

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**E. A. P. DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Variaciones en la composición proteica del músculo de  
Colossoma macropomun (Cuvier, 1818) (Characiformes:  
Characidae), provenientes de criaderos durante su  
almacenamiento en frío**

**TESIS**

para obtener el título profesional de Biólogo con mención en Hidrobiología y  
Pesquería

**AUTOR**

**Fitzgerald Armando Solari Godiño**

**Lima – Perú**

**2006**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto Tecnológico Pesquero del Perú por todo el apoyo brindado para el desarrollo de la tesis, de manera especial a la Dirección de Investigaciones y Desarrollo del ITP, a cargo de la Ing. Msc. María Estela Ayala Galdós, al Ing. Alberto Salas Maldonado Jefe del Laboratorio de Físico-química del ITP, a ambos por la gestión y confianza depositada en el transcurso del estudio, así como las facilidades brindadas para el desarrollo del presente estudio.

Al Biólogo Msc. Miguel Albretch Ruiz por su dedicación a mi entrenamiento en el laboratorio, a su gran amistad y toda su enseñanza.... Gracias Micky.

A mi amigo Biólogo Gustavo Sandoval Peña por su valiosa colaboración y tiempo.

Al Biólogo Hernán Ortega Torres por su confianza y la atención prestada.

Al Ing. Santos Maza por su gran apoyo.

A mi tío José Luis y a todos aquellos que colaboraron con mi trabajo.

Muchas gracias.

## ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
RESUMEN	2
SUMMARY	4
INTRODUCCIÓN	5
GENERALIDADES	7
ANTECEDENTES	18
MATERIAL Y MÉTODOS	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
ANEXOS	58

## RESUMEN

Los cambios *post mortem* que ocurren en el músculo del pescado son complejos y en corto tiempo. Durante el almacenamiento, las proteínas musculares pierden sus propiedades funcionales de acuerdo a su naturaleza y características bioquímicas intrínsecas, razón por la cual el presente estudio tiene como objetivos determinar el porcentaje de proteína de las fracciones: miofibrilar, sarcoplasmática, álcali-soluble y estroma, del músculo de "gamitana" *Colossoma macropomun* durante el almacenamiento en frío.

Para ello, fueron utilizados peces de cultivo, de la especie "gamitana" *Colossoma macropomun*, del IVITA (Instituto de Investigaciones Tropicales y de Altura) del departamento de Ucayali, los cuales fueron colocados en un "cooler" con hielo y transportados a Lima. Se procedió a separar a los especímenes de acuerdo al tipo de almacenamiento (ambiente, hielo y congelación) para su análisis.

La composición química proximal de la "gamitana" fue 16,1% de proteína, 0,5% de grasa, 82% de humedad, 1,4% de cenizas (recomendado por la AOAC, 1990).

Luego, del músculo blanco se obtuvieron las fracciones correspondientes a proteínas miofibrilares, sarcoplasmáticas, álcali-soluble y proteínas del estroma en diferentes condiciones de almacenamiento.

La obtención inicial de proteínas de músculo blanco fue aproximadamente 55% para proteínas miofibrilares, disminuyendo su concentración en el tiempo, y a los 21 días del almacenamiento en hielo se obtuvieron valores de 48,9% para dicha fracción.

Las proteínas sarcoplasmáticas no tuvieron una variación considerable, teniendo inicialmente valores de 36,7% y manteniéndose en el tiempo, y a los 21 días del almacenamiento en hielo se registraron valores de 38,3% para proteínas sarcoplasmáticas.

Las proteínas álcali-solubles aumentaron su valor en el tiempo desde 4,9% hasta 13,4% en el décimo cuarto día, mientras que la fracción del estroma no presentó cambios durante el almacenamiento, manteniéndose entre valores de 1,5%-2,7%.

El análisis en PAGE-SDS reveló que la fracción más afectada debido al almacenamiento en hielo fue la fracción miofibrilar (principalmente miosina de cadena pesada) con un peso molecular promedio inicial de 203 kDa y que la fracción álcali-soluble presentó bandas con un peso molecular promedio de 33,4 kDa

en el almacenamiento en hielo, siendo considerada la fracción miofibrilar susceptible al deterioro durante el almacenamiento.

Palabras claves: Proteínas del músculo, desnaturalización proteica, *Colossoma macropomun*.

## SUMMARY

The changes post mortem that happen in the muscle of the fish are complex and in short time. During the storage, the muscular proteins lose their functional properties according to their nature and intrinsic biochemical characteristics, reason for which the present study must like objectives determine the percentage of protein of the fractions: miofibrillar, sarcoplasmic, alkali-soluble and stroma, of the muscle of "gamitana" *Colossoma macropomun* during the storage in cold.

For this study, were used culture fishes of "gamitana" *Colossoma macropomun*, at the IVITA (Tropical Researches and the Altitude Institute) of Ucayali department, these were introduced in a "cooler" with ice and transported to Lima. It was the procedure separated the specimens agree with the type storage (environment, ice and frozen) for analyse.

The chemical composition proximity of "gamitana" was 16, 1% of protein, 0,5% of grease, 82% of humidity, 1,4% of ashes (recommended by AOAC, 1990).

Soon, from the white muscle the fractions corresponding to proteins myofibrillar, sarcoplasmic, alkali-soluble and proteins of stroma were obtained in different conditions of storage.

The initial obtained of proteins of white muscle was approximately 55% for myofibrillar proteins, decreased in concentration through the time, and 21 days of ice storage was obtained values of 48,9% for such fraction.

The sarcoplasmic proteins did not have a considerable variation, were had in the initial values of 36,7% and keep through the time, and 21 days of ice storage was registered values of 38,3% for sarcoplasmic proteins.

The alkali-soluble proteins increased their value in the time from 4, 9% to 13,4% in the fourteenth day, whereas the fraction of stroma did not present changes during the storage, staying between of 1, 5%-2,7% values.

PAGE-SDS analysis revealed that the affected fraction more due to the ice storage was the fraction to miofibrillar (mainly myosin of heavy chain) with a molecular weight initial average of 203 kDa and that the alkali-soluble fraction presented bands with a molecular weight 33, 4 average of kDa in the ice storage, being considered myofibrillar fraction susceptible to the deterioration during the storage.

Key words: Proteins of muscle, protein denaturation, *Colossoma macropomun*.

## INTRODUCCIÓN

La “gamitana” *Colossoma macropomun* (Cuvier, 1918) es una especie íctica amazónica nativa, con hábitos migratorios, entre ríos y lagunas, en diferentes épocas del año, que está relacionado con la disponibilidad de alimento (macrofitas y zooplancton) y periodos reproductivos, los cuales juegan un rol importante en el desarrollo biológico de la especie, estos hábitos migratorios hacen a esta especie susceptible a la pesca (Goulding, 1997). En efecto, se trata de una de las especies comerciales más importantes en nuestra selva amazónica debido a su gran aceptación en el consumo y destaca como especie de cultivo por su rápido crecimiento, gran rusticidad y fácil adaptación en ambientes controlados. Finalmente, aún no se tienen datos bibliográficos consistentes, respecto a su composición y comportamiento bioquímico de su carne que ayuden a esclarecer algunos aspectos básicos sobre el aprovechamiento adecuado del recurso.

Por ello, se realizó este trabajo de investigación que permite conocer los porcentajes de proteínas de las fracciones obtenidas tales como: miofibrilares, sarcoplasmáticas y del estroma, así como los cambios que ocurren en diferentes condiciones de almacenamiento en especímenes provenientes de ambientes controlados.

La escasa información sobre trabajos relacionados a la composición bioquímica del músculo, así como el tiempo de vida útil de la carne de las especies comerciales de nuestra selva amazónica, hace importante este estudio, el cual está relacionado con la obtención de los porcentajes de las fracciones proteicas del músculo y sus variaciones durante el almacenamiento, que permitirá de manera preliminar sentar las bases para el adecuado manejo del recurso, y por ello avizorar expectativas económicas que le proporcionen el valor agregado.

Por consiguiente el presente trabajo tuvo los siguientes objetivos:

- Obtener del músculo de “gamitana” *Colossoma macropomun*, las fracciones proteicas: miofibrilar, sarcoplásmica, álcali soluble y del estroma durante su almacenamiento en hielo.
- Determinar el porcentaje de proteína en las fracciones: miofibrilar, sarcoplásmica, álcali soluble y del estroma durante el almacenamiento en hielo, en congelación y al ambiente, mediante el método de Kjeldahl (AOAC, 1990).
- Comparar los cambios en las fracciones proteicas: fracción miofibrilar, fracción sarcoplásmica, fracción álcali-soluble y fracción del estroma durante el almacenamiento mediante electroforesis SDS-PAGE (Laemmli, 1970).



## GENERALIDADES

### 1. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Machado-Allison (1983), presenta las siguientes características para la diagnosis de *Colossoma macropomun*:

- Presenta aleta adiposa con radios, en edad juvenil y adulta.
- Presenta branquiespinas largas y muy numerosas (más de 100), pudiendo filtrar zooplancton.
- Posee dientes maxilares (1 ó 2).
- Posee huesos operculares amplios y expandidos en toda la mejilla.
- Presentan sierras ventrales, caracter compartido con *Piaractus*, *Myleus*, *Serrasalmus* sp. y *Mylossoma* sp., conformando la sub-familia Serrasalminae.

Vinatea y Vega (1995), describen morfológicamente a la “gamitana” como un pez de cabeza grande, boca terminal, dientes muy fuertes, molariformes, multicúspides aptos para triturar partes duras de frutas y semillas.

La forma del pez adulto es ovalada, la línea lateral completa y con numerosas escamas. La aleta adiposa posee pequeños radios espinosos y salientes.

La “gamitana” es el carácido más grande de la amazonía y alcanza aproximadamente 90 cm de longitud estándar y 30 Kg de peso.

Presenta color gris, bronce, o negro en la región dorsal, tornándose progresivamente blanco hacia la región ventral; o puede variar del amarillo verdoso en el dorso a negro en el vientre. La intensidad de la coloración varía con el tipo y la transparencia o turbidez del agua, además los adultos poseen una mancha negra ventral en el área de la aleta caudal.

Presentan dimorfismo sexual, en la época de madurez, las hembras tienen el vientre voluminoso y la papila genital dilatada, el macho deja fluir el esperma a la simple presión del abdomen.

Esta especie permanece la mayor parte del tiempo en lagunas y ciénagas, pero los adultos migran de las lagunas al río, donde las hembras desovan en la corriente los que inmediatamente son fertilizados por los machos que nadan junto a éstas (Vinatea y Vega, 1995).

La “gamitana” es una especie conformante en su medio natural de asociaciones uniformes o mixtas con el fin de protegerse de la depredación y realizar movimientos migratorios en los grandes ríos en diferentes temporadas del año: una en busca de su alimentación hacia la floresta y la otra para su reproducción a áreas de desove influenciadas por el aumento del caudal de los ríos durante la estación lluviosa (Goulding and Carvalho, 1982).

Esta especie es de desove total con la maduración de las gónadas en una sola época del año, entre diciembre y enero (Goulding and Carvalho, 1982).

## **2. HÁBITOS ALIMENTICIOS**

Las larvas se alimentan de zooplancton, principalmente protozoarios y rotíferos. La “gamitana” muestra variación periódica en la alimentación; los frutos y semillas son ávidamente consumidos por los adultos cuando el agua inunda la floresta, en época de creciente de los ríos (Vinatea y Vega, 1995).

Honda (1974) y Goulding (1982), concuerdan en calificar a la “gamitana” como una especie omnívora tendiendo a frugívora ya que consumen preferentemente semillas sin partes carnosas y también frutas.

Esta especie acumula grasa en la época más lluviosa (Octubre-Marzo), cuando hay alimento disponible y la gastan en la época menos lluviosa (Abril-

Septiembre). A medida que disminuye el volumen de las aguas, se tornan escasas las semillas y los frutos. En el periodo de seca, los crustáceos planctónicos constituyen el tipo de alimento más frecuente para la “gamitana”.

Por la amplia variedad de alimentos que ingiere se le caracteriza como pez omnívoro (Vinatea y Vega, 1995).

Welcome (1979) citado por Martínez (1984) afirma que los hábitos alimenticios de la “gamitana” son diurnos preferentemente además son omnívoros por alimentarse de zooplancton, protozoarios y rotíferos en su primera fase. Al ser adultos se alimentan de semillas, frutas y peces en pequeña proporción.

