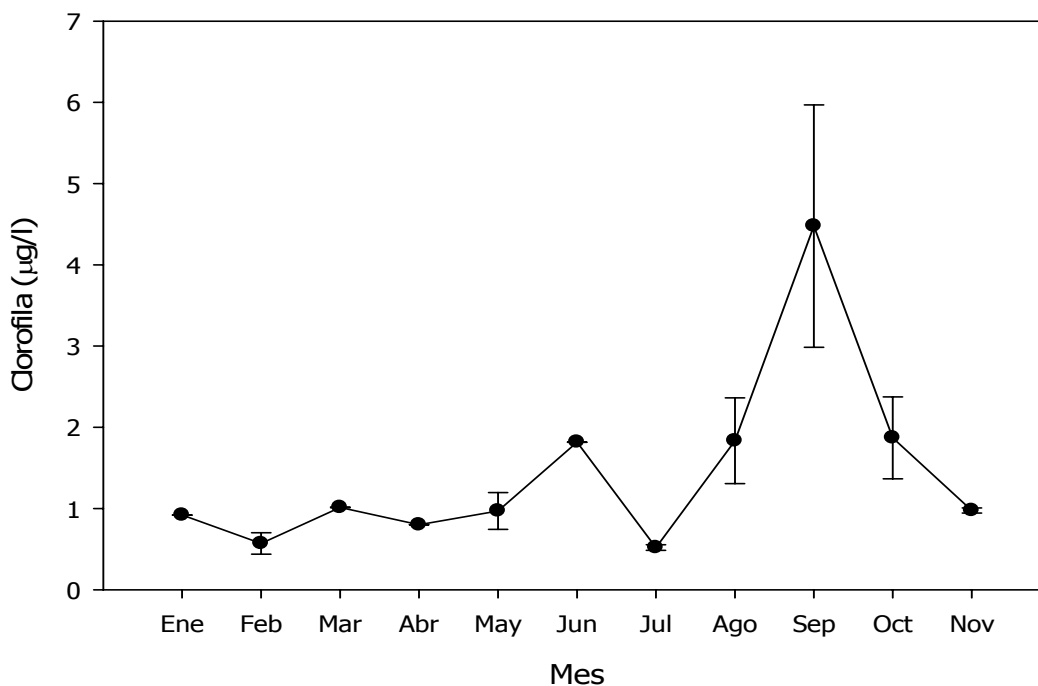


Figura 10. Concentración promedio mensual de clorofila *a* durante el año de 2003 en Laguna Manuela, B.C. Los valores son el promedio \pm la desviación estándar. $n = 4$.

6.2 DETERMINACIÓN DE LAS VARIACIONES ESTACIONALES EN LA CALIDAD DEL MÚSCULO ABDUCTOR FRESCO DE *Nodipecten subnodosus* DURANTE UN CICLO ANUAL Y SU RELACIÓN CON LAS VARIABLES AMBIENTALES ESTUDIADAS.

6.2.1 Variación estacional en los índices de condición fisiológica

6.2.1.1 Índice de rendimiento muscular e índice gonadosomático

En la Tabla 3 se muestran los valores del índice de rendimiento muscular (IRM) y del índice gonadosomático (IG). Los valores del IRM variaron entre 28.1 ± 2.9 y 39.1 ± 2.7 % en las cuatro estaciones del año. El IRM más elevado se obtuvo en el verano y éste fue decreciendo gradualmente en otoño, primavera y finalmente en invierno. La prueba de rangos múltiples de Tukey, indicó que el IRM fue diferente en verano al resto de las

estaciones, similar en primavera y otoño y diferente en invierno. Con respecto al IG, se observó un comportamiento similar al IRM, con un coeficiente de correlación entre IRM e IG de $r= 0.9536$ ($P= 0.046$). El IG varió entre 1.7 ± 0.5 en invierno y 5.4 ± 2.7 en verano, lo que indica que la almeja mano de león se reproduce durante el verano en Laguna Manuela.

Tabla 3. Índice de rendimiento muscular e índice gonadosomático de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivada en Laguna Manuela BC., en diferentes estaciones del año, en 2003. Los valores son la media \pm la desviación estándar. $n = 30$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	Índice de rendimiento muscular (%)	Índice gonadosomático (%)
Invierno	28.1 ± 2.9^a	1.7 ± 0.5^a
Primavera	33.1 ± 5.5^b	2.8 ± 2.1^b
Verano	39.5 ± 2.7^c	5.4 ± 2.7^c
Otoño	33.1 ± 5.1^b	2.3 ± 1.3^{ab}

6.2.1.2 Desarrollo gonádico

En la Figura 11, se muestran imágenes selectas que representan las distintas fases de desarrollo de la porción femenina de gónada de la almeja mano de león, de acuerdo con la escala de madurez reproductiva propuesta por Arrellano-Martínez (2005). Con este criterio, en la Figura 12 se muestran las frecuencias con que se encontraron las distintas fases en los ejemplares cultivados en Laguna Manuela en las cuatro estaciones del año. En esa figura se observa que la almeja mano de león no presenta actividad reproductiva en invierno (enero), mientras que en el verano (septiembre), el 58% de los organismos se encontraba en desarrollo avanzado, el 26% en fase madura y el 16% en desarrollo inicial. En el otoño

(noviembre), el 55% de los organismos habían desovado, el 20% en reposo, y el resto en las fases de desarrollo inicial y desarrollo intermedio. En primavera (abril) se observaron indicios del inicio de maduración ya que un 11% de los organismos presentaron gónadas maduras, 16% en desarrollo avanzado y el resto en las fases primarias de desarrollo.

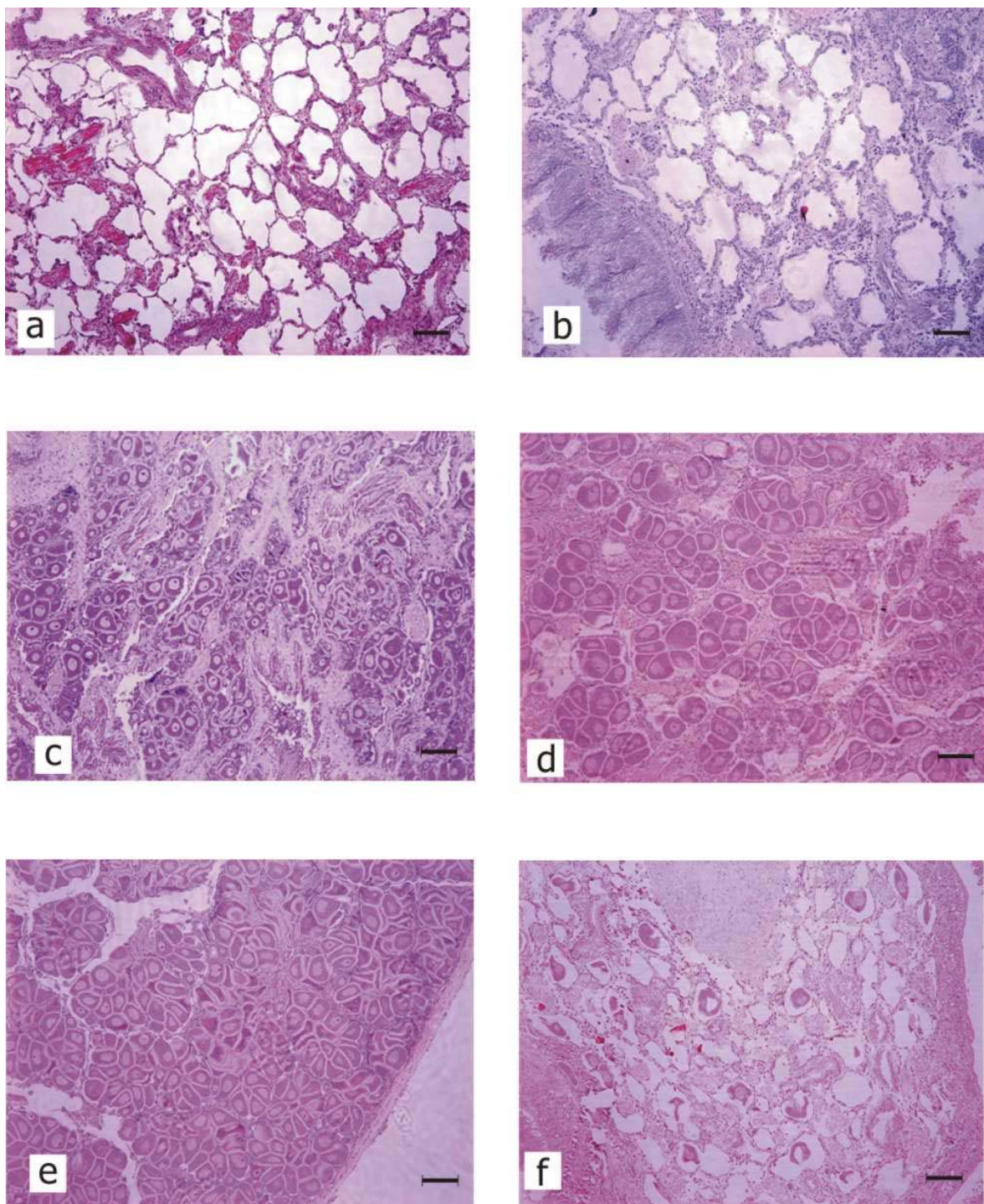


Figura 11.- Imágenes selectas representativas de las diferentes fases de desarrollo de la porción femenina de la gonáda de almeja mano de león (*Nodipecten subnodos*), cultivada en Laguna Manuela BC, México durante el año de 2003. a= Reposo, b= Desarrollo inicial, c= Desarrollo intermedio, d= Desarrollo avanzado, e= Madurez, f= Posdesove. Las barras representan 100 μm .

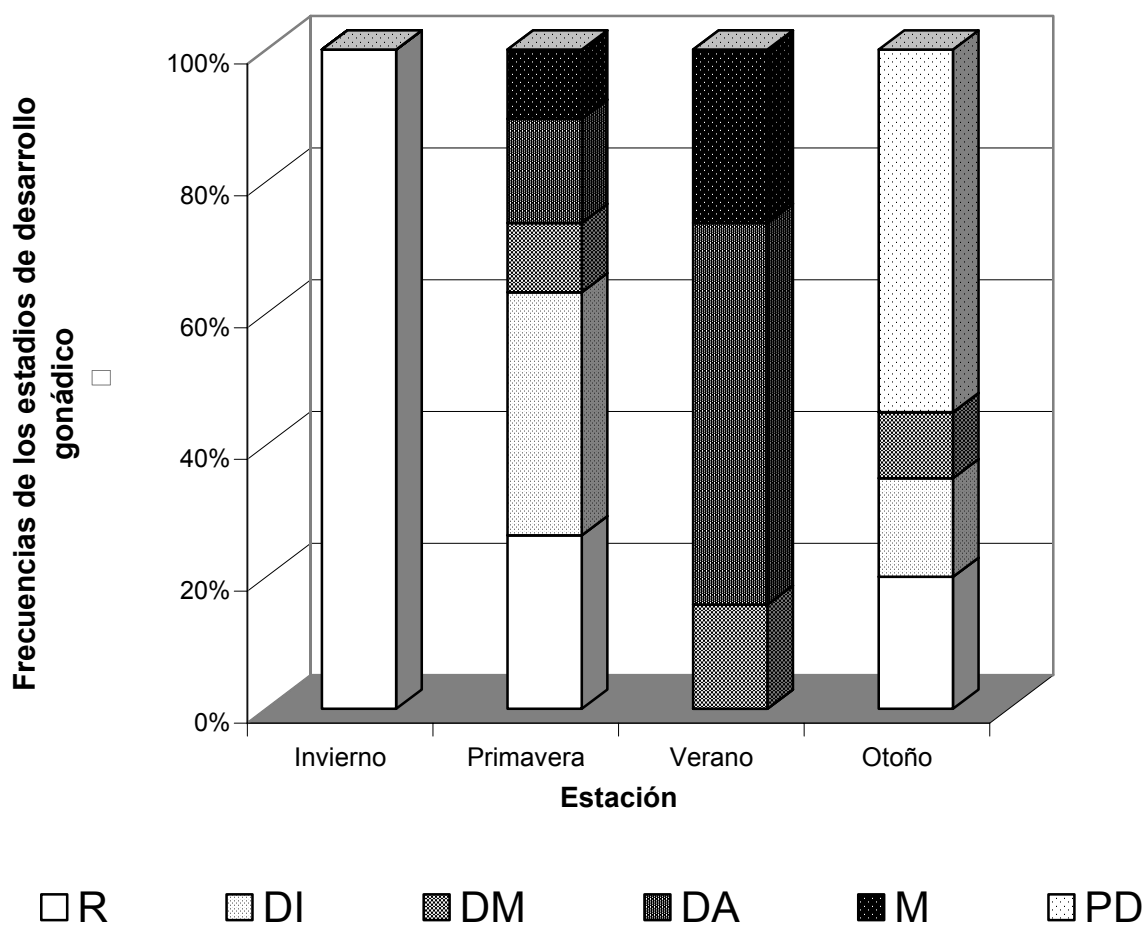


Figura 12. Frecuencias de las fases de desarrollo de la porción femenina de la gónada de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela BC, México, en diferentes estaciones del año 2003. R= Reposo, DI= Desarrollo inicial, DM= Desarrollo intermedio, DA= Desarrollo avanzado, M= Madurez, PD= Posdesove. $n = 20$.

6.2.1.3 Variación estacional en el contenido de glucógeno.

En la Tabla 4 se presenta el contenido de glucógeno en el músculo abductor de la almeja mano de león, cultivada en Laguna Manuela en las diferentes estaciones del año. Aquí se puede observar que el glucógeno varió significativamente entre estaciones, siendo la mas baja en invierno con 0.79 ± 0.13 % del peso húmedo del músculo y la mas elevada en verano con 7.87 ± 3.32 . Las variaciones en el contenido de glucógeno presentaron una alta correlación con el índice de rendimiento muscular ($r=0.96$) así como con el índice gonadosomático ($r= 0.99$). Asimismo, se observó el mayor contenido de glucógeno durante la estación en donde se presentó la mayor actividad reproductiva y los valores mas elevados de temperatura y concentración de alimento (clorofila *a*).

Tabla 4.- Variación estacional del contenido de glucógeno en músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela, B.C., México durante 2003. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 10$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	Glucógeno (%)
Invierno	0.79 ± 0.13^a
Primavera	3.51 ± 2.33^a
Verano	7.87 ± 3.32^b
Otoño	2.21 ± 0.84^a

6.2.2 Variación estacional de la calidad del músculo abductor fresco

6.2.2.1 pH y capacidad de retención de agua

En la Tabla 5 se presentan las variaciones estacionales en el pH y en la capacidad de retención de agua (CRA) en el músculo de almeja mano de león cultivada en Laguna Manuela. Los resultados indican que el pH varió entre 6.58 en verano y 6.82 en primavera. A pesar de que la máxima diferencia en pH fue de solo 0.3 unidades de pH, la prueba de Tukey indicó diferencias significativas ($P < 0.05$). Estos resultados indican un pH inferior en los músculos de verano que en el resto de las almejas recolectadas en otras estaciones del año. En relación a la CRA, se observó el mismo comportamiento que el pH, siendo el valor de verano ($96.9 \pm 0.07\%$) significativamente menor que el de músculos obtenidos en las otras estaciones del año. El pH presentó una correlación positiva ($r = 0.9981$) significativa ($P = 0.002$) con respecto a la CRA.

Tabla 5. Variación estacional del pH de superficie y de la capacidad de retención de agua, en músculos abductores de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela BC México, durante el año 2003. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$). ¹ $n = 30$, ² $n = 4$.

Estación	pH ¹	Capacidad de retención de agua (%) ²
Invierno	6.80 \pm 0.11 ^b	98.06 \pm 0.36 ^b
Primavera	6.82 \pm 0.14 ^b	98.21 \pm 0.75 ^b
Verano	6.59 \pm 0.11 ^a	96.94 \pm 0.67 ^a
Otoño	6.78 \pm 0.17 ^b	97.90 \pm 0.56 ^b

6.2.2.2 Color

En la Tabla 6 se muestran los resultados del análisis de color en los músculos de almeja mano de león, muestreados en las cuatro estaciones del año en Laguna Manuela. Con excepción del parámetro colorimétrico a^* (rojo-verde) que no mostró variación en función de la estación de colecta, el resto de los parámetros de color presentaron pequeños pero significativos cambios entre algunas de las estaciones. Los valores de L^* en los músculos de verano, indicaron mayor luminosidad ($P < 0.05$) para estos músculos en relación con los obtenidos en otoño e invierno. Con respecto al parámetro b^* (amarillo-azul) y de saturación (cromaticidad), se observaron valores menores en los músculos de verano que en los de invierno. El ángulo de matiz (tono) observado en el verano fue superior al de otoño e invierno, Por otra parte el índice de blancura observado en el verano y la primavera fue superior al de invierno y otoño.

Tabla 6. Evaluación del color del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivada en Laguna Manuela BC. México, en las diferentes estaciones del año. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 4$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	L^*	a^*	b^*	H°_{ab}	C	Índice de blancura
Invierno	49.9 \pm 2.8 ^a	-2.9 \pm 0.5 ^a	8.3 \pm 0.8 ^b	109.4 \pm 3.3 ^a	8.8 \pm 0.8 ^b	49.1 \pm 2.7 ^a
Primavera	55.0 \pm 0.8 ^{ab}	-3.4 \pm 0.4 ^a	7.6 \pm 0.6 ^{ab}	114.2 \pm 4.1 ^{ab}	8.4 \pm 0.5 ^{ab}	54.2 \pm 0.7 ^b
Verano	55.1 \pm 3.0 ^b	-3.4 \pm 0.3 ^a	5.9 \pm 2.7 ^a	122.9 \pm 13.6 ^b	6.9 \pm 2.3 ^a	54.5 \pm 2.5 ^b
Otoño	49.1 \pm 1.8 ^a	-2.8 \pm 0.1 ^a	8.2 \pm 0.8 ^{ab}	109.5 \pm 2.2 ^a	8.7 \pm 0.7 ^{ab}	48.5 \pm 1.8 ^a

L^* = Luminosidad, a^* = Parámetro rojo-verde, b^* = Parámetro amarillo-azul. H°_{ab} = Ángulo de matiz, C = Cromaticidad.

6.2.2.3 Composición química proximal

En la Tabla 7 se muestran los resultados de la variabilidad estacional en la composición química proximal del músculo abductor de almeja mano de león cultivada en Laguna Manuela. Aquí se puede observar que los valores de humedad independientemente de la estación del año, ocuparon más del 70% del peso del músculo, seguida por las proteínas, carbohidratos, cenizas y lípidos. También se observa un efecto de la estación del año sobre los porcentajes de los componentes mayoritarios del músculo. En cuanto al contenido de humedad, los músculos de verano tuvieron los valores más bajos ($72.5 \pm 0.0 \%$) y los de invierno los más altos ($80.7 \pm 0.5\%$). En el caso de las proteínas, los valores de otoño (17.3 ± 1.1) fueron máximos y significativamente iguales a los de primavera, pero diferentes al resto de las estaciones. Los carbohidratos mostraron una elevación significativa en el verano con valores superiores al 10%, posiblemente por los altos niveles de glucógeno previamente reportados. Los valores más bajos de carbohidratos fueron registrados en invierno ($1.8 \pm 0.1\%$). En cuanto a las cenizas, los valores más altos se encontraron en verano y otoño, y los más bajos en invierno y primavera. Finalmente, se encontró que los lípidos constituyeron menos del 0.7 % del peso total del músculo independientemente de la estación del año. El valor más elevado se encontró en otoño ($0.63 \pm 0.05 \%$) y el más bajo en verano (0.36 ± 0.07).

Tabla 7. Variación estacional en la composición química proximal del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivada en Laguna Manuela BC. México. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 3$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	Humedad (%)	Proteínas (%)	Carbohidratos (%)	Cenizas (%)	Lípidos (%)
Invierno	80.7 \pm 0.5 ^c	15.7 \pm 0.4 ^a	1.8 \pm 0.1 ^a	1.3 \pm 0.0 ^a	0.48 \pm 0.00 ^b
Primavera	78.2 \pm 0.1 ^b	15.9 \pm 0.1 ^{ab}	4.0 \pm 0.1 ^c	1.3 \pm 0.0 ^a	0.50 \pm 0.03 ^b
Verano	72.5 \pm 0.0 ^a	15.1 \pm 0.2 ^a	10.5 \pm 0.1 ^d	1.5 \pm 0.0 ^b	0.36 \pm 0.07 ^a
Otoño	78.0 \pm 1.4 ^b	17.3 \pm 1.1 ^b	2.4 \pm 0.2 ^b	1.5 \pm 0.1 ^b	0.63 \pm 0.05 ^c

Al analizar la relación entre los índices fisiológicos con la composición proximal, se encontró una correlación negativa del contenido de humedad con el IRM ($r = -0.9854$; $P = 0.035$) y con el IG ($r = -0.9825$; $P = 0.017$). En contraste, el contenido de carbohidratos se correlacionó de manera directa con el IG ($r = 0.9958$; $P = 0.004$) y con el IRM ($r = 0.9925$), pero en este último caso, la correlación no fue significativa ($P = 0.077$).

6.2.2.4 Aminoácidos libres

De los 14 aminoácidos analizados, glicina, taurina y arginina fueron los más abundantes llegando a constituir aproximadamente el 91, 87, 70 y 85% del total de aminoácidos analizados en los músculos de invierno, primavera, verano y otoño respectivamente. Como puede apreciarse en la Tabla 8, no se observó una variación

estacional significativa ($P > 0.05$) en el contenido total de aminoácidos libres presentes en el músculo abductor.

Tabla 8. Variación estacional de la concentración y perfil de aminoácidos libres, en músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivada en Laguna Manuela durante el año de 2003. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 10$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Los números entre paréntesis corresponden al porcentaje de cada aminoácido con respecto a la suma de todos los aminoácidos reportados en una estación determinada. ND = No detectado.

Aminoácido	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
Ácido aspártico	ND	ND	41.7 \pm 6.49 (1.66)	ND
Ácido glutámico	90.74 \pm 8.70 ^a (3.42)	180.27 \pm 16.48 ^b (7.18)	241.18 \pm 22.06 ^c (9.58)	95.27 \pm 16.02 ^a (3.84)
Serina	10.496 \pm 1.76 ^a (0.4)	28.63 \pm 4.03 ^b (1.14)	15.18 \pm 3.18 ^a (0.6)	25.09 \pm 3.37 ^b (1.01)
Histidina	ND	39.45 \pm 34.42 ^a (1.57)	421.88 \pm 78.96 ^b (16.76)	33.17 \pm 8.56 ^a (1.34)
Glicina	1132.98 \pm 50.84 ^b (42.75)	1150.39 \pm 121.45 ^b (45.79)	996.25 \pm 74.59 ^a (39.57)	1041.49 \pm 67.66 ^{ab} (42.01)
Arginina	434.00 \pm 24.78 ^c (16.38)	311.26 \pm 32.64 ^b (12.39)	168.19 \pm 44.10 ^a (6.68)	292.23 \pm 46.60 ^b (11.79)
Taurina	841.65 \pm 87.91 ^c (31.76)	713.07 \pm 77.49 ^b (28.38)	607.61 \pm 70.64 ^a (24.13)	764.10 \pm 31.89 ^{bc} (30.82)
Alanina	13.49 \pm 3.74 ^b (0.51)	12.03 \pm 5.16 ^b (0.48)	3.74 \pm 3.13 ^a (0.15)	9.31 \pm 4.04 ^b (0.38)
Tirosina	30.44 \pm 7.88 ^a (1.15)	31.99 \pm 5.50 ^a (1.27)	29.38 \pm 3.69 ^a (1.17)	28.33 \pm 1.41 ^a (1.14)
Metionina	ND	9.64 \pm 1.31 ^a (0.38)	11.64 \pm 1.70 ^a (0.46)	52.47 \pm 7.60 ^b (2.12)
Fenilalanina	21.9 \pm 18.64 ^b (0.83)	20.18 \pm 11.49 ^b (0.80)	ND	3.03 \pm 9.58 ^a (0.12)
Isoleucina	20.59 \pm 5.84 ^a (0.78)	21.77 \pm 2.58 ^a (0.87)	27.69 \pm 8.54 ^a (1.10)	27.35 \pm 5.28 ^a (1.1)
Leucina	3.9 \pm 6.07 ^a (0.15)	4.99 \pm 4.70 ^a (0.2)	13.28 \pm 1.14 ^b (0.53)	ND
Lisina	78.68 \pm 7.53 ^c (2.97)	58.34 \pm 1.53 ^a (2.32)	64.91 \pm 3.80 ^b (2.58)	115.41 \pm 5.81 ^d (4.66)
TOTALES	2650.04 \pm 153.85 ^a (100)	2512.21 \pm 164.39 ^a (100)	2517.58 \pm 247.28 ^a (100)	2479.15 \pm 50.58 ^a (100)

Sin embargo se registraron cambios en las proporciones de cada aminoácido en una estación determinada. Por ejemplo, el porcentaje que ocupó la glicina en invierno, primavera, verano y otoño, fue de 42.7, 45.8, 39.6 y 42.0 % respectivamente. El ácido glutámico y la leucina fueron más abundantes en el verano mientras que en esa estación, glicina, arginina, taurina y alanina se presentaron en menor concentración. Tirosina e isoleucina no presentaron variación en función de la estación de colecta mientras que el contenido de lisina, fue diferente en cada una de las estaciones presentándose en menor concentración en primavera y en mayor proporción en otoño. Por otra parte, fue observado que algunos aminoácidos fueron detectados solamente en algunas estaciones del año. Por ejemplo el ácido aspártico solo fue detectado en las muestras de verano, mientras que histidina y metionina no fueron detectadas en el invierno. La fenilalanina no estuvo presente en verano ni la leucina en otoño. No obstante, estos aminoácidos se encontraron en bajas concentraciones en las estaciones en que se detectaron, contribuyendo solamente con un máximo de 2.1% del total de los aminoácidos libres, a excepción de la histidina en verano, cuyo contenido representó aproximadamente el 17%.

