



RSA-CONICET
Red de Seguridad Alimentaria del CONICET

**RELEVAMIENTO DE ASPECTOS TÉCNICOS DE pH Y OTROS
PARÁMETROS DE CALIDAD ESTABLECIDOS POR BRASIL
PARA EL INGRESO DE PRODUCTOS PESQUEROS
CONGELADOS. VALORES DE REFERENCIA PARA MERLUZA
COMÚN (*Merluccius hubbsi*).**

- INFORME FINAL -
Agosto 2020



GRUPO AD HOC “pH en Pescado”

Red de Seguridad Alimentaria
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas



ÍNDICE

1. DESCRIPCIÓN DE LA SOLICITUD	3
2. CONFORMACIÓN DEL GRUPO AD HOC ("PH EN PESCADO")	4
3. RESUMEN EJECUTIVO	6
4. ACTIVIDADES DESARROLLADAS	9
5. ANTECEDENTES	9
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
7. CONCLUSIONES FINALES Y RECOMENDACIONES.....	20
REFERENCIAS.....	21

INFORME FINAL

RELEVAMIENTO DE ASPECTOS TÉCNICOS DE pH Y OTROS PARÁMETROS DE CALIDAD ESTABLECIDOS POR BRASIL PARA EL INGRESO DE PRODUCTOS PESQUEROS CONGELADOS. VALORES DE REFERENCIA PARA MERLUZA COMÚN (*Merluccius hubbsi*)

1. DESCRIPCIÓN DE LA SOLICITUD

Solicitante: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA).

Profesional de contacto: Vet. Fabián Ballesteros (Email: fballest@senasa.gob.ar).

Cargo: Director de Inocuidad de Productos de la Pesca y Acuicultura.

Tema de la solicitud: Atento a la vigencia de un marco regulatorio por el cual se utilizan valores de pH para la determinación de frescura y que la implementación de la misma ha resultado en rechazos de mercancía exportada desde Argentina a Brasil, se estima oportuno solicitar la asistencia técnica de expertos con el objeto de relevar los aspectos técnicos respecto a la validez de la determinación de pH como referencia de frescura y en igual sentido determinar, de ser factible, valores de referencia para las especies ícticas argentinas. El mercado de destino representa uno de los más importantes para los productos argentinos, por lo que sería de gran beneficio disponer de antecedentes de validez científica.

Consulta: Se desea resolver la problemática relacionada con la exportación de pescado enfriado y congelado a la República Federativa de Brasil, definir un valor de referencia de pH para la merluza.

2. CONFORMACIÓN DEL GRUPO AD HOC (“pH en Pescado”)

Coordinador/es grupo *ad hoc*:

Massa, Agueda Elena.

Dra, en Ciencias Biológicas. Investigadora Independiente de CONICET, Jefe de Programa “Tecnología, Valorización e Innovaciones de Productos Pesqueros del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP).

Integrantes grupo *ad hoc* en orden alfabético

Agüeria, Daniela Alejandra.

Doctora en Ciencia Animal. Docente Investigadora Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

Campos, Carmen Adriana.

Doctora en Ciencias Químicas. Investigadora Principal CONICET. Profesora Asociada Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UBA. Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ).

Czerner, Marina.

Doctora en Ingeniería. JTP Facultad de Ingeniería UNMDP. Investigador Adjunto CONICET. Grupo de Investigación Preservación y Calidad de Alimentos (INCITAA, UNMDP-CIC).

Fernández, Lorena.

Ingeniera Pesquera. Docente Facultad Regional Mar del Plata, Universidad Tecnológica Nacional. Analista de Laboratorio de Metrología, INTI-Mar del Plata.

Miscoria, Silvia Alejandra.

Doctora en Química. Docente Investigadora Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.

Primost, Mónica Angelina.

Doctora en Ciencias Naturales. Investigadora Asistente CONICET-UTN. Docente Investigadora Facultad Regional Chubut. Universidad Tecnológica Nacional.

Volpedo, Alejandra Vanina.

Doctora en Cs Biológicas. Prof -FCV-Universidad de Buenos Aires. Investigadora Principal CONICET- Instituto de Investigación en Producción Animal (INPA-CONICET-UBA).

STAFF
Red de Seguridad Alimentaria
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

Dirección

Carlos van Gelderen

Coordinación General (CG)

Javier Pardo

Coordinador asistente

María Durrieu

Consejo Directivo (CD)

CIVETAN (Centro de Investigación Veterinaria de Tandil) – Fac. Cs. Veterinarias UNCPBA.

Laura Moreno Torrejón - Paula Lucchesi

ICIVET – LITORAL (Inst. de Ciencias Veterinarias del Litoral) – Fac. Cs Veterinarias UNL.

Laureano Frizzo - Lorena Soto

IGEVET (Inst. de Genética Veterinaria “Ing Fernando Noel Dulout”) – Fac. Cs. Veterinarias UNLP.

Gerardo Leotta - Lucia Galli

INPA (Inst. de Investigaciones en Producción Animal) – Fac. Cs. Veterinarias UBA.

Alicia Fernández Cirelli - Alejandra V. Volpedo

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria)

Ricardo Rodríguez - Dante Bueno

3. RESUMEN EJECUTIVO

El presente informe se realiza en base a la solicitud realizada por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) para resolver la problemática relacionada con la exportación de pescado enfriado y congelado a la República Federativa de Brasil. SENASA solicita asistencia para relevar los aspectos científico-técnicos respecto a la validez de la determinación de pH como parámetro de frescura y determinar, de ser factible, valores de referencia para las especies ícticas argentinas.

En este sentido la Red de Seguridad Alimentaria de CONICET (RSA) ha conformado un grupo *ad hoc* interdisciplinario e interinstitucional que ha realizado un relevamiento y análisis de las publicaciones disponibles relacionadas con diferentes aspectos técnicos de pH y otros parámetros de calidad (nitrógeno básico volátil total NBVT, fósforo total, contenido de sodio y de potasio, relación humedad/proteínas, niveles de histamina) utilizados en productos pesqueros congelados, particularmente para merluza común (*Merluccius hubbsi*). Además, se hizo un relevamiento de las normativas de Argentina y Brasil, así también como de disposiciones internacionales (USA, Canadá, Unión Europea) en relación a valores de referencia pH y de otros parámetros de calidad aplicados a productos pesqueros congelados.

Los resultados evidencian que ningún método aislado suele ser suficiente para determinar la calidad del pescado y su frescura, por lo que en términos generales, se recomienda el empleo conjunto de varios métodos de análisis. Específicamente, respecto al valor de pH, resulta difícil relacionarlo con el grado de frescura de los productos pesqueros, porque el pH final que alcanza el músculo después de la muerte del pez es especie-específico y depende de factores intrínsecos (estado nutricional del pez, movimientos migratorios de la especie, entre otros) y extrínsecos (estación del año, arte de pesca empleado, condiciones de procesamiento y almacenamiento). El pH del músculo inmediatamente después de la captura es cercano a la neutralidad (pH 7). Posteriormente, desciende a valores de 6,5 o inferiores, debido a la acumulación de ácido láctico. Estos valores se mantienen constantes durante algunos días y luego aumentan significativamente hasta valores cercanos a 7,5 debido a la formación de compuestos básicos (principalmente amonio y aminos) que se generan por la actividad de microorganismos deteriorantes.

Por otro lado, las mediciones de pH no tienen un protocolo bien definido por lo que este método es poco exacto y los valores informados pueden diferir del de la propia carne del animal. En consecuencia, se considera que el valor de pH es un parámetro poco preciso que no podría ser utilizado como único criterio concluyente de frescura y calidad del pescado. Su empleo puede tener significancia si se lo considera conjuntamente con otros análisis químicos, microbiológicos y sensoriales.

Es importante mencionar que, en el año 2019, el Código Alimentario Argentino (artículos 271 a 277) fue modificado, eliminándose el valor de pH como índice de calidad y estableciéndose las características sensoriales, el contenido de NBVT, histamina y determinaciones microbiológicas como parámetros para establecer la aptitud del pescado para el consumo humano.

El **Nitrógeno básico volátil total (NBVT)** incluye compuestos como el amoníaco, trimetilamina (TMA), dimetilamina, monometilamina y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados al deterioro bacteriano de los productos pesqueros. El hecho de que con el NBVT se determine más de una sustancia, le confiere gran validez como indicador de descomposición, razón por la cual es un índice ampliamente utilizado en el control de productos pesqueros, aunque tiene limitaciones (es especie-específico, varía estacionalmente, con el hábitat y el método de almacenamiento). En general, distintas normativas establecen que el NBVT no debe ser superior a 30 mg de N/100 g de tejido muscular, excepto para especies de las familias *Salmonidae*, *Gadidae* y *Merlucciidae* que no deben superar los 35 mg de N/100 g de tejido muscular y para los elasmobranchios (rayas y tiburones) el límite establecido es de 40 mg de N/100 g de tejido muscular.