### **3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

Según Nelson (1994), clasifica a la “gamitana” en:

SUPERCLASE GNATHOSTOMATA

CLASE ACTINOPTERIGII

DIVISIÓN TELEOSTEI

SUPERORDEN OSTARIOPHYSI

ORDEN CHARACIFORMES

FAMILIA CHARACIDAE

GÉNERO *Colossoma*

ESPECIE *Colossoma macropomun* (Cuvier, 1818)

#### 4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Vinatea y Vega (1995), reportan para esta especie los siguientes nombres más comunes, según ubicación geográfica:

“Gamitana”	(Perú)
“Tambaquí”	(Brasil)
“Cachama”	(Venezuela)
“Cachama negra”	(Colombia)

El género *Colossoma* en el que anteriormente se incluían a *C. brachypomus* “tambaquí” y *C. mitrei* “paco”, agrupados actualmente dentro del género *Piaractus*, se distribuyen en las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco; mientras que *Piaractus mesopotamicus* es propio de los ríos Paraná, Paraguay y Uruguay (Vinatea y Vega, 1995).

*C. macropomun* “gamitana”, es una especie que habita únicamente en las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco (Martínez, 1984; Saint-Paul, 1985).

#### 5. REPRODUCCIÓN Y CRECIMIENTO

El conocimiento acerca de la reproducción natural de “gamitana” es muy esporádico y escaso.

Los lugares donde la “gamitana” desova generalmente son la ribera de los ríos en agua corriente, especialmente cerca de los canales naturales (“igarapé”) a través de los cuales las áreas inundados y los lagos marginales están en conexión con el río. Sus huevos son flotantes, que no se adhieren y la selección de lugares de desove es instintiva que procura un lugar para la incubación, sobrevivencia de las larvas, alimentación y un lugar libre de enemigos para la prole.

Según Goulding (1980), la “gamitana” desova en ríos de agua blanca afluentes del Amazonas que transportan muchos nutrientes vegetales, fosfatos y nitratos de los suelos fértiles de las montañas.

El desove es realizado en cardúmenes o en grupos, en la ribera del río. La temperatura del agua en la época de desove esta alrededor de los 27 ° C (Goulding and Carvalho, 1982).

Los reproductores que forman grupos y migran en cardúmenes en los “ríos blancos” están sexualmente maduros y preparados para el desove. Tienen en promedio 5 a 6 Kg de peso, pero en cardúmenes mayores puede haber especímenes de 15 a 25 Kg. La proporción sexual en los cardúmenes en migración de desove es de 2 machos por 1 hembra, lo cual explica el hecho que los machos maduran sexualmente un año antes que las hembras (Goulding and Carvalho, 1982).

Cuando los ejemplares sexualmente maduros de “gamitana” están migrando río arriba, difícilmente encuentran alimentos en el río. Prácticamente, tienen hambre durante el tiempo de la migración en el río, su vesícula biliar es muy grande y se llena de bilis, evidenciando del ayuno (Goulding and Carvalho, 1982).

Cuando la migración comienza entre los meses de Junio y Julio hasta el mes de Octubre, el ovario de las hembras no ha desarrollado por completo, sin embargo los inductores (compuestos precursores) necesarios para la formación del vitelo del huevo ya se encuentran almacenados en hígado y en otros órganos (Goulding and Carvalho, 1982).

El desarrollo del ovario ocurre de manera rápida, casi un mes antes del desove. Sin embargo, el abdomen de las hembras crece en tamaño y se vuelve suave sólo algunas horas antes del desove, debido a que las hace vulnerables ante los depredadores, estos cambios se realizan entre los meses de Noviembre y Febrero, época en la cual las precipitaciones pluviales aumentan el volumen de los cauces de los ríos que favorecen las condiciones del desove.

Los óvulos fertilizados y larvas flotan río abajo y, debido a que el río está en época de inundación, son transportados por la corriente a través de los canales naturales hacia áreas de inundación del río. El desove en “aguas blancas” brinda una mejor oportunidad de sobrevivencia a los huevos flotantes y larvas en desarrollo (Goulding and Carvalho, 1982). Para el tiempo en que las larvas en desarrollo empiezan su alimentación externa, es que son llevados a esta agua de zonas de inundaciones que son ricas en alimento natural (fitoplancton y zooplancton).

Los juveniles en desarrollo permanecen en las áreas de inundación hasta la época de maduración sexual, siendo bien abastecidos con alimento natural durante la época lluviosa y sobreviviendo en la época seca en los lagos sin alimento de las zonas de inundación. Después del desove, los peces adultos buscan terrenos inundados del bosque de cualquier tipo de río, donde encuentren alimentos naturales en abundancia. Ellos permanecen allí usando todas las oportunidades que puedan para alimentarse bien, de 4 a 7 meses (Goulding and Carvalho, 1982).

## **6. IMPORTANCIA ECONÓMICA**

Goulding (1980) menciona que el significado económico en el río Amazonas, Orinoco y sus tributarios es muy considerable y que los puertos más importantes de comercialización de la “gamitana” son: Iquitos (Perú), Leticia (Colombia), Manaus (Brasil), Tefé (Brasil), Porto Velho (Brasil), Santarém (Brasil) y Belén (Brasil), lo que sustenta que muchos miles de pescadores brinden esta proteína animal a los habitantes de la amazonía. Su carne blanca y de apariencia fina resulta ser la mayor atracción para el consumidor. En décadas recientes el número de “gamitanas” disminuyó dramáticamente debido a la intensa pesca comercial de ejemplares adultos aptos para la

reproducción, en la parte brasileña del río Amazonas (Goulding and Carvalho, 1982).

En Brasil, Manaus es el puerto más importante del comercio de especies amazónicas y la “gamitana” es una de las especies más comercializadas. En Octubre de 1995 la “gamitana” tenía un costo promedio de 5 dólares americanos por kilogramo (Goulding, 1997).

Por sus características, la especie ha demostrado ser excelente para la piscicultura. La demanda hoy en día es mayor y los piscicultores aprovechan las siguientes ventajas de esta especie:

- Son omnívoros (amplio espectro alimenticio).
- Comen todo tipo de alimento artificial.
- Crecen rápido si obtienen suficiente alimento natural y/o artificial.
- No necesitan técnicas y condiciones especiales de cultivo.
- Son idóneos para policultivo en estanque.

## **7. CARACTERÍSTICAS DEL MÚSCULO DEL PESCADO**

### **LIPIDOS**

La composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año.

Las variaciones en la composición química del pez están estrechamente relacionadas con la alimentación, nado migratorio y cambios sexuales relacionados con el desove. El pez tiene períodos de inanición por razones naturales o fisiológicas (como desove o migración) o bien por factores externos como la escasez de alimento. Usualmente el desove,

independientemente de que ocurra luego de largas migraciones o no, requiere mayores niveles de energía. Los peces que tienen energía almacenada en la forma de lípidos recurrirán a ella.

Las especies que llevan a cabo largas migraciones antes de alcanzar las zonas específicas de desove o ríos, degradarán -además de los lípidos- las proteínas almacenadas para obtener energía, agotando las reservas tanto de lípidos como de proteínas, originando una reducción de la condición biológica del pez. En adición, muchas especies generalmente no ingieren mucho alimento durante la migración para el desove y por lo tanto no tienen la capacidad de obtener energía a través de los alimentos.

Durante los períodos de intensa alimentación, el contenido de proteínas del músculo aumenta hasta una extensión que depende de la cantidad de proteína agotada; por ejemplo con relación a la migración por el desove. Posteriormente, el contenido de lípidos muestra un marcado y rápido aumento. Después del desove el pez recobra su comportamiento de alimentación y generalmente migra hasta encontrar fuentes adecuadas de alimento. Las especies que se alimentan de plancton, como el “arenque” (*Cuplea harengus*), experimentan una variación estacional natural dado que la producción de plancton depende de la estación (Ando *et al.*, 1985).

La fracción lipídica es el componente que muestra la mayor variación. A menudo, dentro de ciertas especies la variación presenta una curva estacional característica con un mínimo cuando se acerca la época de desove (Borresen, 1992).

## **CARBOHIDRATOS**

El contenido de carbohidratos en el músculo de pescado es muy bajo, generalmente inferior al 0,5 por ciento. Esto es típico del músculo estriado, en el cual los carbohidratos se encuentran en forma de glucógeno y como parte de los constituyentes químicos de los nucleótidos. Estos últimos son



la fuente de ribosa liberada como una consecuencia de los cambios autolíticos *post mortem*.

## **PROTEÍNAS**

### **PROTEÍNAS MUSCULARES COMO RECURSO**

Desde hace siglos el tejido muscular de una variedad de animales ha sido uno de los más importantes recursos proteicos en la alimentación humana.

El valor nutricional de la proteína es evaluado químicamente por una comparación de la composición de sus aminoácidos con los de la "proteína ideal", compuesta por los aminoácidos esenciales requeridos por el hombre. Los aminoácidos esenciales abundantes en el músculo del pescado son escasos en otros tejidos musculares razón por la cual su valor nutritivo es elevado. Por ejemplo, el triptófano es un aminoácido primario de las proteínas de moluscos y peces y su presencia en el cuerpo humano no es abundante y su función está relacionada con el desarrollo del sistema nervioso donde actúa como precursor de la síntesis de neurotransmisores (Watabe, 1992).

### **CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS MUSCULARES**

Las proteínas son el componente más importante del pescado y representan 15-25% del peso total del pescado. Las proteínas musculares en base a su solubilidad se clasifican proteínas solubles en agua, proteínas solubles en sal y proteínas insolubles (Watabe, 1992).

**Las proteínas solubles en agua**, son aquellas que pueden ser extraídas por agua o soluciones salinas diluídas y se encuentran mayormente en el sarcoplasma de la célula muscular. **Las**

**proteínas solubles en sal**, pueden ser solubilizadas por soluciones de relativamente alta fuerza iónica y están presentes en su mayoría en las miofibrillas y **las proteínas insolubles**, son componentes mayormente del tejido conectivo, no son solubles en soluciones de alta fuerza iónica.

- **Proteínas sarcoplasmáticas** (mioalbúmina, globulina y enzimas), Esta fracción constituye el 20-50% del total de proteínas del músculo blanco, y cambia su extractabilidad dependiendo de la especie de pescado. Peces pelágicos contienen alta cantidad de proteínas sarcoplasmáticas y poca proteína miofibrilar comparada con otros teleósteos (Nakagawa, *et al.*, 1988). Las proteínas sarcoplasmáticas solubles en agua son usualmente globulares y no sólo contienen muchas clases de enzimas sino también pigmentos proteicos del músculo respiratorio tales como mioglobina y citocromos. Las parvalbúminas también se encuentran en esta fracción (Watabe, 1992).
- **Proteínas Miofibrilares** (actina, miosina, tropomiosina y actomiosina). Constituyen el 50-70% del contenido total de proteínas musculares por lo cual sus propiedades afectan enormemente a la calidad del músculo. La miofibrilla tiene actividad ATPasa, esta actividad en presencia de  $Mg^{2+}$  genera energía mecánica para la contracción muscular (Watabe, 1992). En algunos moluscos existe una gran cantidad de una proteína fibrosa llamada paramiosina (Watabe, 1992). Otra proteína de gran interés es la miosina que es responsable de la actividad muscular. La miosina de vertebrados presenta similar estructura, sin embargo en peces, algunas propiedades funcionales varían entre especies y éstas por estaciones, aunque esto parece incierto (Ramírez, *et al.*, 2000).

- **Proteínas del Estroma** (colágeno). Constituyen aproximadamente el 3 % del total de las proteínas en teleósteos y cerca del 10 % en elasmobranquios. Estas proteínas son insolubles en agua, soluciones salinas. Son las proteínas responsables de la firmeza de la carne (tejido conectivo). Las proteínas de estroma están formadas principalmente por el colágeno y en menor proporción por la elastina (4:1) (Watabe, 1992).

## **EL MÚSCULO OSCURO EN LOS PECES**

El color rojo y oscuro en el músculo de pescado es debido, al alto contenido de compuestos hemoproteicos (estructura hemo) (Lehninger , 1982).

Estas hemoproteínas poseen alrededor del 80% de mioglobina (Mb) en el músculo oscuro. En el músculo ordinario de los pequeños pelágicos el contenido de mioglobina es muy bajo y en pelágicos de gran tamaño como los túnidos se encuentra un máximo de mioglobina de 590mg/100g, lo cual es comparado con valores para la carne de res 300-500mg/100g). El contenido de mioglobina en el músculo oscuro de los túnidos es alrededor de 3500mg/100g (Watabe, 1992).

Por otro lado se reportó un mayor contenido contenido de lípidos y vitaminas A y B en el músculo oscuro, además de ácidos grasos omega 3, 6 y 9 que presentan mayores ventajas nutricionales y que se desechan al descartar el músculo oscuro por razones de inestabilidad durante el almacenamiento o procesamiento (Watabe, 1992).

