

CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA DE LA SARDINA (*Sardinella aurita*)

Physical and Chemical Characterization of the Sardine (*Sardinella aurita*)

Jaime E. Valls y Ana Paredes

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
Apartado 47097, Venezuela. E-mail: jaime.valls@ciens.ucv.ve; ana.paredes@ciens.ucv.ve

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue la evaluación de los parámetros físicos y químicos en sardinas (*Sardinella aurita*) recién capturadas, durante los meses de mayo, junio y julio. Los parámetros evaluados fueron: análisis proximal (humedad, proteína, grasa y ceniza), hierro, calcio, fósforo, cloruros, mercurio, cadmio, plomo, pH, ácido láctico (AL), bases volátiles totales (BVT), trimetilamina (TMA), solubilidad de proteínas en soluciones salinas (SPs), líquido exprimible (LE), color (L, a y b), degradación de nucleótidos, valor K%, Hx/I_{no}, aminas biógenas y perfil de ácidos grasos. Los resultados más relevantes son los siguientes: el análisis proximal mostró diferencias significativas entre los meses evaluados ($P < 0,05$). Los valores de pH (5,94 a 5,96), ácido láctico (17,82 a 24,28 $\mu\text{mol/g}$), color: a (6,19 a 6,61) y L (40,54 a 46,10), reflejan una buena condición del tejido muscular y apariencia visual. Los valores de SPs (74,3 a 78,7%) y LE (15,0 a 18,5%) son indicativos de una excelente integridad de la proteína. Los parámetros de pH, ácido láctico, SPs y LE no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los meses. El valor K obtenido (12,05 a 24,12) y el bajo contenido de aminas biógenas son indicativos también de una materia prima con alto grado de frescura. El perfil de ácidos grasos mostró una alta proporción de ácidos poliinsaturados (31,58 a 37,00%), especialmente de los ácidos eicosapentaenoico (14,19 a 16,06%) y docosahexaenoico (12,00 a 15,80%), lo cual puede ser beneficioso para consumo humano y para la prevención de algunas enfermedades. Todos los valores determinados (físicos y químicos) pueden ser considerados como representativos y típicos para esta especie de sardina (*Sardinella aurita*) recién capturada, unido a una correcta manipulación y almacenamiento en hielo.

Palabras clave: Sardina, *Sardinella aurita*, caracterización.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the physical and chemical parameters of sardines (*Sardinella aurita*) recently captured during the months of May, June and July. The parameters evaluated were: proximate analysis (moisture, protein, fat and ash), iron, calcium, phosphorus, chlorine, mercury, cadmium, lead, pH, lactic acid (LA), total volatile bases (TBV), trimethylamine (TMA), proteins solubility in saline solutions (SPs), water-binding capacity (WBC), color (L, a and b), nucleotide degradation, %K-value, Hx/I_{no}, biogenic amines, and fatty acids profile. The main results were: proximate analysis showed significant differences between the evaluated months ($P < 0.05$). The pH values (5.94 to 5.96), lactic acid (17.92 to 24.28 $\mu\text{mol/g}$), color: a (6.19 to 6.61) and L (40.54 to 46.10), reflect good muscle condition and visual appearance. The SPs (74.3 to 78.7%) and LE (15.0 to 18.5%) were indicative of excellent protein integrity. The pH, lactic acid, PSs and LE not showed significant differences ($P > 0.05$) between months. The K-value (12.05 to 24.12) and the low levels of biogenic amine were also indicative of a high freshness raw material. The fatty acid profile showed a high proportion of polyunsaturated fatty acids (31.58 to 37.00%), especially eicosapentaenoic acid (14.19 to 16.06%) and docosahexaenoic acid (12.00 to 15.80%) which can be beneficial for human consumption and for the prevention of some risk illness. All these present values (physical and chemical) could be considered as representative and typical for this specie of sardine (*Sardinella aurita*) in fresh condition, together with proper handling and ice storage.

Key words: Sardine, *Sardinella aurita*, characterization.