Respecto a **valores de fósforo total** son escasas las investigaciones en las especies ícticas argentinas. Estudios internacionales sugieren que el contenido de fosfato presente naturalmente en el pescado depende de la especie y las condiciones ambientales. Por otro lado, es importante mencionar que el contenido de fósforo total puede aumentar por la utilización de fosfatos (tripolifosfato de sodio, hexametáfosfato de sodio, etc.) como aditivos alimentarios. Estos son ampliamente utilizados en la industria pesquera como agentes mejoradores de la calidad ya que restauran la capacidad de retención de agua del músculo, reduciendo las pérdidas de peso durante la descongelación y cocción. A su vez, disminuyen la rancidez oxidativa y tienen un efecto antimicrobiano. Existen actualmente reglamentaciones internacionales que regulan el uso de fosfatos en pescado. En particular, la Norma General para los aditivos alimentarios (CODEX STAN 192-1995) revisada en 2014, establece una dosis máxima de tripolifosfato de sodio y de hexametáfosfato de sodio de 2200 mg/kg. Respecto a esto, las normativas de calidad para la comercialización de productos pesqueros establecen como valores máximos de fosfato 5000 mg de P_2O_5 /kg de tejido muscular. En este contexto, se ha sugerido que la relación porcentual entre el contenido de P_2O_5 y el de proteína puede ser un indicador adecuado para evaluar y regular la adición de fosfatos en carnes y productos cárnicos.

Según la normativa brasileña el **contenido de sodio** no debe superar los 134 mg de Na/100 g de tejido muscular y el **contenido de potasio** no debe ser mayor de 502 mg de K/100 g. Al respecto es importante mencionar, la escasa información sobre la cantidad de ambos elementos en especies marinas argentinas y la variabilidad asociada tanto a factores biológicos como ambientales.

La **relación entre el contenido de humedad y proteínas**, que hace referencia principalmente al músculo (porción comestible), es especie-específico y además depende del estadio gonadal de los ejemplares, de la condición nutricional, del hábitat y la época de captura. Cabe mencionar que el agua constituye el componente mayoritario, variando dentro del rango 66-81 g/100 g (%), seguido por las proteínas, que en general, se encuentran entre 11 % y 28 %. Para distintas especies, se han encontrado correlaciones inversas entre contenido de agua y proteínas y también entre contenido de agua y lípidos. El agregado de agua al pescado es una práctica común y se encuentra reglamentada en distintas legislaciones. Por ello, es importante contar con valores de referencia para poder distinguir el agua agregada de la propia. Por otra parte, si se adicionan fosfatos o polifosfatos al aumentar la capacidad de retención de agua, la relación contenido de humedad/proteínas aumenta. En este contexto, y para prevenir

fraudes en la comercialización sería de gran utilidad contar con estudios referenciales de la composición química proximal, principalmente de la especie de interés comercial, con la finalidad de poder calcular en forma adecuada la cantidad de agua agregada.

La **determinación de niveles de histamina** en la merluza común (*M. hubbsi*), no constituye un indicador crítico de calidad, ya que esta especie no posee acumulación de histamina en su parte comestible.

En síntesis, consideramos que para evaluar la frescura de los productos pesqueros debieran utilizarse en forma conjunta varios parámetros/índices de calidad y no sólo el pH. Además, es importante seguir metodologías con protocolos claros y estandarizados para la determinación del mismo. Por otro lado, consideramos que es clave determinar el valor de pH en las especies comerciales argentinas, por lo que propiciar este tipo de estudios sería muy relevante.

4. ACTIVIDADES DESARROLLADAS

Se realizó un relevamiento y análisis de las publicaciones disponibles relacionadas con diferentes aspectos técnicos de pH y otros parámetros de calidad (nitrógeno básico volátil total NBVT, fósforo total, contenido de sodio y de potasio, relación humedad/proteínas, niveles de histamina) utilizados para la determinación de la frescura en los productos pesqueros congelados, particularmente de merluza común (*M. hubbsi*). Para ello se consultaron diferentes bases de datos internacionalmente reconocidas (en plataformas como SCIMAGO y/o Thomson & Reuter) tales como ScienceDirect, SCIELO, Google Scholar, Wiley, Springer, SCIRO, Cambridge University Press, entre otras.

Por otro lado, se hizo un relevamiento de las normativas de Argentina y Brasil, así también como disposiciones internacionales (USA, Canadá, Unión Europea) en relación a valores de referencia pH y de otros parámetros de calidad aplicados a productos pesqueros. Con la información analizada se plantearon recomendaciones y se elaboraron conclusiones.

5. ANTECEDENTES

La inocuidad y calidad constituyen temas relevantes en la industria alimentaria. Los productos pesqueros son considerados alimentos altamente perecederos. La pérdida de la frescura ocurre, en una primera etapa, por la acción de enzimas endógenas presentes en las vísceras y en los músculos (autólisis) y posteriormente, por el desarrollo de microorganismos deteriorantes. La velocidad con que ocurren estas etapas varía según la especie y el estado fisiológico y nutricional del pez al momento de la captura. Asimismo, dependen de la manipulación a bordo, las condiciones de conservación y el tiempo de almacenamiento, siendo estos últimos factores determinantes en el crecimiento de la flora deteriorante (Lougovois y Kyrana 2005).

Se han propuesto métodos químicos, físicos, microbiológicos y sensoriales para evaluar la frescura y calidad del pescado (Huss 1998; Abbas *et al.* 2008; Prabhakar *et al.* 2020). En general, ningún método aislado suele ser suficiente para determinar la calidad de estos productos, por lo que en términos generales, se recomienda el empleo conjunto de varios métodos de análisis (Morales *et al.* 1996; Massa 2006; Escribano *et al.* 2015).

En este sentido, distintos países han adoptado normativas con indicadores físico-químicos de descomposición y/o contaminación de los productos pesqueros, entre ellas, el Código Alimentario Argentino (CAA), el *Codex Alimentarius*, la Legislación de la Unión Europea (CE 854/2004), el Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos estadounidense (*U.S Food and Drug Administration*), la regulación canadiense (*Canadian Food Inspection Agency*) y la normativa de Brasil (IN N°21 2017). Particularmente, la normativa brasileña ha causado grandes inconvenientes para el ingreso de productos pesqueros argentinos a ese país. Dentro de ésta, se establecen valores límite de siete parámetros que el pescado congelado debe cumplir, entre ellos, valor de pH, contenido de nitrógeno básico volátil total (NBVT), niveles de fósforo total, contenido de sodio, contenido de potasio, relación entre el contenido de humedad y proteínas, y niveles de histamina en el tejido muscular. En este contexto, y a solicitud del SENASA, el objetivo del presente estudio fue realizar un relevamiento de aspectos técnicos de pH y otros

parámetros de calidad enmarcados en la legislación de Brasil y establecer valores de referencia de pH de merluza común (*M. hubbsi*).

6. RESULTADOS y DISCUSIÓN

La normativa de Brasil (IN N°27 - Art. 7, 2017) establece que:

I - El pH de la carne no debe ser superior a 7,0; excepto las carnes de las especies de las familias *Gadidae* y *Merlucciidae*, cuyo valor no debe ser mayor a 7,2.