## ANTECEDENTES

El estudio de las proteínas en músculo del pescado es copioso para peces de valor comercial, y estos están relacionados al conocimiento bioquímico de las proteínas funcionales y estructurales de la carne del pescado.

Los cambios bioquímicos en el tejido del pescado luego de la captura dependen de factores como la concentración de sustratos y metabolitos presentes en la célula, la actividad endógena de enzimas, la contaminación microbiana y las condiciones luego de su captura (Sikorski *et al.*, 1990).

Se sabe también que los cambios en el músculo durante el almacenamiento son debidos a la denaturación y descomposición de las proteínas componentes. Tal denaturación está influenciada por muchos factores tales como la manipulación, el tratamiento antes del congelamiento, el estado del *rigor mortis* en el tiempo de congelamiento (Aleman, 1989).

Hashimoto *et al.* (1979) realizaron estudios en el músculo blanco y oscuro de especies pelágicas tales como *Sardinops melanosticta* “sardina” y *Pneumatophorus japonicus* “caballa” donde analizaron los contenidos de las fracciones proteicas (miofibrilar, sarcoplasmática, álcali-soluble y del estroma) de estos dos tipos de músculo. Además mencionan que la fracción miofibrilar del músculo oscuro es poco estable y susceptible a la denaturación en el almacenamiento en congelación.

Shaban *et al.*, (1985) reportaron que durante 2 meses de almacenamiento a -20°C, el “surimi” (pasta de pescado) de “Alaska pollack” *Theragra chalcogramma*, tuvo variaciones en la cantidad de proteína miofibrilar, obteniéndose inicialmente 53% y disminuyendo a 49,8% a los 2 meses de su almacenamiento y la fracción álcali soluble se incrementa de 2,3% a 7,1% a los 2 meses de su almacenamiento en congelación.

Seki and Tsuchiga (1991), reportaron cambios en la composición proteica del músculo blanco de “carpa” durante 24 horas de almacenamiento y encontraron que

a 0 °C el porcentaje de proteínas miofibrilares era del 50% y a temperatura ambiental el porcentaje de las mismas era de 48%.

Mazorra *et al.*, (2000) mencionan que en “skipjack” (*Euthynnus lineatus*) el comportamiento bioquímico postmortem del músculo y los procesos de deterioro endógeno y microbiano pueden ser controlados a 0°C. Esto debido al tratamiento adecuado en la manipulación luego de su captura.

Por otro lado, Nakagawa *et al.* (1987) realizaron estudios en “caballa” *Scomber japonicus*, analizando la fracción sarcoplásmica del músculo blanco (como se sabe en esta fracción se encuentran las enzimas que participan en la vía glicolítica) donde se reportaron tres componentes muy importantes: creatin quinasa (87 kDa), aldolasa (160 kDa) y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (138 kDa).

Los estudios en el músculo de peces tropicales tales como la “carpa” *Cyprinus carpio*, revelan que la estructura de la fracción miofibrilar es desintegrada por reacciones sucesivas por la solubilización y degradación de la alfa actinina y conectina, en tres días de almacenamiento a 0°C. (Seki and Tsuchiga., 1991).

Por otro lado los estudios relacionados a la composición de aminoácidos de la miosina de peces de aguas tropicales tales como: *Cyprinus carpio* “carpa” y *Oreochromis niloticus* “tilapia” mostraron mayor semejanza que otros peces estudiados, lo que podría significar que los peces de aguas tropicales poseen una estructura proteica parecida (Kumagai *et al.*, 1998).

Curran *et al.* (1986) reportaron fenómenos relacionados a un “endurecimiento” previo al *rigor mortis* reacción denominada “cold shock” en peces de aguas tropicales, que consiste en una rigidez inmediata del músculo al colocarlo en hielo luego de la muerte del pez, este fenómeno ocurre cuando el ATP en el músculo tiene una concentración del 40% de su contenido inicial (Nambudiri y Gopakumar, 1988).

Heidmann (2002) reporta en su estudio que no hubo variaciones en el contenido de Nitrógeno No Proteico (NNP), durante el almacenamiento en 20 días, del músculo de “tilapia gris” *Oreochromis niloticus* a  $1 \pm 1$  °C.

Freitas y Gurgel (1984) reportaron que el grado de frescura de “tilapia gris” *Oreochromis niloticus*, almacenada en hielo, sin eviscerar correspondía a 12 días como límite de vida útil y para pescados eviscerados correspondía a 21 días.

Oetterer (1991), relató que debido a la presencia de proteínas, asociadas al alto contenido de humedad en el músculo del pescado es propicio el desarrollo de los microorganismos y que también la presencia del nitrógeno no proteico (NNP) favorecen el deterioro del músculo.

Por otro lado, Almeida-Val *et al.* (1990) citado por Val and Almeida-Val (1999) demostraron que *C. macropomun* “gamitana”, capturada en diferentes épocas del año, posee diferente distribución de isoenzimas, relacionadas con la respiración. La obtención del oxígeno disponible en el agua en muchos peces amazónicos es debido a adaptaciones que los organismos han sufrido a lo largo de los siglos debido principalmente al poco oxígeno disuelto en el agua producto de las precipitaciones con abundantes partículas y materia orgánica que muchas veces (principalmente en la vaciante) imposibilita la presencia del oxígeno.

La información relacionada a variaciones estacionales de los nutrientes y energía en el alimento natural de *C. macropomun* “gamitana” ha sido reportada por Silva *et al.*, (2000) quienes evaluaron la importancia de la alimentación en la dieta natural basada en frutos y semillas en la época de creciente del río. Sin embargo, el nivel de proteínas contenido en este tipo de alimento alcanzó valores de 11%-15%, y en la alimentación basada en zooplancton, en la época de vaciante, alcanzó valores de proteína de 45%-57%.

También se sabe que la variación del contenido de grasa en el músculo de *C. macropomun* “gamitana” es debido a la época y disponibilidad del alimento, por ejemplo: en gamitana silvestre el nivel de grasa es menor de 1,5% (Junk, 1985) y en peces de cultivo es de 2% a 6% (Freitas y Gurgel, 1984).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron peces de la especie *C. macropomun* "gamitana" provenientes del criadero del Centro Experimental del IVITA (Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en la Provincia de Coronel Portillo, del departamento de Ucayali.

Los peces capturados de los estanques tuvieron un peso aproximado de 400 g y 25-30 cm de longitud total (talla comercial), fueron rápidamente en un "cooler" con hielo para sacrificarlos mediante "shock" térmico y luego trasladados al laboratorio de Físico-Química del Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (ITP), Lima.

A las 13 horas de su captura la mayoría de los ejemplares ya pasaban la etapa del *rigor mortis*.

Los análisis para los distintos tipos de almacenamiento (hielo, congelación, y ambiente) fueron realizados tal como se muestra en la tabla 1 y se utilizaron 2 individuos, colocados en bolsas plásticas de polietileno, por cada día de análisis y tipo de almacenamiento.

### 2. EXTRACCIÓN DEL MÚSCULO

Se pesó 10g de músculo de la zona dorsal del pescado en una balanza analítica Mettler PM100, luego fue homogeneizado con 90 mL de Buffer Fosfato 0.05M pH 7.5 durante 2 minutos a 5000rpm. Todo el proceso de separación de las proteínas musculares se realizó en frío ( $\pm 2^{\circ}$  C) para evitar el calentamiento y deterioro de las mismas.

### 3. SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS

Para la separación de proteínas se utilizó la metodología utilizada por Hashimoto *et al.*, (1979), que consistió en los siguientes pasos (Ver Diagrama de flujo 1):

**Obtención de Proteínas Sarcoplasmáticas**, el homogeneizado anterior se trasvasó a tubos plásticos de centrifuga EPPENDORF con capacidad para 50 mL, luego fueron contrapesados y llevados a una centrífuga refrigerada EPPENDORF 5804/R durante 15 minutos a 10 000 rpm y 0° C. El sobrenadante obtenido (*primer sobrenadante*). fue colocado en un matraz de vidrio PIREX de 250 mL y luego colocado en refrigeración. El precipitado fue nuevamente homogeneizado con 90 mL de Buffer Fosfato 0.05M pH 7.5 y centrifugado durante 15 minutos a 10 000 rpm y 0° C., este sobrenadante (*segundo sobrenadante*) fue colocado con el inicial. Estos corresponden a la proteína sarcoplasmática.

**Obtención de Proteínas Miofibrilares**, el precipitado que se obtuvo fue homogeneizado con 90 mL de Buffer Fosfato 0.05M y KCl 0.45M pH 7.5 y centrifugado durante 15 minutos a 10 000 rpm a 0° C, luego, el sobrenadante obtenido fue colocado en un matraz de vidrio PIREX de 250 mL y refrigerado, posteriormente el precipitado fue centrifugado nuevamente durante 15 minutos a 10 000 rpm a 0° C, este sobrenadante fue mezclado con el obtenido anteriormente.

**Obtención de Proteínas Álcali-solubles y del Estroma**, El precipitado obtenido de la etapa anterior fue colocado en un beaker PIREX de 150 mL y se agregó 100 mL de NaOH 0.1N, se dejó durante toda la noche bajo agitación, luego fue centrifugado a 5000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante obtenido correspondió a la fracción álcali soluble y el precipitado a la fracción del estroma.

**Obtención de Nitrógeno no Proteico (NNP)**, Se tomó 95mL de solución obtenida para proteínas sarcoplasmáticas y se le agregó 5 mL de TCA 100%,



esta solución se filtró con papel WHATMAN #4, luego el líquido obtenido del filtrado correspondió a nitrógeno no proteico (NNP).

#### 4. ANÁLISIS QUÍMICOS

##### DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

El contenido de humedad se obtiene por la pérdida de peso de una muestra, al evaporarse el agua contenida, mediante convección natural del aire caliente ( $101 \pm 2^\circ \text{C}$ ), (AOAC, 1990).

Pesar en la balanza analítica un pesa filtro limpio y seco (se recomienda dejarlo en la estufa a  $101 \pm 2^\circ \text{C}$  por dos horas y enfriado dentro del desecador por 30 minutos), luego colocar en el pesa filtro 3 a 5 gramos de muestra esparcida de manera uniforme y se pesa nuevamente.

Colocar el pesa filtro que contiene a la muestra dentro de la estufa a temperaturas entre  $99$  a  $101^\circ \text{C}$  durante 12 a 14 horas, luego enfriar 30 minutos en un desecador y pesar (muestra seca).

Cálculos:

$$H \% = (a - b) / (a - c) \times 100$$

a = peso del pesa filtro vacío + peso de la muestra problema.

b = peso del pesa filtro vacío + peso de la muestra seca.

c = peso del pesa filtro vacío

## DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

El contenido de proteínas se realiza mediante el método de Semi-micro Kjeldahl que consiste en la determinación de nitrógeno proveniente de las uniones de las cadenas de polipeptídicas, el cual es fácilmente valorado (AOAC, 1990).

La determinación de proteínas por este método consta de tres etapas:

### a. *Digestión.*

Los compuestos nitrogenados tales como las proteínas son descompuestos por calentamiento con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado, ocurriendo al mismo tiempo reacciones de óxido-reducción y el nitrógeno proveniente de las proteínas es retenido como sulfato de amonio  $SO_4(NH_4)_2$ .

Para ello, se coloca en un balón Kjeldahl, de capacidad de 100ml, una cantidad de muestra entre 1 a 3g, luego se le añade 2 a 3 g de sulfato de cobre (catalizador), también se debe preparar un balón Kjeldahl sólo con sulfato de cobre (blanco).

Agregar 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, agitar suavemente y colocar en el digestor eléctrico por un tiempo de 3 horas temperaturas entre 300 a 340° C (punto de ebullición del  $H_2SO_4$ ). En este tiempo la muestra se vuelve de color marrón que indica la acción del ácido sulfúrico concentrado sobre los compuestos no proteicos tales como: carbohidratos, grasas, y fibras presentes en la muestra, luego se torna transparente que indica la presencia de la reacción del ácido sulfúrico con los compuestos nitrogenados presentes en la muestra en forma de sulfato de amonio. Luego se enfría la solución y se transfiere a fioles volumétricas de 100ml donde se enrasan con agua destilada.

b. *Destilación.*

El equipo de destilación debe ser lavado antes de iniciar los análisis, luego de añade 5ml de muestra (que fue enrasada a 100ml) y 3ml de NaOH al 40%, se enjuaga con agua destilada y se hace ingresar vapor de agua por un espacio de 10 minutos.

El sulfato de amonio se descompone por acción de hidróxido de sodio y calor, desprendiendo amoniaco ( $\text{NH}_3^+$ ).