6.2.2.5 Textura

En la Tabla 9 se presentan los resultados de la prueba de corte Warner-Bratzler (WB) en las diferentes estaciones del año. Aquí se observa un efecto significativo de la estación del año sobre este parámetro de textura. Los músculos de invierno fueron los más firmes, mientras que los de verano los más flácidos. La fuerza de corte fue 49.7% superior en los músculos de invierno que en los de verano. No hubo diferencias significativas en los

músculos de primavera y otoño. Se encontró una correlación inversa significativa entre la prueba WB y el índice de rendimiento muscular ($r=-0.9941$; $P=0.006$).

Tabla 9. Variación estacional de la prueba de corte Warner-Bratzler en músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela BC México durante el año de 2003. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 10$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	Fuerza de corte (kgf)
Invierno	0.283 \pm 0.087 ^c
Primavera	0.184 \pm 0.003 ^b
Verano	0.095 \pm 0.015 ^a
Otoño	0.189 \pm 0.045 ^b

Las variaciones estacionales en el perfil de textura se muestran en la Tabla 10, sin las de otoño por fallas en el texturómetro. En esta tabla, los resultados de dureza (APT) indicaron un patrón similar que la prueba de WB, siendo la dureza 53% mayor en invierno que en verano. Sin embargo los valores de dureza obtenidos mediante el APT a diferencia de lo encontrado en la prueba de WB, no mostraron diferencias significativas en la firmeza de músculos de primavera e invierno ni entre los de verano y primavera. En relación a la cohesividad, no se detectaron variaciones entre estaciones. Se observó que los músculos de verano presentaron una menor elasticidad que los de invierno y primavera y asimismo una

Tabla 10. Variación estacional del perfil de textura en músculo abductor fresco de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivada en Laguna Manuela BC, México durante el año 2003. No se presentan datos de otoño. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 10$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	Dureza (kgf)	Cohesividad (adimensional)	Elasticidad (adimensional)	Masticabilidad (kgf)	Gomosidad (kgf)	Adhesividad (Nw-m)
Invierno	1.21 \pm 0.25 ^b	0.142 \pm 0.054 ^a	0.592 \pm 0.059 ^b	0.097 \pm 0.029 ^c	0.156 \pm 0.038 ^b	-0.134 \pm 0.015 ^a
Primavera	1.06 \pm 0.36 ^{ab}	0.120 \pm 0.029 ^a	0.509 \pm 0.035 ^b	0.061 \pm 0.008 ^b	0.120 \pm 0.019 ^{ab}	-0.103 \pm 0.022 ^b
Verano	0.79 \pm 0.23 ^a	0.117 \pm 0.018 ^a	0.347 \pm 0.079 ^a	0.031 \pm 0.011 ^a	0.091 \pm 0.029 ^a	-0.047 \pm 0.006 ^c

menor gomosidad que los de invierno. Por otra parte la masticabilidad y adhesividad mostraron la misma variación en función de la estación, siendo las muestras de verano las de menor masticabilidad y adhesividad (mayor valor) seguida por las de primavera y finalmente los de invierno con valores superiores. Con estos resultados se concluye que existen diferencias en textura entre las muestras de verano y las de invierno, siendo éstas últimas las que presentaron valores superiores en la mayoría de los parámetros de textura analizados.

6.2.2.6 Colágeno

En la Tabla 11 se presentan las variaciones estacionales en la concentración de colágeno, en el músculo abductor de la almeja mano de león cultivada en Laguna Manuela. En esta tabla se observaron los valores más bajos de colágeno con base a materia seca en verano y los más altos en otoño. Con base al contenido de proteína la concentración de colágeno observada en verano fue inferior a la que se presentó en el resto de las estaciones.

Tabla 11. Variación estacional en el contenido de colágeno en músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivada en Laguna Manuela B.C., México, durante el año 2003. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 3$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	Colágeno (g/100 g de músculo seco)	Colágeno (g/100 g de proteína)
Invierno	0.76 \pm 0.20 ^b	1.04 \pm 0.27 ^b
Primavera	0.69 \pm 0.09 ^{ab}	1.25 \pm 0.18 ^b
Verano	0.50 \pm 0.16 ^a	0.63 \pm 0.20 ^a
Otoño	1.01 \pm 0.24 ^c	1.25 \pm 0.31 ^b

6.2.2.7 Estructura muscular

En las Figuras 13 y 14, se presentan imágenes de cortes transversales de la porción estriada del músculo abductor de almeja mano de león, fijado en las cuatro estaciones del año. En las imágenes amplificadas a 100 \times (Figura 13), no se aprecian diferencias en la estructura en las diferentes estaciones. Sin embargo, cuando las imágenes se amplificaron a 1000 \times (Figura 14), se observó menor superficie de cobertura y mayor espacio libre entre fibras en las muestras de verano que en el resto de las estaciones. Además se observó mayor desintegración del tejido conectivo en músculos de primavera y verano. Estas observaciones coincidieron con las obtenidas de los cortes longitudinales amplificadas a 1000 \times (Figura 15), los cuales muestran mayores espacios entre fibras en los músculos de verano. Los análisis cuantitativos de las imágenes de cortes transversales amplificadas a 1000 \times (Tabla 12), confirmaron estos resultados obteniéndose un área de cobertura miofibrilar significativamente menor en el verano (46.4%), que en el resto de las estaciones (> 57 %).

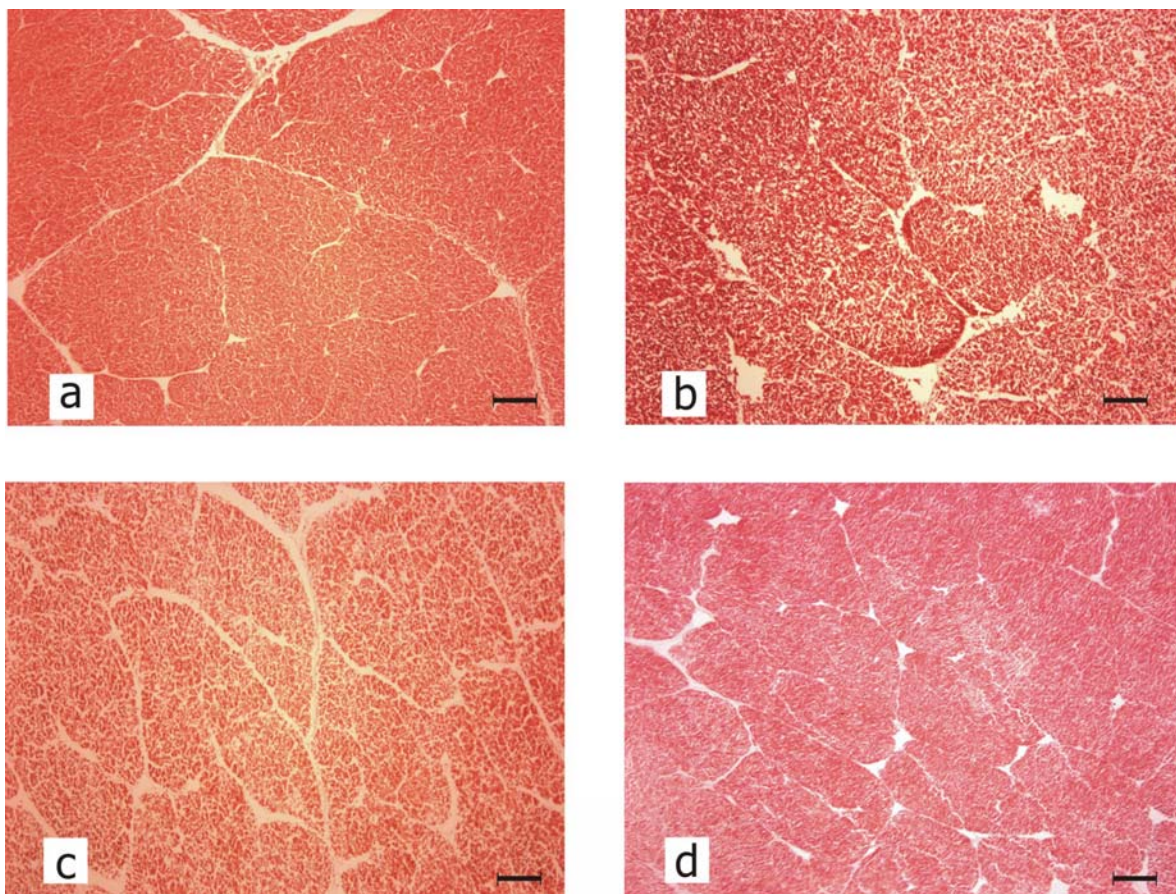


Figura 13. Imágenes representativas de la sección transversal del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela en las cuatro estaciones del año 2003. Las imágenes amplificadas a 100 \times , fueron obtenidas por microscopía de luz y los cortes fueron contrastados con la tinción tricrómica de Masson. Las fibras musculares aparecen de color rojo a rosado. Los espacios entre fibras musculares aparecen de color blanco. La barra representa 100 μ m. a= Invierno; b= Primavera; c= Verano; d= Otoño.

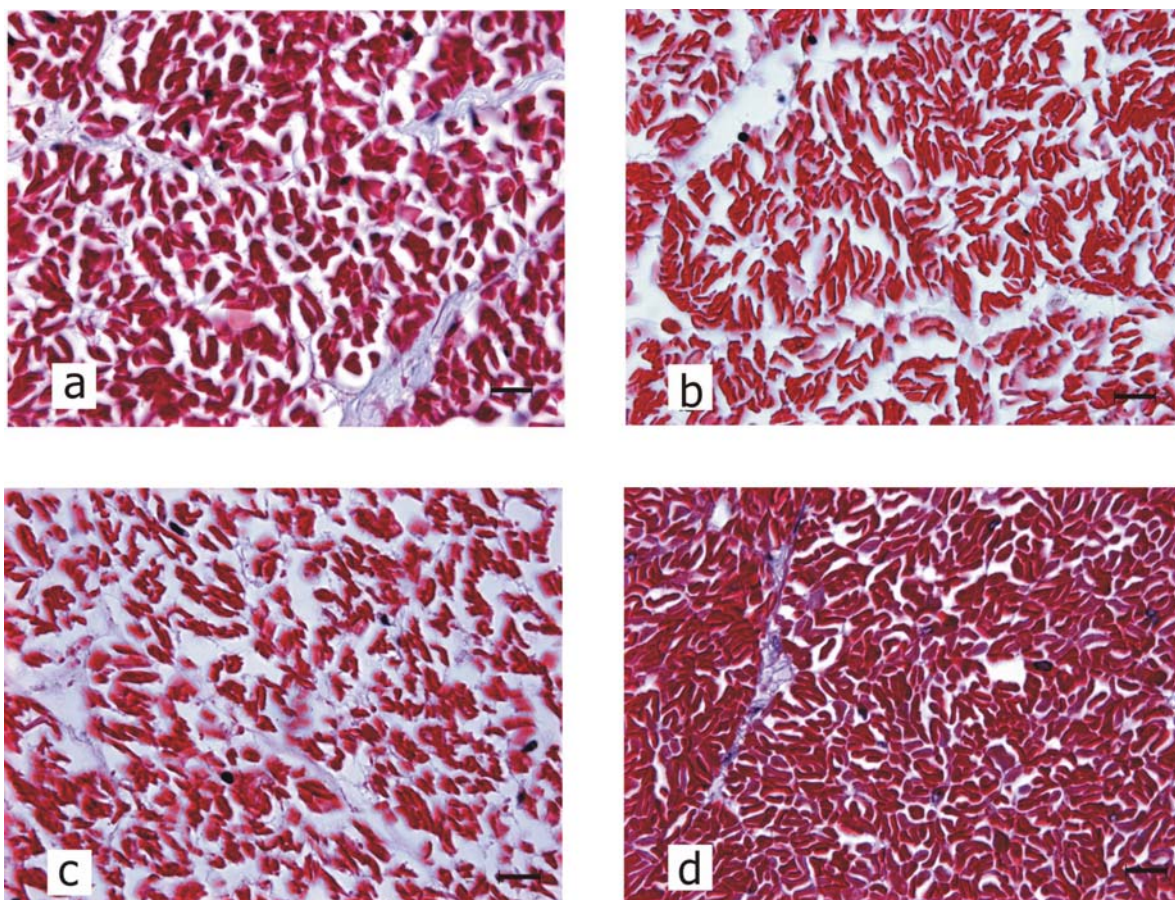


Figura 14. Imágenes representativas de la sección transversal del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela en las cuatro estaciones del año 2003. Las imágenes amplificadas a 1000 \times , fueron obtenidas por microscopia de luz y los cortes fueron contrastados con la tinción tricrómica de Masson. Las fibras musculares aparecen de color rojo a rosado. Los espacios entre fibras musculares aparecen de color blanco. La barra representa 10 μ m. a= Invierno; b= Primavera; c= Verano; d= Otoño.

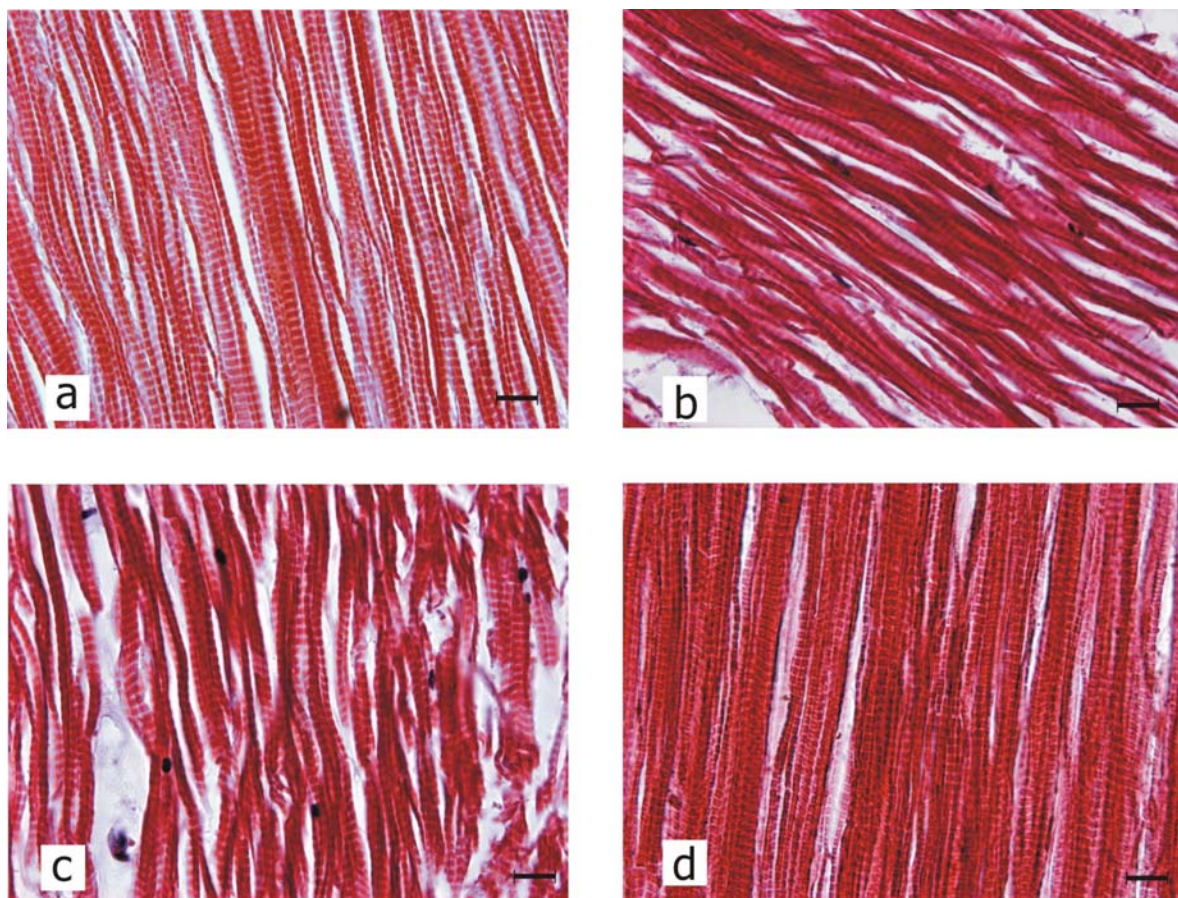


Figura 15. Imágenes representativas de la sección longitudinal del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela en las cuatro estaciones del año del 2003. Las imágenes amplificadas a 1000 \times , fueron obtenidas por microscopia de luz y los cortes fueron contrastados con la tinción tricrómica de Masson. Las fibras musculares aparecen de color rojo a rosado. Los espacios entre fibras musculares aparecen de color blanco. La barra representa 10 μ m. a= Invierno; b= Primavera; c= Verano; d= Otoño.

Tabla 12. Variación estacional del área de cobertura de las fibras musculares de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivada en Laguna Manuela, B.C., México, en cortes histológicos seccionados transversalmente y amplificados a 1000×. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 10$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Área de un campo = $12,584 \mu^2$.

Estación	Área miofibrilar por campo (μm^2)	Área de cobertura miofibrilar (%)
Invierno	7,819 \pm 577 ^b	62.1 \pm 4.6 ^b
Primavera	7,292 \pm 769 ^b	57.9 \pm 6.1 ^b
Verano	5,836 \pm 616 ^a	46.4 \pm 4.9 ^a
Otoño	8,137 \pm 708 ^b	64.7 \pm 5.6 ^b

Las variaciones en la estructura muscular estudiada, tuvieron un efecto sobre el color del músculo abductor. El área de cobertura miofibrilar varió directamente proporcional con el parámetro b^* ($r=0.9858$; $P=0.014$) y con la cromaticidad ($r=0.9783$; $P=0.0001$), e inversamente proporcional con el ángulo de matiz ($r=-0.9906$, $P=.009$). Por otra parte, se observó una relación inversa entre el área de cobertura miofibrilar y el IG ($r=-0.9592$; $P=0.041$). Sin embargo, la relación observada con el IRM no fue significativa ($r=0.8300$; $P= 0.165$).

6.3 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE DOS SISTEMAS DE REESTRUCTURADO EN FRÍO (CASEINATO-TRANSGLUTAMINASA Y FIBRINÓGENO-TROMBINA), EN MÚSCULOS DE *Nodipecten subnodosus* PRESERVADOS POR CONGELACIÓN, EN LAS CUATRO ESTACIONES DEL AÑO.

6.3.1 Apariencia macroscópica de los reestructurados

En la Figura 16 se muestra una fotografía de la materia prima y de los productos reestructurados con los sistemas caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT) de músculo abductor de almeja mano de león. A nivel comercial, los reestructurados se fabrican en moldes de la misma forma a las del músculo abductor natural pero de mayor tamaño. Sin embargo, en el presente trabajo se prepararon bloques de $10 \times 10 \times 2$ cm para facilitar los análisis de calidad y utilizar menor cantidad de materia prima. Debido a las variaciones en el peso del músculo en las diferentes estaciones del año, el número de piezas empleadas para formar un bloque fue variable, siendo mayor en invierno (58), intermedio en primavera y otoño (33) y menor en verano (29).

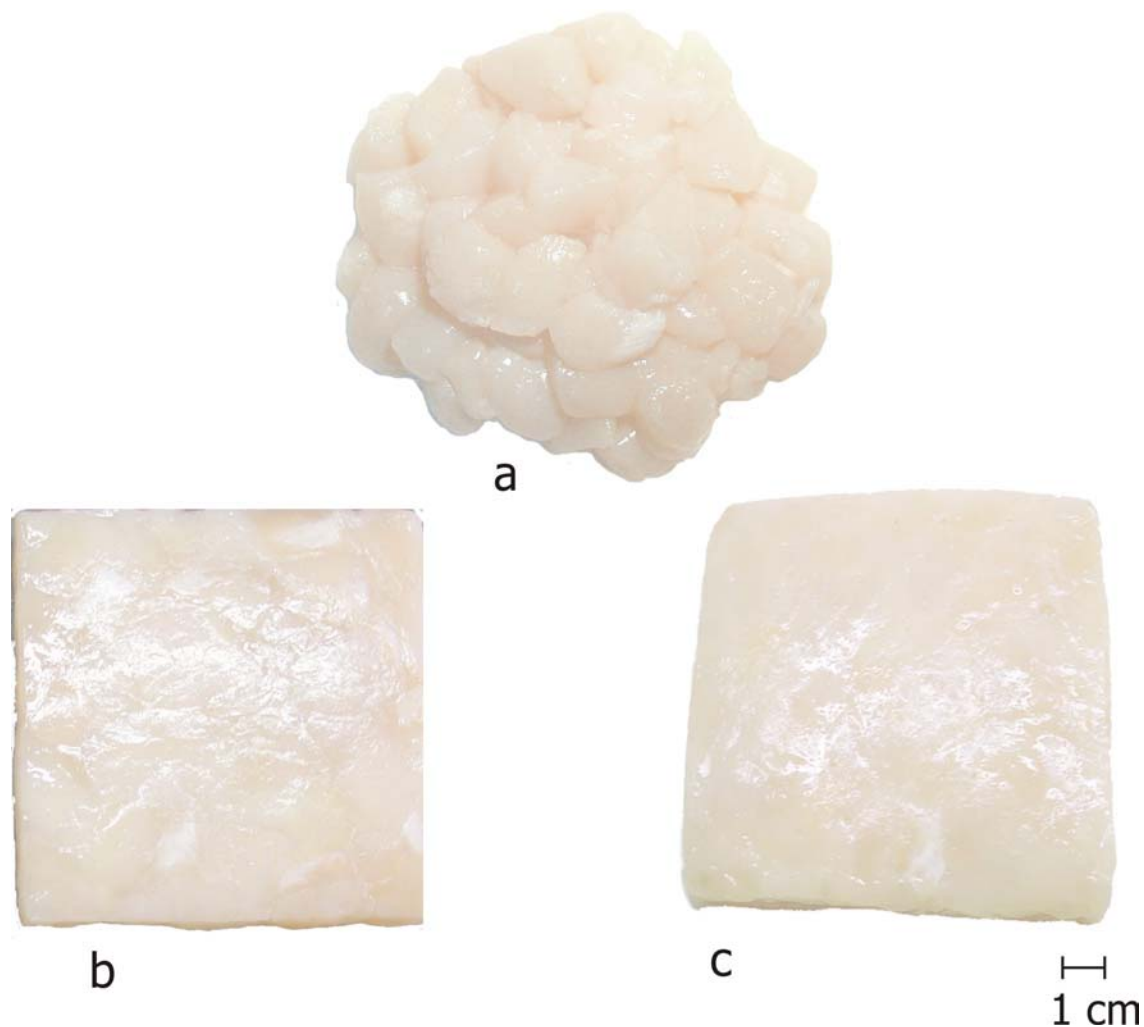


Figura 16. Fotografías de la materia prima (a) y de los productos reestructurados en frío con caseinato-transglutaminasa (b) y fibrinógeno-trombina (c), de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) cultivado en Laguna Manuela, B.C., México.

6.3.2 pH y capacidad de retención de agua.

En la Tabla 13 se muestran las variaciones estacionales del pH y de la capacidad de retención de agua (CRA) en el músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) descongelado y reestructurado con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT). Aquí puede observarse que el pH más bajo fue observado en el

verano tanto en la materia prima como en los reestructurados. Al comparar los tratamientos en una misma estación, se encontró que la reestructuración modificó el pH original de la materia prima de manera irregular en las distintas estaciones del año. Por otra parte, los valores de pH tuvieron una tendencia al incremento en los reestructurados con FT en relación a los reestructurados con CT, aunque solamente hubo diferencias significativas en los valores de verano. En relación a la CRA, las muestras de verano presentaron el menor valor, tal y como ocurrió con el pH. El sistema FT produjo una disminución en los valores de CRA, siendo significativa en las muestras de invierno y primavera. Relacionando el pH con la CRA, solamente se encontró una correlación positiva significativa en la materia prima ($r= 0.9853$; $P= 0.015$), aunque una tendencia similar no significativa ($P>0.05$) fue observada en los reestructurados.

Tabla 13. Variación estacional del pH y de la capacidad de retención de agua (CRA) en el músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) descongelado (Control), y reestructurado con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT). Los valores representan la media \pm la desviación estándar. n para pH = 10; n para CRA = 3. Promedios en una misma columna con letras minúsculas diferentes y entre columnas con letras mayúsculas diferentes, indican diferencias significativas ($P< 0.05$).

Estación	pH			CRA (%)		
	Control	CT	FT	Control	CT	FT
Invierno	6.7 \pm 0.0 ^{bcA}	6.7 \pm 0.1 ^{cAB}	6.8 \pm 0.0 ^{dB}	95.3 \pm 0.4 ^{bcB}	93.1 \pm 1.0 ^{bb}	91.0 \pm 0.9 ^{cA}
Primavera	6.7 \pm 0.0 ^{bb}	6.5 \pm 0.0 ^{ba}	6.5 \pm 0.0 ^{ba}	94.2 \pm 0.8 ^{bb}	93.2 \pm 0.9 ^{bb}	89.2 \pm 1.8 ^{ba}
Verano	6.5 \pm 0.0 ^{ab}	6.3 \pm 0.0 ^{aa}	6.4 \pm 0.0 ^{ab}	88.1 \pm 1.0 ^{aa}	85.9 \pm 1.3 ^{aa}	87.4 \pm 1.0 ^{aa}
Otoño	6.7 \pm 0.0 ^{cb}	6.7 \pm 0.0 ^{ca}	6.7 \pm 0.0 ^{cAB}	98.1 \pm 1.0 ^{cb}	95.9 \pm 1.2 ^{ca}	96.3 \pm 0.6 ^{dAB}

6.3.3 Color

Las variaciones estacionales de los parámetros colorimétricos de la materia prima y de los productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león, se presentan en la Tabla 14. Aquí se puede observar que solamente en algunos casos ocurrieron cambios significativos en el color, debidos a la estación y al tratamiento. La luminosidad (L^*) y el índice de blancura no fueron afectados por la estación ni por el tratamiento de reestructuración. Sin embargo, el parámetro b^* y la cromaticidad fueron alterados por la estación del año mas no por el tratamiento de reestructuración. Finalmente, el parámetro a^* y el ángulo de matíz sufrieron alteraciones debido a la estación y al tratamiento de reestructuración. Al analizar los resultados por tratamiento en las diferentes estaciones, se observó que el color de la materia prima no fue afectado por la estación del año.