El pH del músculo inmediatamente después de la captura es cercano a la neutralidad (pH 7). Los cambios autolíticos comienzan inmediatamente después de la muerte del pez. La interrupción de la circulación sanguínea priva al músculo del aporte de oxígeno y otros nutrientes celulares, el sistema mitocondrial deja de funcionar y tiene lugar la glucólisis anaerobia, acumulándose ácido láctico como producto final con la concomitante disminución del pH muscular hasta valores de 6,5 o inferiores (Love 1980; Kramer y Peters 1981; Haard 1992; Izquierdo-Pulido *et al.* 1992; Huss 1995; Massa 2006). Distintos estudios indican que el contenido de glucógeno, su velocidad de degradación y consecuentemente el descenso del pH del músculo varían según la especie, el tipo de músculo, el estado nutricional del pez, el grado de agotamiento al momento de la muerte y las condiciones de almacenamiento (Love y Haq 1970; De Vido de Mattio *et al.* 1992; Huss 1995; De Vido De Mattio *et al.* 2001; Contreras-Guzmán 2002; Ocaño-Higuera 2003; Massa 2006). Esta disminución del pH tiene un efecto determinante en la calidad de la carne (Tomlinson y Geiger 1962; Love 1980; Izquierdo-Pulido *et al.* 1992; Faergemand *et al.* 1995; Olafsdóttir *et al.* 1997), ya que se reduce la carga neta de la superficie de las proteínas musculares, causando su desnaturalización parcial y disminuyendo su capacidad de retener agua. El desarrollo bacteriano posterior produce los mayores efectos de alteración del pescado durante el almacenamiento, siendo la acumulación de los productos del metabolismo microbiano la causa principal de la aparición de olores y sabores desagradables (“*off-odour*”; “*off-flavour*”). El músculo de un pez sano es estéril; luego de la muerte fallan los sistemas de defensa y comienza la invasión y el desarrollo microbiano (Gram 1989; Ababouch *et al.* 1996). Estos microorganismos son responsables de la formación de una serie de compuestos básicos nitrogenados, entre ellos el amoníaco, la trimetilamina (TMA), la dimetilamina (DMA), monometilamina y propilamina (Reay y Shewan 1949; Hollingworth Jr. *et al.* 1990; Huidoboro y Tejada 1990). Debido a la acumulación de estas sustancias, conocidas en su conjunto como Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT), aumenta el pH muscular que puede llegar a superar el valor de 7,5.

Algunos valores de pH mostrados en distintos estudios de investigación realizados en productos de merluza común almacenados en refrigeración dentro de su vida útil comercial se muestran en la Tabla 1. En la misma se observa que existe una variación del valor de pH en los distintos productos. Diferentes estudios indican que resulta difícil relacionar un determinado valor de pH con el grado de frescura y calidad, ya que el pH final que alcanza el músculo depende de factores tanto intrínsecos como extrínsecos de los ejemplares: estación del año, estado nutricional, arte de pesca empleado, condiciones de procesamiento y almacenamiento (Huss 1995; Contreras-Guzmán 2002; Massa 2006). Por ejemplo, se ha determinado una variación estacional en el pH de merluza (*M. hubbsi*) almacenada en hielo (2-3 días), dentro del rango 6,90-7,07 (Tabla 2), que puede ser

relacionada con los movimientos migratorios de la especie. Posteriormente al desove, el pez realiza una extensa migración (meses de otoño y primavera) desde las aguas de la Patagonia Argentina hacia la zona del Río de la Plata, agotando sus reservas de glucógeno lo que resulta en mayores valores de pH en el músculo post-mortem (Méndez y González 1997).

Tabla 1. Valores de pH encontrados en productos de merluza (*M. hubbsi*) durante el almacenamiento en refrigeración.

TIPO DE MUESTRA	pH	REFERENCIA
Pescado entero almacenado en hielo (2-3 días)	6,96 ± 0,07	Méndez y González (1997)
Pescado entero almacenado en hielo (6 días)	6,8 - 7,1	Ciarlo <i>et al.</i> (1985)
Filete sin piel almacenado en refrigeración	7,01 ± 0,01	Marchetti <i>et al.</i> (2018)
Filete sin piel almacenado en refrigeración	6,83 ± 0,05	Marchetti (<i>com. pers.</i>)
Filete sin piel refrigerada en hielo	6,78 ± 0,11	Massa <i>et al.</i> (2019)
Merluza molida (almacenada 6 días a 4 °C)	6,95 ± 0,06	Delcarlo y Campos (<i>com. pers.</i>)
Merluza molida (almacenada al vacío 6 días a 4 °C)	6,40 ± 0,21	Delcarlo y Campos (<i>com. pers.</i>)
Filete sin piel (almacenado 5 días a 4 °C)	6,70 ± 0,10	Shelegueda y Campos (<i>com. pers.</i>)
Filete sin piel (almacenado en atmósfera modificada 5 días a 4 °C)	6,40 ± 0,10	Schelegueda y Campos (<i>com. pers.</i>)

Tabla 2. Composición proximal (g/100 g) y pH de tejido muscular de la merluza. Extraído y adaptado de Méndez y González (1997).

MES	PROTEÍNAS	AGUA	LÍPIDOS	CENIZAS	pH
Febrero	18,5	76,7	3,4	1,40	6,90
Marzo	15,7	81,2	1,1	1,40	nd
Abril	19,3	78,3	1,7	1,08	7,07
Julio	18,6	78,2	1,3	1,07	7,00
Septiembre	17,4	81,6	Traza	1,14	6,91
Diciembre	18,2	81,0	1,4	1,10	6,94

Media	17,9	79,5	1,5	1,20	6,96
Desviación estándar	1,2	2,0	1,1	0,16	0,07
Intervalo de confianza	---	1,6	0,9	0,13	0,06

Lupín *et al.* (1980) estudiaron la vida útil de la *M. hubbsi* capturadas en distintas estaciones del año (invierno y verano) acondicionadas en frío (hielo y agua de mar). Este trabajo, incluyó la evaluación sensorial, la determinación de bases nitrogenadas volátiles y los cambios en el valor pH a lo largo del almacenamiento. En la Figura 1, se puede observar que el pH inicial de ejemplares capturados en verano fue menor que en invierno. Además, estos autores observaron que durante el tiempo de almacenamiento, las variaciones de pH se ajustaban a un modelo lineal y observaron dos etapas muy marcadas. Una primera etapa con valores de pH relativamente constantes; y una segunda etapa donde se verifica un aumento significativo, atribuido principalmente al desarrollo de bacterias específicas del deterioro que produce, como ya se ha mencionado, la formación de compuestos básicos.

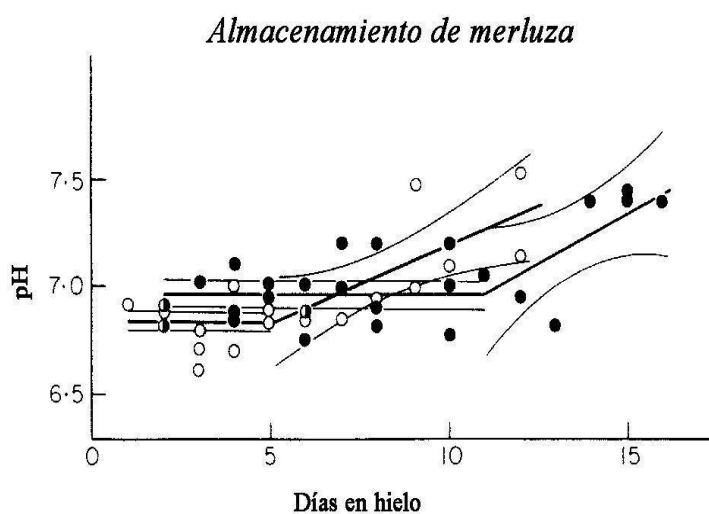


Figura 1. Valores de pH de merluzas (*M. hubbsi*) evisceradas capturadas en (●) invierno y en (○) verano. Extraído y adaptado de Lupín *et al.* (1980).

En base a los resultados obtenidos y considerando otros índices evaluados como el nitrógeno básico volátil y el análisis sensorial, estos autores establecieron un valor límite de pH 7,5 para el consumo humano de merluza refrigerada. No obstante, sugieren que el valor de pH no debe tomarse separado del resto de los índices de frescura. Asimismo, discuten sobre las técnicas de determinación de pH y señalan que existen diferencias entre los valores tomados introduciendo el electrodo de pH en una masa homogénea de

carne de pescado triturada y los valores tomados en suspensiones de músculo en agua destilada.

Ciarlo *et al.* (1985) evaluaron los cambios en el pH de merluza (*M. hubbsi*) a -20 °C y -30 °C y observaron un incremento lineal de este parámetro con el tiempo de almacenamiento, pero no se apreció un efecto de la temperatura. Estas tendencias se muestran en la Figura 2. Asimismo, se observa una importante dispersión en los valores de pH medidos en cada tiempo. Por otra parte, los cambios en el pH no mostraron una buena correlación con los cambios en la textura ni con el contenido de dimetilamina (DMA). Mediante evaluación sensorial y determinación de bases volátiles totales, los autores establecieron una vida útil de 12 meses para filete de merluza almacenado a -20 °C y -30 °C. Resulta interesante destacar que para este tiempo de almacenamiento, el pH del filete puede superar el valor 7,2, límite establecido por la legislación brasileña (Figura 2).