Luego el vapor de agua arrastra el amoniaco que es condensado (mediante un sistema refrigerante) y recibido en 5ml de ácido sulfúrico 0.01N que contiene el indicador.

b. *Titulación.*

La parte del ácido sulfúrico que ha quedado sin reaccionar será titulado con hidróxido de sodio 0.02 N, hasta el viraje del color (de rosa claro a incoloro) y anotar el gasto. Luego el porcentaje de nitrógeno contenido en la muestra será calculado como:

$$\%N = ((a-b)/c) \times 0.02 \times e \times 0.014 \times dx \times 100 \times f$$

- a. Gasto del blanco                      \* Normalidad de la soda
- b. Gasto de la muestra                    \*\* Gramos de nitrógeno por cada ml gasto de NaOH
- c. Peso de la muestra                    \*\*\* Valor porcentual
- d. Volumen de fiola/ Volumen de alícuota.
- e. Factor de corrección de NaOH
- f. Factor 6.25

El porcentaje de la proteína cruda se obtiene multiplicando el %N por el factor 6.25 (resulta de asumir que la mayoría de proteínas contienen un 16% de nitrógeno/100g, de aquí que se multiplica por el factor  $100/16 = 6.25$ ) (AOAC, 1990).

### **DETERMINACIÓN DE GRASA:**

La extracción de la grasa de una determinada muestra se realiza mediante un solvente tal como el éter di etílico y su posterior eliminación del solvente por evaporación (AOAC, 1990).

Se pesa un vaso limpio y seco y se pesa 5g de muestra, luego se agrega 5 a 6g de sulfato de sodio anhidro, se mezcla y se lleva a la estufa durante 2h a 100° C (hasta que la muestra quede seca), luego la muestra es enfriada en un desecador por 30 minutos. La muestra desecada es vaciada a un filtro dedal (capuchón filtro) y es cubierta con una gasa libre de grasa.

Luego el filtro dedal conteniendo la muestra deshidratada es colocado en el extractor del aparato de Soxhlet y se añade 180ml del solvente, luego se conecta al tubo condensador.

El equipo de Soxhlet es colocado sobre un "baño maria" a una temperatura de 70° C durante 15 a 16 horas, luego de este tiempo se extrae el filtro dedal y continúa el equipo operativo a fin de eliminar el éter presente en el balón Soxhlet, posteriormente se extrae el balón Soxhlet y para eliminar el eter restante se lleva a un horno (90 a 100° C) por un tiempo aproximado de una hora (No debe percibirse el olor a eter).

Enfriar en un desecador por 30 minutos y pesar. Luego los cálculos son:

$$\% \text{ Grasa cruda} = (W - W_0) / S \times 100$$

$W_0$  = peso del balón Soxhlet vacío.

$W$  = peso del balón Soxhlet con grasa.

$S$  = Peso de la muestra.

### **DETERMINACIÓN DE CENIZAS**

Este método se realiza mediante la calcinación de la muestra a fin de obtener los minerales que en ella se encuentran. (AOAC, 1990)

Se pesa un crisol limpio 1 a 2g de muestra (peso exacto). Se lleva al mechero para la carbonización de la materia orgánica. Luego se coloca en la mufla a 550° C por 10 horas hasta su calcinación (cenizas blancas) y después se coloca en un desecador para su enfriamiento. Posteriormente se pesa el crisol con cenizas y se obtiene por diferencia de peso el porcentaje de sales minerales (cenizas). El cálculo se realiza de la siguiente manera:

$$\% \text{ Cenizas} = (W - W_0) / S \times 100$$

$W_0$  = peso del crisol vacío.

$W$  = peso del crisol con cenizas.

$S$  = peso de la muestra.

## **DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO NO PROTEICO (NNP)**

El nitrógeno no proteico corresponde al nitrógeno de los extractos que no han precipitado como proteínas. Para su determinación se realiza el método de semi micro Kjeldahl (AOAC, 1990).

Para ello, se pesan 10g de muestra y se agregan 90mL de ácido tricloroacético (TCA) al 3% homogeneizándose durante 2 minutos a 5000 rpm para finalmente filtrar y tomar una alícuota de 50ml filtrado y se procede a determinar el nitrógeno presente por el método de Semi-micro Kjeldahl anteriormente descrito.

## **5. ANÁLISIS ELECTROFORÉTICO**

### **SEPARACIÓN ELECTROFORÉTICA DE LAS FRACCIONES PROTEICAS**

#### **PREPARACIÓN DEL GEL**

Luego de la obtención de las fracciones proteicas del músculo, éstas fueron sometidas a un análisis electroforético con la finalidad de identificar las proteínas que se encuentran en cada fracción y así también mostrar a través de la electroforesis las variaciones de éstas fracciones durante el almacenamiento.

Se siguió la metodología utilizada por Laemmli, (1970) preparándose un gel de poliacrilamida con sodio dodecil sulfato con dos zonas (Tabla 2), una zona de concentración de la muestra (5%) y otra de separación de la muestra (10%)

## **PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA ELECTROFORESIS**

Se colocó 1 mL de las diferentes fracciones proteicas obtenidas y 1 mL del tampón de desnaturalización (1:1) en tubos de 10 mL. El tampón contenía urea 8M, 1% de sodio dodecil sulfato (SDS), 1% de mercaptoetanol y 20 mM de buffer fosfato pH 6.8; la mezcla fue calentada a 100 °C por 5 minutos, se dejó enfriar y se agregó 10 µL de una solución de azul de bromofenol (10 mg de bromofenol, 2 mL de glicerol, 0.2 mL de buffer tris 0.5M pH 6.8 y completando a 10 mL con agua destilada).

## **CONDICIONES DE LA CÁMARA DE ELECTROFORESIS.**

Se preparó un tampón de corrida a pH 8.3 conteniendo 3g de trihidroximetilaminometano, 14 g de glicina y 1 g de sodio dodecil sulfato. La corrida se realizó a temperatura ambiental utilizando 20 miliamperios y fue interrumpida cuando el frente de azul de bromofenol desapareció del gel.

## **TINCIÓN DE LOS GELES.**

Los geles fueron colocados por una hora en una solución de tinción (0.25 g de azul de Coomasie en 500 mL de metanol, 100 mL de ácido acético y 400 mL de agua destilada).

## **DECOLORACIÓN DE LOS GELES.**

Después de la tinción los geles fueron colocados en una solución que contenía 250 mL de metanol, 70 mL de ácido acético y 680 mL de agua destilada, a temperatura ambiental durante 2 a 3 horas.

## **DETERMINACIÓN DE PESOS MOLECULARES.**

Se utilizaron estándares de peso molecular precoloreados marca Biorad, conteniendo 8 proteínas: miosina 203 kDa,  $\beta$ -galactosidasa 118 kDa, BSA 82 kDa, ovoalbúmina 50,4 kDa, anhidrasa carbónica 33,4 kDa, inhibidor tripsina de soya 26,7 kDa, lisozima 19,6 kDa y aprotinina 7,4 kDa.

## **6. CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS**

Para la determinación de la concentración de proteínas se utilizó el método de Lowry (1951), se mezcló 20 $\mu$ L de la fracción proteica, 980  $\mu$ L de agua destilada, 1mL de solución alcalina ( $\text{NaCO}_3$  1 M, NaOH 0,25 M) y 0,4 mL de reactivo de Cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  al 0,1%, Tartrato de sodio y potasio al 0,2%) y luego fueron incubados a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Posteriormente se agregaron 0,8 mL de reactivo Folin Ciocalteau (diluído 1:3), se dejó reaccionar por 15 minutos y luego se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm.

La curva estándar está referida a una solución de albúmina sérica bovina (1mg/mL).



## **7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se obtuvieron los valores promedios basándose en el porcentaje de Nitrógeno presente en cada fracción proteica de cada día y de cada tipo de almacenamiento.

Se utilizó el programa estadístico Minitab 12,1 para el análisis de variancia ANOVA en el experimento con un nivel de significancia de 95%, así como también se utilizó la Prueba de Tukey para el análisis de comparación de promedios en cada tipo de almacenamiento y entre los tipos de almacenamiento (Minitab, 1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. COMPOSICION QUÍMICA PROXIMAL

#### HUMEDAD

El valor encontrado para “gamitana” fue de 82% (Tabla 3), lo cual indica que se trata de una especie con un alto contenido de humedad en el músculo.

Sikorski (1990) menciona que el pescado es considerado magro cuando presenta altos valores de humedad (~83%) y graso cuando el valor máximo de humedad es de ~58%. Esta información se puede relacionar con lo reportado por Izquierdo *et al.*, 2000 quienes mencionan que existe una relación inversa entre el contenido de grasa y humedad en el músculo.

Estas informaciones concuerdan con lo reportado en el presente estudio, por lo que la “gamitana” responde a las características de una especie magra.

Estudios del contenido de humedad de filetes de “tilapia” (especie de ambientes tropicales) mencionan que los valores de humedad se encuentran entre 76 y 83,1% (Ferreira, 1987; Lima y Zapata, 1998). Asimismo, Fennema (1985) menciona que el elevado contenido de humedad favorece al crecimiento microbiano, además que las reacciones enzimáticas conllevan al rápido deterioro del músculo si no es almacenado adecuadamente.

## **GRASA**

Con relación al valor de la grasa, este fue de 0.5% (tabla 3) siendo considerado bajo. Stansby (1962) describe los siguientes intervalos del contenido de grasa para comparar las especies, estos son: especies grasas con más del 15%, semi-grasas del 5% al 15% y magras con menos del 5% de contenido graso.

Para "gamitana" se conoce que el tenor de grasa es menor de 1,5% (Junk, 1985) y en peces de cultivo no aumenta más de 2% a 6% (Freitas y Gurgel, 1984). Sin embargo, Cortéz (1992) reportó para "gamitana" valores de grasa de 5% en la época de creciente, y considera a la gamitana como especie grasa. De acuerdo a lo reportado por este estudio el bajo valor de contenido graso en el músculo puede estar en relación al tipo de dieta alimenticia suministrada en el cultivo, así como también a la pérdida de la misma en el caso de la falta de alimentos que contengan lípidos.

Por otro lado, en especímenes de ambientes controlados estos niveles de grasa son menos fluctuantes debido a una dieta controlada y muchas veces balanceada de acuerdo a la edad, sexo y crecimiento del pez (Goulding, 1997)

## **CENIZAS**

El valor para la ceniza fue de 1,4% (tabla 3). Otros estudios realizados reportan valores promedios de 1,63% para "gamitana" (Izquierdo *et al.*, 2000) y Cortéz (1992) reportó 3.41% para las cenizas en época de creciente en la "gamitana" de ambientes naturales.

Estos valores de ceniza para "gamitana" reportados por Izquierdo *et al.*, (2000) y el obtenido en el presente estudio, pueden ser debidos a las condiciones del ambiente en el que se encontraban los ejemplares (antes de la extracción), ya que el contenido de cenizas o también

llamado de sales minerales ejercen acción estimulante sobre la actividad de muchas enzimas que intervienen en la regulación de la actividad muscular y nerviosa (Cortéz , 1992).

## **PROTEÍNAS**

El valor de proteína fue de 16.1%, lo cual revela que el músculo de “gamitana” tiene un alto contenido proteico. Stansby (1962) menciona que según estas características se considera a *C. macropomun* como una especie de alto valor proteico y bajo tenor de grasa, siendo los valores de proteína comparables con otras carnes tales como la bovina, ovina y la de cerdo.

Otros estudios en especies tropicales tales como “tilapia” reportan valores promedios de proteína entre 15,6 y 17,9% (Heidmann, 2002), y otros investigadores para la misma especie encontraron valores promedios de 15 a 18% (Soccol, 2002).

**Tabla 3**

### **COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun***

<b>HUMEDAD</b>	<b>82 %</b>
<b>GRASA</b>	<b>0.5 %</b>
<b>CENIZAS</b>	<b>1.4 %</b>
<b>PROTEÍNA</b>	<b>16.1 %</b>

## 2. VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO:

### Durante el almacenamiento en hielo (0 - 4°C)

La composición proteica inicial de las diferentes fracciones del músculo de *C. macropomun* fueron: miofibrilar 56,8%, sarcoplásmica 36,8%, del estroma 1,6% y álcali-soluble 4,9%(tabla 4).

Estos resultados indican que el músculo de *C. macropomun* posee un alto contenido de proteína miofibrilar, sin embargo esta fracción disminuye significativamente ( $p < 0,05$ ) conforme transcurren los días de almacenamiento y en el día 14 alcanzó el valor de 47,9% siendo este valor el más bajo encontrado para esta fracción (Figura 1). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Curran *et al* (1986) quienes mencionan que a 0 °C el nitrógeno proteico soluble (solución de NaCl 5%) del músculo de “tilapia” en el día inicial del almacenamiento posee valores cercanos al 60% y luego de 9 días de almacenamiento el valor disminuye a 40%.