INTRODUCCIÓN

De todos los recursos pesqueros disponibles en Venezuela, se considera que la sardina (*Sardinella aurita*) es la es-

pecie de mayor importancia comercial, debido a que su volumen anual de captura es alto, representando para el año 2006 el 28% del total de la pesca marítima artesanal [20], lo cual hace que su pesca sea la fuente principal de sustento e ingreso para las comunidades de pescadores del país. Por otra parte, el consumidor está acostumbrado a este alimento y es factible la introducción de nuevos productos como: pulpas, tronquitos, hamburguesas, albóndigas, deditos de pescado, que podrían diversificar y propiciar su consumo [1, 5, 7]. Al respecto, Alcalá [1] señala que la sardina en Venezuela es consumida, tanto en fresco como en conserva, por lo menos una vez por semana y las razones por las cuales se realiza su compra en conserva, son un 50% por su precio económico, 20% por su sabor y 30% por confianza en determinadas marcas comerciales. Desde un punto de vista nutricional, su importancia [8] se basa principalmente en su contenido de proteínas, minerales y vitaminas. Al respecto, una ración de 106 g proporciona al consumidor una ingesta diaria de 50% de proteína, 10% de hierro, 40% de calcio y 20% de vitamina D [1]. Adicionalmente, la sardina tiene alto contenido de ácido grasos poliinsaturados, entre los que se destacan: eicosapentaenoico (EPA), docosahexaenoico (DHA), así como los esenciales linoleico y linoléico [22]. Los efectos beneficiosos de estos ácido grasos, han sido estudiados y pueden ser utilizados para la prevención y tratamiento de enfermedades coronarias, hipertensión, arritmias, artritis, así como también son indispensables para desarrollo del sistema neurológico en fetos, a través del consumo de productos pesqueros por parte de las madres embarazadas [19, 22, 24, 27].

Por los planteamientos antes expuestos se puede señalar que, la sardina representa en Venezuela uno de los alimentos que tiene mayor valor estratégico, económico y nutricional. Por otra parte, las características iniciales físicas y químicas que presenta este recurso pueden influir en la estabilidad y la calidad nutricional de los productos que se deseen elaborar a partir de la misma. De la revisión de la literatura consultada, no se evidenciaron trabajos en los cuales se caracterice a esta especie de sardina, con la totalidad de los parámetros físicos y químicos, propuestos en la presente experiencia, así como tampoco investigaciones que contemplen en su diseño experimental, la evaluación de muestras en varios meses. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar los principales parámetros físicos y químicos de esta especie fresca, recién capturada, (con un tiempo menor de 1 a 2 días de captura), en tres meses del año, de manera que sirvan de parámetros de referencia de las condiciones iniciales de frescura y calidad, para su posterior empleo como alimento para la población de Venezuela, de esta manera se contribuye a un mayor conocimiento de las características de este recurso pesquero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestra: Se utilizaron sardinias (*Sardinella aurita*) provenientes del oriente del país (Puerto La Cruz, estado

Anzoátegui), capturadas por pescadores artesanales durante los meses de mayo, junio y julio. Para el momento de la toma de las muestras, éstas tenían aproximadamente entre 5 a 8 h, que habían sido pescadas y mantenidas con hielo en las embarcaciones pesqueras. Para cada uno de los meses se adquirió una cantidad entre 3 a 4 Kg, que fue transportada en cava con hielo y por vía terrestre, en un tiempo de 5 a 6 h al Instituto de Ciencia Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela (Caracas). A continuación, las sardinias se lavaron, se les eliminó materiales extraños y fueron descabezadas, descamadas, evisceradas y nuevamente lavadas. Las muestras así obtenidas (tronquitos) se refrigeraron en bandejas de anime, cubiertas con envoltorio plástico. Posteriormente se tomaron varios tronquitos que fueron homogeneizados, en una licuadora de uso doméstico (Osterizer, De Luxe, Venezuela), para así obtener una pulpa, a la cual se le realizaron los análisis físicos y químicos, por triplicado y para cada mes (mayo, junio y julio). El tiempo transcurrido entre la captura de los ejemplares de sardina y la obtención de la pulpa para los análisis fue entre 1 a 2 días. En la realización de los análisis se dio prioridad a las determinaciones de pH, PSs, LE, color, las extracciones de ácido láctico, nucleótidos, y toma de muestra para perfil de ácido grasos ya que estos parámetros están asociados a los primeros cambios autolíticos, que pueden ocurrir en pescado [19]. Luego se realizaban los análisis de proximal, hierro, calcio, fósforo, cloruros, mercurio, cadmio, plomo, BVT, TMA y aminos biógenas.