Tabla 14. Variación estacional de los parámetros de color L*, a*, b*, ángulo de matiz (H°_{ab}), cromaticidad, e índice de blancura de la materia prima (Control) y de los productos reestructurados con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT), en músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela durante 2003. Los valores representan la media ± la desviación estándar. *n* = 4. Letras minúsculas diferentes dentro de cada parámetro colorimétrico y tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones (*P* < 0.05). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada parámetro colorimétrico y estación, indican diferencia estadística entre tratamientos (*P* < 0.05).

Tratamiento	Estación	L*	a*	b*	H° _{ab}	Cromaticidad	Índice de blancura
Control	Invierno	51.56 ± 2.00 ^{aA}	-4.12 ± 0.23 ^{aA}	7.30 ± 1.10 ^{aA}	119.77 ± 4.29 ^{aA}	8.39 ± 0.93 ^{aA}	50.83 ± 2.01 ^{aA}
	Primavera	51.42 ± 0.88 ^{aA}	-4.33 ± 0.17 ^{aAB}	7.07 ± 0.77 ^{aA}	121.67 ± 3.64 ^{aAB}	8.30 ± 0.58 ^{aA}	50.72 ± 0.83 ^{aA}
	Verano	55.18 ± 1.75 ^{aA}	-4.95 ± 0.18 ^{aA}	7.09 ± 1.54 ^{aA}	125.53 ± 6.60 ^{aA}	8.68 ± 1.20 ^{aA}	54.33 ± 1.49 ^{aA}
	Otoño	55.10 ± 2.23 ^{aA}	-4.03 ± 1.35 ^{aA}	7.14 ± 0.43 ^{aA}	118.85 ± 7.45 ^{aA}	8.24 ± 0.97 ^{aA}	54.33 ± 2.04 ^{aA}
CT	Invierno	53.27 ± 2.15 ^{aA}	-4.14 ± 0.35 ^{bA}	7.86 ± 1.30 ^{bA}	118.22 ± 4.26 ^{aA}	8.90 ± 1.17 ^{abA}	52.41 ± 2.12 ^{aA}
	Primavera	53.77 ± 1.81 ^{aA}	-4.99 ± 0.63 ^{aA}	7.45 ± 1.58 ^{abA}	124.42 ± 6.23 ^{abB}	9.01 ± 1.38 ^{bA}	52.88 ± 1.78 ^{aA}
	Verano	55.97 ± 4.30 ^{aA}	-4.92 ± 0.51 ^{aA}	5.96 ± 0.94 ^{aA}	129.80 ± 5.95 ^{bA}	7.77 ± 0.71 ^{aA}	55.28 ± 4.20 ^{aA}
	Otoño	54.71 ± 2.40 ^{aA}	-4.47 ± 0.34 ^{abA}	7.08 ± 0.89 ^{abA}	122.45 ± 3.28 ^{aA}	8.38 ± 0.83 ^{abA}	53.93 ± 2.31 ^{aA}
FT	Invierno	51.92 ± 0.86 ^{aA}	-3.90 ± 0.30 ^{abA}	8.25 ± 0.89 ^{bA}	115.46 ± 3.10 ^{aA}	9.13 ± 0.80 ^{bA}	51.06 ± 0.84 ^{aA}
	Primavera	52.70 ± 2.86 ^{aA}	-3.46 ± 0.56 ^{bb}	8.36 ± 1.96 ^{bA}	113.51 ± 6.65 ^{aA}	9.11 ± 1.69 ^{bA}	51.80 ± 2.75 ^{aA}
	Verano	53.98 ± 1.42 ^{aA}	-4.48 ± 0.13 ^{ab}	6.14 ± 0.38 ^{aA}	126.12 ± 1.38 ^{bA}	7.60 ± 0.35 ^{aA}	53.36 ± 1.38 ^{aA}
	Otoño	53.64 ± 0.10 ^{aA}	-4.49 ± 0.038 ^{aA}	7.73 ± 0.19 ^{abA}	120.17 ± 0.81 ^{abA}	8.94 ± 0.15 ^{abA}	52.78 ± 0.076 ^{aA}

L*= luminosidad, a* = rojo-verde, b* = amarillo-azul.

Los valores de a^* y b^* de verano en los reestructurados CT, fueron mas bajos que los de invierno. La cromaticidad en verano fue menor que en primavera y el ángulo de matiz de verano fue mayor que el de invierno y otoño. En los productos reestructurados FT, las muestras de verano y otoño presentaron valores inferiores de a^* en relación a las de invierno, y un menor valor de b^* en relación a primavera e invierno. La cromaticidad fue mas baja en comparación con primavera e invierno, y el ángulo de matiz fue superior que el de primavera e invierno

Al analizar el efecto del tratamiento dentro de cada estación, se observó una tendencia del sistema FT a incrementar el valor de a^* y a disminuir el ángulo de matiz. Los cambios en el valor de a^* fueron significativos en el verano, siendo mas elevados en los reestructurados con FT que en la materia prima y CT. En primavera se observó un mayor valor en FT en relación a CT solamente. Por otra parte, los cambios inducidos por el sistema sobre el ángulo de matiz, solo fueron significativos en primavera donde se observó un valor menor ($P < 0.05$) en los reestructurados con FT, en comparación con el observado en los reestructurados CT. No se encontraron diferencias significativas con respecto a la materia prima

6.3.4 Composición química proximal

En la Tabla 15 se muestra la variabilidad estacional de la composición química proximal de la materia prima (Control), y de los productos reestructurados con caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina, en músculo abductor de la almeja mano de león. En cuanto a la materia prima, no hubo efecto de la estación sobre la composición de

proteínas, lípidos y cenizas. Sin embargo, se observó una clara variación estacional en la composición de humedad y de carbohidratos, presentándose entre ambos constituyentes una relación inversa ($r = -0.9875$; $P=0.012$), posiblemente como resultado del incremento en glucógeno. Estas mismas tendencias se observaron en músculo fresco (ver sección 6.2.2.3). En esa misma tabla se observa que ambos sistemas de reestructurado modificaron la composición proximal de la materia prima. Se observó el mismo efecto estacional en la humedad y en los carbohidratos pero las variaciones en el resto de los componentes, no tuvieron un patrón definido. Es interesante notar la disminución significativa de los lípidos en primavera y verano con el reestructurado CT.

Tabla 15. Variación estacional de la composición química proximal de la materia prima (Control), y de los productos reestructurados con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT), en músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*), cultivada en Laguna Manuela durante 2003. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 3$. Literales diferentes en columnas dentro de un mismo tratamiento, indican diferencia estadística ($P < 0.05$).

Tratamiento	Estación	Humedad	Proteína	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos
Control	Invierno	78.86 \pm 0.22 ^c	16.92 \pm 0.45 ^a	0.43 \pm 0.11 ^a	1.79 \pm 0.14 ^a	1.99 \pm 0.40 ^a
	Primavera	76.31 \pm 0.29 ^b	17.64 \pm 0.46 ^a	0.58 \pm 0.25 ^a	1.52 \pm 0.06 ^a	3.94 \pm 0.35 ^b
	Verano	72.79 \pm 0.12 ^a	16.12 \pm 0.14 ^a	0.47 \pm 0.08 ^a	1.60 \pm 0.33 ^a	9.00 \pm 0.60 ^c
	Otoño	78.31 \pm 0.13 ^c	16.85 \pm 1.036 ^a	0.64 \pm 0.11 ^a	1.55 \pm 0.40 ^a	2.62 \pm 1.03 ^{ab}
CT	Invierno	80.20 \pm 0.217 ^c	16.17 \pm 0.109 ^a	0.34 \pm 0.076 ^b	1.46 \pm 0.029 ^c	1.83 \pm 0.278 ^a
	Primavera	77.44 \pm 0.212 ^b	17.34 \pm 0.002 ^b	0.19 \pm 0.027 ^{ab}	1.32 \pm 0.001 ^b	3.70 \pm 0.185 ^b
	Verano	71.64 \pm 0.112 ^a	16.83 \pm 0.064 ^{ab}	0.09 \pm 0.004 ^a	1.18 \pm 0.004 ^a	10.21 \pm 0.176 ^c
	Otoño	76.92 \pm 0.045 ^b	18.99 \pm 0.096 ^c	0.28 \pm 0.293 ^b	1.51 \pm 0.009 ^c	2.31 \pm 0.083 ^a
FT	Invierno	80.58 \pm 0.48 ^c	16.63 \pm 0.36 ^a	0.28 \pm 0.08 ^a	1.39 \pm 0.03 ^a	1.12 \pm 0.11 ^a
	Primavera	79.32 \pm 0.18 ^b	16.17 \pm 0.11 ^a	0.27 \pm 0.02 ^a	1.31 \pm 0.01 ^a	2.95 \pm 0.06 ^b
	Verano	72.67 \pm 0.08 ^a	16.51 \pm 0.16 ^a	0.23 \pm 0.01 ^a	1.52 \pm 0.02 ^b	9.06 \pm 0.20 ^c
	Otoño	79.17 \pm 0.41 ^b	17.68 \pm 0.54 ^b	0.30 \pm 0.06 ^a	1.52 \pm 0.02 ^b	1.33 \pm 0.19 ^a

6.3.5 Actividad proteolítica total

En la Tabla 16 se presenta la actividad proteolítica total del músculo abductor de almeja mano de león, empleada como materia prima en la elaboración de los reestructurados. En esta tabla es evidente la baja actividad proteolítica independientemente de la estación del año, aunque ésta fue superior en invierno que en primavera y otoño

Tabla 16. Variación estacional en la actividad proteolítica total en músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) utilizado como materia prima para la elaboración de productos reestructurados. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 3$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Estación	Actividad proteolítica total (μg tirosina/24 h/g proteína)	Actividad proteolítica total (μg tirosina/min/g proteína)
Invierno	189.3 \pm 20.2 ^b	0.131 \pm 0.014 ^b
Primavera	116.3 \pm 19.4 ^a	0.080 \pm 0.013 ^a
Verano	120.6 \pm 17.6 ^{a,b}	0.084 \pm 0.012 ^{a,b}
Otoño	78.5 \pm 24.9 ^a	0.054 \pm 0.017 ^a

6.3.6 Textura

6.3.6.1 Prueba de corte WB.

En la Figura 17 se muestra la variación estacional de la prueba de corte WB de la materia prima (control) y de los reestructurados CT y FT. Con respecto al efecto estacional,

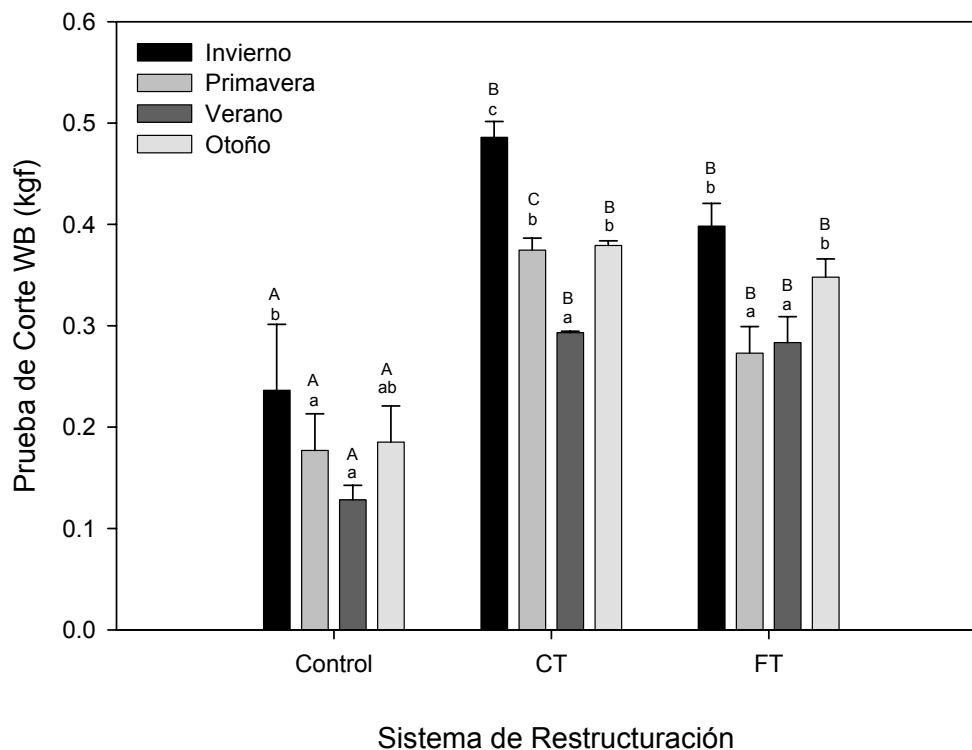


Figura 17. Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la firmeza de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) obtenida mediante la prueba de corte Warner-Bratzler. La altura de las columnas representan el promedio y las barras sobre las mismas indican la desviación estándar ($n=10$). Control = materia prima; CT= Reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT= Reestructurado con fibrinógeno-trombina. Literales diferentes en minúsculas en un mismo tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones ($P<0.05$). Literales diferentes en mayúsculas en una misma estación, indican diferencia estadística entre sistemas de reestructuración ($P<0.05$).

es evidente que las muestras de primavera y verano tuvieron una textura menos firme que las de invierno, mientras que las de otoño no mostraron diferencias significativas con respecto a las muestras del resto de las estaciones. Por otra parte, los sistemas CT y FT incrementaron la firmeza de los productos en relación al control, independientemente de la

estación del año. El incremento fue ligeramente mayor en los CT que en los FT. En ambos tratamientos, la textura en invierno fue más alta, con tendencia a disminuir en primavera y verano, para luego incrementarse nuevamente en otoño.

6.3.6.2 Perfil de textura.

En la Figura 18 se muestra la variabilidad estacional de la dureza en los tratamientos control y reestructurados CT y FT del músculo abductor de almeja mano de león. Esta prueba consistente en dos ciclos de compresión-descompresión, mostró menor sensibilidad que la prueba WB. Las muestras de materia prima de invierno presentaron mayor firmeza ($P < 0.05$) que las de verano, pero esta diferencia ya no se detectó en los reestructurados. Por otra parte, solo los reestructurados FT de otoño presentaron una mayor firmeza en comparación con los del resto de las estaciones. A excepción de los resultados de invierno, ambos métodos incrementaron la firmeza de la materia prima pero en mayor grado en los CT y especialmente en primavera ($P < 0.05$).

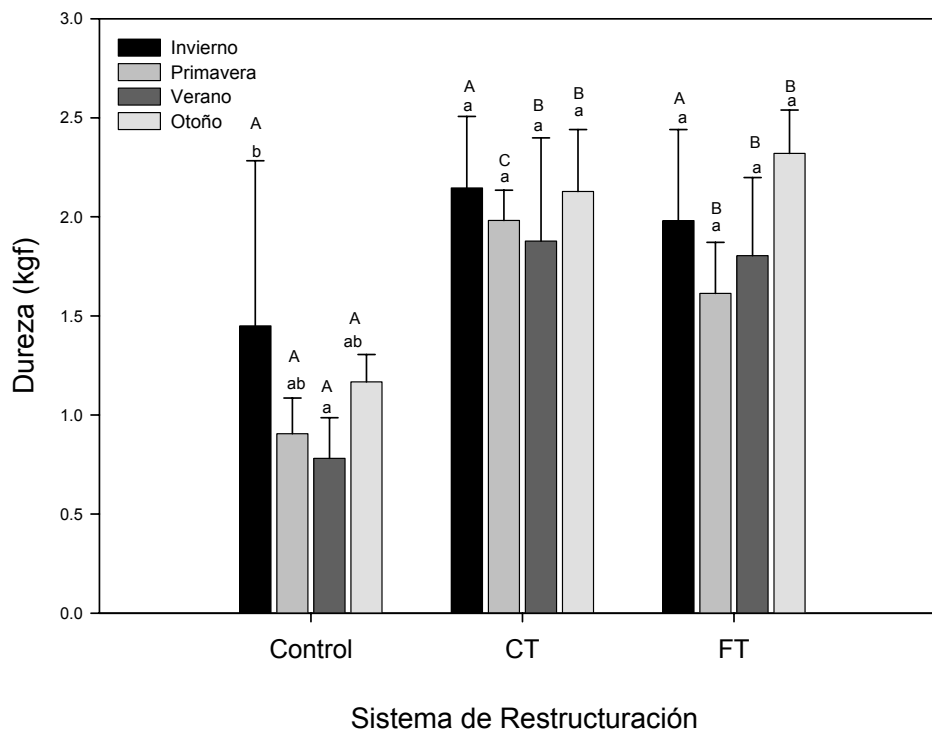


Figura 18. Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la dureza de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). La altura de las columnas representan el promedio y las barras sobre las mismas indican la desviación estándar ($n = 10$). Control = materia prima; CT= Reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT= Reestructurado con fibrinogeno-trombina. Literales diferentes en minúsculas en un mismo tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones ($P < 0.05$). Literales diferentes en mayúsculas en una misma estación, indican diferencia estadística entre sistemas de reestructuración ($P < 0.05$).

Con respecto a la cohesividad (Figura 19), el comportamiento fue diferente que la dureza. El valor más alto se obtuvo en la materia prima de invierno y en los reestructurados CT, la cohesividad fue más alta en otoño en comparación a la del resto de las estaciones. No se apreciaron efectos de la estación en los reestructurados FT. Comparando los reestructurados, la cohesividad fue mayor en los CT en todas las estaciones, a excepción de

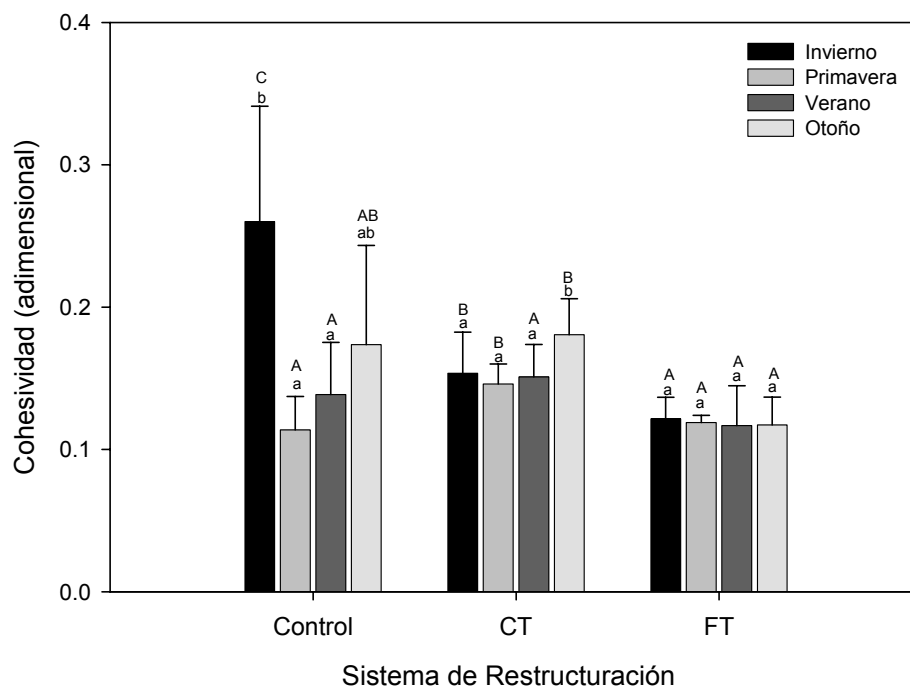


Figura 19. Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la cohesividad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). La altura de las columnas representan el promedio y las barras sobre las mismas indican la desviación estándar ($n=10$). Control = materia prima; CT= reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT= reestructurado con fibrinogenotrombina. Literales diferentes en minúsculas en un mismo tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones ($P<0.05$). Literales diferentes en mayúsculas en una misma estación, indican diferencia estadística entre sistemas de reestructuración ($P<0.05$).

verano. En cuanto a la elasticidad (Figura 20), los cambios estacionales afectaron a la materia prima y en menor grado a los reestructurados. La elasticidad en la materia prima de primavera aumentó significativamente con los tratamientos de reestructurado.

La misma tendencia fue encontrada en la masticabilidad (Figura 21), donde los reestructurados de primavera presentaron mayores valores que la materia prima. No obstante, en este caso el incremento inducido por el sistema CT fue mayor que el FT.

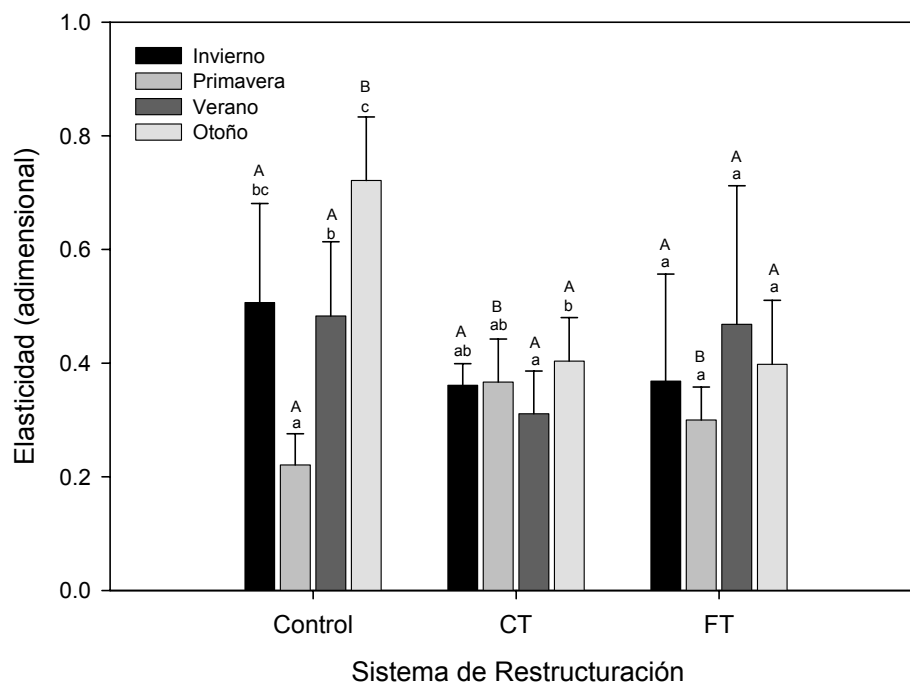


Figura 20. Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la elasticidad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). La altura de las columnas representan el promedio y las barras sobre las mismas indican la desviación estándar ($n=10$). Control = materia prima; CT= reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT= reestructurado con fibrinogeno-trombina. Literales diferentes en minúsculas en un mismo tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones ($P<0.05$). Literales diferentes en mayúsculas en una misma estación, indican diferencia estadística entre sistemas de reestructuración ($P<0.05$).

En la Figura 22, se muestran los resultados de gomosidad en donde se aprecia que los tratamientos de reestructuración incrementaron este parámetro en los músculos. También se observa un efecto estacional similar al de masticabilidad, en donde los valores de invierno y otoño fueron superiores que los de primavera y verano.

Con respecto a la adhesividad, en la Figura 23 se observa un incremento de este parámetro en los reestructurados, aunque éste haya sido significativo solamente en las muestras de verano del reestructurado CT en contraste con la materia prima.

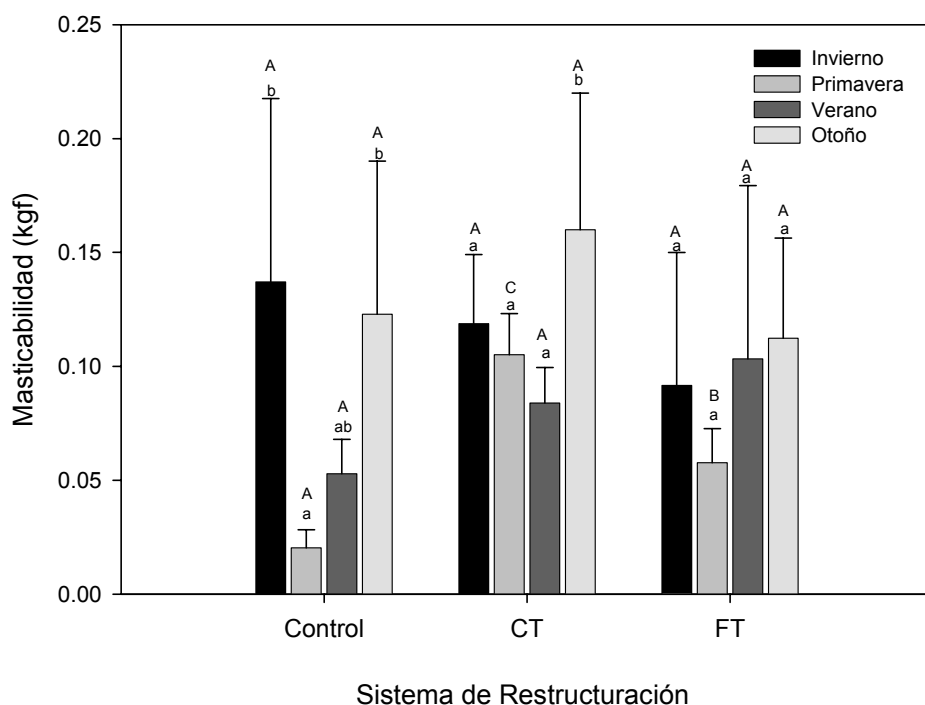


Figura 21. Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la masticabilidad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). La altura de las columnas representan el promedio y las barras sobre las mismas indican la desviación estándar ($n=10$). Control = materia prima; CT= reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT= reestructurado con fibrinogeno-trombina. Literales diferentes en minúsculas en un mismo tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones ($P<0.05$). Literales diferentes en mayúsculas en una misma estación, indican diferencia estadística entre sistemas de reestructuración ($P<0.05$).