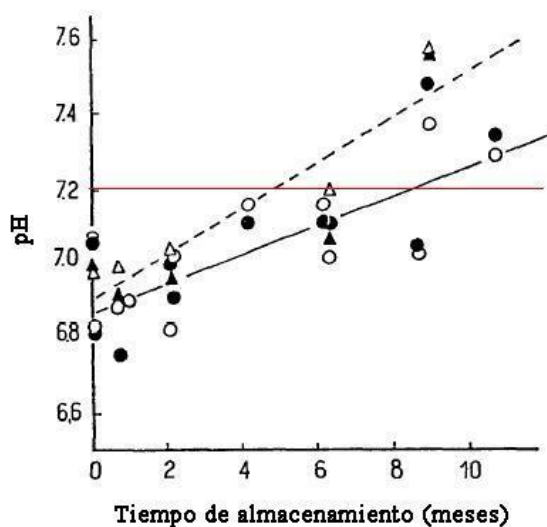


Figura 2. Cambios en el pH de merluza (*M. hubbsi*) durante el almacenamiento en congelación. Línea continua: filetes almacenados a -20 °C (○) y -30 °C (●); línea partida: minced almacenado a -20 °C (▲) y -30 °C (△). La línea roja indica el límite establecido por la legislación de Brasil. Extraído y adaptado de Ciarlo *et al.* (1985)

Respecto a las técnicas utilizadas para la determinación de pH, históricamente, se ha llevado a cabo empleando electrodos de vidrio acoplados a un *pHmetro*, los que se sumergen en suspensiones de carne de pescado en agua destilada. Por lo general, estas suspensiones se realizan homogeneizando 10 g de carne con 10 mL de agua destilada durante 1 minuto y se dejan estabilizar a temperatura ambiente (Pastoriza y Sampedro 1994), aunque también se emplean proporciones de 1:10 músculo:agua (Nontratip *et al.* 1991) o con agregados de sustancias para favorecer la extracción, por ejemplo, 5 g de músculo en 2 volúmenes de iodoacetato de sodio 2 mM (Vyncke 1981; Watabe *et al.* 1989).

Dado que no existe un protocolo bien definido y estandarizado para esta determinación, y que el agua destilada de los laboratorios tiene distinto pH dependiendo tanto de la forma de obtenerla como del tiempo de almacenamiento, este método se hace poco exacto y los valores de pH informados pueden diferir del de la propia carne del animal.

Desde la década del 90, y debido a los avances en electrónica, a la miniaturización de los dispositivos y al diseño de electrodos de penetración para alimentos sólidos, es común la medición del pH directamente en el animal, dentro del músculo, rebajando una fina capa para sacar parte de superficie y pinchando con el electrodo (Ryder *et al.* 1993; Badiani *et al.* 1997; Liu *et al.* 2020). Al respecto, estudios comparativos en varias especies pesqueras mostraron que el pH del músculo picado homogeneizado es en promedio 0,12 unidades más alto que el pH medido directamente en el pescado (Vyncke 1981). Por otro lado, ensayos realizados en bacalao mostraron que el pH de la sección de la cola del filete era en promedio 0,1 unidades de pH más baja que en la sección de la cabeza, debido a un deterioro más rápido en esa parte del pescado (Vyncke 1981). Actualmente, se están desarrollando metodologías no destructivas de control de pH sobre la superficie de los animales, en la fase acuosa superior de los cajones o paquetes de pescado, aunque todavía no se han logrado resultados satisfactorios para usarlos como normativa (Heising *et al.* 2014; Pavase *et al.* 2018).

La Norma ISO 2917: 1999 (*Meat and Meat products, Measurements of pH – Reference Method*) especifica el método de referencia para la medición de pH de todo tipo de carnes y productos cárnicos. Este método es aplicable a productos que pueden ser homogeneizados y también para mediciones no destructivas. Para dichas determinaciones, se deben utilizar reactivos de reconocido grado analítico y agua destilada, al menos grado 3 (pH = 5-7,5 y conductividad < 0,5 μScm^{-1} , a 25 °C), en concordancia con la Norma ISO 3696 (2004).

En Argentina, los laboratorios de fiscalización utilizan la técnica potenciométrica de medición de pH tanto en muestras de pescado homogeneizadas como de forma directa. En la primera, la muestra de músculo de pescado es uniformado mediante; al menos, dos pasajes por una máquina picadora. Si la misma está muy seca, puede ser mezclada con una masa igual de agua previamente hervida y enfriada (Norma IRAM 15060 Parte 1). Para la toma directa de pH, el electrodo se introduce en un orificio realizado en el músculo del pescado (Norma IRAM 15060 Parte 2).

Por otro lado, el pH del filete congelado puede aumentar durante su elaboración debido a la aplicación de tratamientos, por ejemplo con fosfatos o polifosfatos (De Almeida Lemos y Gonçalves 2019). Estos compuestos tienen la capacidad de restaurar la capacidad de retención de agua de las proteínas musculares, por lo que son utilizados como aditivos en la industria pesquera con el fin de reducir o prevenir las pérdidas de peso del pescado por goteo durante el proceso de la descongelación y cocción. Estas pérdidas dan lugar a un descenso del rendimiento y también a una disminución de la calidad sensorial y nutricional, por la pérdida de minerales, vitaminas y proteínas solubles (Thorarinsdottir *et al.* 2004; Johnsen *et al.* 2009). La manera de actuar del polifosfato se basa en su capacidad de disolución de las proteínas de la superficie del filete de pescado, lo que da lugar a una gelificación que origina la formación de una película de proteína que impide la pérdida de los fluidos del músculo. De esta forma, el tratamiento de los filetes de pescado con distintas

disoluciones de polifosfatos mejora la apariencia del producto en el empaque de venta además de eliminar las pérdidas de peso debido al goteo que se produce en la descongelación y cocción (Sampedro *et al.* 1978). Sin embargo, su uso inadecuado promueve la absorción excesiva de humedad lo que puede conllevar a un fraude económico al consumidor (Gonçalves 2012). Por otro lado, es importante mencionar que los fosfatos tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas que contribuyen a prolongar la vida útil de los productos pesqueros.

Los denominados polifosfatos constituyen un amplio grupo de compuestos cuya estructura base es el ácido ortofosfórico y se encuentran debidamente aprobados e identificados como aditivos alimentarios por el Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (CX/FFP 14/33/11). En productos pesqueros, los más utilizados son el tripolifosfato de sodio (STPP, INS 451i) o sus mezclas con hexametáfosfato de sodio (SHMP, INS 452i), pirofosfato ácido de sodio (SAPP, INS 450i) y/o pirofosfato tetrasódico (TSPP, INS 450iii) (Gonçalves 2012). El empleo de polifosfatos como humectantes en productos pesqueros se encuentra reglamentado en distintas legislaciones (Brasil, 1988 y 2003; *US Code of Federal Regulations, 2020*; *Canadian Food Inspection Agency, 2020*; *European Parliament and Council, 1995*). En particular, Brasil admite el uso de polifosfatos en productos pesqueros luego de la congelación, adicionado como recubrimiento externo en la etapa de glaseado, con una concentración máxima en el producto final de 0,5 g/100g (Brasil 1988), siendo prohibido el uso de STPP antes de la congelación (Brasil 2003). Debe destacarse que, si bien el empleo de polifosfatos conlleva a un aumento moderado del pH de carne de pescado, el valor alcanzado en filetes congelados dependerá del pH inicial del músculo y por lo tanto, valores relativamente elevados de pH no deben asociarse directamente al uso abusivo de polifosfatos en productos pesqueros (De Almeida Lemos y Gonçalves 2019).

De acuerdo a lo expuesto, se considera que el valor de pH es un parámetro poco preciso, que no podría ser utilizado como único criterio concluyente de frescura e inocuidad del pescado. Su empleo puede tener significancia si se lo considera conjuntamente con otros análisis químicos microbiológicos y sensoriales (De Almeida Lemos y Gonçalves 2019). Ruiz-Capillas y Moral (2001), determinaron una asociación moderada entre el valor de pH y otros índices de calidad en *M. merluccius*, por lo cual concluyeron que el uso de este parámetro no sería adecuado para determinar la frescura del producto. En este sentido, es importante mencionar que en el año 2019 se modificó el Código Alimentario Argentino (artículos 271 a 277), eliminándose el pH como índice de calidad y estableciéndose las características sensoriales, el contenido de NBVT, histamina y determinaciones microbiológicas como parámetros para establecer la aptitud del pescado para el consumo humano.

II – El Nitrógeno básico volátil total NBVT no debe ser superior a 30 mg de N/100 g de tejido muscular, excepto para especies de las familias (a) *Salmonidae*, *Gadidae* y *Merlucciidae* que no deben superar los 35 mg de N/100g tejido muscular y (b) *Elasmobranquios* que no deben superar los 40 mg de N/100 g de tejido muscular.