Por otro lado, la fracción sarcoplásmica no presentó cambios significativos ( $p > 0,05$ ), sin embargo en el día 10 de almacenamiento se encontraron valores de 34,2% siendo ligeramente menor en relación a los otros valores reportados para este tipo de almacenamiento (Figura 1). La fracción del estroma no presentó cambios significativos, esto debido a que las proteínas del estroma tales como el colágeno no es afectado por almacenamiento en hielo (Aleman, 1989).

La fracción álcali-soluble aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) y los valores más altos fueron encontrados en el día 10 siendo éstos de 13,4%

y también se observa (figura 1) que dicho incremento se mantiene en el día 14 y 21.

Es necesario resaltar que la disminución de la fracción miofibrilar está relacionada con el aumento de la fracción álcali-soluble, según lo reportado por Yoshinaka *et al* (1985). Shaban *et al* (1985) mencionan que la proteína miofibrilar desnaturizada pierde solubilidad por lo que es necesario la adición de soluciones álcali con mayor fuerza iónica.

Por otro lado, Pacheco-Aguilar *et al.* (2000) reportaron para "sardina" que la presencia de la fracción álcali-soluble es derivada de la agregación de la proteína miofibrilar desnaturizada, alterando las características funcionales del músculo y su utilidad como materia prima para la elaboración de pulpa de pescado y otros productos tales como "surimi".

**Tabla 4**

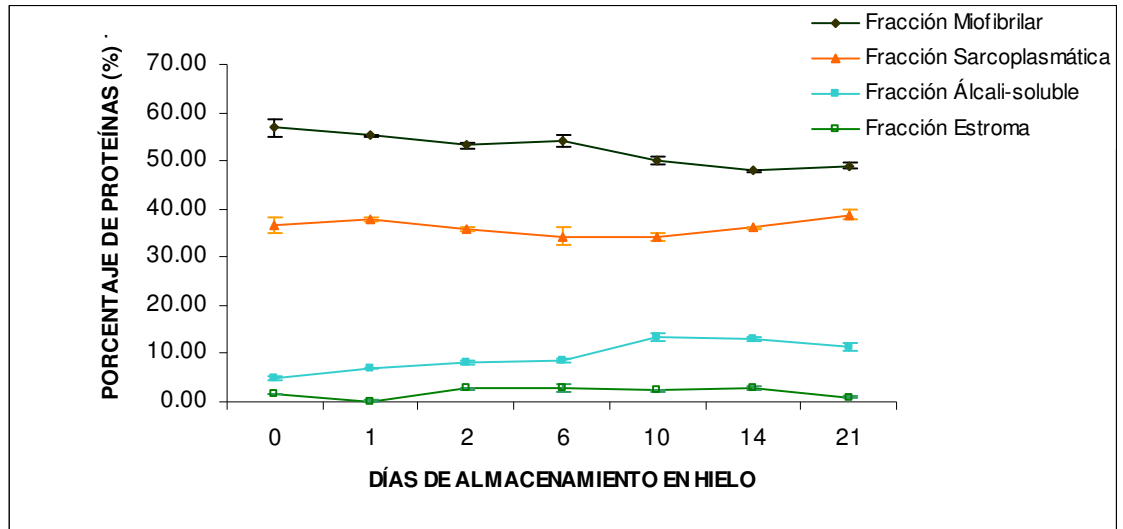
**VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN HIELO**

Días	Fracciones proteicas				
	Miofibrilar	Sarcoplásmica	Estroma	Álcali-soluble	NNP
0	12.1±0.098 (56.8±1.9)**	7.8±0.04 (36.8±1.6)	0.3±0 (1.6±0.1)	1±0 (4.9±0.2)	0.15±0.01
2	11.03±0.04 (55.2±0.23)	7.5±0.09 (37.7±0.37)	0.03±0.04 (0.182±0.2)	1.3±0.02 (6.88±0.09)	0.1±0
6	10.6±0.279 (53.2±0.59)	7.14±0.09 (35.87±0.38)	0.54±0.04 (2.7±0.171)	1.63±0.06 (8.2±0.44)	0.15±0.01
8	11.69±0.27 (54.19±1.2)	7.4±0.42 (34.38±1.9)	0.6±0.2 (2.7±0.7)	1.87±0.8 (8.7±0.4)	0.14±0.01
10	11.52±.17 (50.2±0.78)	7.8±0.13 (34.18±0.7)	0.5±0.08 (2.26±0.3)	3.07±0.2 (13.37±0.7)	0.19±0.03
14	9.87±0.29 (47.9±0.16)	7.44±0.2 (36.17±0.19)	0.59±0.1 (2.88±0.562)	2.68±0.15 (13.0±0.38)	0.28±0
21	9.2±0.25 (48.9±0.58)	7.31±0.08 (38.83±0.97)	0.18±0.01 (1.0±0.06)	2.1±0.18 (11.31±0.76)	0.13±0

\*\* Los números en paréntesis representan el porcentaje de nitrógeno proteico del músculo  
NNP está expresado en mg/g.

Figura 1

**VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN HIELO**



**2.2 Durante el almacenamiento a temperatura ambiente (~23 °C)**

La composición proteica inicial de las diferentes fracciones del músculo de *C. macropomun* fueron: miofibrilar 56,8%, sarcoplasmática 36,8%, estroma 1,6% y álcali-soluble 4,9%. El porcentaje de la fracción miofibrilar a las 24 horas del almacenamiento al ambiente fue 53,7% y luego a las 48 h fue 51,2% lo que indica la disminución de las proteínas miofibrilares en dichas condiciones de almacenamiento (Figura 2). El porcentaje de proteínas de la fracción sarcoplasmática a las 24 horas de almacenamiento fue 43,4% y a las 48 horas este porcentaje se incrementa a 45,2%, lo que podría suponer un cambio en la solubilidad de ciertas proteínas desnaturalizadas, así como el aumento de las fracciones peptídicas que surgen como producto de la actividad bacteriana. Asimismo, el porcentaje de proteínas de la fracción álcali-soluble es variable y bajo que podrían suponer que la actividad bacteriana haya hidrolizado las proteínas pertenecientes a esta fracción (Heidmann, 2002). Por otro lado, la fracción del estroma también fue variable en este tipo de almacenamiento (tabla 5).



Tabla 5

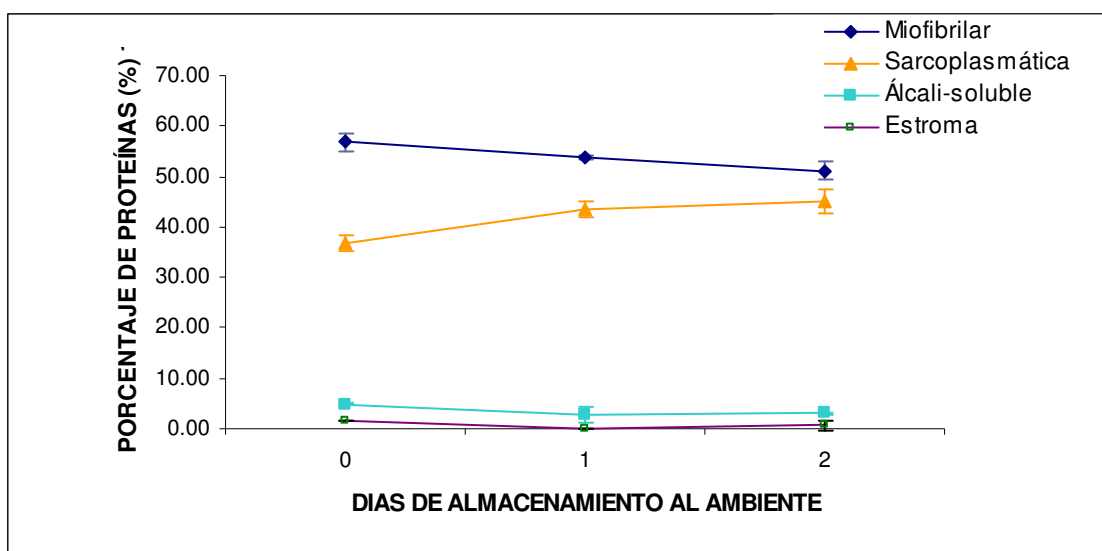
VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* A TEMPERATURA AMBIENTE

Días	Fracciones proteicas				
	Miofibrilar	Sarcoplásmica	Estroma	Álcali-soluble	NNP
0	12.1±0.098 (56.8±1.9)**	7.8±0.04 (36.8±1.6)	0.3±0 (1.6±0.1)	1±0 (4.9±0.2)	0.15±0.01
1	10.86±0.04 (53.7±0.43)	8.76±0.02 (43.4±1.63)	0.025±0.01 (0.1±0.034)	0.57±0.04 (2.8±1.74)	0.16±0.01
2	10.77±0.24 (51.2±1.75)	9.5±0.61 (45.2±2.33)	0.12±0.17 (0.6±0.8)	0.63±0.03 (3±0.15)	0.18±0.01

\*\* Los números en paréntesis representan el porcentaje de nitrógeno proteico del músculo NNP está expresado en mg/g.

Figura 2

VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE



### 2.3 Durante el almacenamiento en congelación (~ -25 °C)

La composición de las fracciones proteicas a los 14 días de almacenamiento en congelación fueron: miofibrilar 55,5%, sarcoplasmática 35,6%, estroma 4,1% y álcali-soluble 4.8%. En la figura 3 se observa la disminución de los valores de proteína miofibrilar hasta el día 30 donde se encontró 49.3% y luego de 60 días de almacenamiento se incrementan estos valores para la fracción miofibrilar siendo este de 62.31% y los valores para la fracción de proteínas sarcoplasmáticas disminuyen siendo 29.06%. Beklevik *et al.*, (2005) mencionan que en un tiempo prolongado de almacenamiento en congelación (-18 ° C) se pierde la calidad del músculo del pescado debido a variaciones que son causadas por reacciones de hidrólisis, polimerización, desaminación, descarboxilación y oxidación.

La fracción álcali-soluble se incrementa durante los días de almacenamiento y en el día 60 de dicho almacenamiento llega a su máximo valor siendo éste de 8.1%. Yoshinaka *et al.* (1985) demostraron que en congelación la fracción álcali-soluble contenía principalmente proteína miofibrilar desnaturalizada (Tabla 4).

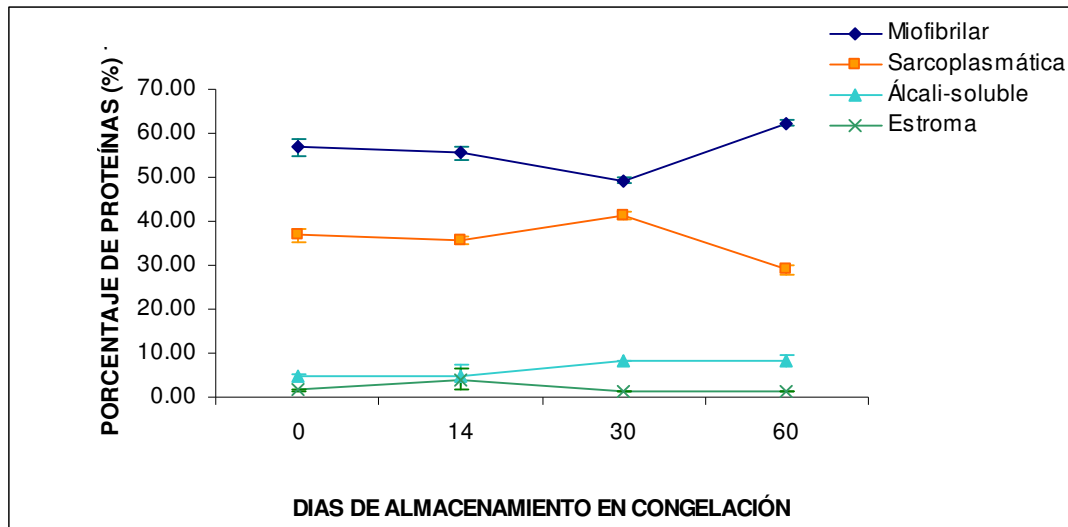
**Tabla 4**

#### **VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN CONGELACIÓN**

Días	Fracciones proteicas				
	Miofibrilar	Sarcoplásmica	Estroma	Álcali-soluble	NNP
14	12.5±0.7 (55.5±1.49)**	7.99±0.29 (35.5±0.84)	0.93±0.61 (4.07±2.45)	1.074±0.495 (4.9±2.3)	0.19±0.0
30	9.2±0.01 (49.3±0.71)	7.7±0.014 (41.3±0.83)	0.03±0.01 (1.34±0.05)	0.151±0.02 (8.08±0.12)	0.16±0.0
60	20.4±0.4 (62.31±0.77)	9.5±0.4 (29.06±1.08)	0.4±0.003 (1.25±0.09)	(0.24±0.01) (8.12±1.29)	0.18±0.01

Figura 3

**VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN CONGELACIÓN**



### 3 NITRÓGENO NO PROTEICO (NNP)

#### 3.1 Durante el almacenamiento en hielo (0 - 4°C)

Bajo estas condiciones existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) durante los días de almacenamiento, sin embargo el nitrógeno no proteico tuvo un comportamiento variable (Figura 4), teniendo inicialmente valores de 0,15 mgN/g y en el día 21 se registró su valor más bajo siendo de 0,13 mgN/g.