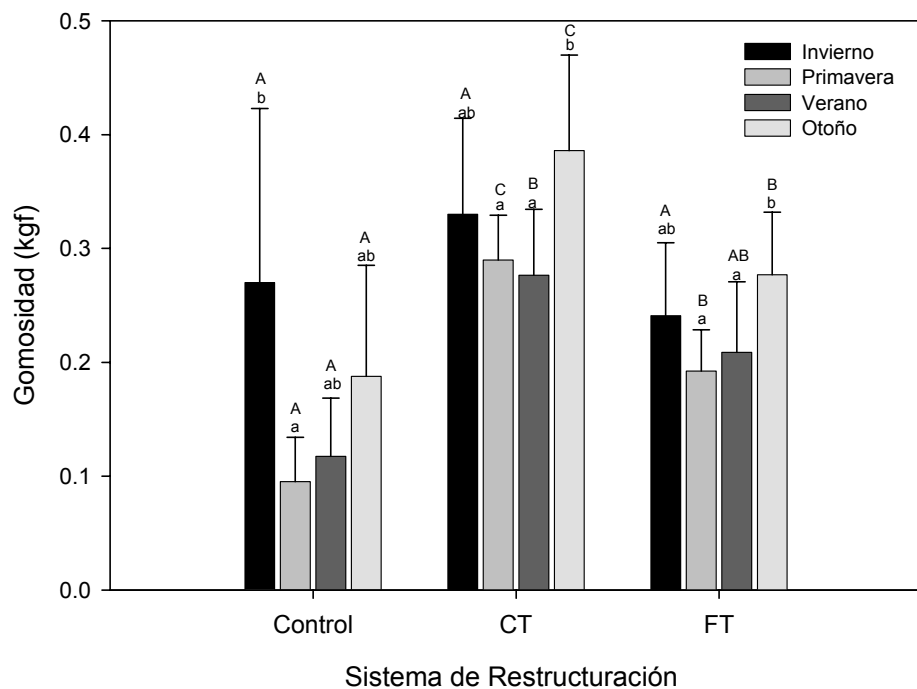


Figura 22. Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la gomosidad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). La altura de las columnas representan el promedio y las barras sobre las mismas indican la desviación estándar ($n=10$). Control = materia prima; CT= reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT= reestructurado con fibrinogeno-trombina. Literales diferentes en minúsculas en un mismo tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones ($P<0.05$). Literales diferentes en mayúsculas en una misma estación, indican diferencia estadística entre sistemas de reestructuración ($P<0.05$).

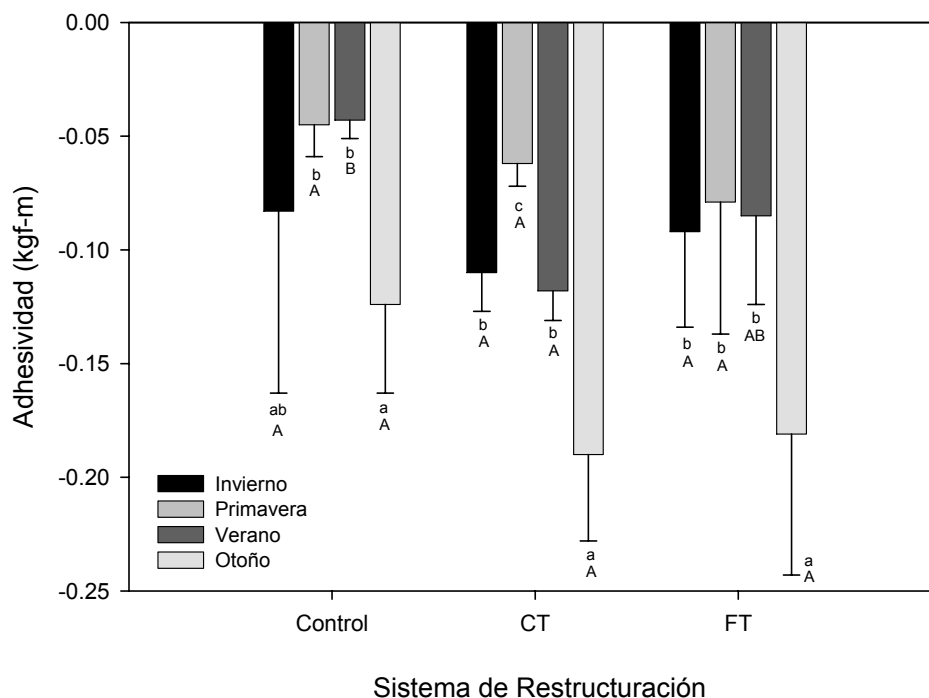


Figura 23. Efecto de la estación y del sistema de reestructuración sobre la adhesividad de la materia prima y productos reestructurados de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). La altura negativa de las columnas representan el promedio y las barras bajo las mismas indican la desviación estándar ($n=10$). Control= materia prima; CT= reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT= reestructurado con fibrinogeno-trombina. Literales diferentes en minúsculas en un mismo tratamiento, indican diferencia estadística entre estaciones ($P<0.05$). Literales diferentes en mayúsculas en una misma estación, indican diferencia estadística entre sistemas de reestructuración ($P<0.05$).

6.4 COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LOS DOS SISTEMAS DE REESTRUCTURADO EN FRÍO, EN MÚSCULOS DE *Nodipecten subnodosus* Y DE *Argopecten ventricosus*.

De la misma forma que en el apartado anterior, en esta sección se describen las características de la materia prima y de reestructurados con los sistemas CT y FT, pero empleando como materia prima músculos de *N. subnodosus* y de almeja catarina (*A. ventricosus*) cosechados en el otoño (30 de octubre) del 2002.

6.4.1 Índices de condición fisiológica

En la Tabla 17 se presentan los promedios del peso húmedo descongelado, el índice de rendimiento muscular (IRM) y el índice gonadosomático (IG) de músculos de *N. subnodosus* y de *A. ventricosus* cultivados en Rancho Bueno, B.C.S. Aquí se aprecia que las diferencias observadas entre el peso promedio del músculo de almeja mano de león y almeja catarina no fueron significativas ($P>0.05$). Tampoco se obtuvieron diferencias significativas en el IRM entre especies, pero si hubo diferencia estadística en el IG de ambas especies. El IG de la almeja mano de león fue de $3.10 \pm 0.92\%$ contra $5.99 \pm 1.47\%$ de la almeja catarina. Esto era esperable ya que la almeja catarina al ser una especie pequeña de ciclo de vida corto (≈ 1.5 años), es una especie precoz que inicia la maduración reproductiva a los 4 meses de edad y a una talla de 20 mm de altura (Román et al, 2001).

Tabla 17. Índice de rendimiento muscular e índice gonadosomático de la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) cultivadas en Rancho Bueno BCS en el año 2002. Los valores son la media \pm la desviación estándar. $n = 30$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P<0.05$).

Especie	Peso húmedo del músculo abductor (g)	Índice de rendimiento muscular (%)	Índice gonadosomático (%)
Mano de león	4.75 ± 1.1^a	37.11 ± 3.9^a	3.10 ± 0.92^a
Catarina	3.93 ± 0.9^a	39.06 ± 6.1^a	5.99 ± 1.47^b

6.4.2 pH de superficie y composición química proximal

Los resultados de pH y composición química proximal del músculo abductor de almeja mano de león y almeja catarina se presentan en la Tabla 18. El pH de la superficie

muscular de ambas especies fue ligeramente ácido, siendo el de almeja mano de león significativamente superior al de la almeja catarina ($P < 0.05$). Con excepción de las cenizas, el contenido del resto de los componentes fue diferente entre especies. El músculo de almeja catarina, tuvo mayor contenido de humedad, proteínas y lípidos, pero menor contenido de carbohidratos que el de almeja mano de león.

Tabla 18. Variación estacional en el pH y en la composición química proximal del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) cultivadas en Rancho Bueno, B.C.S., México. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 3$. Promedios en una misma columna con letras diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Especie	pH	Humedad (%)	Proteínas (%)	Carbohidratos (%)	Cenizas (%)	Lípidos (%)
Mano de león	6.44 \pm 0.20 ^b	75.1 \pm 1.90 ^a	13.64 \pm 0.90 ^a	9.70 \pm 2.6 ^b	1.54 \pm 0.19 ^a	0.03 \pm 0.010 ^a
Catarina	6.09 \pm 0.03 ^a	79.1 \pm 1.06 ^b	16.41 \pm 1.01 ^b	2.75 \pm 0.21 ^a	1.55 \pm 0.21 ^a	0.13 \pm 0.07 ^b

6.4.3 Capacidad de retención de agua (CRA)

En la Tabla 19 se presenta la CRA de los músculos de almeja mano de león y de almeja catarina descongelados (control), y reestructurados con CT y FT. Los resultados indican que no existieron diferencias significativas en este parámetro entre especies. La reestructuración con FT produjo una disminución en la CRA en almeja mano de león mas no el tratamiento CT. Ninguno de los tratamientos afectó la CRA en la almeja catarina.

Tabla 19. Capacidad de retención de agua del músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) descongelado (control), y reestructurado con caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 3$. Promedios en una misma columna con letras minúsculas diferentes y entre columnas con letras mayúsculas diferentes, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tratamiento	Mano de león	Catarina
Control	94.38 \pm 1.90 ^{bA}	95.31 \pm 1.41 ^{aA}
Caseinato-transglutaminasa	93.93 \pm 1.10 ^{abA}	94.64 \pm 1.64 ^{aA}
Fibrinógeno-trombina	91.78 \pm 1.36 ^{aA}	94.40 \pm 1.23 ^{aA}

6.4.4 Color

El efecto de los reestructurados sobre los parámetros de color en músculos de las dos especies se muestra en la Tabla 20. En esta tabla se puede apreciar que ni la luminosidad ni el índice de blancura fueron afectados por los tratamientos de reestructuración en las dos especies. Con respecto al resto de los parámetros, hubo un efecto particular para cada especie. En almeja mano de león, la cromaticidad aumentó y el ángulo de matíz disminuyó con el tratamiento CT, y con el FT el valor de a^* disminuyó y el de b^* aumentó. En la almeja catarina el reestructurado FT solamente produjo la caída del ángulo de matíz. En conclusión, los tratamientos de reestructuración no produjeron grandes cambios en el color del músculo natural en ambas especies.

Tabla 20. Parámetros de color L^* , a^* , b^* , ángulo de matiz (H°_{ab}), cromaticidad (C), e índice de blancura en la materia prima (Control) y en los productos reestructurados con caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT), de músculo abductor de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y almeja catarina (*Argopecten ventricosus*), cultivadas en Rancho Bueno durante 2002. Los valores representan la media \pm la desviación estándar. $n = 4$. Letras minúsculas diferentes dentro del mismo parámetro colorimétrico y especie, indican diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$).

Especie	Tratamiento	L^*	a^*	b^*	H°_{ab}	C	Índice de blancura
Mano de león	Control	51.8 \pm 2.5 ^a	-3.2 \pm 0.4 ^b	5.2 \pm 0.9 ^a	122.1 \pm 5.6 ^b	6.1 \pm 0.8 ^{ab}	51.4 \pm 2.5 ^a
	CT	51.8 \pm 1.6 ^a	-3.1 \pm 0.2 ^b	4.5 \pm 0.5 ^a	124.9 \pm 3.6 ^b	5.5 \pm 0.5 ^a	51.5 \pm 1.6 ^a
	FT	53.4 \pm 1.4 ^a	-3.7 \pm 0.2 ^a	7.5 \pm 1.5 ^b	117.1 \pm 4.8 ^a	8.4 \pm 1.3 ^b	52.7 \pm 1.4 ^a
Catarina	Control	55.6 \pm 0.9 ^a	-4.4 \pm 0.3 ^a	4.9 \pm 1.2 ^a	128.0 \pm 2.4 ^{ab}	6.6 \pm 0.8 ^a	55.1 \pm 0.9 ^a
	CT	53.8 \pm 2.3 ^a	-4.0 \pm 0.6 ^a	4.5 \pm 0.9 ^a	132.5 \pm 3.0 ^b	6.1 \pm 1.0 ^a	53.4 \pm 2.2 ^a
	FT	53.8 \pm 3.0 ^a	-3.8 \pm 0.3 ^a	5.5 \pm 0.6 ^a	124.4 \pm 2.7 ^a	6.7 \pm 0.6 ^a	53.3 \pm 2.9 ^a

L^* = luminosidad, a^* = rojo-verde, b^* = amarillo-azul

6.4.5 Textura

6.4.5.1 Prueba de corte Warner-Bratzler

Los resultados de la prueba de corte Warner-Bratzler (WB) se muestra en la Figura 24. Aquí se aprecia que los músculos congelados-descongelados de almeja catarina, fueron mas firmes que los de almeja mano de león. Esto posiblemente trajo como consecuencia que los valores de fuerza de corte en los reestructurados con los dos sistemas, también fueran superiores en la almeja catarina. Independientemente de la especie la fuerza de corte fue significativamente ($P < 0.05$) mas elevada con el reestructurado CT. en comparación con las muestras control sin tratamiento.

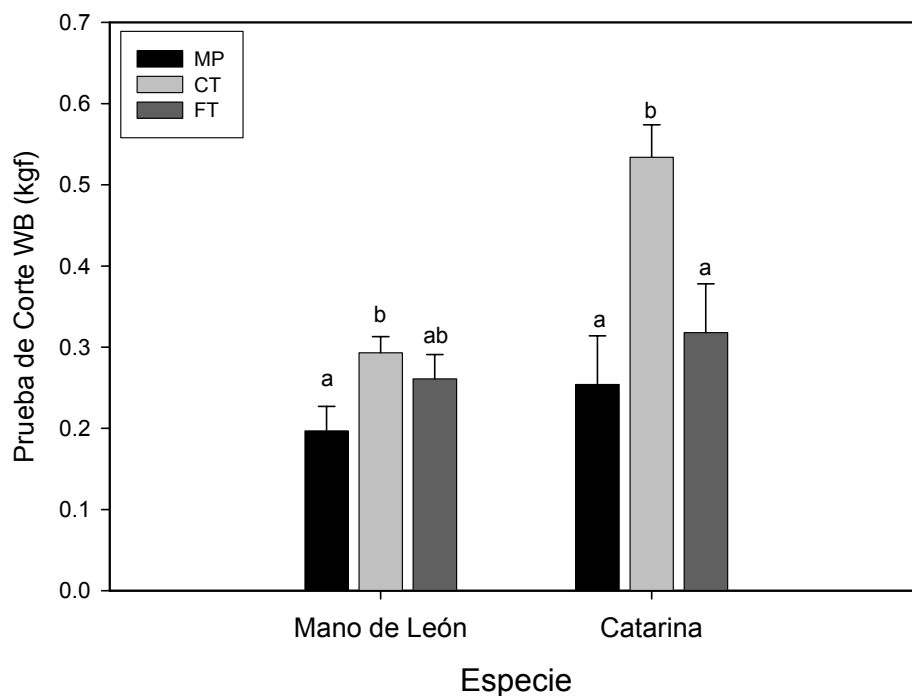


Figura 24. Valores de fuerza de corte obtenidos mediante la prueba de Warner-Bratzler en músculo abductor congelado-descongelado y productos reestructurados de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y almeja catarina (*Argopecten ventricosus*), utilizando los sistemas de reestructuración en frío caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT). Letras diferentes dentro de una misma especie indican diferencia estadística ($P < 0.05$) entre tratamientos. Las barras representan la desviación estándar ($n = 10$). MP = Materia prima; CT = Reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT = Reestructurado con fibrinogeno-trombina.

6.4.5.2 Análisis de Perfil de Textura

Los resultados del análisis de perfil de textura se muestran en la Figura 25. Aquí se puede apreciar que la dureza de los músculos de almeja catarina fue superior a la de la almeja mano de león, lo cual concuerda con los resultados de la prueba WB. Los tratamientos de reestructuración y especialmente los del tratamiento CT, incrementaron los valores de dureza, masticabilidad, cohesividad, gomosidad, elasticidad y adhesividad en

todos los casos, a excepción de la elasticidad y masticabilidad en músculos tratados con FT

de almeja

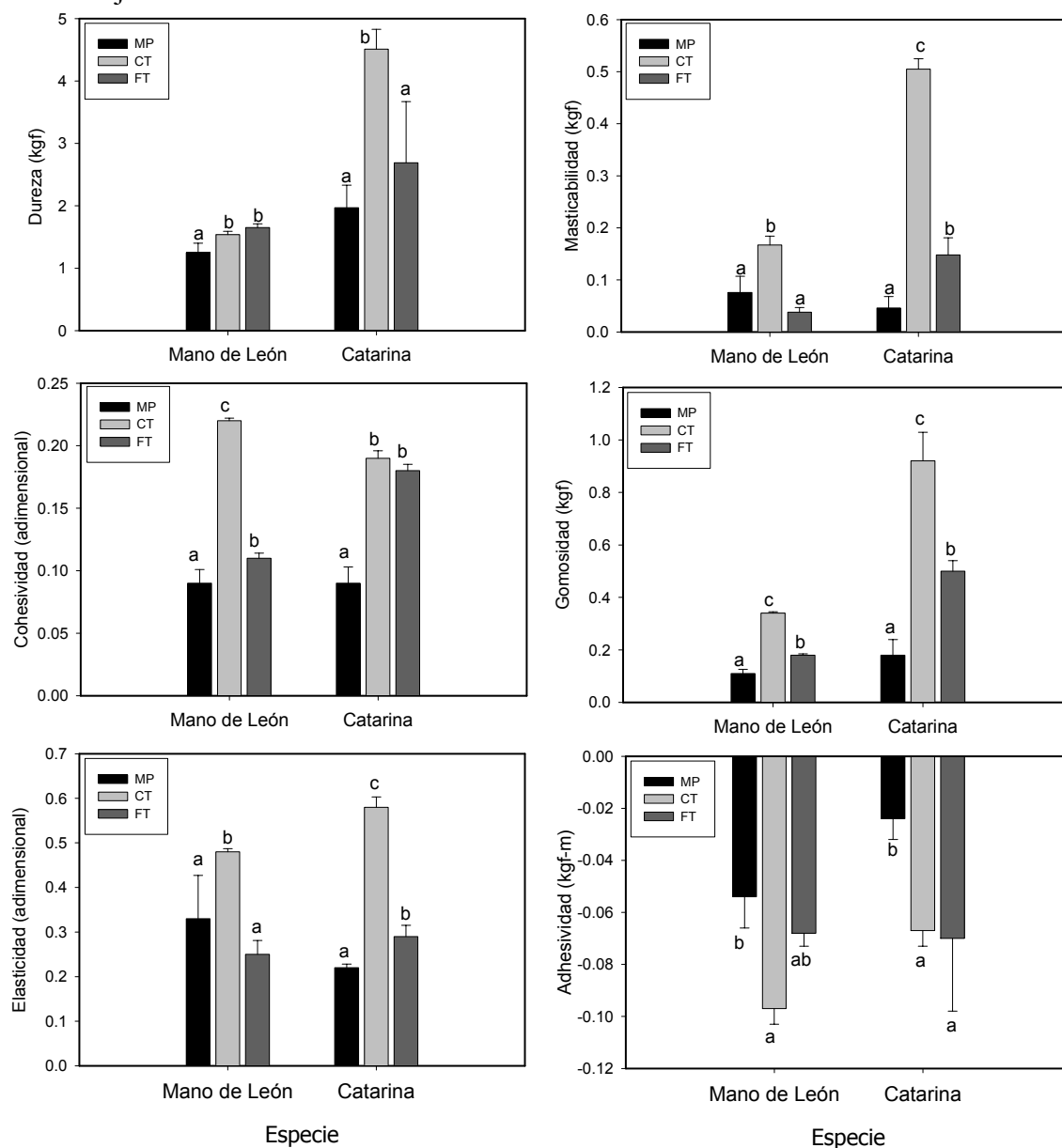


Figura 25. Análisis de perfil de textura en músculo abductor congelado-descongelado y productos reestructurados de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y almeja catarina (*Argopecten ventricosus*), utilizando los sistemas de reestructuración en frío caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinógeno-trombina (FT). Letras diferentes dentro de una misma especie indican diferencia estadística ($P < 0.05$) entre tratamientos. Las barras representan la desviación estándar ($n = 10$). MP = Materia prima; CT = Reestructurado con caseinato-transglutaminasa; FT = Reestructurado con fibrinogeno-trombina.

mano de león, en donde los valores de materia prima superaron a los reestructurados FT. Los incrementos producidos por los sistemas de reestructurado fueron importantes ya que por ejemplo en la almeja mano de león, el sistema CT produjo un incremento en masticabilidad de 120%, cohesividad 144% y adhesividad 80%. En almeja catarina la masticabilidad se incrementó 998%.

6.4.6 Microestructura de las matrices de unión y zonas de unión en los productos reestructurados

En la Figura 26 se muestran imágenes representativas de las preparaciones histológicas de las matrices proteicas polimerizadas de los sistemas CT y FT. Además se presentan imágenes de preparaciones histológicas enfocadas a las regiones de unión entre matrices y músculos de los reestructurados CT y FT. En la Figura 26A, la matriz CT está formada por una fase homogénea, continua y compacta mientras que la matriz FT (Figura 26B) presenta una estructura fibrosa, discontinua con diferente nivel de agregación del material. En las interfases matriz-músculo de las almejas mano de león (Figura 26C) y almeja catarina (Figura 26D) reestructuradas con CT la matriz aparece en contacto cercano con las fibras musculares, mientras que en los reestructurados FT el contacto entre matriz y músculo es más lejano tanto en almeja mano de león (Figura 26E) como en almeja catarina (Figura 26F).

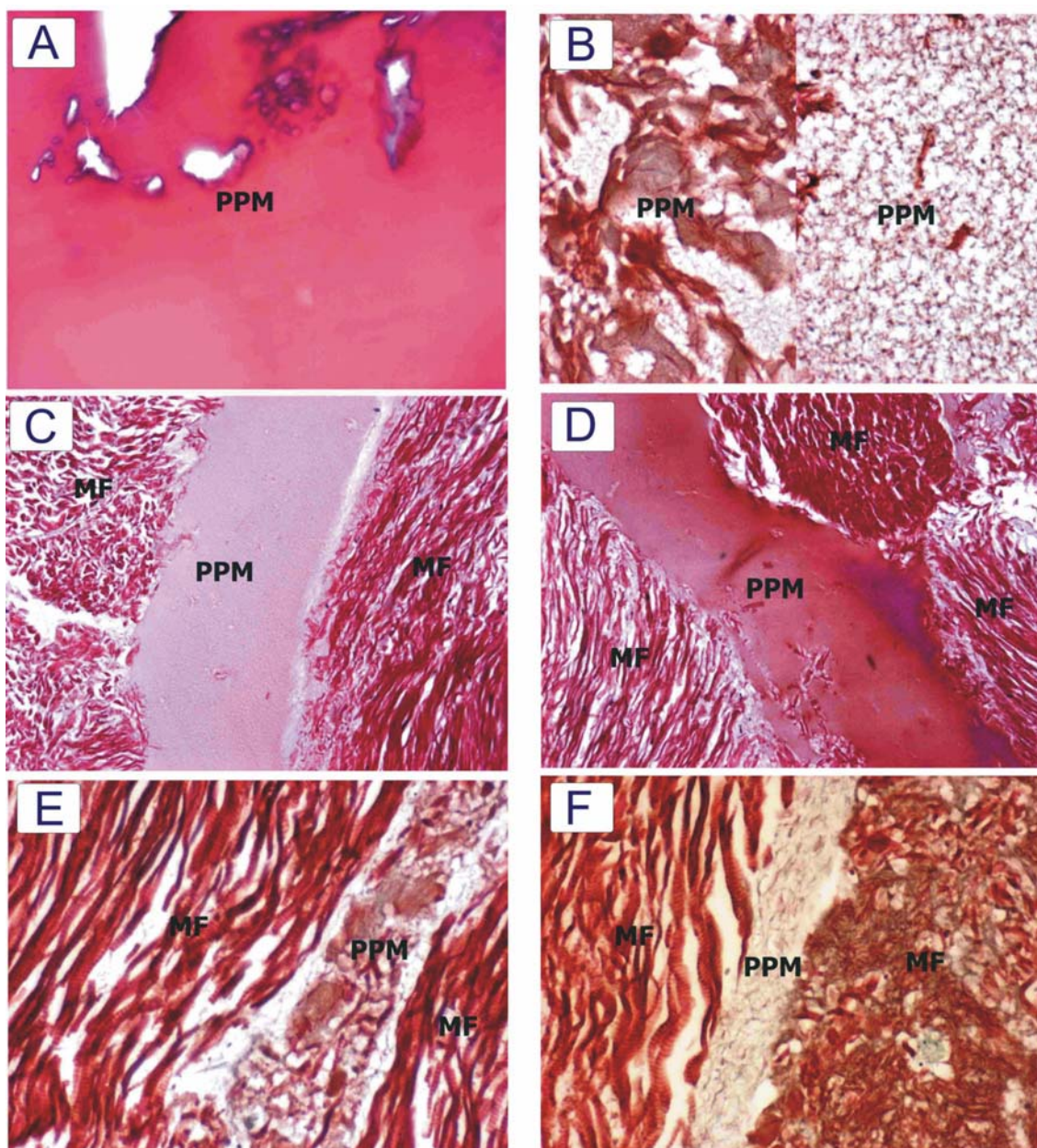


Figura 26. Imágenes representativas de las matrices de unión y de las interfases matriz-musculo de almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y almeja catarina (*Argopecten ventricosus*), reestructuradas con los sistemas caseinato-transglutaminasa (CT) y fibrinogeno-trombina (FT). Las imágenes fueron tomadas mediante microscopia de luz (40×) y contrastadas con la tinción tricrómica de Masson. A = matriz del sistema CT; B = matriz del sistema FT; C = Interfase matriz-músculo de almeja mano de león con CT; D = Interfase matriz-músculo de almeja mano de león con FT; E = Interfase matriz-músculo de almeja catarina con CT; F = Interfase matriz-músculo de almeja catarina con FT. Las matrices proteicas polimerizadas (PPM) y las fibras musculares (MF) aparecen en color rojo a rosado. La materia intersticial aparece de color blanco.

7. DISCUSIÓN

7.1 Determinación de las variaciones estacionales en la calidad del músculo abductor fresco de *Nodipecten subnodosus* durante un ciclo anual y su relación con las variables ambientales estudiadas.

7.1.1 Variación estacional en los índices de condición fisiológica.

7.1.1.1 Índice de rendimiento muscular (IRM) e índice gonadosomático (IGS).