Durante el trabajo experimental, para preservar al máximo los posibles cambios en los tronquitos y la pulpa, ambos fueron guardados en bolsas plásticas y congelados a -18°C (Congelador General Electric, Venezuela). La toma de porciones de las pulpas congeladas para cada uno de los tres meses se realizó cortando una porción (aproximadamente entre 5-20 g dependiendo de los análisis a realizar), de la pulpa congelada y el resto se colocó nuevamente en el congelador. La porción congelada fue cortada en porciones (dependiendo de la cantidad de análisis), y colocadas en un vidrio de reloj, apenas se descongela se procedía a su pesada, para su respectivo análisis. El resto del material descongelado en exceso era descartado, este procedimiento anteriormente descrito (de tomar pequeñas porciones de la pulpa) se realizó con el propósito de evitar al máximo los cambios que podrían ocurrir en la matriz de la pulpa, por efectos de la descongelación y congelamiento.

Determinaciones

Talla y peso de las sardinias: A las sardinias enteras, se les midió la talla o longitud total (LT) y el peso de todos los ejemplares que conformaban cada mes (mayo $n=45$, junio $n=50$ y Julio $n=48$). La LT expresada en cm, se determinó desde la punta del hocico hasta el extremo de los lóbulos caudales superpuestos, sobre el eje longitudinal del pescado, según Gaceta Oficial No 38.377 [15].

Análisis proximal: Según la Association of Official Analytical Chemist (AOAC) [2], realizando los siguientes análisis: hu-

medad (Método: 952.08), grasa cruda (948.15), cenizas (938.08) y proteína cruda (995.04).

Análisis de elementos: Para los tres meses se determinó según las normas COVENIN [11]: calcio (1158-82), hierro (1170-83), fósforo (1178-83) y cloruro (1193-81). Por otra parte, se determinó también por COVENIN [11]: cadmio (1336-78), plomo (1335-78) y mercurio (1407-79), mediante absorción atómica a un solo mes (Julio).

pH: Determinado a través de las normas COVENIN (1315-79) [11], con un potenciómetro HANNA Instruments, modelo HI- 8417. (California, EUA).

Ácido láctico (AL): Por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con equipo marca Waters (Massachusetts, EUA), que consta de los siguientes módulos: Bomba modelo 510, inyector U6K, integrador-registrador 746 y detector UV-Vis, modelo 486 (190-600 nm). Las condiciones cromatográficas fueron: fase móvil de buffer de fosfato 0,76%, pH 3,2, flujo de 0,2 mL/min., a 214nm, columna Novapak C18 fase reversa (4µ, 250x3,9 mm, d.i., Waters) y un volumen de inyección de 15 µL [33].

Bases volátiles totales (BVT): Según COVENIN (1948-82) [11], mediante extracción y destilación de las bases volátiles, con posterior titulación.

Trimetilamina (TMA): Por la AOAC (971.14) [2], mediante la formación de un complejo de TMA con ácido pícrico y cuantificación a 410 nm, con un espectrofotómetro Spectro 22RS (California, EUA).

Proteína soluble en solución salina (PSs): Según Pasto-riza y Sampedro [26].

Líquido exprimible (LE): Mediante centrifugación en equipo Sorvall, Superspeed Centrifuge Model RC2-B con rotor SS-34 (Wilmington, Delaware, EUA), de una muestra (4-5 gr) contenida en un tubo de centrífuga [19, 38] a 8.000 g por 30 min.

Color: Según Hunter, con un Colorímetro Macbeth Color-Eyer 2445 Spectrophotometer, modelo 2445 (New Jersey, EUA), midiendo los parámetros: L (luminosidad, claro/oscuro), a (relación rojo/verde) y b (relación amarillo/azul) [38].

Nucleótidos: Mediante HPLC, se evaluaron los nucleótidos (adenosina tripolifosfato (ATP), adenosina difosfato (ADP), adenosina monofosfato (AMP), inosina monofosfato (IMP), inosina (INO), hipoxantina (Hx), valor K% y relación Hx/INO. Se utilizó el equipo Waters, previamente señalado. Las condiciones cromatográficas fueron: fase móvil buffer KH_2PO_4 (0,01M) y KCl (0,001 M), pH 4,3, flujo 0,4 ml/min, a 254 nm, y columna Novapak C18 fase reversa (4µ, 150x3,9 mm, d.i., Waters), volumen de inyección 25 µL [35, 36].

Aminas biógenas: Por HPLC, se determinó putrescina, cadaverina, triptamina, tiramina e histamina. Se utilizó el equipo Waters, previamente señalado. Las condiciones cromatográficas fueron: fase móvil de acetonitrilo:metanol:agua (1:2:1) (Riedel-de Haen A.G. Alemania), Flujo: 0,8 ml/min, a 254 nm,

columna Novapak C18 fase reversa (4µ, 150x3,9 mm, d.i., Waters), volumen de inyección 25 µL [34].

Perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases: Según la AOAC [2], mediante la preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, (969,33) y su separación, por cromatografía de gases (963,22), con un equipo Hewlett-Packard modelo 5880-A (Hewlett-Packard, California, EUA), con detector de ionización a la llama utilizando como fase móvil nitrógeno, en condiciones isotérmicas (200°C), temperatura del inyector y detector 250°C e inyectando 1 µL de muestra. Los ácidos grasos determinados (Sigma) fueron saturados: cáprico C10:0, láurico C12:0, mirístico C14:0, palmítico C16:0, esteárico C18:0 y aráquidico C20:0, monoinsaturados: palmitoleico C16:1 (n-7) y oleico C18:1 (n-9), poliinsaturados: linoleico C18:2 (n-6), linolénico C18:2 (n-3), araquidónico C20:4 (n-6), eicosapentaenoico C20:5 (n-3) y docosahexaenoico C22:6 (n-3).

Análisis estadístico: Se empleó para todas las pruebas estadísticas un 5% de nivel de significancia, mediante el programa Statgraphics versión 6,0 [30]. A los resultados obtenidos se les aplicaron las pruebas estadísticas de varianza de Cochran, Bartlett y Levene, para determinar resultados paramétricos o no paramétricos. En el primer caso se efectuó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y prueba de rango múltiple de Duncan (datos paramétricos), mientras que se aplicó Kruskal Wallis para no paramétricos y así evaluar diferencias significativas [25, 29].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se muestran los resultados de los pesos y tallas promedios obtenidos en los ejemplares de sardinas, el promedio de la talla fue de 18,07 cm con un rango de variación entre 17,65–18,42 cm, las mismas son superiores a la talla mínima permitida para su captura comercial de 17 cm, en Venezuela [15]. Los pesos promedio fueron de: 76,32 g; 81,18 g y 78,03 g para los meses de mayo, junio y julio, respectivamente. Al aplicar la prueba estadística de Kruskal-Wallis [25, 29] a talla y peso, no se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre todos los meses con respecto a estos parámetros. La composición química de los productos pesqueros varía dependiendo de factores intrínsecos (sexo, tamaño, edad y nutrición de individuo), y de factores extrínsecos (zona de captura, época del año, arte de pesca). Resulta por lo tanto importante determinar el análisis proximal de la materia prima, ya que dependiendo de éste se puede requerir cambiar alguna fase del proceso, para así reformular el producto final que se desea obtener [19]. Los resultados correspondientes a la composición química se muestran en la TABLA I. Se puede señalar que para los tres meses evaluados, el contenido de humedad y cenizas se mantienen sin mayores fluctuaciones desde un punto de vista práctico, mientras que en proteínas y grasa se observaron mayores fluctuaciones. Desde el punto de vista estadístico, para los tres meses se determinaron diferencias sig-

TABLA I
CARACTERIZACIÓN DE TALLA, PESO Y COMPOSICIÓN
PROXIMAL DE SARDINA (*Sardinella aurita*)
CHARACTERIZATION OF SIZE, WEIGHT AND PROXIMAL
COMPOSITION OF SARDINE (*Sardinella aurita*).

	Mayo	Junio	Julio
Talla (cm)	17,65 ± 0,70 ^a	18,42 ± 0,75 ^a	18,15 ± 0,58 ^a
Peso (gr)	76,32 ± 7,45 ^a	81,18 ± 8,56 ^a	78,03 ± 8,15 ^a
Porcentaje			
Humedad	75,27 ± 0,14 ^{ab}	75,66 ± 0,30 ^b	74,85 ± 0,18 ^a
Proteínas	20,04 ± 0,62 ^a	19,21 ± 0,62 ^a	16,87 ± 0,17 ^b
Grasa	1,78 ± 0,09 ^a	3,28 ± 0,60 ^b	5,25 ± 0,24 ^c
Cenizas	1,64 ± 0,04 ^b	1,49 ± 0,08 ^a	1,57 ± 0,06 ^{ab}
Total (%)	98,73	99,64	98,54

Promedio ± desviación estándar. Medias con diferentes letras en el super índice (a,b,c), dentro de una misma fila, indican diferencias significativas a un nivel de probabilidad de P>0,05.