De acuerdo con Mujica (2000), una probable explicación para estas variaciones sería la ocurrencia simultánea de la utilización resultante de sustancias de la actividad microbiana sobre aminoácidos sulfurados,

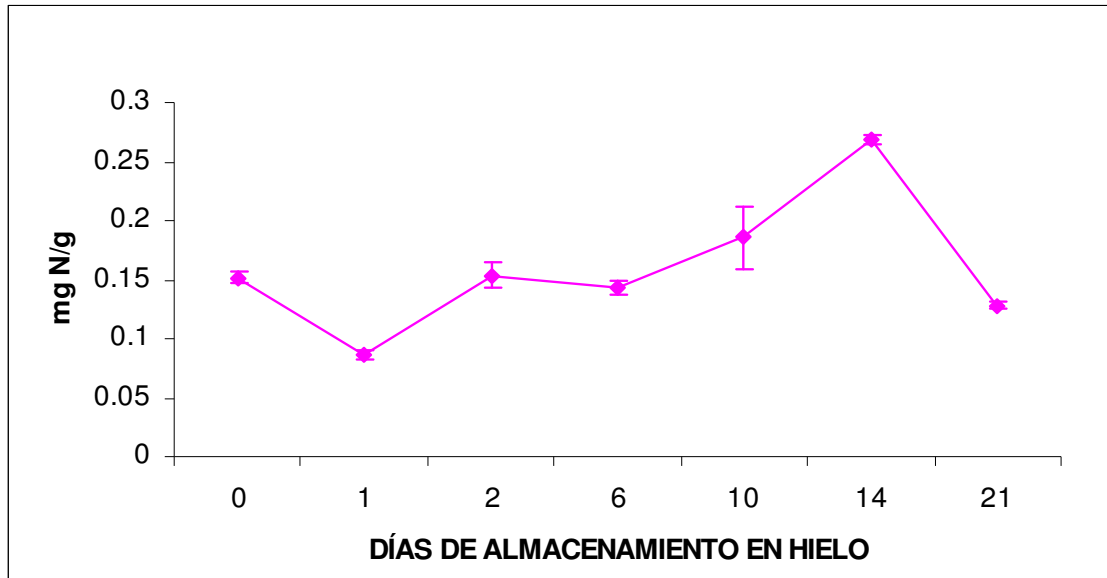
principalmente en forma libre que son los componentes del “pool” del NNP, causando su reducción al mismo tiempo generando otros compuestos en respuesta a las reacciones autolíticas y actividad proteolítica de los microorganismos. Por otro lado, Moorjani *et al.* (1962) observaron en un estudio, con varias especies de pescado de aguas continentales, una disminución de NNP durante 16 días de almacenamiento en hielo y concluyen que las proteínas fueron hidrolizadas por la acción bacteriana y enzimática, y el NNP debería aumentar significativamente durante el periodo de almacenamiento.

De acuerdo con Netto (1984) en “tilapia gris” *Oreochromis niloticus* presento inicialmente 0.29 mg/g, luego de 20 días de almacenamiento en hielo, ocurre una disminución 0.21mg/g, este autor atribuye los valores más altos de NNP en la fase inicial de las actividades de las catepsinas y el valor posterior a la actividad de proteasas microbianas.

Heidmann (2000) reportó para “tilapia” variaciones en el nitrógeno no proteico durante el almacenamiento en hielo de filetes, por lo que sugirió que el nitrógeno no proteico no es un índice adecuado para determinar la calidad del pescado sin procesar. Por otro lado, Sikorski *et al.* (1990) menciona que el nitrógeno no proteico es utilizado para la determinación de frescura por ser la primera fracción utilizada por los microorganismos, que le sirve como fuente de energía.

**Figura 4**

**VARIACIONES DEL NITRÓGENO NO PROTEICO DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN HIELO (0-4 °C)**

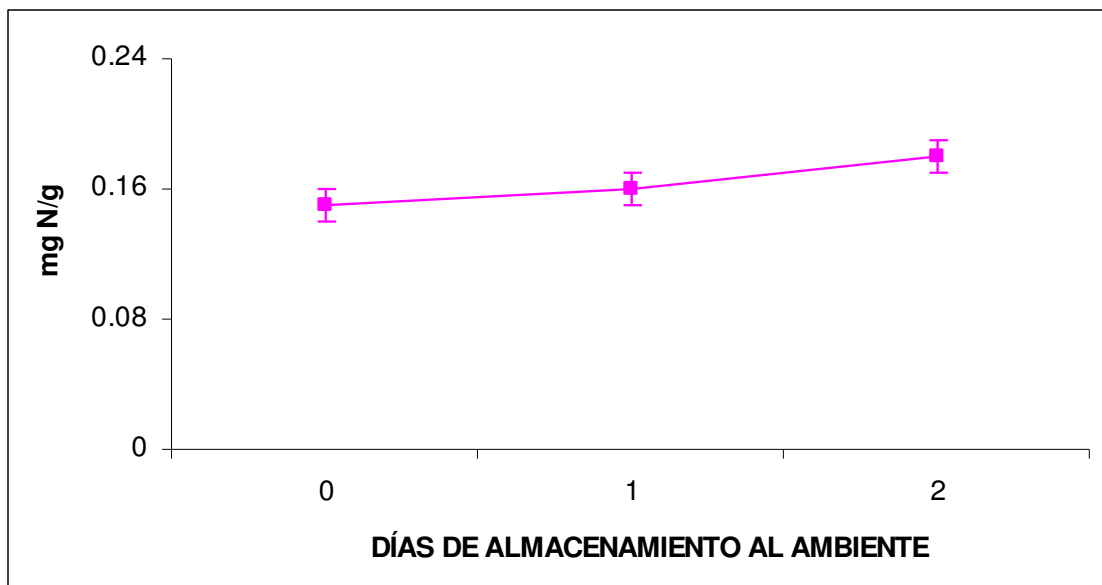


**3.2 Durante el almacenamiento a temperatura ambiente (~23 °C)**

El nitrógeno no proteico no tuvo variaciones significativas bajo estas condiciones teniendo inicialmente valores de 0,15 mgN/g y en el segundo día del almacenamiento se incrementó, siendo de 0,18 mgN/g (Figura 5). Estos resultados podrían estar relacionados con la generación de otros compuestos en respuesta a las reacciones autolíticas y actividad proteolítica de los microorganismos como lo menciona Mujica (2000).

Figura 5

**VARIACIONES DEL NITRÓGENO NO PROTEICO DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE**

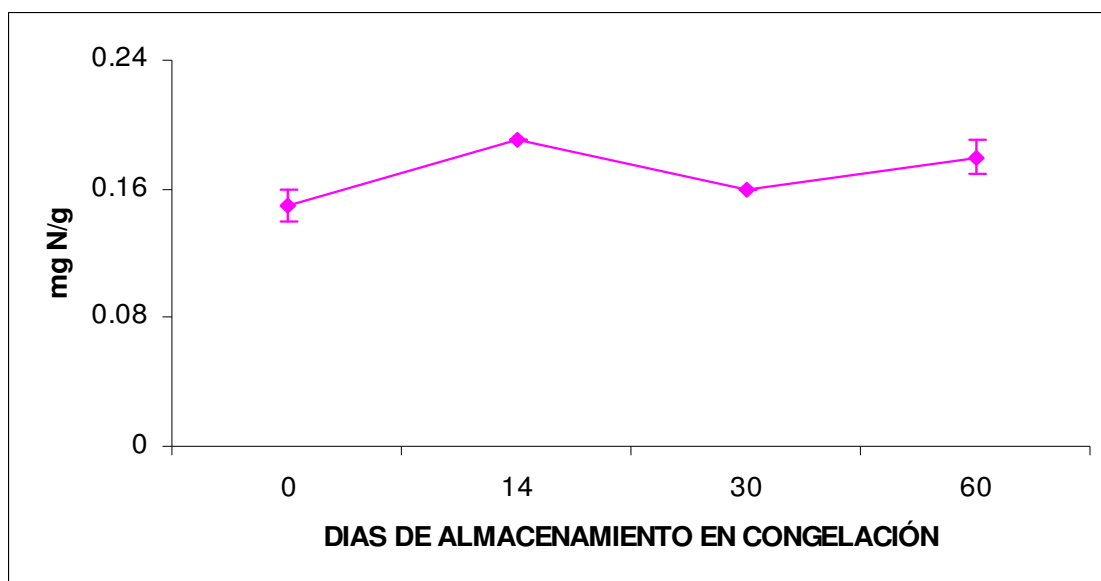


**3.3 Durante el almacenamiento en congelación (~ -25 °C)**

El nitrógeno no proteico no tuvo variaciones significativas bajo estas condiciones fue variable, teniendo inicialmente valores de 0,15 mgN/g y en el día 30 el valor fue 0,16 mgN/g, luego se incrementa en el día 60 a 0.18 mgN/g (Figura 6). Esto puede ser debido a la temperatura de almacenamiento que no permitió una fácil proteólisis, así como también la actividad bacteriana no influenció en el contenido de NNP para éstas condiciones de almacenamiento.

**Figura 6**

**VARIACIONES DEL NITRÓGENO NO PROTEICO DEL MÚSCULO DE *Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN CONGELACIÓN**



#### **4 ANÁLISIS EN SDS-PAGE**

##### **4.1 Durante el almacenamiento en hielo (0 - 4°C)**

Las proteínas sarcoplasmáticas comprendidas entre los 118 y los 203 kDa, sufren alteraciones se puede apreciar el día 0 bandas definidas, durante el almacenamiento este patrón ha cambiado, posiblemente por causa de reacciones no específicas entre proteínas. El patrón de proteínas de menor peso molecular (entre 50 a 33 kDa) mantiene el mismo patrón durante el almacenamiento (Figura 7).

La fracción miofibrilar es la fracción más afectada, se puede observar que la banda de miosina en un principio es definida inicialmente (día 0) luego en el día 14 se aprecia una banda de ~118 kDa, posiblemente se trata de una proteólisis de la miosina llegando a ser una mancha difusa a los 21 y 30 días.

La fracción álcali-soluble no llega a determinar el objetivo para el cual fue realizado, en teoría esta fracción debería presentar variaciones durante el almacenamiento, pues las proteínas desnaturalizadas por acción proteolítica debieran ser solubles en esta fracción (Yoshinaka *et al.*, 1985), será necesario de técnicas más precisas para identificar las proteínas desnaturalizadas. Cabe señalar que las variaciones encontradas fueron en las proteínas de mayor peso molecular, pudiendo resultar evidente en geles de menor concentración de acrilamida.

#### **4.2 Durante el almacenamiento en congelación (~ -25 °C)**

Las proteínas sarcoplasmáticas que tienen un peso molecular de ~ 50kDa (figura 8) sufren proteólisis durante el almacenamiento esto probablemente sucede porque hay siempre una fracción de agua del músculo de pescado que no se llega a congelar, y que concentra reactantes y solutos donde más fácilmente se pueden presentar alteraciones (Beklevik *et al.*, 2005).

Mientras la intensidad de la banda inicial de la Miosina (~ 203 kDa) se incrementa notablemente a través del tiempo de forma similar a la banda de actina, posiblemente este efecto sea sólo de concentración de proteínas, puesto que durante el almacenamiento hay deshidratación que originan proteólisis, esto podría estar relacionado también con el aumento en los valores de proteína miofibrilar en el día 60 siendo este de 62.1% (tabla 4). Por otro lado, la fracción álcali-soluble se hace menos evidente en el tiempo probablemente las proteínas ya desnaturalizadas son blanco más rápido de las proteasas.