Los cambios en el peso de los diferentes componentes corporales así como los índices derivados de los mismos han sido útiles para determinar una relación entre el crecimiento y reproducción en diversas especies de pectínidos (Barber y Blake, 1991). Las fluctuaciones en estos índices durante el ciclo reproductivo, pueden servir de indicadores para una correcta selección de sitios en donde desarrollar cultivos de una determinada especie. En el presente estudio, los valores del índice de rendimiento muscular (28.13 a 39.51%) en la almeja mano de león cultivada en Laguna Manuela fueron similares al valor reportado para esta misma especie por Ocaño-Higuera (2003) y se encuentran dentro de los rangos reportados por Racotta et al (2003) y Arellano-Martínez (2005) para individuos de almeja mano de león naturales recolectados en Bahía Magdalena y Laguna Ojo de Liebre respectivamente. Sin embargo, los índices fueron superiores a los reportados por Barrios-Ruiz et al. (2003) en almejas de esta especie cultivadas en Bahía de La Paz. El decremento en el peso ó el índice de uno o más tejidos somáticos (en este caso el IRM) en conjunto con el crecimiento de la gónada sugiere que la utilización de reservas almacenadas está involucrada en el proceso reproductivo (Barber y Blake, 1991). Este comportamiento ha

sido reportado para almeja mano de león (Arellano-Martínez, 2005) y para almeja catarina (*Argopecten ventricosus* antes *A. circularis*) (Félix-Pico, 1993; Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez, 1996); sin embargo, en el presente trabajo, se encontró que el incremento en el índice de rendimiento muscular se presentó de manera paralela al incremento en el índice gonadosomático ($r=0.9536$), lo cual asimismo fue previamente observado para esta misma especie por Raccota et al. (2003), quienes señalan que desde un punto de vista fisiológico, el patrón de almacenamiento y utilización de energía ampliamente reportado para otros pectínidos puede no siempre ser evidente aún para la misma especie, como fue observado en el presente estudio en almeja mano de león cultivada en Laguna Manuela; asimismo, este autor asume que el alimento puede ser fuente suficiente para suministrar la energía requerida para la gametogénesis cuando las condiciones ambientales son óptimas. Apoyando esta idea con base a los resultados en el comportamiento estacional de los IRM e IGS observados en este estudio, se considera que las condiciones ambientales prevalecientes en Laguna Manuela son muy adecuadas para el desarrollo de almeja mano de león, y sugieren que la considerable mayor cantidad de nutrientes (clorofila *a*) presentes en el medio durante el verano permitieron un mayor desarrollo del músculo abductor de manera simultánea con el proceso de maduración de los organismos. Lo anterior indica por otra parte que en términos económicos se obtendría un mayor beneficio al cosechar durante el verano ya que la colecta durante el verano ofrecería una producción de músculo abductor con un rendimiento 11.5% superior al que se obtendría en el invierno.

7.1.1.2. Estadio de desarrollo gonádico.

Antecedentes sobre el patrón reproductivo estacional de almeja mano de león han sido reportados por Reinecke-Reyes (1996), Racotta et al. (2003) y Arellano-Martínez (2005). Tomando en cuenta ese patrón estacional, en el presente estudio el propósito de evaluar el índice de desarrollo gonádico fue relacionar los diferentes parámetros de calidad del músculo abductor con las diferentes etapas del ciclo reproductivo en almeja mano de león al momento de cada uno de los muestreos realizados y establecer así, si este factor afecta de manera significativa la calidad del músculo, lo cual ha sido observado por ejemplo en especies como abulón *Haliotis diversicolor*, (Chiou et al., 2001), en el pez *Plecoglossus altivelis* (Kubota et al., 2000), en el calamar *Ilex argentinus* (Sagedhal et al., 1997) y en Salmón del atlántico *Salmo salar* L. (Nordgarden et al., 2003). Cabe mencionar que aún cuando ha sido reportado para almeja mano de león como talla mínima de primera madurez la de 135 mm de altura de concha (Arellano-Martínez, 2005), Ocaño-Higuera (2003) observó que organismos de talla 63 a 70 mm de altura de concha (talla similar a los organismos empleados en este estudio) colectados en el mes de septiembre de 2002 presentaron desoves masivos después de ser trasladados al laboratorio, indicando así que una gran proporción de organismos se encontraban maduros al momento de la colecta, por lo cual se tomó en cuenta este antecedente para considerar el estadio dentro del ciclo reproductivo como un posible factor de influencia en la calidad. Aún y cuando no se realizó en el presente estudio un seguimiento mensual del estadio de desarrollo gonádico, los resultados obtenidos en los cuatro muestreos coincidieron con el patrón reproductivo reportado previamente para esta especie (Morales-Hernández y Cáceres Martínez, 1996; Reinecke-Reyes 1996; Racotta et al., 2003; Arellano-Martínez,

2005). Este patrón mostró con base a las observaciones realizadas en las preparaciones histológicas de las muestras de gónada analizadas que la almeja mano de león se encontraba madurando durante el verano, desovando al disminuir la temperatura (otoño) y permaneciendo inactiva ó con mínima actividad reproductiva en el invierno.

7.1.1.3 Contenido de glucógeno

El glucógeno es el carbohidrato mayoritario del músculo, llegando a constituir cerca del 93% de los carbohidratos presentes en el músculo abductor (De Vido de Mattio et al., 1980). El nivel de glucógeno en el músculo puede ser considerado como indicador del bienestar del organismo bajo diferentes condiciones del ambiente en conjunto con las condiciones de su proceso de desarrollo gonádico en el caso de organismos en edad reproductiva. Para almeja mano de león fue previamente reportado que el estrés inducido en los organismos durante su transporte ocasionó una reducción de hasta un 94.8% en el contenido inicial de glucógeno (Ocaño-Higuera, 2003). Asimismo Uzaki et al. (2003) observaron para almeja manila (*Ruditapes philippinarum*) que el mantenimiento durante cinco semanas en condiciones de baja concentración de oxígeno redujo el nivel de glucógeno desde una concentración de 4.17% observada inicialmente hasta un valor de 2.19%, con lo cual concluyeron que el glucógeno es un buen indicador de su condición fisiológica. Los niveles de glucógeno encontrados en el presente trabajo en el músculo abductor de almeja mano de león (0.79 a 7.87 %) son similares a los valores que han sido previamente reportados por Webb et al. (1969) para la escalopa *Placopecten magellanicus*, por Kawashima y Yamanaka (1996) para la escalopa *Patinopecten yessoensis*, por Lomovasky et al. (2004) para almeja *Eurhomalea exalbida*, por Chiou et al.

(2001) para abulón *H. diversicolor* y por De Vido De Mattio et al. (2001) para la escalopa *Aequipecten tehuelchus*. Por otra parte el patrón de variación del contenido de glucógeno en el músculo abductor encontrado en el presente trabajo en almeja mano de león en el que se observó un mayor contenido de glucógeno en el verano es similar al comportamiento observado para el abulón *Haliotis discus* (Watanabe et al., 1992), Yesso scallop (Kawashima y Yamanaka H. 1996), almeja *Eurhomalea exalbida* (Lomovasky et al., 2004). Asimismo coincide con el reporte de Chiou y Huang (2003) quienes observaron que en la jaiba *Scylla serrata* el mayor contenido de glucógeno encontrado coincidió con el mayor índice gonadosomático presentado en especímenes del sexo femenino. Sin embargo la observación de una considerable mayor concentración de glucógeno en el verano en comparación con el resto de las estaciones, coincidiendo con la mayor actividad reproductiva observada durante el estudio es contraria a aquella reportada para *Argopecten irradians* (Barber y Blake, 1981) y para *Pecten magellanicus* (Robinson et al., 1981) donde fue observada una disminución del peso del músculo abductor acompañado con una disminución en el contenido de glucógeno durante la gametogénesis. Esta discrepancia observada por los diferentes autores apoya la idea de que la energía requerida para la maduración gonádica en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes es suministrada por aquella almacenada en los tejidos somáticos, los cuales pueden sufrir un decremento en función del incremento gonadal, mientras que en aquellas zonas donde el alimento es abundante, esta energía es suministrada por el alimento. Por lo tanto consideramos que en nuestro caso el factor determinante sobre el mayor contenido de glucógeno observado en el verano, fue la considerablemente mayor disponibilidad de nutrientes, los cuales no solo sustentaron la demanda energética requerida para la maduración, sino que también

permitieron una mayor acumulación de la misma en forma de glucógeno en el músculo abductor.

7.1.2 Variación estacional en los parámetros relacionados con la calidad del músculo abductor fresco.

7.1.2.1 pH y capacidad de retención de agua.

El valor de pH al momento de la muerte del organismo es altamente dependiente de las condiciones antemortem del mismo. Ruíz-Capillas et al. (2002) consideran que el pH puede ser tomado como índice de calidad ya que depende de muchos factores tales como el tiempo que ha transcurrido desde la captura, la temperatura de almacenamiento y el estado fisiológico del animal. En el presente trabajo, el tiempo transcurrido desde la extracción de las almejas del sitio de cultivo hasta la obtención del músculo abductor se mantuvo constante, sin embargo aún cuando no se realizó una medición de la temperatura del agua en la cual estas se transportaron y mantenimiento hasta la obtención del músculo, se asume que ésta temperatura fue superior en el verano con respecto a la del resto de las estaciones, lo cual podría haber inducido un mayor nivel de estrés en los organismos. Este factor de estrés ha sido previamente reportado como un factor que origina menores valores de pH posmortem (Kiessling et al., 2004; Stien et al., 2005). El menor valor de pH observado en este trabajo para el músculo abductor de organismos cultivados en verano puede asimismo ser atribuido a la mayor concentración de carbohidratos totales y de glucógeno observadas en el músculo durante esta misma estación ya que se considera que un menor pH postmortem en músculos abductores de escalopas están relacionados con el incremento en el contenido de octopinas y en menor grado de ácido láctico los cuales han

sido detectados como los productos finales de la glucólisis anaeróbica en escalopas (Hiltz y Dyer, 1971; Kawashima y Yamanaka, 1995). La cantidad de ácido láctico y octopina producidas está relacionada con la cantidad de carbohidratos almacenados en el tejido vivo. El estado nutricional, el nivel de estrés y el ejercicio presentes antes de la muerte tienen un efecto importante en el nivel de glucógeno almacenado y consecuentemente influyen en el pH postmortem (Massa et al. 2003). La formación de octopina causa acidosis no por el hecho de que la octopina sea ácida en sí (ya que es un ácido mucho más débil que el ácido láctico) sin embargo durante su formación a partir de la arginina existe la liberación de protones que son los responsables de la acidificación (Pörtner, 2002). En el presente estudio aún cuando no se analizó el contenido de octopina, se asume con base a lo anteriormente mencionado que el menor pH observado en músculo de mano de león estuvo relacionado con un mayor nivel de glucógeno almacenado y con un posible mayor estrés antemortem. Por otra parte se observó que el menor valor de pH fue observado en la estación en la cual el 100% de los organismos se encontraron en alguna fase de actividad reproductiva. Lo anterior coincide con las observaciones realizadas por Ruíz-Capillas et al. (2002) quienes encontraron que el pH en machos maduros del cefalópodo *Todaropsis eblanae* fue significativamente menor que el encontrado en especímenes inmaduros. Se considera que el hecho de haber encontrado menor pH en músculos de organismos maduros de almeja mano de león estuvo relacionado con los niveles de glucógeno que se presentaron en estos organismos maduros más que con su condición de madurez, siendo estos niveles de glucógeno influenciados por la mayor concentración de nutrientes en el medio. Por otra parte se encontró que el pH estuvo correlacionado de manera positiva ($r = 0.9981$ $p = 0.02$) con la capacidad de retención de agua (CRA) observada en el músculo abductor; esta

relación directa ha sido previamente reportada para músculo de peces (Olsson et al., 2003; Kiessling et al., 2004). En el presente trabajo se observó por otra parte que la CRA estuvo relacionada con el índice de desarrollo gonádico presente en los organismos ya que en la estación donde se observó una mayor actividad reproductiva, el músculo abductor presentó una menor CRA; esta influencia del ciclo reproductivo sobre la CRA fue previamente reportada por Nielsen et al. (2005) en herring (*Clupea harengus L*), sin embargo en este caso, el comportamiento tuvo variaciones con respecto a lo observado en el presente trabajo; ellos observaron que organismos en estadio de posdesove presentaron mayor capacidad de retención de agua que aquellos en estadio maduros e inmaduros. La capacidad de retención de agua es una de las propiedades funcionales más importantes del músculo como producto comestible por diversas razones. La pérdida de agua es de importancia económica ya que es económicamente equivalente a la pérdida de carne, por otra parte la pérdida de agua durante el almacenamiento de carnes frescas o cocinadas es inatractiva para los consumidores cuando se acumula en los materiales de empaque además de que los nutrientes solubles se pierden en los fluidos exudados y finalmente la capacidad de retención de agua es importante en la textura de la carne ya que mayores contenidos de agua reducen su fuerza mecánica en igualdad de otras condiciones (Foegeding et al., 1996). Por lo anterior en el presente trabajo se encuentra que los músculos abductores obtenidos en el verano presentaron una menor calidad con respecto a los parámetros de pH y CRA en comparación con la de los músculos obtenidos en el resto de las estaciones.

7.1.2.2 Parámetros relacionados con el color.

El color de un alimento es una de las primeras características que percibe el consumidor y es por lo tanto un factor que determina su aceptación o rechazo aún antes de tener información con respecto a los demás atributos de calidad (Elbe y Schwartz, 1996). El consumidor espera que cada producto tenga un color definido, y dependiendo del rango de variación con respecto al mismo el producto puede ser aceptado o rechazado. Se ha reportado que diversos factores de manera directa ó indirecta pueden contribuir con las variaciones en el color de productos marinos; por ejemplo en el caso de salmón del atlántico (*Salmo salar* L.) Johnston et al. (2000) encuentran que las diferencias observadas en el color del filete estuvieron relacionadas con alteraciones en la estructura muscular. Por otra parte Kiessling et al, (2004) estudiando el efecto de dos métodos de anestesiado previo al sacrificio observaron un color mas rojizo (mayor valor de a^*) y mas amarillo (mayor valor de b^*) en el músculo de organismos que fueron anestesiados con CO_2 en comparación con los que fueron anestesiados con isoeugenol. Rønsholdt (2005) por su parte, desarrolla un modelo de regresión no lineal con los valores a^* obtenidos en función de la concentración de carotenoides presentes en el músculo, sin embargo el poder de predicción fue pobre al probar el modelo por lo cual concluyó que otros factores además del contenido de carotenoides contribuyen con el color y deben ser considerados en el modelo. Por otra parte, factores como la ploidía y familia mostraron tener un efecto sobre el color del músculo en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) siendo los peces diploides los que presentaron mayor cromaticidad que los triploides, encontrando además que el factor “familia” tuvo gran influencia en la cromaticidad, ángulo de matiz y luminosidad del

músculo (Choubert et al., 1997). En filetes del pez *Salvelinus alpinus* Jittinandana et al. (2005) encontraron que el estrés antemortem ocasionó una reducción en el valor a^* del músculo así como un incremento en el valor de L^* .

El color del músculo abductor de pectínidos ó escalopas en forma subjetiva ha sido definido como un color blanco-cremoso (Dore, 1991). En el presente trabajo, la conjunción de los valores obtenidos para los parámetros L^* , a^* y b^* ubican el color del músculo abductor de almeja mano de león en la zona central (zona gris ó acromática) del espacio de color Lab, acercándose de esta forma con la descripción subjetiva antes mencionada. Se encontró asimismo que los rangos para los valores de L^* y b^* aquí obtenidos (49.2 ± 1.8 a 55.1 ± 3.0 y 5.9 ± 2.8 a 8.3 ± 0.8 respectivamente) son similares a los reportados por Ocaño-Higuera (2003) para esta misma especie (45.6 a 50.3 , y 5.2 a 9.9), siendo el valor de a^* (-3.4 ± 0.4 a -2.9 ± 0.6) aparentemente menor que el obtenido en el mencionado reporte ($a^* = -0.4$ a 0.8), sin embargo coincide con el valor de -3.4 para esta especie reportada por el mismo autor en un reporte previo (Ocaño-Higuera, 1999).

En el presente estudio, la observación de músculos mas luminosos (mayor valor de L^*) y de un color mas alejado del amarillo, de menor intensidad y de un tono mas alejado del rojo (menor valor de b^* , menor cromaticidad y mayor ángulo de matiz) en la estación de verano coincidió con el menor valor de pH encontrado. Por otra parte, las relaciones entre los parámetros colorimétricos y el pH observado en el presente trabajo coincide con algunas de las observaciones realizadas por Stien et al. (2005) quienes al evaluar el efecto del estrés antemortem y de la temperatura de almacenamiento posmortem sobre el color y la textura de filete de bacalao (*Gadus morhua* L.) encontraron que organismos sometidos a estrés presentaron menores valores de pH y asimismo una menor cromaticidad. De manera

similar Martine y Vis (2003) observaron que en el filete de anguila (*Anguilla anguilla* L) obtenido de organismos sometidos a un menor estrés antemortem se presentó un mayor pH al cual atribuyeron una menor luminosidad y un color rojo “mas rojo” (mayor valor de a^*), en contraste, Ginés et al. (2002) al evaluar los atributos de calidad durante el almacenamiento en hielo en el músculo del pez *Sparus aurata* sometido a un día de ayuno previo al sacrificio observaron que el valor de L^* se incrementó desde 42.87 a los dos días de almacenamiento hasta 46.13 a los 11 días coincidiendo este aumento con incrementos en el pH. Se ha establecido que en igualdad de otras condiciones el pH puede influir de manera indirecta en el color del músculo ya que el pH puede afectar el estado físico de las miofibrillas y dependiendo de ese estado físico se produce en diferente magnitud el esparcimiento de la luz sobre el músculo. Las fibras de carne con alto pH dispersan menos la luz que las fibras encogidas presentes en músculos con bajos pH, observándose estos músculos oscuros y pálidos respectivamente (Foegeding et al., 1996). En el presente trabajo se encontró una correlación positiva entre los valores de área ocupada por las fibras musculares y el valor de b^* ($r=0.9858$, $p=.014$) y también con la cromaticidad ($r= 0.9937$, $p= 0.006$) así como una correlación negativa entre el área de fibras y el ángulo de matiz ($r=-0.9906$, $p=0.009$). Por lo tanto, con base a estos resultados se considera que pH contribuyó con las variaciones observadas en el color del músculo abductor. Cabe mencionar sin embargo que los colorímetros utilizados para el análisis de color son mas selectivos que el ojo humano para la detección de diferencias en el color (Kuntz, 1995), por lo tanto con base a los presentes resultados se recomienda un análisis sensorial para establecer por una parte si las diferencias que fueron aquí encontradas son detectadas y por otra parte si al ser detectadas influyen en las preferencias de los consumidores.

7.1.2.3 Composición química proximal.

Se ha establecido que el músculo abductor de las escalopas es el sitio más importante de almacenamiento de la energía que será utilizada posteriormente para el proceso de gametogénesis (Gabbott, 1975; Barber y Blake, 1991; Mathieu y Lubet, 1993). Los principales componentes de esta energía son principalmente los carbohidratos, los lípidos y las proteínas que junto con el contenido de humedad constituyen los componentes mayoritarios del músculo. Sin embargo la importancia relativa del músculo abductor en la movilización de nutrientes debido a la reproducción es variable dependiendo del sitio (Barber y Blake, 1983; Bricelj et al. 1987) pudiendo incluso no ser observada en ambientes con niveles suficientes de alimentos como para abastecer la demanda energética requerida para la gametogénesis (Racotta et al., 2003). Las variaciones en la composición proximal del músculo abductor de almeja mano de león observadas en el presente trabajo entre las diferentes estaciones del año, no estuvieron determinadas por el estadio de desarrollo gonádico que fue observado en los organismos, pero parecen haber sido influidas por la disponibilidad de nutrientes presentes en el medio, lo cual coincide con las observaciones realizadas por Webb et al. (1969) quienes sugirieron que los factores ambientales contribuyeron con las variaciones en la química proximal observada en cuatro especies de escalopas cosechadas en diferentes localidades y en diferentes meses del año.

Se ha establecido que el agua y los lípidos presentes en el músculo del pescado constituyen alrededor del 80% del peso fresco, por lo tanto los peces grasos presentarán siempre menores contenidos de humedad que los peces magros (Ackman, 1995). En el caso del músculo abductor de pectínidos esa relación no se presenta, sin embargo al observar los

resultados del presente trabajo se encuentra que la suma del contenido de humedad y carbohidratos permaneció dentro de un pequeño rango, alrededor del 80% (entre 80.5 y 83%), este mismo comportamiento se observa si analizamos los datos obtenidos por De Vido de Mattio et al. (2001) en la escalopa *Aequipecten tehuelchus* cuya sumatoria del contenido de humedad y glucógeno (principal carbohidrato) se encuentra dentro del rango de 78 a 83.6%, y asimismo se observa al analizar los resultados reportados por Webb et al. (1969) para las especies *Aequipecten irradians*, *Aequipecten gibbus*, *Placopecten magellanicus* y *Chlamys hericius*. Con base en estos datos y asimismo con base a la correlación negativa observada en el presente trabajo entre el contenido de humedad y carbohidratos ($r=-0.9652$, $p=0.035$) y entre el contenido de humedad y glucógeno ($r= -0.9810$, $p= 0.019$) se sugiere que en el músculo abductor de pectínidos, la acumulación o la disminución de carbohidratos de reserva (en lugar que la de lípidos en el caso de peces) es compensada con disminución o incremento respectivamente en el contenido de humedad manteniéndose la suma de estos dos componentes (humedad y carbohidratos) en una relación más o menos constante con respecto al resto de los constituyentes (en este trabajo 78-83:22-17). La relación inversa entre el contenido de humedad y glucógeno ha sido previamente reportada por Chiou et al., (2001) para la especie *H. diversicolor* en la cual se observó que el contenido de glucógeno se incrementó desde un menos de 1% en octubre (inicio del desove) hasta un valor de aproximadamente 7% en marzo presentándose ese incremento de manera paralela a la disminución en el contenido de humedad.

De manera indirecta el contenido de carbohidratos influye en varios atributos de calidad del músculo ya que la cantidad de glucógeno (principal carbohidrato) presente al momento de la muerte tiene una gran influencia en el pH que presente el músculo. Este pH

puede intervenir en la textura, capacidad de retención de agua, crecimiento bacteriano y color (Foegeding et al., 1996). Los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman lo anterior, ya que fue observado que un menor valor de pH fue obtenido en músculos cuyo nivel de carbohidratos fue más elevado y asimismo se observó que éste menor pH estuvo relacionado con la menor capacidad de retención de agua y con las variaciones en el color de los músculos discutidos en los puntos anteriores.

7.1.2.4 Aminoácidos libres.

En adición a su participación en el proceso de osmoconformación en moluscos bivalvos (Shumway et al., 1977), ha sido ampliamente reconocida la importancia de los aminoácidos libres en la contribución al sabor dulce característico del pescado y los mariscos (Konosu y Yamaguchi, 1982). De manera particular Chiou y Huang (2003) consideraron que el ácido glutámico, la glicina, la alanina y la arginina son los aminoácidos responsables del sabor de la jaiba *Scylla serrata*. Asimismo Hayashi et al. (1981) mediante análisis sensorial de los extractos obtenidos del cocimiento de la jaiba *Chionoectes opilio* determinaron la importante contribución de los aminoácidos mencionados anteriormente en el sabor de la misma. En el presente trabajo se observó que glicina, taurina y arginina en ese orden fueron los aminoácidos libres mayoritarios presentes en el músculo abductor de almeja mano de león llegando a constituir entre un 70 a 91 % del total, estos resultados coinciden con los resultados reportados previamente por Ocaño-Higuera (2003) para esta misma especie; por otra parte, la alta proporción de estos tres aminoácidos ha sido previamente reportado para otras especies; por ejemplo en abulón *Haliotis iris* se encontró una concentración de aminoácidos libres de 2340 mg/100g siendo

la taurina el aminoácido libre mayoritario (1260 mg/100g) seguido muy de lejos por la arginina (440 mg/100 g) y la glicina (180 mg/100g) (Bewick et al., 1997). De la misma forma Yoneda et al. (2002) observaron que glicina, arginina y taurina sumaron más del 90% de los 1208 mg/100g de aminoácidos libres presentes en el bivalvo *Fulvia mutica*. Por otra parte Wongso y Yamanaka (1998) reportaron un contenido de aminoácidos libres totales dentro del rango de 3130 a 3215 mg/100g para la escalopa *Pecten albicans* siendo la taurina, glicina y arginina los aminoácidos libres más abundantes sumando entre ellos aproximadamente el 91% del total. Igualmente para el abulón *H. diversicolor*, taurina, arginina y glicina han sido reportados como los aminoácidos libres más abundantes (Chiou et al., 2002; Chiou et al., 2004). En diversos organismos se ha observado una variación estacional en el contenido de aminoácidos libres totales. Hatea et al. (1995) observaron en el abulón *Hariltis discus* que muestras colectadas en el mes de junio presentaron la mayor cantidad (2700 mg/100g) mientras que el menor contenido (1480 mg/100g) fue observado en noviembre. Por otra parte Hwang et al. (2000) encontraron en el pez globo (*Takifugu rubripes*) que la variación en el contenido de aminoácidos libres estuvo en función de la estación y la localidad de cultivo, ya que mientras en una zona de cultivo no observaron variación estacional en el contenido de aminoácidos libres en otra encontraron que el menor contenido observado coincidió con los meses de desove. Asimismo Sakaguchi y Murata (1989) observaron en el ostión japonés (*Crassostrea gigas*) una disminución en el contenido total de aminoácidos libres desde finales de la primavera hasta el verano la cual coincidió con los procesos de maduración y desove del organismo. Chiou y Huang (2003) observaron una variación estacional en el contenido total de aminoácidos libres en la jaiba *Scylla serrata*, encontrando que el menor contenido se presentó tanto en machos y

hembras en el mes de octubre (2401 y 2134 mg/100g respectivamente) coincidiendo con el mayor índice gonadosomático. Chiou et al., (2001) en *H. diversicolor* observaron que el contenido total de aminoácidos libres fue menor en septiembre y octubre y mayor entre los meses de diciembre a marzo. En el presente estudio independientemente de la estación y del estadio de desarrollo gonádico observado en almeja mano de león, el contenido total de aminoácidos libres no mostró variación significativa, sin embargo se presentó un marcado cambio en el perfil de los mismos mostrando que glicina, taurina y arginina se encontraron en menor concentración en el muestreo realizado en verano, coincidiendo esto con la estación en la cual se presentó el mayor índice gonadosomático. Lo anterior sugiere que con base a la variación de estos componentes podría esperarse un posible cambio durante el verano en el sabor del músculo abductor, sin embargo, sería mediante un análisis sensorial que se tendría una conclusión más precisa en torno a los efectos de estos resultados sobre el sabor percibido en músculos abductores de almeja mano de león cosechados en diferentes estaciones del año en Laguna Manuela.