Con la denominación general de nitrógeno básico volátil (NBVT) se conoce al conjunto de amoníaco, trimetilamina (TMA), dimetilamina, monometilamina y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados al deterioro bacteriano de los productos

pesqueros (Huss 1998). El hecho de que con el NBVT se determine más de una sustancia le confiere gran validez como indicador de descomposición, razón por la cual es un índice ampliamente utilizado en el control de productos pesqueros (Calabrese y Werner 1977). Sin embargo, algunos autores indican que este índice proporciona información ambigua sobre la calidad, ya que los niveles de NBVT aumentan en etapas avanzadas del almacenamiento cuando sensorialmente la descomposición es evidente (Howgate, 2010 a, b). Otra de las limitaciones del uso del NBVT como índice de frescura o deterioro, es el hecho que presenta niveles variables en función de la especie, estación del año, hábitat, método de almacenamiento, etc. En general, se acepta que el proceso de congelación no afecta demasiado el valor del contenido de NBVT. Sin embargo, en estudios de tiempo de almacenamiento de *M. hubbsi* se observaron diferencias en los contenidos de NBVT entre muestras frescas y congeladas de la misma partida (Ciarlo *et al.* 1987). Asimismo, diversos estudios han evidenciado que el NBVT depende de la metodología aplicada para su determinación (Calabrese y Werner 1977; Vyncke 1996).

El Código Alimentario Argentino (Capítulo VI Artículo 272 bis) permite un máximo de 30 mg/100 g de carne para muestras de teleósteos marinos, tales como peces planos, merluza común, merluza de cola y austral. Este índice puede determinarse mediante distintas metodologías: destilación de un extracto desproteínizado con ácido tricloroacético (*Codex Alimentarius* 1968), destilación directa (Antonacopoulos 1968) o por destilación de un extracto desproteínizado mediante ácido perclórico (Reg. CE 2074/2005). La Unión Europea (2005) propuso como límite máximo: 25 mg/100 g de carne en el caso de scorpaenidos, 30 mg/100 g en el caso de lenguados (*Pleuronectidae* excepto *Hippoglossus* sp.) y 35 mg/100 g para especies que pertenezcan a la familia *Merlucciidae* y *Gadidae* y para la especie *Salmo salar*. Este último valor es concordante con los límites establecidos por la norma brasilera.

III – Los valores de fósforo total no deben exceder de 5,0 g de P₂O₅/kg de tejido muscular.

Como se mencionó previamente, los fosfatos tienen una amplia aplicación en la industria pesquera como un agente mejorador de la calidad (Gonçalves y Ribeiro Duarte 2008b, a; Kilinc *et al.* 2009; Son Long *et al.* 2011; De Almeida Fonseca 2012).

La Norma General para los aditivos alimentarios (CODEX STAN 192-1995) revisada en 2014 establece una dosis máxima de polifosfatos de 2200 mg de P₂O₅/kg de tejido muscular. Esta dosis es significativamente inferior al valor establecido por la normativa brasileña, que permite un contenido de 5000 mg de P₂O₅/kg de tejido muscular y que contempla el contenido de fosfato naturalmente presente en pescado. En este contexto, es importante mencionar que el valor del fosfato presente depende de la especie, las condiciones ambientales, la ubicación geográfica y las condiciones de captura entre otras variables (De Almeida Lemos y Gonçalves 2019).

Bisenius *et al.* (2019) evaluaron el efecto de distintos fosfatos sobre la composición química de filetes de bacalao y observaron que 8 de 13 muestras tratadas con polifosfatos excedían el límite legal 5000 mg de P₂O₅/kg. Por ello, sugirieron el uso de la relación porcentual entre el contenido de P₂O₅ y el de proteína para evaluar la adición de fosfatos en carnes y productos cárnicos (Bertram *et al.* 1996). Para filetes de bacalao Bisenius *et*

al. (2019) proponen que un valor de la relación porcentual P_2O_5 /Proteína de 1,7 o mayor indicaría el uso de fosfatos y que en ausencia de fosfatos se obtendría un valor de $1,1 \pm 0,2$. Al respecto de esta relación, es importante considerar la falta de estudios sobre el contenido de fósforo natural presente en las distintas especies pesqueras argentinas.

IV – El contenido de sodio no debe superar los 134 mg de Na/100 g de tejido muscular.

El valor máximo establecido por la legislación brasileña se encuentra dentro de lo informado en distintos estudios (Huss 1995). Sin embargo, hay que tener en cuenta que el contenido de macroelementos varía entre especies (tamaño del animal, sexo, edad, maduración sexual, tipo de alimento, etc.) y dentro de la misma especie por factores ambientales como zona de captura, disponibilidad de alimento, etc. (Sidwell *et al.* 1977). Las diferentes familias de peces teleósteos poseen un rango de valores de sodio diverso, por ejemplo las especies pelágicas, como las anchoas (*Engraulidae*) poseen valores de 115 ± 23 mg de sodio/100 g y los atunes (*Scombridae*) de 66 ± 5 mg de sodio/100 g, mientras que especies demersales costeras como las corvinas y pescadillas poseen valores de 109 ± 27 mg, a diferencia de las especies demersales de aguas más profundas como las merluza y los abadejos (*Gadidae*) que poseen valores de 82 ± 1 sodio/100 g (Sidwell *et al.* 1977).

V – El contenido de potasio no debe ser mayor de 502 mg de K/100 g de tejido muscular.

El valor establecido se encuentra dentro de lo informado en bibliografía (Huss 1995, Venugopal y Shahidi 1996). Este valor también es variable dependiendo de la especie y de factores biológicos así como ambientales. Un ejemplo de ello se presenta en los datos reportados por Sidwell *et al.* (1977), donde las anchoas (*Engraulidae*) poseen valores de 356 ± 51 mg de potasio/100 g, los atunes (*Scombridae*) de 320 ± 27 mg de potasio/100 g, mientras que las corvinas y pescadillas poseen valores de 259 ± 45 mg de potasio/100 g y las merluzas (*Gadidae*) valores de 364 ± 17 de potasio/100 g.

VI - La relación entre el contenido de humedad y proteínas en músculo no debe ser mayor a 6,0 (seis), a excepción de: (a) *Oreochromis sp.* y las especies de la familias *Salmonidae*, *Clupeidae* y *Scombridae* que no debe superar 5,0 (cinco); (b) las especies de las familias *Paralichthyidae*, *Ophidiidae*, *Serranidae* y *Pleuronectidae* que no debe ser mayor a 6,5.

La composición del músculo del pescado varía considerablemente entre las distintas especies así como también entre individuos de la misma especie, dependiendo de la edad, sexo, estado fisiológico, hábitat y época del año, entre otros factores. El agua constituye el componente mayoritario, variando normalmente dentro del rango 66-81 g/100 g (%), seguido por las proteínas que en general se encuentran entre 11 % y 28 % (Huss 1998; Venugopal y Shahidi 1996; Van Ruth *et al.* 2014). Para distintas especies, se han encontrado correlaciones inversas entre contenido de agua y proteínas y también

para contenido de agua y lípidos (Calabrese 1966; Chiodi 1966, 1968; Love 1970; Yeannes y Almandos 2003; Lloret *et al.* 2008). Yeannes y Almandos (2003) estudiaron la relación entre el contenido de los componentes mayoritarios del músculo (proteínas, lípidos y cenizas) y el contenido de agua del mismo. A partir de la recopilación de datos bibliográficos de composición química proximal de 187 especies pesqueras, las autoras establecieron una mejor correlación entre contenido de proteínas y contenido de agua para especies magras como la merluza, mientras que para especies grasas se determinó una correlación entre contenido de lípidos y contenido de agua. Para especies magras, trabajaron con datos en el rango ~73-85 % para contenido de agua, ~13-23 % para proteínas y ~0-4 % para lípidos. En el caso de especies grasas, el rango fue ~63-83 % para contenido de agua, ~13-27 % para proteínas y ~0-16 % para lípidos (Yeannes y Almandos 2003).

En cuanto a los valores de proteína determinados en *M. hubbsi*, los mismos hacen referencia principalmente al músculo (porción comestible), aunque recientemente estudios para evaluar el potencial reproductivo de esta especie han determinado el contenido de proteínas en gónadas e hígado (Leonarduzzi 2018). Los datos descritos en músculo varían entre 15,9-18,0 % (Chiodi 1966); 17,2 % (Chiodi 1968); 17,5 % (VNIRO 2000) y 8,5-23,3 % para ejemplares post-desove y pre-desove, respectivamente (Leonarduzzi 2018). Ésta marcada baja en fase de post-desove aportó evidencias del uso de ciertas proteínas corporales para el desarrollo ovárico. Respecto a la zona de captura, Leonarduzzi (2018) no evidenció diferencias significativas en músculo de merluza de hembras maduras capturadas en distintas zonas reproductivas del golfo San Jorge (externa e interna) del Mar Argentino, encontrando un contenido medio de proteínas de 15,0 %.