nificativas (P<0,05) para cada índice evaluado (humedad, proteínas, grasa y cenizas) para por lo menos un mes, con lo cual se consideró como muestras independientes los tres meses. En el caso de sardinas es el porcentaje de grasa, uno de los parámetros que se ha reportado que puede tener mayor fluctuación [19]. En esta experiencia la grasa mostró diferencias significativa entre todos los meses (P<0,05) variando desde 1,64 a 5,25%, lo cual señala que este índice puede fluctuar bastante, aspecto que debe ser tomado en cuenta al almacenarla en condiciones de congelación. Los valores obtenidos para los tres meses, son similares a los determinados por otros autores [13, 36] en esta misma especie, los cuales reportan rangos de: humedad de 71,1 a 76,9%; proteínas 17,4 a 20,6%; cenizas 0,8 a 1,5%; y grasa 2,3 a 7,0%. La especie es otro factor que puede afectar la composición proximal, así por ejemplo en sardina *pilchardus*, se reportan los siguientes valores: humedad; 67,7%; proteínas; 17,8%; cenizas; 1,1%; y grasa; 12,2% [32], mientras que otros investigadores [16, 17], con esta misma especie encontraron de humedad 60,7%; proteínas 20,7; cenizas 3,3%; y grasa 15,4%, estos trabajos reportan un contenido de grasa mayor para la sardina *pilchardus*, en relación a la evaluada en el presente trabajo (*aurita*). En general se puede afirmar que los rangos de composición proximal que se pueden obtener en sardinas son de: humedad; 57-78%, proteínas; 17-21% y grasa; 1-21%, estos valores señalan que la grasa es el parámetro que puede variar más, razón por la cual este índice es de suma importancia, para la caracterización de la materia prima [6, 19].

En la TABLA II, se muestran los resultados de la determinación de hierro (7,8 a 12,7 ppm), calcio (128,3 a 252,9 mg%), fósforo (236,6 a 388,4 mg%), cloruros (134,9 a 152,7 mg%). Se puede señalar a manera de referencia, que los rangos anteriores de hierro y calcio pueden aportar de 70 a 115 y 24 a 47%, respectivamente de los requerimientos diarios indicados en COVENIN (2952-1:1997) [11]. Por otra parte, los

TABLA II
COMPOSICIÓN DE ALGUNOS ELEMENTOS EN SARDINA
(*Sardinella aurita*) COMPOSITION OF SOME ELEMENTS
IN SARDINE (*Sardinella aurita*).

Análito	Mayo	Junio	Julio
Fe (ppm)	12,7 ± 2,4 ^b	7,8 ± 2,0 ^a	12,7 ± 1,9 ^b
Calcio (mg%)	149,8 ± 11,3 ^a	252,9 ± 15,8 ^b	128,3 ± 10,0 ^a
Fósforo (mg%)	260,6 ± 11,0 ^a	388,4 ± 9,2 ^b	236,6 ± 13,6 ^a
Cloruros (mg%)	152,7 ± 10,3 ^b	134,9 ± 6,9 ^b	147,7 ± 6,8 ^{ab}
Plomo (ppm)	NR	NR	0,289 ± 0,031
Cadmio (ppm)	NR	NR	0,072 ± 0,030
Mercurio (ppm)	NR	NR	0,020 ± 0,002

Promedio ± desviación estándar. Medias con diferentes letras en el super índice (a,b,c), dentro de una misma fila, indican diferencias significativas a un nivel de probabilidad de P>0,05. NR: no realizado.

valores de calcio y fósforo evaluados se encuentran entre los reportados para pescado por Capont [8] y Huss [19]. Con respecto a los elementos mercurio (0,020 ppm), cadmio (0,072 ppm) y plomo (0,289 ppm), evaluados para un solo mes, resultaron inferiores a los niveles máximos permitidos en conserva de sardina (COVENIN 1087:1998 [11]), que son 2; 0,5 y 2 ppm, respectivamente. Lo cual indica que la materia prima en el mes evaluado, no representa un peligro tóxico para el consumidor.