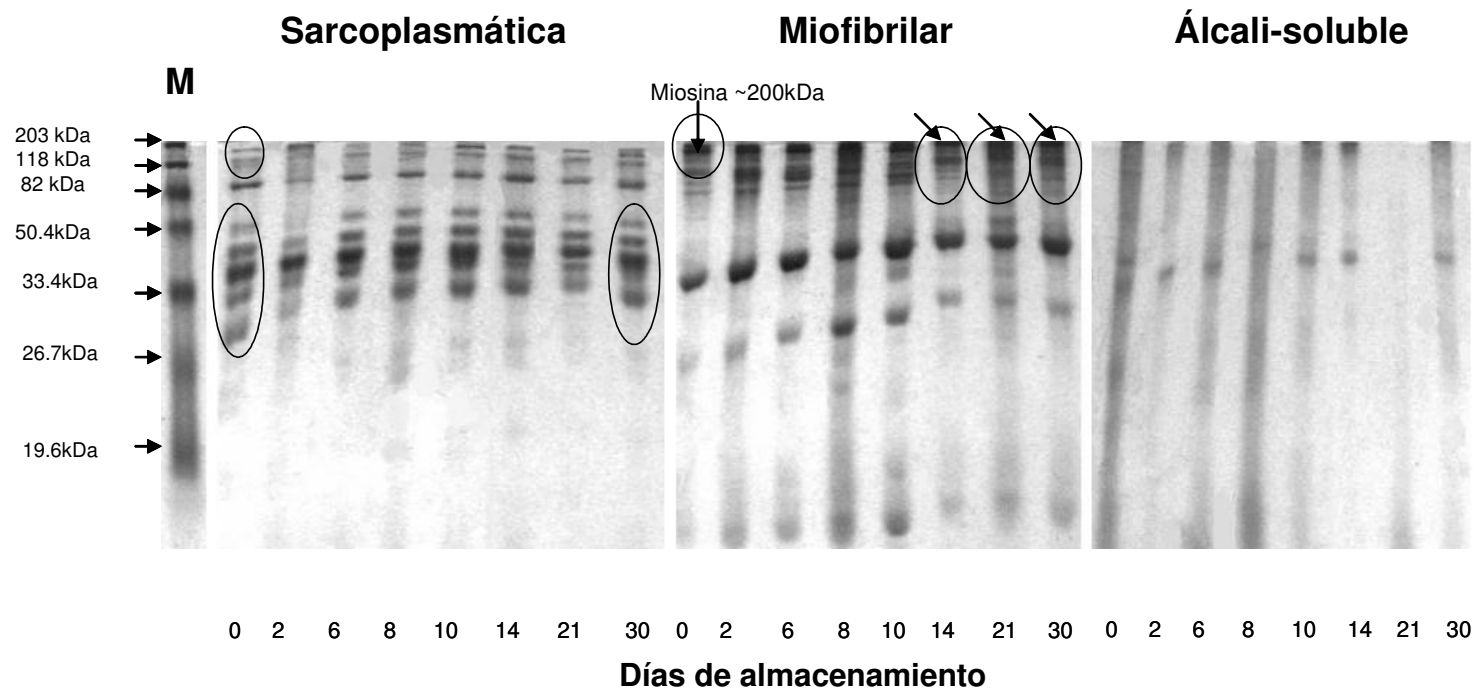
Cabe resaltar que a esta temperatura de almacenamiento la actividad proteolítica esta relacionada también con el proceso de descongelamiento al cual es sometido el músculo del pescado, ya que para la obtención de las diferentes fracciones proteicas es necesario descongelar el músculo y esto probablemente haya



influenciado en la actividad de ciertas proteasas que inclusive aumentan su actividad en relación al músculo fresco (Rehbein and Cakli, 2000).

Figura 7

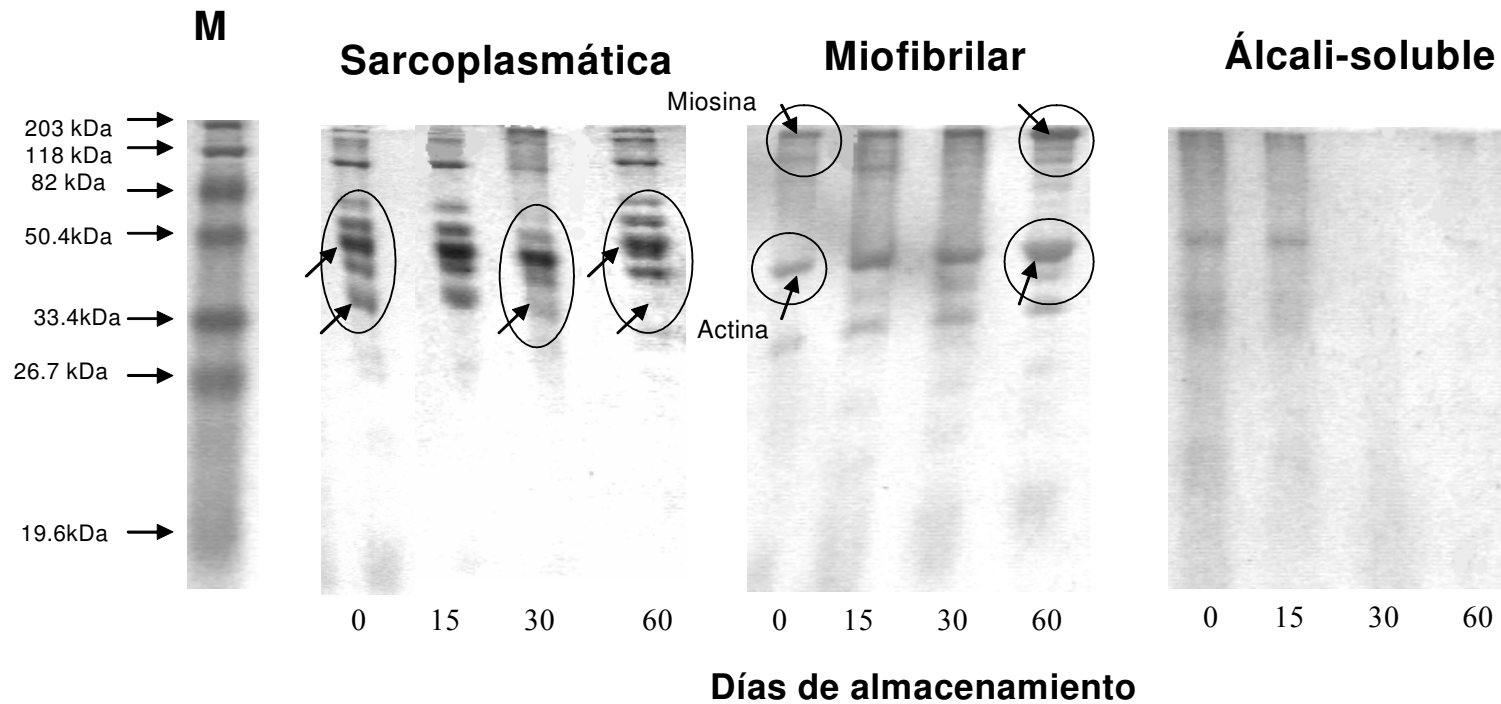
VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE "Gamitana"  
*Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO



Patrones en SDS-PAGE (gel 10%) de las fracciones proteicas: Sarcoplasmática, Miofibrilar y Álcali-soluble del músculo de "gamitana", durante el almacenamiento en hielo. La letra "M" representa la columna del marcador de peso molecular

Figura 8

**VARIACIONES EN LA COMPOSICIÓN PROTEICA DEL MÚSCULO DE "Gamitana"  
*Colossoma macropomun* DURANTE SU ALMACENAMIENTO**



Patrones en SDS-PAGE (gel 10%) de las fracciones proteicas: Sarcoplasmática, Miofibrilar, Álcali-soluble del músculo de "gamitana", durante el almacenamiento en congelación. La letra "M" representa la columna del marcador de peso molecular

## CONCLUSIONES

- Los valores de Composición Química Proximal de la "gamitana" de cultivo fueron: Humedad 82%, Grasa 0.5%, cenizas 1.4% y Proteína 16.1%. Esto muestra que se trata de una especie con alto valor proteico y bajo nivel de graso.
- El alto valor de humedad encontrado puede contribuir a la actividad proteolítica y bacteriana.
- Existen variaciones en la composición proteica de músculo de "gamitana" durante el almacenamiento en hielo, siendo la fracción miofibrilar la fracción más susceptible al deterioro.
- El valor porcentual de proteína miofibrilar durante el almacenamiento en hielo registró su valor más bajo en el día 14 siendo de 47.9% y la fracción álcali-soluble registró su máximo valor siendo 13% para el mismo día del almacenamiento.
- El NNP fue variable y el valor porcentual más alto de NNP fue de 0.28 mg/g que coincide con el valor porcentual más bajo de la proteína miofibrilar que fue de 47.9% a los 14 días del almacenamiento en hielo.
- La fracción de estroma no presentó cambios marcados en los diferentes tipos de almacenamiento.
- Los geles de electroforesis muestran que la fracción proteica miofibrilar es la fracción más susceptible a las variaciones durante el almacenamiento en hielo y en congelación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Aleman, J.** 1989. Estudios de los Componentes Nutricionales en Peces, con especial referencia a Cambios Postmortem y su Utilización Eficiente. Tesis presentada para optar el Grado de Doctor en Agricultura, Universidad de Tokio. Japón.

**Almeida-Val, V.M.F., Schwantes, M.L. and Val, A.L.** 1990. LDH isosymes in Amazon fish. I. Electrophoretic studies on two species from Serrasalminidae family: *Mylossoma duriventris* and *Colossoma macropomum*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 103B, 119-125. In: **Almeida, V.M.F., A.L. Val and I. Walker.** 1999. Long- and short-term adaptation of Amazon fishes to varying O<sub>2</sub> -levels: intra specific phenotypic plasticity and interspecific variation. In: **Val, A.L. and V.M.F. Almeida-Val** (Eds.). *Biology of Tropical Fishes*, Chapter 15, pp. 185-206. INPA, Manaus, 1999.

**Ando, S.; Hatano, M. and Zama, K.** 1985. A consumption of muscle lipid during spawning migration of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **51**, 1817-1824.

**ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC.** Official Methods of Analyses. 13 ed. Washington D.C.: 1990. 937pp.

**Borresen, T.** 1992. Quality aspects of wild and reared fish. In: H.H. Huss, M. Jacobsen and J. Liston (eds.) *Quality Assurance in the Fish Industry*. Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, August 1991. Elsevier, Amsterdam, 1-17.

**Beklevik, G.; Polat, A.; Ozogul, F.** 2005. Nutritional Value of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fillets during Frozen (-18° C) Storage. *Turk J Vet Anim Sci.* **29**: 891-895.

- Clawson, A.; Garlich, J.; Coffey, M. and Pond, W.** 1991. Nutritional, physiological, genetic, sex, and age effects on fat-free dry matter composition of the body in avian, fish, and mammalian species: A review. *J Anim Sci.* **69**: 3617-3644.
- Contreras-Guzman, E.** 1994. Bioquímica de pescados e derivados. Jaboticabal: FUNEP. 409 pp.
- Cortéz, J.** 1992. Características Bromatológicas de Dieciseis especies Hidrobiológicas de la Amazonía Peruana en Época de Creciente. *Folia Amazonica* **4**(1), 111-117.
- Curran, C. A.; Poulten, R. G.; Brueton, A. and Jones, N. S. D.** 1986. Cold Shock Reaction in Iced Tropical fish. *Journal of Food and Technology.* **21**, 289-299.
- Cuvier, M. G.** 1818. Sur le poissons du sous-genre Myletes. *Mémoires du Musée di Histoire Naturelle, Paris.* **4**, 444-456.
- Fennema, O.** 1985. Food Chemistry. Part I. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Marcel Dekker, Inc.,
- Ferreira, S. O.** 1987. Aplicacao de tecnologia a especies de pescados de agua doce visando atender a agroindustria rural. Dissertacao (M.S.) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 122 pp.
- Freitas, J. V. F. e Gurgel, J. J. S.** 1984. Estudos experimentais sobre a conservacao da tilapia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L., 1766) Trewavas armazenada no gelo. Boletim Técnico Do Departamento Nacional de Obras Contra a Seca, v.42, n.2. 153-178 pp.

**Goulding, M. and Carvalho, M. L.** 1982. Life History and Management the Tambaquí (*Colossoma macropomun*, Characidae); An Important Amazonian Food Fish. *Revista Brasileira de Zoología*. **1**, 107-133.

**Goulding, M.** 1980. The Fishes and the Forest, Exploration in Amazonian Natural History. University of California Press, Berkeley. Los Angeles, London.

**Goulding, M** 1997. So Fruitful a Fish. Columbia University Press, New York, 191 pp.

**Hashimoto, K.; Watabe, S.; Kono, M. and Shiro, K.** 1979. Muscle Protein Composition of Sardine and Mackerel. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **45**: 1435-1441.

**Heidmann, M.** 2002. Optimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente procesada e armazenada sob refrigeração. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências. Piracicaba. São Paulo, Brasil.