En gónada, el contenido proteico varió entre 3,3 % y 23,1 % y en hígado entre 10,7 % y 33,3 % (Leonarduzzi 2018). Los valores proteicos encontrados en *M. merluccius* fueron similares, entre 3 % y 25 % en gónadas, 1,8 % y 15 % en hígado y entre 7,5 % y 20 % en músculo (Domínguez-Petit 2006).

Por su parte, el contenido de agua en músculo de *M. hubbsi* varía entre 78 % y 83 % dependiendo del estadio gonadal, observándose los menores valores antes del desove y los mayores después del mismo (Leonarduzzi 2018). Otros estudios en esta especie determinaron un contenido de agua de 78,7-82,1 % (Chiodi 1966); 80,2 % (Chiodi 1968); 76,7-81,6 % (Méndez y González 1997), 74,1-82,1 % (Leonarduzzi *et al.* 2014) mientras que Eder y Lewis (2005) hacen referencia a variaciones en el rango 76,4-78,1 % para individuos enteros.

En el caso de merluza europea (*M. merluccius*), Pérez-Villarreal y Howgate (1987) informan un contenido de humedad en el rango de 76,2-81,8 % y uno de nitrógeno total en el rango de 2,82-3,15 (correspondiente a contenido de proteínas entre 17,6 % y 19,7 %). El contenido de proteínas es alto en invierno y bajo en verano mientras que el contenido de agua muestra la tendencia contraria.

El agregado de agua al pescado es una práctica común y está reglamentada en distintas legislaciones. Por ésto, es importante contar con valores de referencia en cuanto al contenido de humedad y de proteínas, así como también sus rangos de variación, de las

diferentes especies que se comercializan a fin de poder distinguir el agua agregada de la propia (Chiodi 1966; Chiodi 1968; Love y Haq 1970; Bisenius *et al.* 2020). Por otra parte, si se adicionan fosfatos o polifosfatos, al aumentar la capacidad de retención de agua, la relación contenido de humedad/proteínas aumenta. En carnes, a esta relación se la denomina “Número de Feder” y se la utiliza como un indicador de la cantidad de agua agregada, la cual si excede los límites permitidos constituye una adulteración (Bisenius *et al.* 2019). Como se ha visto en secciones anteriores, el uso correcto de polifosfatos en pescado preserva la humedad natural del músculo, llevando a productos con una mejor textura y calidad sensorial (Gonçalves, 2008). Según De Almeida Lemos y Gonçalves (2019), estas características pueden obtenerse con una relación humedad-proteína dentro de los límites establecidos por la legislación de Brasil.

Sin embargo, es importante mencionar que el pronunciado descenso del contenido de proteínas observado en ejemplares de merluza post-desove (Leonarduzzi 2018), puede dar lugar a una relación humedad/proteínas por encima de 6, límite establecido en la normativa de Brasil, sin implicar un uso incorrecto de polifosfatos. Por ello, es necesario contar con valores de referencia de la composición química proximal de la especie de interés (en distintas condiciones biológicas y ambientales) a fin de prevenir el rechazo infundado de partidas.

VII- Los niveles de histamina no deben superar los 100 mg/kg de tejido muscular, para especies de las familias *Carangidae*, *Gempylidae*, *Istiophoridae*, *Scombridae*, *Scombrosocidae*, *Engraulidae*, *Clupeidae*, *Coryphaenidae* e *Pomatomidae* y ninguna unidad de muestra puede presentar un resultado superior a 200 mg/kg.

Estos valores coinciden con los establecidos en el Código Alimentario Argentino (CAA-Art. 272 bis) y con otras normativas internacionales, entre ellas, la Norma para filetes de pescado congelados rápidamente del *Codex Alimentarius* (CODEX STAN 190-1995) y el reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Unión Europea. Es importante mencionar que en estas normativas mencionadas, únicamente se hace referencia a ciertas familias de peces. Las especies incluidas son aquellas susceptibles a la formación de histamina por el alto contenido de histidina libre en sus tejidos (FAO/WHO, 2012). A diferencia de las especies de músculo oscuro, la descomposición de especies de músculo blanco, como el género *Merluccius*, no causa acumulación de histamina en su parte comestible (Prester *et al.* 2009). Por lo tanto, esta determinación es poco adecuada como indicador de calidad para estas especies (Prester 2016).

7. CONCLUSIONES FINALES Y RECOMENDACIONES

- El valor de pH no es adecuado ni suficiente como parámetro para evaluar la calidad de pescado, ya que varía según la especie, el tipo de músculo, el estado nutricional del pez, el grado de agotamiento al momento de la muerte y las condiciones de procesamiento y almacenamiento.
- La preparación y toma de muestra, así como el método utilizado para la determinación del pH, son factores determinantes del valor obtenido. En este sentido, se recomienda establecer y seguir protocolos estandarizados y normatizados.
- Un valor de pH superior a 7,2 puede indicar pérdida de frescura y/o el uso inadecuado de polifosfatos. Al respecto, se recomienda incluir otros índices fisicoquímicos y sensoriales de calidad. Es importante mencionar que el análisis sensorial constituye una herramienta clave para la evaluación de la calidad global del pescado, siendo ampliamente utilizada por la comunidad científica, el sector industrial y los entes de fiscalización.
- La variación estacional que presenta la *M. hubbsi* en su composición química proximal, inherente al ciclo reproductivo, puede llevar a valores para la relación del contenido de humedad y proteínas por encima del límite establecido por la legislación de Brasil.
- Sería recomendable incluir otros parámetros de frescura y calidad, como NBVT y la relación directa entre el contenido de fósforo y proteínas, para determinar la aptitud comercial de la *M. hubbsi* y otras especies ícticas.
- De este análisis se infiere que son limitados los trabajos sobre los aspectos técnicos considerados en este informe, por lo que se debieran propiciar estudios de caracterización fisicoquímica y nutricional, así como el monitoreo de las modificaciones que se producen durante el almacenamiento y procesamiento de productos provenientes de nuestra ictiofauna, particularmente para las especies comerciales.
- Existe una tendencia mundial a evaluar calidad mediante técnicas no destructivas, por lo que recomendamos explorar el desarrollo de las mismas en nuestro país.

REFERENCIAS

- Ababouch L.H., Souibri L., Rhaliby K., Ouahdi O., Battal M., Busta F.F. (1996). Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. *Food Microbiology* 13:123-132. <https://doi.org/10.1006/fmic.1996.0016>
- Abbas K.A., Mohamed A., Jamilah B., Ebrahimian M. (2008). A review on correlations between fish freshness and pH during cold storage. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 4:416-421. <http://doi.org/10.3844/ajbbsp.2008.416.421>
- Badiani A., Stipa S., Nanni N., Gatta P.P., Manfredini M. (1997). Physical indices, processing yields, compositional parameters and fatty acid profile of three species of cultured sturgeon (Genus *Acipenser*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74:257-264. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199706\)74:2%3C257::AID-JSFA801%3E3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199706)74:2%3C257::AID-JSFA801%3E3.0.CO;2-K)
- Bertram J., Soika B., Timmermann D. (1996). Study of the investigation of the 'P-Zahl' in raw turkey breastmuscle and its change because of defined additives of phosphate. *Fleischwirtschaft* 76:904–906.
- Bisenius S., Ludmann M., Neuhaus H., Effkemann S., Heemken O., Bartelt E., Haunhorst E., Kehrenberg C. (2019). The impact of food additives on the chemical composition in cod (*Gadus morhua*): a comparative study. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* 14:329-339. <https://doi.org/10.1007/s00003-019-01247-z>
- Bisenius S., Neuhaus H., Effkemann S., Heemken O., Bartelt E., Lang T., Haunhorst E., Kehrenberg C. (2020). Composition of herring and cod fillets from the North and the Baltic Sea – Detecting added water. *Food Control* 107:106766. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106766>
- CAA Código Alimentario Argentino. Capítulo VI. Alimentos Cárneos y Afines. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_VI.pdf
- Calabrese R.H. (1966). Correlación entre agua y lípidos en merluza, caballa y anchoíta del Mar Argentino. (*Merluccius hubbsi*, *Scomber japonicus marplatenses*, *Engraulis anchoíta*). Documento Técnico 212.
- Calabrese R.J., Werner J. (1977). Evaluación de algunos métodos de determinación de NBV y su importancia en la comercialización del pescado. URL: [http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s09.htm\(05/06/2015\)](http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s09.htm(05/06/2015)) .
- CCAC (2005). Canadian Council on Animal Care. Guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing.
- Chiodi O.R. (1966). Variaciones estacionales en la composición química de la merluza del Atlántico Sudoccidental. Industrialización. CARPAS 3, Documento Técnico 444.
- Chiodi O.R. (1968). Composición química de pescados y mariscos capturados en el Atlántico sudoccidental (sector Provincia de Buenos Aires). Departamento de Investigaciones Pesqueras, Buenos Aires.
- Ciarlo A.S., Boeri R.L., Giannini D.H. (1985). Storage life of frozen blocks of patagonian hake (*Merluccius hubbsi*) filleted and minced. *Journal of Food Science* 50:723-726. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13782.x>
- Ciarlo S.A., Almandos M.E., Boeri R.L., Paredi M.E., Yeannes M.I., Giannini D.H. (1987). Incremento en el contenido de bases volátiles (NBV) debido al proceso de congelación de Merluza (*Merluccius hubbsi*). *Revista de Ciencias Agrarias* 8:29-33.
- Codex Alimentarius*. 1991. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission, Nineteenth Session, Rome: 1–10 July 1991, Report of the