7.1.2.5 Parámetros de textura.

La textura es un parámetro importante para determinar la calidad del músculo ya que el consumidor asocia a cada producto con una textura definida. El valor de fuerza de corte observado en el presente trabajo en músculos abductores de almeja mano de león obtenidos en invierno es similar al reportado por Ocaño-Higuera (1999) para ésta misma especie, sin embargo los resultados obtenidos para el resto de las estaciones sugieren una textura menos firme que la presentada en las muestras analizadas por el mencionado autor.

Se ha establecido que los principales factores que influyen sobre la textura del músculo son la estructura muscular y la composición química (Dunajski, 1979). Diferentes estudios se han realizado con el fin de analizar el efecto de diversas condiciones sobre los factores anteriormente mencionados incluyendo diferentes estrategias de alimentación (Bugeon et al., 2004; Wassef et al., 2001), las condiciones de conservación o proceso poscaptura (Ueng y Chow, 1998; Sigurgisladottir et al., 2000^a; Sigurgisladottir et al., 2000^b; Ando et al., 1999^a; Ando et al., 1999^b) el nivel de ejercicio antemortem (Bjornevik et al., 2003; Bugeon et al., 2003) el método utilizado para el sacrificio (Martine y Vis, 2003; Ando et al., 2001; Kiessling et al., 2004; Sigurgisladottir et al., 2001), la manipulación del fotoperíodo (Johnston et al., 2004) y la porción anatómica del organismo (Jonsson et al., 2001; Nakamura et al., 2005).

En el presente estudio se analizó el efecto de la condición fisiológica presente en los organismos en las diferentes estaciones del año sobre la textura del músculo abductor en conjunto con los parámetros físicos, químicos y estructurales que pudieran estar influyendo de manera directa ó indirecta sobre la textura observada.

Diferencias en textura asociadas con la composición química del músculo han sido observadas por ejemplo en el pez *Albatrossia pectoralis* donde se encontró que la suavidad del músculo estuvo relacionada con un bajo contenido de proteína y un alto contenido de agua (Crapo et al., 1999), así como en el pez cola amarilla (*Seriola quinqueradiata*) donde Thakur et al. (2003) observaron una relación inversa entre el contenido de lípidos neutros y la resistencia al corte (firmeza) que presentó su músculo. Ang y Haard, (1984) por otra parte observaron ablandamiento en músculo de bacalao suficientemente alimentado y con altos contenidos de glucógeno. Esta última observación coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo donde fue observado que los músculos de verano siendo los de mayor contenido de glucógeno fueron los que presentaron una textura menos firme (analizada como fuerza de corte), adicionalmente se encontró que estos músculos fueron menos elásticos, menos adhesivos y de una menor masticabilidad en comparación con las muestras obtenidas en el resto de las estaciones analizadas. Sin embargo la relación aquí observada entre humedad y textura es contraria a señalada anteriormente por Crapo et al. (1999) ya que en nuestro caso las muestras de menor humedad fueron las de menor firmeza. Por otra parte se encontró que los lípidos no mostraron tener influencia sobre la textura observada lo cual es atribuido a la baja concentración en la cual estos se presentan en el músculo abductor.

Ashie et al. (1996) señalan que el pH influye en la capacidad de retención de agua. Esta influencia se debe a que los cambios en el pH pueden afectar de manera significativa la configuración de las proteínas (Hamm, 1986) lo cual afecta la habilidad de las mismas para retener agua. En el presente trabajo se considera que las propiedades físicas como el

pH y la capacidad de retención de agua asociadas al contenido de glucógeno tuvieron una influencia considerablemente mayor que la humedad sobre las propiedades de textura. Lo anterior se asume al encontrar que el menor pH observado en los músculos de verano produjo en los mismos una menor capacidad de retención de agua y asimismo una textura menor firme, menos elástica, menos adhesiva y de menor masticabilidad. Este comportamiento en el cual se observa una menor firmeza del músculo relacionada con menores valores de capacidad de retención de agua ó viceversa ha sido reportado recientemente en salmón (Kiessling et al., 2004) y en arenque (Nielsen et al., 2005). En el caso del músculo cocinado la relación observada entre capacidad de retención de agua y textura es contraria a la anteriormente señalada de acuerdo con las observaciones realizadas por Love (1975) quien encontró en filete de bacalao una relación inversamente proporcional entre la dureza del músculo y el pH, atribuido ésta a que mayores pérdidas de agua por cocción (menor retención de agua) ocurren a menores niveles de pH. Similarmente Jittinandana et al. (2005) encuentran en el pez *Salvelinus alpinus* que los músculos que presentaron menores valores de pH posmortem ocasionados por un mayor estrés, una vez cocinados fueron los que presentaron una mayor firmeza. Los resultados encontrados en el presente trabajo mostraron que músculos de almeja mano de león obtenidos en la estación de verano presentaron menores valores en los parámetros texturales de fuerza de corte, elasticidad y masticabilidad en comparación con los valores obtenidos para el resto de las estaciones analizadas, éstos menores valores estuvieron asociados con un menor valor de pH, y un menor valor de capacidad de retención de agua lo cual se relacionó a su vez con una mayor cantidad de glucógeno presente en el músculo.

7.1.2.6. Colágeno.

El colágeno es el componente principal del tejido conectivo intramuscular; su contenido y condición han sido ampliamente relacionadas con las propiedades funcionales y reológicas del músculo (Sikorski et al., 1990). Por otra parte se considera que la estructura formada por el colágeno es específica de la especie y se ha relacionado también a esta estructura con la firmeza muscular en diversas especies de pescado (Ando et al., 1992). Adicionalmente se ha asociado la degradación observada en la estructura del colágeno con el ablandamiento posmortem del músculo (Sato et al., 1991; Sato et al., 1997). En el presente estudio pudo observarse en las preparaciones histológicas de músculo abductor, que muestras de invierno presentaron una mayor integridad del tejido conectivo lo cual coincidió con la mayor firmeza observada, sin embargo la resolución ofrecida por la microscopía óptica no es suficiente como para inferir algún nivel de degradación en la estructura del colágeno.

En diversos estudios se ha analizado la variación estacional en el contenido de colágeno y se ha relacionado esa variación con la textura del músculo, por ejemplo Touhata et al. (2000) investigaron la correlación entre firmeza y el contenido de colágeno en el pez *Pagrus major* y encontraron que tanto en machos como en hembras el contenido de colágeno se incrementó de julio a septiembre encontrando una correlación positiva entre la firmeza del músculo medida como esfuerzo cortante y el contenido de colágeno. Por otra parte Hatea et al. (1995) observaron en abulón *Hariltis discus* el menor porcentaje de colágeno en la proteína del verano (8.9%) y el mayor en el invierno (30.8%), encontrando que la variación estacional observada para el glucógeno estuvo relacionada de

manera directa con la fuerza de corte, asimismo mediante microscopia electrónica de barrido encontraron que la red de colágeno fue más compacta en el invierno. La relación entre el contenido de colágeno y textura también ha sido observada en el músculo del pez cola amarilla (*Seriola quinqueradiata*) (Thakur et al., 2002) así como en camarón *Penaeus japonicus* (Mizuta et al., 1999). En el presente estudio aún cuando se observa una coincidencia de menor fuerza de corte en músculos cuya proteína presenta menor porcentaje de colágeno, la correlación observada entre ambas variables no fue significativa ($r=0.5088$, $p=0.491$). Lo anterior puede ser atribuido al bajo contenido en el cual el colágeno está presente en el músculo abductor de almeja mano de león en comparación con los valores anteriormente indicados para abulón, e igualmente es menor a los valores reportados para diversas especies de cefalópodos (Morales et al., 2000; Kagawa et al., 2002) y para el manto de ostión japonés *Crassostrea gigas* (Mizuta et al., 2005).

La variación en el contenido de colágeno ha sido estudiada por otra parte en función del estadio de maduración sexual del organismo. Toyohara et al. (1997) observaron en músculo del pez *Plecoglossus altivelis* que el contenido de colágeno se redujo en el mes de septiembre coincidiendo ésta reducción con el periodo de desove. Sin embargo, en el presente trabajo se observó que el menor contenido de colágeno coincidió con un mayor índice gonadosomático y asimismo con la mayor actividad reproductiva observada en los organismos, lo cual coincide con las observaciones realizadas por Touhata et al. (2001) en el pez *Pagrus major* donde encontraron los menores valores de colágeno coincidiendo con el mayor índice gonadosomático. Ellos consideraron que los cambios estacionales observados en el contenido de colágeno se deben a la estimulación de la hidrólisis (rompimiento) del colágeno, lo cual sugieren que es regulado por factores

endocrinológicos en el pez. Los resultados del presente trabajo indicaron que el contenido de colágeno presente en el músculo abductor no tiene un efecto significativo sobre la textura del mismo debido a la baja concentración en la cual se presenta, sin embargo las observaciones realizadas a nivel de microscopía de luz sugieren que la degradación del tejido conectivo mas que el contenido del mismo podrían tener una influencia en la textura. Por otra parte se encuentra que tanto el menor contenido de colágeno como el grado de degradación del tejido conectivo coinciden con el periodo de maduración sexual de los organismos.

7.1.2.7 Estructura muscular.

Las escalopas poseen dos músculos abductores los cuales en la mayoría de los casos se encuentran estrechamente unidos entre si presentando frecuentemente una transición gradual entre un tipo de músculo a otro; estos son el músculo abductor fásico o estriado, el cual es el músculo predominante y el músculo abductor tónico ó liso (Chantler, 1991). En el presente estudio, el análisis de la estructura muscular así como del resto de los parámetros analizados se realizaron en el músculo abductor estriado de la almeja mano de león, al ser éste el que constituye la fracción comestible predominante y asimismo representa la mayor importancia comercial.

Existen diversos trabajos donde se reporta la relación entre la textura y la estructura muscular en productos marinos. Estos estudios se han realizado analizando diversos parámetros estructurales como por ejemplo el área ocupada por las fibras ó el área de los espacios intracelulares (Ando et al., 1999), la celularidad ó número de fibras/área muscular (Johnston et al., 2000) el diámetro promedio de las fibras en su sección

transversal (Hurling et al., 1996; Sigurgisladottir et al., 2000a; Sigurgisladottir et al., 2000^b) así como el nivel de daño en la estructura muscular (Ollson et al., 2003). En el presente estudio mediante microscopía de luz fueron obtenidas imágenes de la sección longitudinal y transversal del músculo, cuantificando en estas últimas el área ocupada por las fibras musculares. Los resultados así obtenidos mostraron que los músculos de verano quienes presentaron un menor porcentaje de ocupación miofibrilar (46%) en comparación con el del resto de las estaciones (57.9 – 64.7%), fueron los de menor firmeza. Estos resultados coinciden con las observaciones realizadas por Ando et al. (1999) quienes al estudiar el efecto del grado de frescura sobre la textura y estructura del músculo de calamar flecha (*Loligo bleekert*) observaron mediante microscopía de luz que las muestras de menor firmeza presentaron una gran cantidad de poros (espacios intracelulares) entre las células del músculo. Las observaciones realizadas mediante microscopía electrónica sugirieron que esos espacios vacíos fueron el resultado de la separación de las células musculares del respectivo tejido conectivo, estos espacios fluctuaron desde aproximadamente 2.5% (97.5% fibras musculares) al inicio del almacenamiento hasta aproximadamente 15% (85% de cobertura de las fibras musculares) a las 9 horas. Sin embargo, Hatae et al. (1990) al analizar en cinco especies de pescado la relación de la estructura muscular con la firmeza del músculo cocinado no observaron una relación entre el área ocupada por las fibras (85.7 a 96.7 % entre las diferentes especies) y la firmeza observada en el músculo. Se observa por otra parte que músculos abductores de almeja mano de león analizados en el presente estudio presentaron una menor cantidad de materia miofibrilar por área muscular en comparación con las arriba indicadas para calamar y pescado.

Adicionalmente a la relación encontrada entre el área de cobertura miofibrilar y la textura de los músculos de almeja mano de león, pudo apreciarse que los músculos de verano presentaron un mayor nivel de desintegración en el tejido conectivo a lo cual pudo ser atribuido el mayor espacio intracelular observado. Éste mayor grado de alteración estructural observado en el verano fue igualmente apreciado en las imágenes correspondientes a la sección longitudinal del músculo. La relación entre el daño de la estructura muscular y la textura ha sido previamente reportado por Taylor et al. (2002) quienes observaron que la pérdida de la dureza de filete de salmón del atlántico (*Salmo salar*) estuvo relacionada con alteraciones observadas en la estructura muscular, las cuales fueron evidentes a partir de las cinco horas postmortem.

Cambios en otros atributos de calidad como el color y la CRA han sido también relacionados con la estructura muscular. Johnston et al. (2000) reportaron que las diferencias observadas en el color del filete de salmón del atlántico estuvieron relacionadas con alteraciones en la estructura muscular. En el presente estudio se encontró que el área de cobertura miofibrilar se correlacionó positivamente con el parámetro b^* ($r=0.9858$, $p=.014$) y con la cromaticidad ($r=0.9783$, $p=0.0001$) y negativamente con el ángulo de matiz ($r= -0.9906$, $p=0.009$). Un mayor valor de b^* así como una mayor cromaticidad indican un color más alejado de la zona acromática y una mayor intensidad del color. Las relaciones aquí observadas se atribuyen al hecho de que a mayor cantidad de material miofibrilar existe un menor nivel de dispersión de la luz. A un mayor nivel de dispersión de luz consecuentemente se perciben músculos más oscuros (Foegeding et al., 1996).

Una menor capacidad de retención de agua relacionada con alteraciones en la estructura muscular como fue observado en el presente trabajo ha sido también reportada

para el músculo de lenguado del atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*), donde las alteraciones en la estructura consistieron en la separación del sarcolema, mayores espacios entre fibras musculares y en la matriz extracelular así como un encogimiento transversal de las células (Ollson et al, 2003). Los resultados encontrados en el presente estudio sugieren que los cambios observados en la estructura muscular influyeron en la textura así como en el color y la capacidad de retención de aguas observadas en el músculo abductor de almeja mano de león.

7.2 Evaluación de la eficiencia de dos sistemas de reestructurado en frío (caseinato-transglutaminasa y fibrinógeno-trombina), en músculos de *Nodipecten subnodosus* preservados por congelación, en las cuatro estaciones del año.

7.2.1 pH y capacidad de retención de agua.

La capacidad de retención de agua es un parámetro de calidad que se encuentra altamente relacionado con el pH que presente el músculo (Ashie et al., 1996), lo cual fue observado en el presente trabajo al encontrar una correlación positiva entre ambos parámetros. Las muestras de verano quienes presentaron el menor valor de pH, fueron las que presentaron asimismo una menor capacidad de retención de agua. Esta menor capacidad de retención de agua origina una mayor cantidad de fluidos que son liberados del músculo. Hamm (1986) señala que el pH puede afectar de manera significativa la configuración de las proteínas, lo cual afecta la habilidad de las mismas para sostener agua. En el presente trabajo aún cuando las variaciones en el pH fueron pequeñas, la disminución observada en la materia prima de verano con respecto al resto de las estaciones así como la de primavera con respecto al otoño, fue suficiente para originar cambios en la configuración de las proteínas del músculo que dieron como consecuencia una menor capacidad de retención de agua y por lo tanto una mayor liberación de fluidos.

Por otra parte, las variaciones estacionales observadas en la capacidad de retención de agua en los productos reestructurados pueden ser atribuidas tanto a las variaciones de pH que presentó la mezcla de materia prima y sistema de reestructuración como a la propia capacidad de retención de agua que presentó este sistema de unión. Lo anterior puede explicar la falta de una correlación significativa entre el pH y la capacidad de retención de agua para los productos reestructurados. El incremento en pH observado en abril como

efecto de la incorporación del sistema FT en el presente trabajo ha sido previamente reportado por Shao et al., quienes al utilizar 5% de fibrinógeno y 0.25% de trombina como agentes de unión en productos reestructurados a partir de carne de emu observaron un incremento significativo en el pH. Este incremento puede ser atribuido al mayor pH que posee el sistema de reestructuración FT con respecto a la materia prima ya que al ser la trombina más activa a pH de 8 (Barret et al., 2004) la mezcla de fibrinex™ empleada como fuente de fibrinógeno y trombina debe presentarse en un rango de pH alrededor de 8 (Anónimo, 2005^a).

Reportes en relación al efecto de la transglutaminasa sobre la capacidad de retención de agua han presentado resultados variables. O'Kennedy et al. (2000) observaron que productos de cerdo reestructurados con caseinato y transglutaminasa presentaron menor CRA que la materia prima. Contrario a esto Kuraishi et al. (2001) y Fisher (1999), señalan que la transglutaminasa produce un incremento en la CRA. Ramirez et al. (2002) por otra parte, no observaron cambios en la CRA como efecto del uso de transglutaminasa en ausencia de sal en la elaboración de un producto de pescado similar a jamón. Los resultados del presente trabajo son similares a los de este último reporte ya que a excepción de las observaciones realizadas en muestras de otoño se encontró que la adición del sistema CT no modificó la CRA. En otoño, la menor CRA presentada por reestructurados con CT en relación a la materia prima puede ser atribuida a las diferencias observadas en el pH más que al efecto del sistema ya que el pH del reestructurado fue significativamente menor que el de la materia prima.

Se ha reportado por otra parte que el uso de fibrinógeno y trombina produce incrementos en la capacidad de retención de agua (Fisher, 1999; Shao et al., 1999), sin

embargo en este trabajo de manera contrario se observó una tendencia de los productos reestructurados con FT a presentar una menor CRA, siendo significativo este decremento en invierno y primavera; sin embargo en este caso a diferencia de lo observado para el sistema CT, esta disminución en la CRA no parece estar siendo afectada por el pH sino por las características de CRA que presentó el sistema FT empleado en el presente estudio

7.2.2 Color

El color blanco-cremoso que presenta el músculo abductor de las escalopas varía dependiendo de la especie y en algunas ocasiones del alimento que éstas consuman (Dore, 1991). Al utilizar el músculo abductor como materia prima en la elaboración de productos reestructurados, estas variaciones en el color pueden verse reflejadas en los productos reestructurados en conjunto con las modificaciones correspondientes a los sistemas utilizados para el proceso de unión (Fisher, 1999). Sin embargo, en el presente estudio no se observó un efecto de la estación sobre el color del músculo congelado descongelado empleado como materia prima para la elaboración de los productos reestructurados, pero sí fue observado que el color de los productos reestructurados fue variable en función de la estación y del sistema de unión. Al no haber observado variaciones en el color de la materia prima, se considera por lo tanto que los valores obtenidos en los diferentes parámetros colorimétricos en los reestructurados estuvieron determinados tanto por el pH como por el color que aportaron los sistemas de unión. El pH puede influir en el color al modificar el estado físico de las miofibrillas lo cual determina el esparcimiento de la luz sobre el músculo. A menores pH se dispersa mas luz y se obtienen por lo tanto colores mas claros (Foegeding et al., 1996). Lo anterior fue observado en reestructurados con CT

preparados con materia prima de verano los cuales al presentar menores valores de pH presentaron asimismo un color mas claro en comparación con los de invierno (menor valor de a^* y b^* y mayor ángulo de matiz) primavera (menor cromaticidad) y otoño (mayor ángulo de matiz). Esta posible influencia del pH fue asimismo observada en los reestructurados con FT con algunas variaciones. Por otra parte, con respecto al color descrito para los sistemas de reestructuración utilizados en el presente trabajo, Fisher (1999) menciona que la mezcla de Activa™ (fuente de transglutaminasa) presenta un color blanquecino mientras que la mezcla de fibrinógeno (uno de los componentes de Fibrimex™) posee una ligera tonalidad rojiza-naranja. La influencia del sistema que emplea fibrinógeno y trombina sobre el color de productos reestructurados ha sido previamente reportada (Shao., et al 1999; Boles y Shand., 1999). Los resultados obtenidos en el presente estudio en muestras de primavera y verano indicaron la influencia de los sistemas de reestructuración al ser los reestructurados con CT mas claros en relación con los obtenidos por el sistema FT.

7.2.3 Composición química proximal

El músculo abductor de escalopas al igual que el resto de los mariscos es una fuente importante de nutrientes; se ha reportado como promedio de varias especies que 100 g de músculo aportan 16.78 g de proteínas, 0.76 g de lípidos y 2.36 g de carbohidratos (Dore, 1991). De manera particular para almeja mano de león Ocaño-Higuera (2003) reportó un contenido de humedad en el rango de 72.8 a 81.2%, proteínas de 15.7 a 19.7%, lípidos de 0.8 a 1.4% y cenizas de 1.7 a 2.0%, éstos valores son similares a los observados en las

diferentes estaciones en el músculo abductor de mano de león empleado como materia prima en el presente trabajo. Aparte de la importancia que representa la composición proximal del músculo abductor desde el punto de vista nutritivo, se considera por otra parte que esta composición puede influir de manera importante en la textura del músculo (Dunajski, 1979) y asimismo contribuir en la calidad de los productos reestructurados (Fisher, 1999), en este último caso la humedad y el contenido de carbohidratos se consideran como los factores más importantes. Un alto contenido de humedad puede interferir con el proceso de adhesión de los sistemas de reestructuración a la materia prima, por otra parte un alto contenido de carbohidratos (principalmente glucógeno en el caso de escalopas) representa mayor sustrato para la glucólisis anaeróbica posmortem, dando como resultado menores valores de pH, este pH puede intervenir en la textura, capacidad de retención de agua, crecimiento bacteriano y color (Foegeding et al., 1996). Los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron que tanto el contenido de humedad como el contenido de carbohidratos presentes en la materia prima exhibieron una variación estacional, la cual se reflejó en los productos reestructurados

7.2.4 Actividad proteolítica total.

Ha sido previamente documentado que los productos de origen marino presentan una alta actividad proteolítica en músculo en comparación con la presentada por organismos de origen terrestre, siendo este uno de los motivos entre otros por lo que no es recomendada la refrigeración como método de conservación para productos marinos, por otra parte se considera que la participación de enzimas endógenas pueden influir en el proceso de reestructuración (Jiang, 2000). Con estos antecedentes se consideró analizar la

variación estacional en la actividad proteolítica total del músculo abductor de almeja mano de león utilizado como materia prima para este trabajo ya que es requerido que el proceso de reestructuración se lleve a cabo bajo condiciones de refrigeración. Pacheco-Aguilar et al. (2000) al analizar la bioquímica posmortem y las características funcionales del músculo sardina monterey (*Sardinops sagax caerulea*) durante 15 días de almacenamiento a 0 °C, observaron una variación en la actividad proteolítica total presentada por el músculo en función de la temporada de muestreo ya que músculos de invierno presentaron mayor actividad que los de primavera. Coincidentemente los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron una mayor actividad proteolítica en la materia prima de invierno en comparación con la de primavera y verano, sin embargo con base a los resultados obtenidos en textura, los cuales serán discutidos posteriormente, se considera que esta variación en actividad proteolítica no tuvo influencia sobre el proceso de reestructuración; lo anterior puede ser atribuido a la baja actividad proteolítica total que se presentó en la materia prima bajo las condiciones de tiempo y temperatura para llevar a cabo la reestructuración. Estos bajos niveles de actividad proteolítica total aquí encontrados confirman la suposición realizada por Ocaño-Higuera et al. (2001) quienes sugirieron que la actividad proteolítica (actividad autolítica) en músculo abductor de almeja catarina y almeja mano de león pudo haber sido baja durante un periodo de almacenamiento en hielo durante 15 días ya que no observaron cambios en la textura ni incrementos en el pH. Por lo anterior se considera que las enzimas proteolíticas endógenas del músculo abductor de almeja mano de león no representan un problema para el proceso de reestructuración con los sistemas CT y FT cuyas reacciones de polimerización pueden ser desarrolladas a temperaturas de refrigeración.

7.2.5 Textura

La textura es una de las principales características sensoriales que determinan la aceptabilidad del músculo (Bugeon et al., 2003). En la evaluación de la calidad del músculo abductor de escalopas la textura es uno de los parámetros considerados para la asignación de grados de calidad (Anónimo, 2005^b). Con base en lo anterior en el presente trabajo fue analizado el efecto tanto de la estación en la cual se obtiene la materia prima así como el efecto del método utilizado sobre la textura de los productos reestructurados. Los resultados obtenidos sugieren que el pH y la capacidad de retención de agua fueron factores que contribuyeron con la variación estacional en la textura observada en la materia prima, lo cual ha sido previamente observado por ejemplo en salmón (Kiessling et al., 2004) y arenque (Nielsen et al., 2005). Por otra parte se ha establecido que músculos de mayor humedad presentan una textura menos firme Dunajski (1979), sin embargo esa relación no fue observada en el presente estudio, de manera contraria se observó que la materia prima de verano quien presentó un menor contenido de humedad fue de las muestras de menor firmeza, esto se debe posiblemente a que las variaciones en pH y CRA tuvieron una mayor influencia que la composición química. Estos mismos factores parecen haber contribuido con las variaciones observadas en la textura de los productos reestructurados los cuales presentaron una similar variación en la textura en función de la estación. En el caso de los productos reestructurados se considera que la mayor cantidad de fluidos exudados en los productos de menor CRA pudieron haber interferido con la eficiencia de unión de los sistemas de unión, lo cual fue observado en los reestructurados de verano preparados por ambos sistemas de unión.

7.3 Comparación de la eficiencia de los dos sistemas de reestructurado en frío, en músculos de *Nodipecten subnodosus* y de *Argopecten ventricosus*.

7.3.1 Índices de condición fisiológica.

El índice de rendimiento muscular (IRM) ha sido reportado como un indicador confiable de la condición biológica del músculo abductor de almeja catarina (Villalejo-Fuerte y Ceballos-Vázquez, 1996); estos autores consideran que a un mayor índice de rendimiento muscular, los organismos se encuentran en mejores condiciones. Los valores de IRM obtenidos en el presente estudio en almeja mano de león (37.11 ± 3.9) y en almeja catarina (39.06 ± 6.1), se encuentran dentro del rango de 26 a 47% reportado por Félix-Pico (1993) y el de 32.2 a 40.4% reportado por Ocaño-Higuera (2003). Se ha considerado que una relación inversa existe entre el IRM y el índice gonadosomático, sin embargo se encontró que independientemente de que almeja catarina haya mostrado un mayor índice de desarrollo gonádico que almeja mano de león, esto no produjo diferencias en el IRM presentado entre estas especies, por lo tanto se asume con base a los resultados del IRM que almeja mano de león y almeja catarina utilizadas en el presente estudio se encontraban en similar condición al momento de la cosecha.