**Honda, E. M. S.** 1974. Contribuicao ao conhecimento da biología de peixes do Amazonas. II. Alimentacao de Tambaquí, *Colossoma bidens* (Spix). *Act. Amazonica* **4**, 47-53.

**Izquierdo, P.; Torres, G.; Barboza, Y.; Marquez, E. y Allara, M.** 2000. Análisis Proximal, Perfil de Ácidos Grasos, Aminoácidos Esenciales y Contenido de Minerales de 12 Especies de Pescado de Importancia Comercial en Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Vol. 50 (2). Caracas.

**Jhaveri, S. N. and Constantinides, S. M.** 1982. Chemical composition and shelf-life study of grayfish (*Squalus arcanthias*). *Journal of Food Science*. **48**, 188-192.

**Junk, J. W.** 1985. Temporary Fat Storage, an Adaptation of some fish species to The Water Level Fluctuations and Related Environmental Changes of Amazon River. *Amazoniana*. **9**, 315-351.

**Kumagai, K. and Tetsuya, A** 1998 Isolation and Characterization of the three Light Chains from Tilapia Dorsal Muscle Myosin. Hokkaido University Education. Asahikawa.

**Laemmli, U.** 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage. *Nature*. **227**, 680-685.

**Lehninger, A. L.** 1982. Bioquímica Segunda edición, Ediciones Omega, Barcelona pp 1117.

**Lima, M. F. V. e Zapata, J. F. F.** 1998. Efeito do ácido láctico e do lactato de sodio sobre as características físicas, químicas e sensoriais de filés frescos de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: SBCTA. 739-742 pp.

**Loaiza, J. F. U.** 1996. Avaliacao físico-química, microbiológica e sensorial de carne de ra (*Rana catesbiana*) estocada sob refrigeracao e congelamento. Vicoso. Dissertacao (M.S.) – Universidade Federal de Vicoso. Vicoso. 112 pp.

**Lowry, O. H.; Rosembrough, N. J.; Farr, A. and Randall, R. J.** 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. **193**, 265-275.

**Machado-Allison, A.** 1983. Estudios sobre Sistemática de la Subfamilia Serralmiinae (Teleostei – Characidae) Parte II. *Acta Biol. Venez*. **11**, 145-195.

**Martinez , M.** 1984 El cultivo de las especies del género Colossoma en América Latina. FAO Regional Office Santiago, Chile.



**Mazorra-Manzano, M. A.; Pacheco-Aguilar, R.; Díaz-Rojas, E. I. and Lugo-Sánchez, M. E.** 2000. Postmortem Changes in Black Skipjack Muscle During Storage in Ice. *Journal of Food Science*. **65**, 774-779.

**Minitab.** 1998. Minitab user's guide 2: Data analysis and quality tools. State College. PA. USA

**Moorjani, M. N.; Baliga, B. R. and Vijayranga, B.** 1962. Post-rigor changes in nitrogen distribution and texture of fish during storage in crushed ice. *Food Technology*. **16**, 80-84.

**Mujica, P. Y. C.** 2000. Vida útil do cação (*Prionace glauca*) armazenado sob refrigeração e otimização dos métodos microbiológicos e sensoriais de avaliação da qualidade. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 103 pp.

**Nakagawa, T.; Watabe, S. and Hashimoto, K.** 1988. Identification of three Major Components in Fish Sarcoplasmic Proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi*. **54**, 999-1004.

**Namburidi, D. and Gopakumar, R. K.** 1988. Cold shock reaction in tropical fishes. *Journal Food Science and Technology*. **25**, 89-91.

**Nelson, B. W.; Kapos, V.; Adams, J. B.; Oliveira, W. J.; Braun, O. P. G. and Doamaral, J. L.** 1994. Forest Disturbance by Large Blowdowns. *The Brazilian Amazon. Ecology*. **75**, 853-858.

**Netto, F. M.** 1984. Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 79 pp.

**Oetterer, M.** 1991. Materia prima alimentar: pescado. São Caetano do Sul: Centro de Pesquisas do Instituto Mauá de Tecnologia. 29 pp.

**Ortega, H. y Guevara, J.** 1981. Estudio bioecológico de las principales especies ícticas comerciales en la zona de Pucallpa, Perú. 15 pp.

**Ramírez, J. A.; Santos, I. A.; Morales, O. G.; Morrissey, M. T. and Vázquez, M.** 2000. Application of microbial transglutaminase to improve mechanical properties of surimi from silver carp. *Cienc. Tecnol. Aliment.* **3**, 21-28.

**Rehbein, H. and Cakli, S.** 2000. The Lysosomal Enzymes Activities of Fresh, Cooled, Frozen and Smoked Salmon Fish Species (*Onchorhynchus keta* and *Salmo Salar*). *Turk J Vet Anim Sci.* **24**: 103-108.

**Saint-Paul, U.** 1985. The Neotropical Serrasalmid *Colossoma macropomun* a promising species for fish culture in Amazonia. *Animal Research and Development.* **22**, 7-35.

**Seki, N. and Watanabe, T.** 1984. Connectin content and its postmortem changes in fish muscle. *J. Biochem. (Tokyo).* **95**, 1161-1167.

**Seki, N. and Tsuchiya, H.** 1991 Extensive Changes During Storage in Carp Myofibrillar Proteins in Relation to Fragmentation. *Nippon Suisan Gakkaishi.* **57**, 927-933.

**Shaban, O.; Ochiai, Y.; Watabe, S. and Hashimoto, K.** 1985. Quality changes in Alaska pollack meat paste ("surimi") during frozen storage. *Nippon Suisan Gakkaishi,* **51**, 1853-1858.

**Sikorski, Z. E.** 1990. Composición Nutritiva de los principales grupos de organismos alimenticios marinos. *Tecnología de los Productos del Mar.* Zaragoza. Ed. Acribia. 41-72 pp.

**Sikorski, Z. E.; Kolakoska, A. y Burt, J. R.** 1994. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura. In: Sikorski, Z.E. (Ed.). *Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación.* Zaragoza: Acribia, cap.4. 73-101 pp.

**Silva, J. A. M.; da, Pereira-Filho, M. and Oliveira-Pereira, M. I.** 2000. Seasonal Variation of Nutrients and Energy in Tambaqui's (*Colossoma macropomum* CUVIER,1818). *Revista Brasileira de Biología*. **60**, 599-605, Brasil.

**Soccol, M. C. H.; Biato, D. e Oetterer, M.** 2002. A acidificacao como complemento para extensao da vida útil de tilápias (*Oreochromis niloticus*) minimamente procesadas (compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIENCIA E TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, 18. Anais. Porto Alegre: SBCTA. 224-228 pp.

**Stansby, M. E.** 1962. Proximate composition of fish. In: HEEN E.; KREUZER R. (Ed.). Fish in nutrition. London: Fishing News Books Ltda. 1-59 pp.

**Suzuki, T. and Watabe, S.** 1986. New Processing Technology of Small Pelagic Fish Protein. *Food Reviews International* 2(3): 271-307.

**Vinatea, J. y Vega, A.** 1995. Piscicultura Tropical: Peces nativos y exóticos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Serie: Acuicultura, Lima, Perú, 338 pp.

**Watabe, S.** 1992. Science of Processing Marine Food Products. Kanagawa International Fisheries Training Centre. *Japan International Cooperation Agency*. **1**, 123-141.

**Yoshinaka, R.; Sato, K.; Itoh, Y.; Fujita, M. and Ikeda, S.** 1985. Constituent proteins of muscle stroma from carp and Japanese mackerel. *Ibid.* **51**, 1163-1168.

# **ANEXOS**

**Tabla 1**

**DÍAS DE ANÁLISIS PARA LOS DIFERENTES TIPOS DE ALMACENAMIENTO**

Condiciones del Almacenamiento	Días durante el Almacenamiento										
	0	1	2	6	8	10	14	21	30	60	
Hielo (0 - 4° C)	X	-	x	x	x	x	x	x			
Congelación (~ -25)	X						x	-	x	x	
Ambiente (~ 23 ° C)	X	X	x								

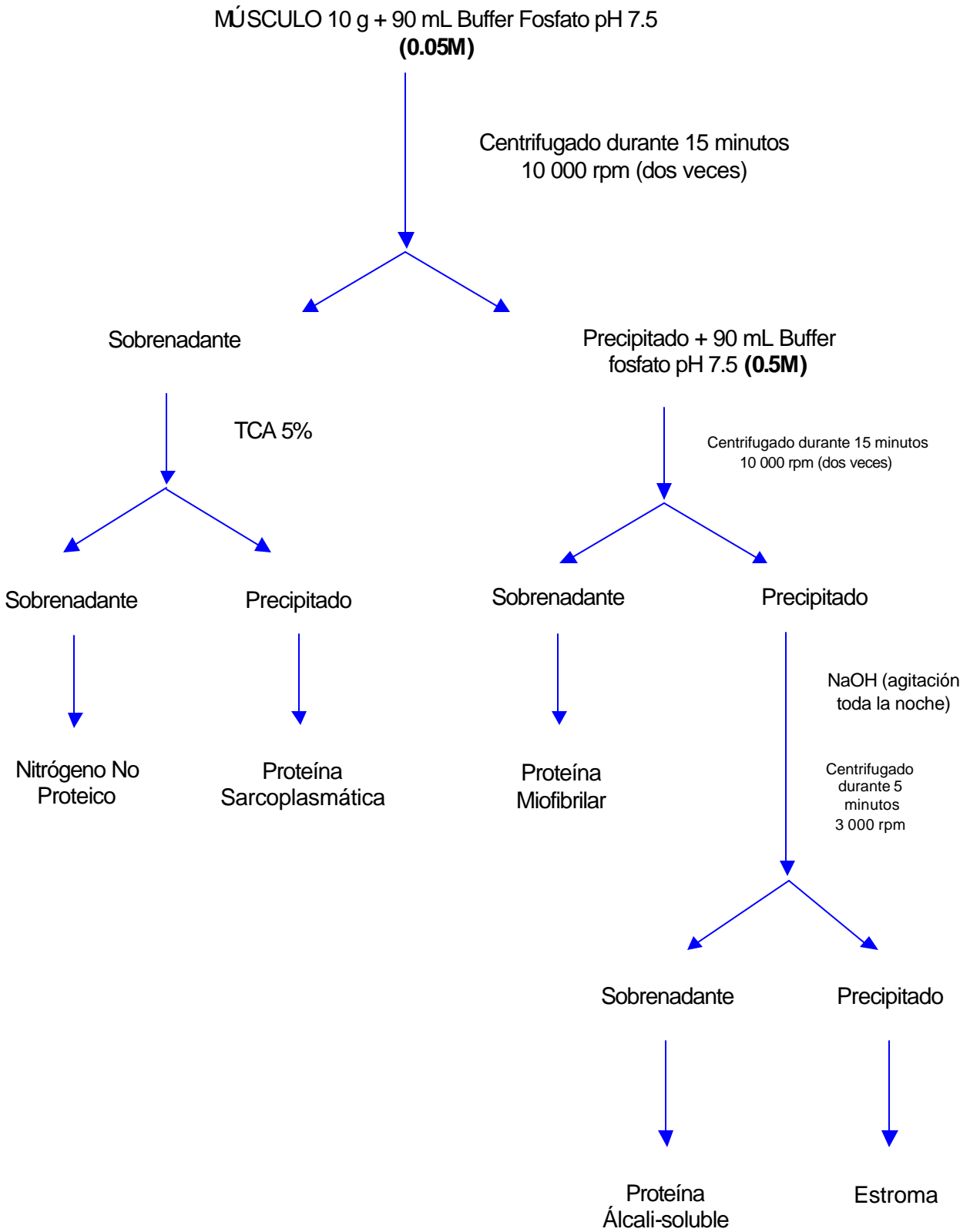
**Tabla 2**

**PREPARACIÓN DEL SDS-PAGE**

Reactivos	Concentración	Separación
	5%	10%
Acrilamida	1.1ml	6.8ml
Agua destilada	6.2ml	15.1ml
TEMED	0.01 ml	0.03ml
Persulfato de amonio	0.1 ml	0.3 ml
SDS 10%	0.1 ml	0.3 ml
Buffer Tris 1.5M pH 8.8	.....	7.5 ml
Buffer Tris 0.5M pH 6.8	2.5ml	.....

## Diagrama de Flujo

### Protocolo de Separación de Proteínas del Músculo de *Colossoma macropomun*



***Colossoma macropomun*** (Cuvier, 1818)



Extracción del Músculo Dorsal de *Colossoma macropomun* "gamitana"



Condiciones de Almacenamiento de *Colossoma macropomun* "gamitana"



Almacenamiento en Hielo (0 – 4° C)



Almacenamiento en Congelación (~ -25° C)



Almacenamiento a Temperatura ambiente (~23° C)