- Nineteenth Session of the Codex Committee on Fish and Fishery Products (11–15 June 1990), p. 1–61. Bergen, Norway: Codex Alimentarius, 1990.00
- Codex Alimentarius (2009). Code of practice for fish and fishery products. First edition. WHO/FAO.
- Codex Alimentarius (2012). Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros. Segunda edición. OMS/FAO.
- CODEX STAN 190-1995. Norma para filetes de pescado congelados rápidamente.
- CODEX STAN 192-1995 (2017). Norma general para los aditivos alimentarios.
- Contreras-Guzmán E. (2002). Bioquímica de pescados e invertebrados, Santiago, Chile.
- CX-CF14/33/11 (2014). Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del codex sobre pescado y productos pesqueros. Disposiciones propuestas sobre aditivos alimentarios en las normas para el pescado y los productos pesqueros.
- De Almeida Fonseca J.M. (2012). Acompanhamento das atividades do laboratório de controle físico-químico de produtos de origem animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, 34 pp.
- De Almeida Lemos L.L., Gonçalves A.A. (2019). Can pH and Water-to-Protein Ratio be Good Instruments to Evaluate the Abusive Water Added in Seafood by Phosphate Addition? *Journal of Aquatic Food Product Technology* 28:298-313. <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1580809>
- De Vido de Mattio N., Paredi M.E., Crupkin M. (1992). Post mortem changes in glycogen, ATP, hypoxanthine and 260/250 absorbance ratio in extracts of adductor muscles from *Aulacomya ater ater* (Molina) at different biological conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 103:605-608. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(92\)90296-3](https://doi.org/10.1016/0300-9629(92)90296-3)
- De Vido De Mattio N., Paredi M., Crupkin M. (2001). Influence of the gonadal cycle and food availability on postmortem changes in glycogen, adenosine triphosphate, hypoxanthine, and the 260/250 absorbance ratio in adductor muscles from scallop *Aequipecten tehuelchus* (D'Orbigny, 1846). *Journal of Shellfish Research* 20:111-115.
- Domínguez-Petit R. (2006). Study of the reproductive potential of the *Merluccius merluccius* in the galician shelf. PhD. Universidade de Vigo, Instituto de Investigaciones Mariñas, 253 pp.
- Eder E., Lewis M. (2005). Proximate composition and energetic value of demersal and pelagic prey species from the SW Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 291:43-52. <http://doi.org/10.3354/meps291043>
- Escribano E., Massa A., Yeannes M.I. (2015). Desarrollo del método del índice de calidad (QIM) para evaluar la frescura de la merluza común (*Merluccius hubbsi*) almacenada en hielo. *La Industria Cárnica Latinoamericana* 197:48-54.
- Faergemand J., Rønsholdt B., Alsted N., Borresen T. (1995). Fillet texture of rainbow trout as affected by feeding strategy, slaughtering procedure and storage post mortem. *Water Science and Technology* 31:225-231. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00443-Q](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00443-Q)
- FAO/WHO (2012). Joint FAO/WHO expert meeting on the public health risks of histamine and other biogenic amines from fish and fishery products, Rome, Italy, pp 138.
- Gonçalves A.A., Ribeiro Duarte J.L. (2008a). Optimization of the freezing process of red shrimp (*Pleoticus muelleri*) previously treated with phosphates. *International Journal of Refrigeration* 31:1134-1144. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2008.03.005>
- Gonçalves A.A., Ribeiro Duarte J.L. (2008b). Do phosphates improve the seafood quality? Reality and legislation. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 3:237-247.

- Gonçalves A.A. (2012). Phosphates for seafood processing. En: Akita D., Iwate C. (eds) Phosphates: Sources, Properties and Applications. Nova Science, pp 83-112.
- Gram L. (1989). Identification, characterization, and inhibition of bacteria isolated from tropical fish. PhD. The technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and The Royal Veterinary and Agricultural University.
- Haard N.F. (1992). Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. Food Research International 25:289-307. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(92\)90126-P](https://doi.org/10.1016/0963-9969(92)90126-P)
- Heising J.K., Bartels P.V., van Boekel M.A.J.S., Dekker M. (2014). Non-destructive sensing of the freshness of packed cod fish using conductivity and pH electrodes. Journal of Food Engineering 124:80-85. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.008>
- Hollingworth Jr. T.A., Wekell M.M., Sullivan J.J., Torkelson Jr. J.D., Throm H.R. (1990). Chemical indicators of decomposition for raw surimi and flaked artificial crab. Journal of Food Science 55:349-352. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06760.x>
- Howgate P. (2010a). A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 1. Determination. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 9:29-57.
- Howgate P. (2010b). A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 2. Formation of the bases, and application in quality assurance. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 9:58-88.
- Huidoboro A., Tejada M. (1990). Determinación analítica de los compuestos nitrogenados no proteicos en el músculo de pescado. Aplicación al control de calidad. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos 30:293.
- Huss H.H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. En: Huss H.H. (ed) FAO Fisheries Technical Paper. Rome, pp 348.
- Huss H.H. (1998). El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, pp 202. <http://www.fao.org/3/v7180s/v7180s00.htm>
- Instrução Normativa N° 21, de 31 de Maio de 2017. Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Izquierdo-Pulido M.L., Hatae K., Haard N.F. (1992). Nucleotide catabolism and changes in texture indices during ice storage of cultured sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Journal of Biochemistry 16:173-192. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1992.tb00444.x>
- Johnsen S., Jørgensen K., Birkeland S., Skipnes D., Skåra T. (2009). Effects of phosphates and salt in ground raw and cooked farmed cod (*Gadus morhua*) muscle studied by the water holding capacity (WHC), and supported by 31P-NMR measurements. Journal of Food Science 74:C211-C220. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01086.x>
- Kilinc B., Cakli S., Cadun A., Sen B. (2009). Effects of phosphate dip treatments on chemical, microbiological, color, textural, and sensory changes of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. Journal of Aquatic Food Product Technology 18:108-119. <https://doi.org/10.1080/10498850802581807>
- Kramer D.E., Peters M.D. (1981). Effect of pH and pre-freezing treatment on the texture of yellowtail rockfish (*Sebastes flavidus*) as measured by the Ottawa Texture Measuring System 16:493-504. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb01842.x>