7.3.2 Composición química proximal y pH.

La composición química de la materia prima fue analizada en los músculos abductores utilizados como materia prima ya que ésta puede ser un factor que influya de manera importante en la calidad de los productos reestructurados (Fisher, 1999), bajo el mismo criterio fue analizado el pH para ambas especies. Los valores de los diferentes

componentes que integran la composición proximal de almeja catarina y mano de león fueron similares y se presentaron en la misma relación que la reportada por Ocaño-Higuera (1999) al inicio de un estudio de caracterización parcial del comportamiento bioquímico postmortem de estas dos especies, donde asimismo encontró un valor de pH significativamente menor para catarina (5.93) en relación al observado para mano de león (6.26) , coincidiendo con lo observado en el presente estudio, sin embargo los valores encontrados para ambas especies parecen ser inferiores al valor de pH 7.2 reportado para la escalopa *Patinopecten yessoensis* (Seki et al., 2004) y al de pH 7.27 reportado para *Zygochlamis patagonica* (Massa et al., 2003). Se ha considerado que dentro de los factores que pueden influir en el pH posmortem se encuentra el estrés, el ejercicio y el nivel de glucógeno almacenado en el tejido previo a la muerte (Massa et al., 2003), sin embargo en el presente estudio, los datos obtenidos no son suficientes como para inferir la variación encontrada en función de alguna de las condiciones anteriormente mencionadas, inclusive de manera contraria a lo observado, se esperaría que almeja mano de león, quien presentó un mayor contenido de carbohidratos debería presentar el menor pH. Por lo tanto se considera que el valor de pH en igualdad de condiciones de manejo como en el caso de este estudio fue un factor dependiente de la especie.

7.3.3 Capacidad de retención de agua.

Capacidad de retención de agua (CRA) es un término utilizado frecuentemente para describir la habilidad de una matriz de moléculas, usualmente macromoléculas para atrapar grandes cantidades de agua en tal forma que se inhibe la exudación (Chen y Lin 2002), Ashie et al. (1996) señalan que el pH influye en la capacidad de retención de agua.

Cambios en el pH pueden afectar de manera significativa la configuración de las proteínas (Hamm, 1986) lo cual afecta la habilidad de las mismas para sostener agua. Sin embargo a pesar de las diferencias de pH observadas entre el músculo abductor de almeja catarina y el de almeja mano de león, ambos presentaron la misma capacidad de retención de agua. Por otra parte con relación al efecto de la adición de Transglutaminasa sobre la CRA de productos reestructurados, los antecedentes reportados han mostrado un comportamiento variable, ya que mientras Kuraishi et al. (2001) y Fisher (1999), señalan que la transglutaminasa produce un incremento en CRA, O’Kennedy et al. (2000) por el contrario observaron que el uso de transglutaminasa en conjunto con caseinato de sodio incrementó significativamente la pérdida de agua durante el cocinado de carnes de cerdo reestructuradas, lo cual significó una reducción en la CRA. Por otra parte, Ramirez et al., (2002) encontraron que el uso de transglutaminasa en la elaboración de un producto de pescado similar a jamón sin sal no influyó en la CRA, similarmente a este último reporte en el presente estudio se encontró que la adición del sistema CT no modificó la CRA en ninguna de las dos especies. En relación al efecto del sistema FT se observó que éste no afectó la CRA en almeja catarina sin embargo produjo una reducción en la CRA en mano de león, lo cual es contrario a lo reportado por Fisher (1999) quien encontró que escalopas reestructuradas con el sistema FT (Fibrimex™) presentaron mayor CRA que las escalopas naturales (materia prima) y que productos reestructurados por un método similar al sistema CT.

7.3.4 Color.

El color del músculo abductor de las escalopas puede variar desde un blanco-cremoso hasta un muy tenue color naranja (Dore 1991), la variación en el color depende tanto de la especie así como también del alimento que las escalopas consuman, sin embargo no existen antecedentes sobre una descripción objetiva para esas variaciones. Fisher (1999) señala que en el proceso de reestructuración, dependiendo de la materia prima utilizada y de los componentes que constituyan a los sistemas de unión, las características del color pueden ser modificadas. Por ejemplo el sistema Activa™ puede transferir un color blanquecino a los productos reestructurados. Sin embargo en el presente estudio al no encontrar diferencias entre el color de los reestructurados con CT en relación con el color original de la materia prima de ambas especies; se considera que las diferencias entre el color de la matriz de unión formada por CT y la materia prima no fueron significativas. Por otra parte, las variaciones encontradas entre materia prima de la especie mano de león y productos reestructurados con el sistema FT en relación a los parámetros colorimétricos b^* y ángulo de matiz pueden ser atribuidas a que el fibrinógeno (uno de los componentes de Fibrimex™) posee una ligera tonalidad rojiza-naranja debido a que éste es obtenido a partir de suero sanguíneo. Los resultados obtenidos con el sistema FT en el caso de la especie mano de león coinciden con los reportados por Boles y Shand (1999) quienes observaron que al preparar filetes de carne reestructurados con una mezcla de fibrinógeno y trombina (Fibrimex™) como agentes de unión estos fueron significativamente “mas rojizos” (mayor valor de a^*) y “mas amarillos” (mayor valor de b^*) que los que se prepararon utilizando alginatos como sistema de unión.

7.3.5 Propiedades texturales.

La textura es una característica sensorial considerada como una de las principales características que determinan la aceptabilidad del músculo (Bugeon et al., 2003), por lo anterior, dentro de los factores de evaluación de la calidad del músculo abductor de escalopas la textura es considerada dentro de los criterios para la asignación de grados de calidad (Anónimo, 2005^b), por lo tanto igualmente en el desarrollo de productos reestructurados a partir de músculo abductor de escalopas, mantener la calidad de textura debe ser uno de los factores más importantes. En el presente estudio se analizaron las características de textura de los músculos abductores utilizados como materia prima y asimismo se realizó la evaluación de los diferentes parámetros texturales de los productos reestructurados obtenidos. La mayor firmeza ($P < 0.05$) encontrada en músculos abductores de almeja catarina en relación con los de mano de león de acuerdo con los resultados de dureza coincide con lo observado por Ocaño-Higuera (1999) quien al analizar estas especies usando la prueba de corte encontró un mayor valor para almeja catarina (0.38 kgf) en comparación que el obtenido para mano de león (0.30 kgf). Sin embargo en el presente estudio se encontró que la prueba de corte no fue tan sensitiva como la corte para detectar las diferencias mencionadas. Las diferencias en textura pueden ser atribuidas en parte a la composición química del músculo, por ejemplo Crapo et al., (1999) reportaron que la suavidad del músculo del pez *Albatrossia pectorales* estuvo relacionada con un bajo contenido de proteína y un alto contenido de agua, por otra parte Dunajski (1979) en su revisión de literatura concluye que la textura del músculo es afectada por su contenido de agua, indicando que músculos de mayor humedad presentan una textura menos firme. Sin

embargo en el presente trabajo al tratarse de dos especies diferentes, adicionalmente a la composición química podrían estar involucrados otros factores contribuyendo en la textura, por lo tanto los resultados obtenidos no son suficientes como para atribuir las diferencias en textura con base al contenido de humedad y proteínas, ya que almeja catarina quien mostró una mayor firmeza presentó un mayor contenido de proteínas pero asimismo un mayor contenido de humedad. Por otra parte al analizar las características de textura de los productos reestructurados se observó que el efecto del sistema de adhesión empleado para la reestructuración fue dependiente de la especie en el caso de algunos parámetros texturales. Kuraishi et al. (2001) indicaron que la transglutaminase puede mejorar entre otras propiedades la firmeza y la elasticidad lo cual fue observado en este estudio al comparar la firmeza (valores de la prueba de corte WB y dureza) y la elasticidad de los productos reestructurados con el sistema CT de ambas especies con la presentada por la materia prima. Resultados similares fueron reportados por O'Kennedy et al. (2000) quienes encontraron que productos reestructurados mediante la adición de caseinato de sodio (3.375%) y transglutaminasa (530 UE/kg) como agentes de unión, presentaron una fuerza 141% superior a la que presentaba la materia prima empleada. Asimismo, Kuraishi et al., (1997) observaron un incremento de 850% en la fuerza de productos de puerco reestructurados en relación a la de la materia prima. De Jong y Koppelman (2002) indicaron que la transglutaminasa microbiana promueve reacciones de entrecruzamiento entre las proteínas utilizadas como sustrato dando como resultado la formación de un gel proteico formado entre las piezas de carne y asimismo puede promover el entrecruzamiento de este gel con las proteínas de la superficie de la carne. El significativo mayor incremento observado en la mayoría de los parámetros de textura al utilizar el sistema CT en almeja

catarina (corte, dureza, masticabilidad, gomosidad, elasticidad y adhesividad) en comparación al observado al utilizar mano de león, podría estar relacionado con un mayor nivel de entrecruzamiento de la matriz CT con las proteínas del músculo abductor de almeja catarina e igualmente podrá estar relacionado con la unión mas íntima y homogénea observada mediante microscopía de luz en los productos reestructurados. En el presente estudio la evaluación instrumental de textura permitió establecer las diferencias entre las propiedades texturales de los productos reestructurados con respecto a las de los músculos naturales de ambas especies. La determinación de preferencias de un tratamiento en particular queda fuera del alcance del presente estudio y sería mediante una futura evaluación sensorial con la cual podrían ser evaluadas tales preferencias.

7.3.6. Microestructura de las matrices de unión y zonas de unión en los productos reestructurados.

La microscopía provee la herramientas para describir de que forma una estructura particular esta diseñada y por lo tanto como se relaciona ésta con las propiedades de los productos (Hermansson et al., 2000). En el presente trabajo, mediante microscopía de luz se analizó la estructura formada por las matrices de unión utilizadas para el proceso de reestructuración y asimismo la forma en la cual estas matrices fueron incorporadas entre músculos abductores adyacentes de los productos reestructurados. Las diferencias observadas entre las estructuras formadas por ambas matrices de unión y asimismo la forma en la cual se observa la incorporación de las mismas entre músculos abductores sugieren una relación con las características de textura obtenidas. La estructura densa y continua observada por la matriz de CT así como la forma en la cual esta se une con los músculos

abductores se relacionaron con mayores valores de masticabilidad y gomosidad presentados por los reestructurados de ambas especies preparados con este sistema. Contrariamente los reestructurados con FT cuya matriz se observó con discontinuidad de fases y diferente nivel de agregación de proteínas, presentaron menores valores en los parámetros de textura anteriormente señalados. Para el resto de las variables texturales no se presentó una clara relación de los valores obtenidos con las estructuras observadas. En diversos productos marinos, la textura del músculo ha sido relacionada con la microestructura del mismo (Sigurgisladottir et al., 2001; Ando et al., 1999; Hatae et al., 1995; Bugeon et al., 2003; Bjørnevik et al., 2004). Sin embargo, en el presente estudio, esta relación no es tan clara probablemente debido a que en este caso la resolución obtenida mediante microscopía de luz no fue suficiente para exhibir diferencias en las estructuras musculares (MF) entre especies (comparar Figuras 3C y 3D; 3E y 3F); a pesar de las significativas diferencias en textura encontradas. Se considera que es necesario un estudio más detallado y cuantitativo para poder establecer posibles diferencias en la microestructura muscular entre especies.

8. CONCLUSIONES

1.- La suficiente y considerablemente mayor cantidad de nutrientes presentes durante el verano en Laguna Manuela permitieron un mayor desarrollo del músculo abductor de almeja mano de león de manera simultánea con el proceso de maduración de los organismos sin requerir del proceso de transferencia de nutrientes desde el músculo abductor para el desarrollo gonádico.

2.- Las variaciones observadas en los componentes químicos del músculo abductor no estuvieron determinadas por el estadio de desarrollo gonádico, pero parecen haber sido influidas por la disponibilidad de nutrientes presentes en el medio.

3.- De los componentes analizados, el glucógeno mostró ser el principal componente que influyó de manera indirecta en la mayoría de los parámetros de calidad del músculo abductor. Un mayor contenido de glucógeno originó un menor pH posmortem, el cual a su vez produjo una caída en la capacidad de retención de agua y afectó el color del músculo abductor.

4.- El pH y la capacidad de retención de agua tuvieron una influencia mayor que el contenido de humedad sobre las propiedades de textura.

5.- La textura se relacionó claramente con la estructura del músculo. Sin embargo no queda claro el porque durante el verano coincidiendo con el periodo de maduración sexual, el músculo presentó una mayor alteración en esa estructura así como una mayor degradación del tejido conectivo.

6.- El cambio observado en el perfil de aminoácidos libres sugiere un posible sabor menos dulce en músculos obtenidos en verano. A pesar de que en verano resultaría más

conveniente cosechar las almejas por el mayor peso de los músculos, los resultados obtenidos en los parámetros de capacidad de retención de agua y aminoácidos libres indican que su calidad no es óptima. Estos resultados en conjunto con los parámetros de calidad que exigen los mercados, permiten al acuicultor definir su programa de cosecha.

7.- Los resultados de los experimentos 2 y 3 demostraron la factibilidad de producir reestructurados a partir de músculo abductor congelado-descongelado de almeja mano de león y de almeja catarina. De estos dos experimentos se concluye que la estación, el sistema de reestructuración y la especie tienen un efecto sobre la calidad de los productos.

8.- El color de los productos reestructurados de almeja mano de león fueron determinadas por el pH y por el sistema de reestructurado.

9.- Las enzimas proteolíticas endógenas del músculo abductor de almeja mano de león no representaron un problema para el proceso de reestructuración bajo las condiciones de tiempo y temperatura ensayadas.

10.- La mayor cantidad de fluidos exudados que se presentó como consecuencia de una menor CRA, afectó la eficiencia de los sistemas de unión.

11.- El estudio comparativo de la eficiencia de los reestructurados en las dos especies de pectínidos, indicó una influencia significativa de la especie.

12.- El sistema FT afectó el color solamente en la almeja mano de león.

13.- El sistema CT produjo un incremento en la mayoría de los parámetros de textura de almeja catarina en comparación con la almeja mano de león, lo cual posiblemente esté relacionado con un mayor nivel de entrecruzamiento de la matriz CT con las proteínas del músculo.

14.- Se propone estudiar estrategias que permitan incrementar la calidad del músculo abductor recolectado en verano, así como adecuar las condiciones de proceso de reestructuración, a fin de obtener independientemente de las variaciones en la materia prima, productos con una calidad consistente.

9. LITERATURA CITADA

- Ackman RG. 1995. Composición y valor nutritivo de los lípidos del pescado y del marisco. En Ruiter A. (Ed). El pescado y los productos derivados de la pesca: Composición, propiedades nutritivas y estabilidad. Acribia S.A. Zaragoza, España. pp. 123-164.
- Acosta CP, Roman G. 1991. Reproductive and reserve storage in *Pecten maximus* reared in suspension. II. Energy storage cycle. 8th International Pectinid Workshop, Cherbourg France.
- Andersen UB, Thomassen, MS, Roura AMB. 1997. Texture properties of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects of diet, muscle fat content and time of storage in ice. J Sci. Food Agric. 74(3): 347-353.
- Ando M, Toyohara H, Sakaguchi M. 1992. Three-dimensional structure of collagen fibrillar network of pericellular connective tissue in association with firmness of fish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 58(7), 1361-1364.
- Ando M, Nishiyabu A, Tsukamasa Y, Makinodan Y, 1999a. Post-mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. J. Food Sci. 64(3),423-428.
- Ando M, Ando M, Tsukamas, Y, Makinodan, Y., Miyoshi, M.1999b. Muscle firmness and structure of raw and cooked arrow squid mantle as affected by freshness. J. Food Sci. 64(4), 659-662.
- Ando M, Joka M, Mochizuki S, Sato KI, Tsukamasa Y, Makinodan,Y. 2001. Influence of death struggle on the structural changes in chub mackerel muscle during chilled storage. Fisheries Sci.. 67, 744-751.
- Ang JF, Haard NF. 1984. Chemical composition and postmortem changes on soft textured muscle from intensely feeding Atlantic cod (*Gadus morhua*, L). J. Food Biochem. 9, 49-64.
- Anónimo. 2001. Seafood Price Current. 28(75): 11
- Anónimo. 2005^a. Opinion of the scientific panel on food additives, flavorings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to: Use an enzyme preparation base on thrombin:fibrinogen derived from cattle and/or pigs as a food additives for reconstituting food. Question number EFSA-2004-025. The EFSA Journal 214:1-8. http://www.efsa.eu.int/science/afc/catindex_en.html.
- Anónimo. 2005^b. United States standards for grade of frozen raw scallops. USDC <http://seafood.nmfs.noaa.gov/RawScallops.PDF>.

- Ansell AD. 1974. Seasonal changes in biochemical composition of the bivalve *Chlamys septemradiata* from the Clyde Sea Area. *Marine Biology* 25(2): 85-99.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Arellano-Martínez M. 2005. Características ecofisiológicas de la reproducción de *Nodipecten subnodosus* (sowerby, 1835)(pectinidae) en la laguna ojo de liebre, B.C.S., México. Tesis doctoral. La Paz, B.C.S. México. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN.
- Arellano-Martínez M, Ceballos-Vázquez BP, Elorduy-Garay JF. 2003. Biochemical composition in *Nodipecten subnodosus* related to reproduction and food Availability. 14th International Pectinid Workshop. April 23-29, 2003. St. Petesburg, Florida. USA.
- Ashie INA, Smith JP, Simpson BK. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Rev Food Sci and Nutr.* 36,87-121.
- Ashie, I.N.A, Lanier, T.C. 2000. Transglutaminases in seafood Processing. En: Haard NF, Simpson BK. (Eds) *Seafood Enzymes: Utilization and influence on postharvest seafood quality.* Marcel Dekker, Inc. New York, NY. USA. Pp. 147-166.
- Avendaño M, Cantillán M, Le Penne M, Lodeiros C, Freitas, L. 2001. Cultivo de pectínidos iberoamericanos en suspensión. En: Maeda-Martínez AN (Ed). *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura.* Editorial Limusa. México. 193-211 pp.
- Barber BJ, Blake NJ. 1981. Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J. Exp.Mar. Biol. Ecol.* 52, 121-134.
- Barber B J, Blake NJ. 1983. Growth and reproduction of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck) at its southern distributional limit. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 66,247-256
- Barber BJ, Blake NJ. 1991. Reproductive Physiology. En: Shumway, S.E. (Ed), *Scallops: Biology, ecology and aquaculture.* Elsevier Science Publishing Co. Inc. New York, NY U.S.A, pp.377-424.
- Barret AJ, Rawlings ND y Woessner JF. 2004. Thrombin. En: *Handbook of proteolytic enzymes.* 2nd edición, Vol 2, Elsevier Academic Press, Ámsterdam, pp 1667-1672.
- Barrios-Ruiz D, Chavez-Villalba J, Caceres-Martinez C. 2003. Growth of *Nodipecten subnodosus* (Bivalvia: Pectinidae) in La Paz, Bay. *Aquaculture Res.* 34(8), 633-639.
- Bewick MD, Wells R.G, Wong RJ. 1997. Free amino acid and nucleotide concentrations in New Zealand Abalone (Paua), *Haliotis iris*, fed casein-based, macroalgal or wild diets. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 6(4),57-69.

- Bjornevik M, Karlsen O, Johnston IA, Kiessling A. 2003. Effect of sustained exercise on white muscle structure and flesh quality in farmed cod (*Gadus morhua* L.). *Aquac. Res.* 34, 55-64.
- Blombäck B y Laurent T. 1958. N-terminal and light scattering studies on fibrinogen and its transformation to fibrin. *Arkiv. Kemi.* 12:137-146.
- Boles JA, Shand PJ. 1999. Effects of raw binder system, meat cut and prior freezing on restructured beef. *Meat Sci* 53:233-239.
- Bourne MC. 2002. Food texture and viscosity: Concept and measurement. Segunda edición. Academic Press. London UK. 415 p.
- Bricelj, V.M., Epp J, Malouf RE. 1987. Intraspecific variation in reproductive and somatic growth cycles of bay scallops *Argopecten irradians*. *Mar.Ecol. Prog Ser.* 36: 123-137.
- Bugeon J, Lefevre F, Fauconneau B. 2003. Fillet texture and muscle structure in brown trout (*Salmo trutta*) subjected to long-term exercise. *Aquac. Res.* 34, 1287-1295.
- Bugeon J, Lefevre F, Fauconneau, B. 2004. Correlated changes in skeletal muscle connective tissue and flesh texture during starvation and re-feeding on brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater. *J. Sci. Agric.* 84, 1433-1441.
- Carta Nacional Pesquera. 2004. Diario Oficial de la Federación. 15 de marzo de 2004. SAGARPA, México.
- Cerioti G, Spandrio L. 1957. Colorimetric determination of tyrosine. *Biochem J.* 1957.66(4): 607-610.
- Chantler P. 1991. The structure and function of scallop adductor muscle. In: Shumway, S.E. (Ed). *Scallops: Biology, ecology and aquaculture*. Elsevier Science Publishing Co. Inc. New York, NY U.S.A. pp.225-304.
- Chen MJ, Lin CW. 2002. Factors affecting the water-holding capacity of fibrinogen/plasma protein gels optimized by response surface methodology. *J Food Sci* 67(7):2579-2582.
- Cheng C S, Hamann DD, Webb, N.B., 1979. Effect of species and storage at -14°C . *J. Sci. Food Agric* 13,607.
- Chiou TK, Huang JP. 2003. Chemical constituents in the abdominal muscle of cultured mud crab *Scylla serrata* in relation to seasonal variation and maturation. *Fisheries Sci.* 69: 597-604.
- Chiou TK, Lai MM, Shiao CY. 2001. Seasonal variation of chemical constituents in the muscle and viscera of small abalone fed different diets. *Fisheries Sci.* 67, 146-156.
- Chiou TK, Lai MM, Lan HL, Shiao CY. 2002. Extractive component changes in the foot muscle of live small abalone during storage. *Fisheries Sci.* 68, 380-387.

- Chiou TK, Tsai CY, Lan HL. 2004. Chemical, physiological and sensory changes of small abalone meat during cooking. *Fisheries Sci.* 70, 867-874.
- Choubert G, Blanc JM, Vallée F. 1997. Color measurements, using the CIELCH color space of muscle of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed astaxanthin: effects of family, ploidy, sex, and location of reading. *Aquac. Res.* 28,15-22.
- Crapo Ch, Himelbloom B, Pfutzenreuter R, Lee Ch. 1999. Causes for soft flesh in giant grenadier (*Albatrossia pectoralis*) fillets. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 8(3), 55-69.
- Cross HR, Carpenter ZL, Smith. 1973. Effect of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. *J. Food Sci.* 38:998-1003.
- De Jong GAH, Koppelman SJ. 2002. Transglutaminase catalyzed reactions: Impact on food applications. *J Food Sci* 67(8):2798-2806.
- De Vido de Mattio, N. 1980. Influencia de la temperatura y de la producción primaria en la variación estacional de la composición química y peso de *Aulacomya ater ater* en Golfo Nuevo, Chubut, Contribución 38. CENPAT. Argentina.
- De Vido de Mattio N, Paredi ME, Crupkin M. 2001. Influence of the gonadal cycle and food availability on postmortem change in glycogen, ATP, hypoxanthine and 260/250 absorbance ratio in adductor muscle from scallop *Aequipecten tehuelchus* (D' Orbigny, 1846). *J. Shellfish Res.* 20, 111.
- Dickinson, E. 1997. Enzymic crosslinking as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization. *Trend in food Sci. and Technol.* 8:334-339.
- Dore I. 1991. Scallops. In shellfish. A guide to oysters, mussels, scallops, clams and similar products for the commercial user. New York: Van Nostrand Reinhold, 131-173. pp.
- Dunajski E. 1979. Texture of fish muscle. *J. Texture Stud.* 10, 301-318.
- Elbe JHV, Schwartz SJ. 1996. Colorants. In: Fennema, O.R. (Ed). *Food Chemistry*. Marcel Dekker, Inc. New York NY USA, pp. 651-722.
- Epp J, Bricelj M, Malouf RE. 1988. Seasonal partitioning and utilization of energy reserves in two classes of the bay scallop *Argopecten irradians irradians* (Lamarck). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 121, 113-121.
- Félix-Pico EF. 1993. Estudio biológico de la almeja catarina *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835) en Bahía Magdalena, B.C.S., México. (Tesis de Maestría) La Paz, B.C.S.: Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional, 89 pp.

- Fisher RA. 1999. Seafood restructuring using cold-set binding technology. Virginia Sea Grant Marine Advisory Program. VSGCP-G-99-002, 16 p.
- Foegeding EA, Lanier TC, Hulting HO. 1996. Characteristics of edible muscle tissues. En: Fennema, O.R. (Ed). Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc. New York NY USA, pp. 879-942.
- Francis FJ, Clydesdale FM. 1975. Food colorimetry, theory and applications. Westport, CT: The AVI Publishing Co. 477 pp.
- Gabbott PA. 1975. Storage cycles in marine bivalve mollusks: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. Eurp. Mar. Biol. Symp. 191-211.
- Gandolfi M, Grundevik I, Arfwidsson A, Fonselius J, Persson BA. 1981. Derivatization with 4-chloro-7-nitrovenzofurazan for liquid chromatography determination of hydroxyproline in collagen hydrolysate. Analytical Chemistry. 53: 489-495.
- Ginés R, Palicio M, Zamorano MJ, Arguello A, López J, Afonso JM. 2002. Starvation before slaughterig as a tool to keep freshness attributes in gilthered sea bream (*Sparus aurata*). Aquac. Int. 10, 376-389.
- Groninger HS, Gudo G, Portner R, Miller R. 1985. Preparation and evaluation of surimi from Pacific whiting. Paper No.17 presented at International symposium of engineered seafood including surimi. Seattle, WA. Nov. 19-21.
- Hamm R. 1986. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. En: Bechtel, P.J. (Ed). Muscle as food. Food Sci. Technol. A series of monographs. Academic Press Inc. Orlando Florida, USA, pp.135-199.
- Hatae K, Yoshimatsu F, Matsumoto JJ. 1990. Role of muscle fibers on contributing firmness of coocked fish. J Food Sci. 55(3), 693-696.
- Hatae K, Nakai H, Shimada A, Murakami T, Takada K, Shirojo Y. Wattabe, Sh., 1995. Abalone (*Hariltis discus*): Seasonal variations in chemical composition and textural properties. J Food Sci. 60(1), 32-35, 39.
- Hayashi T, Yamaguchi K, Konosu S. 1981. Sensory analysis of taste-active components in the extract of boiled snow crab meat. J. Food Sci. 46,479-493.
- Hayashi K, Kishimura H. 1991. Seasonal Changes in the contents of eiscosapentaenoic acid-containing triglycerides in hepatopancreas of scallop. Nippon Suisan Gakkaishi. 57(7): 1397-1401.

- Hermansson AM, Langton M, Lorén N. 2000. New approaches to characterizing food microstructures. MRS. Bulletin December 2000. p 30-36. www.mrs.orgg/publications/bulletin.
- Hiltz DF, Dyer WJ, 1971. Octopine in adductor muscle of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*). J. Fish. Res. Bd. Can., 28: 869.
- Hongsprabhas P, Barbut S. 1999. Effect of pre-heated whey protein level and salt on texture development of poultry meat batters. Food Res Int 32:145-149.
- Hurling R, Rodell JB, Hunt HD. 1996. Fiber diameter and fish texture. J. Texture Stud. 27, 679-685.
- Huss, H.H. 1999. Pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. FAO. Documento Técnico de Pesca N° 348. FAO, Roma. <http://www.fao.org/DOCREP/V7180S/V7180S00.HTM>
- Hwang D, Chen TY, Shiau HY, Jeng SS. 2000. Seasonal variation of free amino acids and nucleotide-related compounds in the muscle of cultured Taiwanese puffer *Takifugu rubripes*. Fisheries. Sci. 66, 1123-1129.
- Jeffrey, S.W. y Humphrey, G.F. 1975. New spectrophotometric equations for the determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. Biochem. Physiol. Plants, 167:191-194.
- Jiang ST, Leu SZ, Tsai GJ. 1998. Cross-linking of mackerel surimi actomyosin by microbial transglutaminase and ultraviolet irradiation. J. Agric. Food Chem. 46:5278-5282.
- Jiang ST. 2000. Enzymes and Their Effects on Seafood Texture. En: Haard NF, Simpson, BK. (Eds) Seafood Enzymes: Utilization and influence on postharvest seafood quality. 411-450 pp.
- Joseph D, Lanier TC, Hamann DD. 1994. Temperature and pH affect transglutaminase-catalyzed setting of crude fish actomyosin. J Food Sci. 59:5 1018-1023.
- Jittinandana S, Kenney PB, Mazik PM, Danley C., Kiser RA, Hankins JA. 2005. Transport and stunning affect quality of arctic char fillets. J. Food Muscle. 16, 274-288.
- Johnston IA, Alderson R, Sandham C, Dingwall A, Mitchell D, Selkirk C, Nickell D, Baker R, Robrtson B, Whyte D, Springate J. 2000. Muscle fiber density in relation to the color and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Aquaculture. 189, 335-349.
- Johnston IA, Manthri S, Bickerdike R, Dingwall A, Luijckx R, Campbell P, Nickell D, Alderson R. 2004. Grow performance, muscle structure and flesh quality in out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts reared under two different photoperiod regimes. Aquaculture. 237, 281-300.

- Jonsson A, Sigurgisladottir S, Hafsteinsson H, Kristbergsson K. 2001. Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets measured by different methods in comparison to expressible. *Aquac. Nutr.* 7, 81-89.
- Kagawa M, Matsumoto M, Yoneda C, Mitsunashi T, Hatae K. 2002. Changes in meat texture of tree varieties of squid in the early stage of cold storage. *Fisheries Sci.* 68, 786-792.
- Karnovsky M.A. 1965. Formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology.* 27:137 A.
- Kawashima K, Yamanaka H. 1995. Effects of freezing and thawing on postmortem biochemical change in scallop adductor muscle. *Fisheries Sci.*, 61(4), 691.
- Kawashima K, Yamanaka H. 1996. Influences of seasonal variation in contents of glycogen and its metabolites on browning of cooked scallop adductor muscle. *Fisheries Sci.* 62(4), 639-642.
- Kawasaki S T, Kawasaki Y K, Kawasaki S S, Kawasaki ICh, Kawasaki HK. 1996. Enzyme Preparation for Producing Bound-formed Food (Transglutaminase, casein, surfactant). Patent Number: 5518742. Ajinomoto Co.Inc.
- Keen AM. 1971. Sea shells of tropical west America. Stanford University Press. Stanford, California, USA. 1064 p.
- Kiessling A, Espe M, Ruohonen K, Morkore T. 2004. Texture, gaping colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO₂ anaesthesia. *Aquaculture.* 236, 645-657.
- Konosu S, Yamaguchi, K. 1982. The flavor components in fish and shellfish. En: Martin, R.E., Flick, G.J., Ward, D.R. (Eds). *Chemistry and biochemistry of marine food products.* AVI Publishing, Wesport. pp. 367-404.
- Koch V, Mazón-Suástegui JM, Sinsel F, Robles-Mungaray M, Duna D. 2005. Lion's paw scallop (*Nodipecten subnodosus*, Sowerby 1835) aquaculture in Bahía Magdalena, Mexico: effects of population density and season on juvenile growth and mortality. *Aquaculture Research.* 36(5): 505
- Kowaliski, P. 1978. *Vision et mesure de la couleur.* Editions. Masson, Paris. 255 p
- Kubota S, Kinoshita M, Yokoyama Y, Toyohara H, Sakaguchi M. 2000 Induction of gelatinolytic activities in ayu muscle at the spawning stage. *Fisheries Sci.* 66, 574-578.
- Kumasawa Y, Numazawa T, Seguro K, Motoki M. 1995. Supresión of surimi gel setting by transglutaminase inhibitors. *J. Food Sci.* 60: 715-717.
- Kuntz LA. 1995. *Appearances count.* Food Product Design. March- Design Elements. Weeks Publishing Co. [http:// www.foodproductdesign.com](http://www.foodproductdesign.com).

- Kuraishi Ch, Sakamoto J, Yamasaki K, Susa Y, Kuhara Ch, Soeda T. 1997. Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. *J Food Sci* 62(3):488-490, 515.
- Kuraishi Ch, Yamasaki K, Susa Y. 2001. Transglutaminase: Its utilization in the food industry. *Food Rev Intl* 17(2):221-246.
- Lee, C.M. 1992. Factors Affecting Physical Properties of Fish Protein Gel en: *Advances in Seafood Biochemistry: Composition and Quality*. Flick, G. and Martin, R. (eds.). Technomic Publishing Company Inc. 43-67 p.
- Lee HG, Lanier TC, Hamann DD, Knoopp JA. 1997^a. Transglutaminase effects on low temperature gelation of fish protein sols. *J Food Sci*. 62:1 20-24.
- Lee HG, Lanier TC, Hamann DD. 1997^b. Covalent cross-linking effects thermo-rheological profiles of fish protein gels. *J Food Sci*. 62:1 25-32.
- Liu M, Damodaran S. 1999. Effect of transglutaminase-catalyzed polymerization of beta-casein on its emulsifying properties. *J. Agric. Food Chem*. 47: 1514-1519.
- Lluch-Belda D, Lluch-Cota DB, Lluch-Cota SE. 2003. Interannual variability impacts on the California Current Large Marine Ecosystem. En: *Large Marine Ecosystems of the World: Trends in Exploitation, Protection and Research*. Hempel G, Sherman K (Eds.) Elsevier, Amsterdam. 195-226 pp.
- Lomovasky BJ, Malanga G, Calvo J. 2004. Seasonal changes in biochemical composition of the clam, *Eurhomalea exalbida* (Bivalvia: Veneridae), from the Beagle Channel, Argentina. *J. Shellfish Res*. 23(1), 81-88.
- Love RM. 1975. Variability in Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the northeast Atlantic: A review of seasonal and environmental influences on various attributes of the flesh. *J.Fish.Res.Board Can.*, 32,2333-2342.
- Maeda-Martínez AN. 2001. Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura. Editorial Limusa. México. 501 pp.
- Maeda-Martínez A, Ormart P. 1995. Sistema marino para crecimiento y engorda hasta la fase adulta de almeja catarina. Patente otorgada por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial a favor del CIBNOR No. 180211.
- Maeda-Martínez AN, Reynoso T, Solís F, Leija A, Aurióles D, Lluch D, Salinas C, Ormart P, Félix E. 1993. A model to explain the formation of catarina scallop (*Argopecten circularis*) beds in Magdalena Bay, Mexico. *Aquac. & Fish. Management*. 24, 323-339.

- Maeda-Martínez AN, Ormart P, Mendez L, Acosta B, Sicard MT. 2000. Scallop growout using a new bottom-culture system. *Aquaculture* 189 (1-2) 73-84.
- Martine M, Vis HV. 2003. Effect of the slaughter method on the quality of raw and smoked eels (*Anguilla anguilla* L.). *Aquac. Res.* 34, 1-11.
- Martínez G. 1991. Seasonal variation in biochemical composition of three size classes of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* Lamarck, 1819. *The Veliger.* 34, 335-343.
- Massa AE, Paredi M, Crupkin M. 2003. A chemical assessment of freshness in stored adductor muscle from scallops. *Braz. J. Chem. Eng.* 20 (2), 147-152.
- Matheis G, Whitaker JR. 1987. A Review: Enzymatic Cross-Linking of Proteins Applicable to Foods. *Journal of Food Biochemistry.* 11:309-327.
- Mathieu M, Lubet P. 1993. Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves – a brief review. *Inv. Rep. Develop.* 23 (3), 123-129.
- Mizuta S, Yamada Y, Miyagi T, Yoshinaka R. 1999. Histological changes in collagen related to textural development of prawn meat during heat processing. *J. Food Sci.* 64,991-995
- Mizuta S, Yamada Y, Miyagi T, Yoshinaka R. 2005. Characterization of the quantitatively major collagen in the mantle of oyster *Crassostrea gigas*. *Fisheries Sci.* 71, 229-235.
- Morales-Hernández R, Cáceres-Martínez C. 1996. Pesquería de la almeja mano de león *L. Subnodosus*. En: Casas-Valdez, M., Ponce, G. (Eds.), Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Vol. 1. SEMARNAP. FAO.INP.UABCS.CIBNOR.CICIMAR.UECYTM. La Paz, B.C.S. México, pp. 87-100.
- Morales J, Montero P, Moral A. 2000. Isolation and partial characterization of two types of muscle collagen in some cephalopods. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2142-2148.
- Motoki, M. y Seguro, K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. *Trends in Food Science and Technology.* 9: 204-210.
- Nakamura YN, Ando M, Seoka M, Kawasaki KI, Tsukamasa Y. 2005. Comparison of the proximate compositions, breaking strength and histological structure by the muscle positions of the full-cycle cultured pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fisheries Sci.* 71, 605-611.
- Ni S, Nozawa H, Seki N. 1998. Effect of microbial transglutaminase on thermal gelation of carp actomyosin sol. *Fish Sci.* 64: 434-438.
- Ni S, Nozawa H, Seki N. 1999. The combined effect of transglutaminase and protease inhibitors on the thermal of actomyosin sol from carp and salmon muscle. *Fish Sci.* 64: 606-612.

- Nielsen D, Hyldig G, Nielsen J, Nielsen HH. 2005. Liquid holding capacity and instrumental and sensory texture properties of herring (*Clupea harengus L.*) related to biological and chemical parameters. *J. Food texture.* 36,119-138.
- Nonaka M, Sakamoto H, Toiguchi S, Kawajiri H, Soeda T, Motoki M. 1992. Sodium caseinate and skim milk gels formed by incubation with microbial Transglutaminase. *Food Sci.*, 57:1214-1218.
- Nordgarden U, Ornsrud R, Hansed T, Hemre GI. 2003. Seasonal changes in selected quality parameters in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) reared under natural and continuous light. *Aquac. Nutr.* 9, 161-168.
- Ocaño-Higuera VM. 1999. Caracterización parcial del comportamiento bioquímico posmortem y desarrollo de productos a partir de callo de almeja catarina (*Argopecten ventricosus*) y almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*) de Baja California, Mexico. (Tesis de maestría). Hermosillo, Sonora, Mexico: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, 111 pp.
- Ocaño Higuera, V.M., Pacheco Aguilar, R., y Maeda Martínez, A. 2001. Bioquímica Posmortem. En: "Los Moluscos Pectínidos en Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura". (Maeda-Martínez, A. Ed.) Limusa. Noriega E. México, D.F. 405-429
- Ocaño-Higuera VM. 2003. Efecto de la temperatura sobre la fisiología antemortem y la bioquímica posmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor en la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). (Tesis doctoral). Hermosillo, Sonora: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. 141 pp.
- O'Kennedy BD, Neville BD, Kelly P. 2000. Optimization of ingredient formulation in processed meat products, use of novel dairy ingredients in processed meats. End of project report 1999: DPRC No. 15, Dublin: Dairy Products Research Centre, Teagasc Irish Agriculture and Food Development Authority. 11 p.
- Olsson GB, Olsen RL, Obstad R. 2003. Post-mortem structural characteristics and water-holding capacity in Atlantic halibut muscle. *Lebensm Wiss U Technol* 36,125-133.
- Pacheco-Aguilar R, Crawford DL. 1994. Potassium bromate effects on gel-forming ability of Pacific whiting surimi. *J Food Sci* 59(4):786-91.
- Pacheco-Aguilar R., Ocaño-Higuera VM, Maeda-Martínez A. 2001. Manejo y Procesado de Pectínidos. En: Maeda-Martínez A (Ed). Los moluscos pectínidos en Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura. Limusa. Noriega E. México, D.F. 431-450 pp.

- Pacheco-Agular R, Lugo-Sanchez ME, Robles-Burgueño MR. 2000. Postmortem biochemical and functional characteristic of monterey sardine muscle storage at 0° C. *J Food Sci.* 65:1 40-47.
- Pazos AJ, Román G, Acosta CC, Abad M, Sánchez JL. 1996. Influence of the gametogenic cycle on the biochemical composition of the ovary of the great scallop. *Aquac. Int.* 4, 201-213.
- Peña J 2001. Taxonomía, morfología, distribución y abundancia de los pectínidos iberoamericanos. En: Maeda-Martínez AN (Ed). *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura.* Editorial Limusa. México. 1-25 pp.
- Pérez-Mateos M, Amato PM, Lanier TC. 2004. Gelling properties of atlantic croaker surimi processed by acid or alkaline solubilization. *J Food Sci.* 69:4. 328-333.
- Pollero RJ, Ré ME, Brenner RR. 1979. Seasonal Changes of the lipids of the mollusk *Chlamys Tehuelcha*. *Comp. Biochem. Physiol.* 64, 257-263.
- Pörtner HO. 2002. Environmental and functional limits to muscular exercise and body size in marine invertebrate athletes. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 133, 303-321.
- Pszczola DE. 1999. Ingredients that get to the meat of the matter. *Food Technology.* 53(4): 62-74.
- Racotta, I., Ramírez, J.L. Ávila, S. and Ibarra, A.M. 1998. Biochemical composition of gonad and muscle in the Mano de León scallop, *Argopecten ventricosus*, after reproductive conditioning under two feeding systems. *Aquaculture.* 163:111-122.
- Racotta I S, Ramírez JL, Ibarra A M, Rodríguez-Jaramillo M C, Carreño D, Palacios E. 2003. Growth and gametogenesis in the lions-paw-scallop *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*. *Aquaculture.* 217, 335-349.
- Ramírez J, Uresti R, Téllez S, Vázquez M. 2002. Using salt and microbial transglutaminase as binding agents in restructured fish products resembling hams. *J Food Sci* 67(5):1778-1784.
- Reinecke-Reyes M A. 1996. Madurez y desove de la almeja mano de leon *Lyropecten subnodosus* Sowerby, 1835 (Bivalvia: Pectinidae) en la laguna Ojo de Liebre, B.C.S. Mexico. En: Castro-Aguirre C E. (Ed.). *Boletín Pesquero SEMARNAP/INP-CRIP-La Paz, B.C.S., Mexico.* pp.17-20.
- Robinson WE, Wehling WE, Morse MP, McLeod GC. 1981. Seasonal changes in soft-body component indices and energy reserves in the Atlantic deep-sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *Fish. Bull.* 79, 449-458.
- Román G, Martínez G, García O, Freitas L. 2001. Reproducción. En: Maeda-Martínez A (Ed). *Los moluscos pectínidos en Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura.* Limusa. Noriega E. México, D.F. 27-59 pp.

- Rønsholdt B. 2005 Can carotenoid content in muscle of salmonids be predicted using simple models derived from instrumental colour measurements? *Aquac. Res.* 36, 519-524.
- Ruiz-Capillas C, Moral A, Morales J, Montero P. 2002. Characterization of non-protein in the Cephalopods volador (*Illex coindetii*), pota (*Todaropsis eblanae*) and octopus (*Eledone cirrhosa*). *Food Chem.* 76, 165-172.
- Ruiz-Carrascal J, Regenstein J. 2002. Emulsion stability and water uptake ability of chicken breast muscle proteins as affected by microbial transglutaminase. *J. Food Sci.* 67(2): 734-739.
- Sagedhal A, Busalmen JP, Roldan H, Paredi ME, Crupkin M. 1997. Post-mortem changes in adenosine triphosphate and related compounds in mantle of squid (*Illex argentinus*) at different stages of sexual maturation. *J. Aquatic Food Prod. Tech.* 6(4), 43-56.
- Sakaguchi M, Murata M. 1989. Seasonal variations of free amino acids in oyster whole body and adductor muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 55, 2037-2041.
- Sakamoto H, Kumazawa Y, Kawajiri H, Motoki M. 1994. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions. *J. Food Sci.* 59(4):866-871.
- Sakamoto H, Kumazawa Y, Kawajiri H, a Motoki M. 1995. ϵ -(γ -glutamyl)lisine crosslink distribution in food as determined by improved method. *J. Food Sci.* 60(2):416-419.
- Sato K, Ohashi Ch, Ohtsuki K, Kawabata M. 1991. Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. *J. Agric Food Chem.* 39, 1222-1225.
- Sato K, Ando M, Kubota S, Origasa K, Kawase H, Toyohara H, Sakaguchi M, Nakagawa T, Makinodan Y, Ohtsuki K, Kawabata M. 1997. Involvement of type V collagen in softening of fish muscle during short-term chilled storage. *J. Agric. Food Chem.* 45, 343-348.
- Schmidt GR, Mawson RF y Siegel DG. 1981. Functionality of a protein matrix in comminuted meat products. *Food Technol.* 35:235-252.
- Seki N, Niki T, Ishikawa D, Kimura M, Nozawa H. 2004. Preservation of scallop adductor muscle in oxygenated artificial seawater. *J Food Sci* 69(4): FCT 262-FCT 267.
- Shao CH, Avens JS, Schmidt GR, Maga JA. 1999. Functional, sensory and microbiological properties of restructured beef and emu steaks. *J Food Sci* 64(6):1052-1054.
- Sheehan DC, Hrapchak MT. 1973. *Theory and practice of histotechnology.* St. Louis, MO: Mosby Company, 481 pp.
- Shumway SE, Gabbott PA, Youngson A. 1977. The effect of fluctuating salinity on the concentrations of free amino acids and ninhydrin-positive substances in the adductor muscles of eight species of bivalve molluscs. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 29: 131-150.

- Shumway SE. 1991. Scallops: Biology, ecology and aquaculture. Elsevier Science Publishing Co. Inc. New York, NY U.S.A. 1095 pp
- Sigurgisladottir S, Sigurgisladottir MS, Torrissen O, Vallet JL, Hafsteinsson H. 2000^a. Effect of different salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo saler*) fillets. Food Res. Int. 33, 847-855.
- Sigurgisladottir S, Ingvarsdottir H, Torrissen OJ, Cardinal M, Hafsteinsson H. 2000^b. Effects of freezing/thawing on the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). Food Res. Int. 33, 857-865.
- Sigurgisladottir S, Sigurdardottir M, Ingvarsdottir H, Torrinsen O, Hafsteinsson H. 2001. Microstructure and texture of fresh and smoked Atlantic salmon, *Salmo salar L.*, fillets from fish reared and slaughtered under different conditions. Aquac. Res. 32,1-10.
- Sikorski ZE, Kolakowska A, Pan BS. 1990. The nutritive composition of the major groups of marine foods organisms. En: Sikorski ZE (Ed) Seafoods: Resources, nutritional composition and preservation. CRC. Press: Boca Raton, FL USA, pp.29-54.
- Stien LH, Hirmas E, Bjørnevik M, Karlsen Ø, Nortvedt R, Røra AMB, Sunde J, Kiessling A. 2005. The effects of stress and storage temperature on the colour and texture of pre-rigor filleted farmed cod (*Gadus morhua L.*). Aquac. Res. 36,1197-1206.
- Strickland, J.D. y Parsons T.R. 1972. A practical handbook for the sea water analysis. Res. Bd. Canada Bull. 167. Second Edition. 311p.
- Suklim K, Flick GJ, Marcy JE, Eigel WN, Haugh CG, Granata IA. 2004. Effect of cold-set binders: alginates and microbial transglutaminase on the physical properties of restructured scallops. J. texture studies 35(6): 634.
- Szczesniak AS. 1963. Classification of textural characteristics. J. Food Sci. 28,385-389.
- Taylor RG, Fjaera SO, Skjervold PO. 2002. Salmon fillet texture is determined by myofiber–myofiber and myofiber–myocommata attachment. J. Food Sci. 67, 2067-2071.
- Thakur PD, Morioka K, Itoh Y, Obatake A. 2002. Influence of muscle biochemical constituents on the meat texture of cultured yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) at different anatomical locations. J. Sci. Food Agric. 82, 1541-1550.
- Thakur PD, Morioka K, Itoh Y, Obatake A. 2003. Lipid composition and deposition of cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* muscle at different anatomical locations in relation to meat texture. Fisheries Sci. 69, 487-494.

- Thompson RJ, MacDonald BA. 1990. The role of environmental conditions in the seasonal synthesis and utilization of biochemical energy reserves in the giant scallop, *Placopecten magellanicus*. *Can. J. Zool.* 68, 750-756.
- Touhata K, Tanaka M, Toyohara H, Tanaka H, Sakaguchi M. 2000. Seasonal change in collagen content of red seabream muscle. *Fisheries Sci.* 66, 553-557.
- Touhata K, Toyohara H, Tanaka M, Tanaka H, Toyohara M, Murata M, Sakaguchi M. 2001. Seasonal changes in the level of collagen breakdown in red sea bream muscle. *Fisheries Sci.* 67, 991-992.
- Toyohara H, Ito K, Tohuata K, Kinoshita M, Kubota S, Sato K, Ohtsuki K, Sakaguchi M. 1997. Effect of maturation on the contents of free and bound forms of hydroxyproline in ayu muscle. *Fisheries Sci.* 63, 843-844.
- Tsai GJ, Lin SM, Jiang ST. 1996. Transglutaminase from *Streptovercillium ladakanum* and application to minced fish product. *J Food Sci.* 61:6 1234- 1238.
- Tseng S, Lai M. 2002. Physicochemical properties of wheat flour dough modified by microbial transglutaminase. *J Food Sci.* 67:2 750-755.
- Tsukamasa Y, Sato K, Shimizu Y, Imai Ch, Sugiyama M, Minegishi Y, Kawabata M. 1993. E-(gamma-Glutamyl) lisien crosslink formation in sardine myofibril sol during at 25 C. *J Food Sci.* 58:4. 785-787.
- Ueng YE, Chow Ch J. 1998. Textural and histological changes of different squid mantle muscle during frozen storage. *J. Agric. Food. Chem.* 46, 4728-4733.
- Umagat H, Kucera P, Wen L F. 1982. Total amino acid analysis using precolumn fluorescence derivatization. *J. Chromatogr.* 239,463-474.
- Uzaki N, Kai M, Aoyama H, Suzuki T. 2003. Changes in mortality rate and glycogen content of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* during the development of oxygen-deficient waters. *Fisheries Sci.* 69, 936-943.
- Van Hamdel E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Anal. Biochem.* 11, 256-265.
- Vázquez-Ortiz FA, Morón-Fuenmayor OE, González-Méndez NF. 2004. Hydroxyproline measurement by HPLC: Improved method of total collagen determination in meat samples. *J. liquid Chromatography & Related technologies.* 27, 2771-2780.
- Villalejo-Fuerte M, Ceballos-Vázquez BP. 1996. Variación de los índices de condición general, gonádico y de rendimiento muscular en *Argopecten circularis* (Bivalvia:Pectinidae). *Rev. Biol. Trop* 44, 591-594.

- Wassef EA, El Marry MH, Mikhail FR. 2001. Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, *Mugil cephalus* L., fingerling by feeding algal meal-based diets. *Aquac. Res.* 32, 315-322.
- Watanabe H, Yamanaka H, Yamakawa H. 1992. Seasonal variations of extractive components in the muscle of disk abalone. *Nippon. Suisan Gakkaishi.* 58, 921–925.
- Webb NB, Thomas FB, Busta FF, Monroe RJ. 1969. Variations in proximate composition of North Carolina scallop meats. *J. Food Sci* 34, 471-474.
- Wongso S, Yamanaka H. 1998. Extractive components of the adductor muscle of Japanese baking scallop and changes during refrigeration storage. *J. Food Sci* 63, 772- 776.
- Yoneda Ch, Kasamatsu Ch, Hatae K, Watabe Sh. 2002. Changes in taste and textural properties of the foot of the Japanese cockle (*Fluvia mutica*) by cooking and during storage. *Fisheries Sci.* 68, 1138-1144.
- Yoon WB, Kim B, Park JW. 1999. Rheological characteristics of fibrinogen-thrombin solution and its effects on Surimi gels. *J Food Sci* 64(2):291-294.
- Zar JH. 1996. *Biostatistical analysis.* 3rd ed. Prentice-Hall, New Jersey, USA, 662 pp.