- Leonarduzzi E., Rodrigues K.A., Macchi G.J. (2014). Proximate composition and energy density in relation to Argentine hake females (*Merluccius hubbsi*) morphometrics and condition indices. Fisheries Research 160:33-40. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2014.04.017>
- Leonarduzzi E. (2018). Bioenergética y condición nutricional de la merluza común, *Merluccius hubbsi*, del efectivo Patagónico y sus implicancias en el potencial reproductivo de la especie. PhD. Facultad De Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar Del Plata 197 pp.
- Liu Y., Liu H., Yao Z., Diao Y., Hu G., Zhang Q., Sun Y., Li Z. (2020). Fabrication, improved performance, and response mechanism of binary Ag–Sb alloy pH electrodes. Electrochimica Acta 337:135746. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.135746>
- Lloret J., Demestre M., Sanchez-Pardo J. (2008). Lipid (energy) reserves of European hake (*Merluccius merluccius*) in the north-western Mediterranean. Vie et milieu -Life and Environment 58:75-85.
- Lougovois V., Kyrana V. (2005). Freshness quality and spoilage of chill-stored fish. En: Riley A.P. (ed) Food Policy, Control and Research, pp 35-86.
- Love R.M., Haq M.A. (1970). The connective tissues of fish III. The effect of pH on gaping in cod entering rigor mortis at different temperatures Journal of Food Technology 5:241-248. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1970.tb01563.x>
- Love R.M. (1980). The Chemical Biology of Fishes. Academic Press
- Lupin H.M., Giannini D.H., Boeri R.L., Davidovich L.A. (1979). Conservación de merluza en hielo. La Alimentación Latinoamericana 117:6-23.
- Lupín H.M., Giannini D.H., Soulé C.L., Davidovich L.A., Boeri R.L. (1980). Storage life of chilled Patagonian hake (*Merluccius hubbsi*). Journal of Food Technology 15:285-300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb00941.x>
- Marchetti M.D., García Loredo A.B., Yeannes M.I. (2018). Salado húmedo de merluza: evaluación de aspectos fisicoquímicos y de color, determinación de parámetros cinéticos y coeficientes de transferencia de masa. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas CLICAP. San Rafael, Mendoza- Argentina, pp 12.
- Massa A. (2006). Cambios bioquímicos post-mortem en músculo de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío. PhD. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata, 236 pp.
- Massa A., Fernandez Compas A., Machiavello G., Vittone M. (2019). Parámetros de calidad establecidos por brasil para productos pesqueros congelados. Valores de referencia para merluza común (*Merluccius hubbsi*), mero (*Acanthistius patachonicus*), saraca (*Brevoortia aurea*), caballa (*Scomber colias*), pescadilla de red (*Cynoscion guatucupa*) y pez palo (*Percophis brasiliensis*). Informe de Investigación INIDEP N° 60/20198.
- Méndez E., González R.M. (1997). Seasonal changes in the chemical and lipid composition of fillets of the Southwest Atlantic hake (*Merluccius hubbsi*). Food Chemistry 59:213-217. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00225-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00225-7)
- Morales P., Haza A., Ikken Y., Martinez A., Sanz B., Hernández P. (1996). Freshness and quality of fish: inspection and evaluation. II Evaluation methods. Alimentación, Equipos y Tecnología 15:139-147.
- Nontratip A., S. W., H. Y. (1991). Post-mortem glycolysis and ATP degradation in the muscle of ascidian *Halocynthia roretzi*. Nippon Suisan Gakkaishi 57:761-766. <https://doi.org/10.2331/suisan.57.761>

- Ocaño-Higuera V.M. (2003). Efecto de la temperatura sobre la fisiología antemortem y la bioquímica postmortem, calidad y vida de anaquel del músculo abductor en la almeja mano de león (*Nodipecten subnodosus*). DSc. Centro de investigación en alimentación y desarrollo. Hermosillo, Sonora Mexico.
- Olafsdóttir G., Martinsdóttir E., Oehlenschläger J., Dalgaard P., Jensen B., Undeland I., Mackie I.M., Henehan G., Nielsen J., Nilsen H. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology* 8:258-265. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01049-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01049-2)
- Pastoriza L., Sampedro G. (1994). Influence of ice storage on ray (*Raja clavata*) wing muscle. *Journal of the Science of Food Agriculture and Environment* 64:9-18. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740640103>
- Pavase T.R., Lin H., Hussain S., Li Z., Ahmed I., Lv L., Sun L., Shah S.B.H., Kalhor M.T. (2018). Recent advances of conjugated polymer (CP) nanocomposite-based chemical sensors and their applications in food spoilage detection: A comprehensive review. *Sensors Actuators B: Chemical* 273:1113-1138. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.06.118>
- Pérez-Villarreal B., Howgate P. (1987). Composition of European hake, *Merluccius merluccius*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 40:347-356. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740400408>
- Prabhakar P.K., Vatsa S., Srivastav P.P., Pathak S.S. (2020). A comprehensive review on freshness of fish and assessment: Analytical methods and recent innovations. *Food Research International* 133:109157. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109157>
- Prester L., Macan J., Varnai V.M., Orct T., Vukusic J., Kipicic D. (2009). Endotoxin and biogenic amine levels in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*), sardine (*Sardina pilchardus*) and Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) stored at 22 °C. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 26:355-362. <https://doi.org/10.1080/02652030802520878>
- Prester L. (2016). Chapter 22 - Biogenic amines in ready-to-eat foods. En: Kotzekidou P. (ed) *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*. Academic Press, San Diego, pp 397-416. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801916-0.00022-4>
- Reay G.A., Shewan J.M. (1949). The spoilage of fish and its preservation by chilling. En: Mrak E.M., Stewart G.F. (eds) *Advances in Food Research*. Academic Press, pp 343-398. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60047-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60047-6)
- Reglamento (CE) N° 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo. Productos de la Pesca. CAPÍTULO II. <https://euralex.europa.eu/legalcontent/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R0854&from=ES>
- Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión Europea, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
- Reglamento (CE) N° 2074/2005 de la Comisión Europea.
- Rodríguez C., Masoud T.A., Huerta M.D. (1997). Estudio de los principales productos de la degradación de la trimetilaminaóxido en cuatro especies de pescado sometidos a refrigeración. *Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos* 288:131-135.
- Ruiz-Capillas C., Moral A. (2001). Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. *Food Research International* 34:441-447. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00189-7](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00189-7)

- Ryder J.M., Fletcher G.C., Stec M.G., Seelye R.J. (1993). Sensory, microbiological and chemical changes in hoki stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology* 28:169-180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01262.x>
- Sampedro G., González P., López-Benito M. (1978). Empleo de polifosfatos en productos pesqueros congelados 3-12.
- Shewan J.M. (1977). The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. En: Sutcliffe P., Disney J. (eds) *Proceedings of the Conference on handling, processing and marketing of tropical fish*. Tropical Products Institute, London, pp 51.
- Sidwell V.D., Buzzel D., Foncannon P.R., Smith A. (1977). Composition of the edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans, finfish and molluscs. II. Macro elements: sodium, potassium, chlorine, calcium, phosphorus and magnesium. *Marine Fisheries Review* 39:1-11.
- Son Long N.H.B., Gál R., Buňka F. (2011). Use of phosphates in meat products. *African Journal of Biotechnology* 10:19874-19882. <https://doi.org/10.5897/AJBX11.023>
- Stenberg E., Ringø E., Strøm A.R. (1984). Trimethylamine oxide respiration of *Alteromonas putrefaciens* NCMB 1735: Na⁺-stimulated anaerobic transport in cells and membrane vesicles. *Applied and Environmental Microbiology* 47:1090-1095. <http://doi.org/10.1128/AEM.47.5.1090-1095.1984>
- Thorarinsdottir K.A., Arason S., Bogason S.G., Kristbergsson K. (2004). The effects of various salt concentrations during brine curing of cod (*Gadus morhua*). *International Journal of Food Science and Technology* 39:79-89. <https://doi.org/10.1046/j.0950-5423.2003.00757.x>
- Tomlinson N., Geiger S.E. (1962). Glycogen concentration and post mortem loss of adenosine triphosphate in fish and mammalian skeletal muscle. A review. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 19:997-1003. <https://doi.org/10.1139/f62-064>
- USFDA Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. <http://www.fda.gov/seafood>
- Van Ruth S.M., Brouwer E., Koot A., Wijten M. (2014). Seafood and water management. *Foods* 3:622-631. <https://doi.org/10.3390/foods3040622>
- Venugopal V., Shahidi F. (1996). Structure and composition of fish muscle. *Food Reviews International* 12:175-197. <http://dx.doi.org/10.1080/87559129609541074>
- VNIRO (2000). Chemical composition and processing properties of marine and ocean fishes. Handbook, Moscú.
- Vyncke W. (1981). 11th Meeting of the West-European Fish Technologists Association. Copenhagen.
- Vyncke W. (1996). Comparison of the official EC method for the determination of total volatile bases in fish with routine methods.
- Watabe S., Ushio H., Iwamoto M., Kamal M., Ioka H., Hashimoto K. (1989). Rigor-Mortis progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55:1833-1839. <http://doi.org/10.2331/suisan.55.1833>
- Yeannes M.a.I., Almandos M.a.E. (2003). Estimation of fish proximate composition starting from water content. *Journal of Food Composition and Analysis* 16:81-92. [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(02\)00168-0](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(02)00168-0)