Los resultados obtenidos para los diferentes índices físicos y químicos se muestran en la TABLA III. La evaluación inicial del pH y ácido láctico (AL) en la materia prima, es importante ya que puede señalar ciertos aspectos de la futura estabilidad de productos pesqueros congelados, debido a que si el pescado es congelado con valores de pH ácidos y altos niveles de ácido láctico, puede producirse una desnaturalización de las proteínas especialmente las miofibrilares, con la consiguiente pérdida de agua y finalmente de textura [19]. Los valores de pH (5,95 a 5,96) y AL (17,82 a 24,28 µmol/g), no mostraron diferencias significativas entre meses (P>0,05). Las mediciones de pH, fueron similares a las obtenidas para esta misma especie de 5,8 a 6,4 [4, 13], lo cual puede indicar que esta magnitud es usual para esta sardina recién capturada. En otras especies recién capturadas como la *gibbosa*, se han determinado valores de 6,6 [10], y en *pilchardus* de 6,7 [21], que son menos ácidos que los obtenidos en el presente estudio. En relación al AL se ha reportado [13], en *Sardinella aurita* cantidades más altas entre 36 a 38 µmol/g, que los determinados en la presente investigación, debido posiblemente a que la materia prima tuviera un mayor tiempo de almacenamiento [19]. En general, se puede afirmar que en pescados recién capturados puede variar entre 20-25 µmol/g, y dependiendo de la especie aumenta rápidamente en condiciones de refrigeración hasta 50 µmol/g, en un intervalo de 8-24 horas [9, 40]. Se puede señalar que estas cantidades de AL (17,82 a 24,28 µmol/g), son usuales para esta especie con muy buen grado de frescura.

TABLA III
PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS DE SARDINA
(*Sardinella aurita*) / PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS
OF SARDINE (*Sardinella aurita*).

	Mayo	Junio	Julio
pH	5,96 ± 0,04 ^a	5,94 ± 0,03 ^a	5,96 ± 0,05 ^a
Ácido láctico (µmol/g)	17,82 ± 5,21 ^a	24,28 ± 5,42 ^a	19,06 ± 5,52 ^a
BVT (mgN%)	16,9 ± 0,9 ^a	18,1 ± 1,1 ^a	20,5 ± 1,8 ^a
TMA (mgN%)	1,9 ± 0,3 ^b	1,1 ± 0,3 ^a	1,1 ± 0,1 ^a
SPs (g proteína /100 g proteína)	74,3 ± 3,4 ^a	78,7 ± 7,2 ^a	74,8 ± 3,8 ^a
%LE (ml agua/100 g)	16,4 ± 6,2 ^a	15,0 ± 3,0 ^a	18,5 ± 5,8 ^a
Color a	6,19 ± 0,04 ^a	6,61 ± 0,03 ^c	6,27 ± 0,02 ^b
Color b	14,21 ± 0,03 ^a	14,81 ± 0,01 ^b	18,17 ± 0,07 ^c
Color L	42,28 ± 0,14 ^b	40,54 ± 0,05 ^a	46,10 ± 0,04 ^c
Relación a/b	0,44 ± 0,01 ^b	0,45 ± 0,01 ^b	0,35 ± 0,01 ^a

BVT: Bases volátiles totales. TMA: Trimetilamina. SPs: Solubilidad de proteínas en soluciones salinas, %LE: Porcentaje de líquido exprimible. Promedio ± desviación estándar. Medias con diferentes letras en el super índice (a,b,c), dentro de una misma fila, indican diferencias significativas a un nivel de probabilidad de $P > 0,05$.

La TABLA III muestra el contenido de BVT y TMA, que variaron entre 16,9 a 20,5 mgN%, y 1,1 a 1,9 mgN%, respectivamente, se determinó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los meses. Sin embargo, desde un punto de vista práctico no se consideran relevantes dado que estos valores se cuantificaron en niveles inferiores a los considerados como máximos para estos parámetros que son: 30 mgN% para BVT y 5 mgN% para TMA [19], lo cual confirma que los ejemplares obtenidos tenían para tres meses evaluados, un buen grado de frescura producto de que habían sido recientemente capturados, además de una correcta manipulación y conservación en hielo.

Los índices de proteína soluble en soluciones salinas (PSs) y líquido exprimible (LE), reflejan el estado de la integridad de las proteínas. Los valores de PSs y LE, determinados en este estudio, son mostrados en la TABLA III, en éstos no se encontraron diferencias significativas entre los meses ($P > 0,05$). Las SPs evaluadas en este estudio (74,3 a 78,7%) son mayores que el reportado por González y col. [18] de 67,3% e inferiores al promedio señalado de 79,1% [37]. En otra especie de sardina (*pilchardus*) se determinó un valor de 80,6% de este índice [16]. Por otra parte, el LE cuantificado (16,4 a 18,5%), señala una mayor integridad del tejido muscular, debido a que las proteínas tienen una buena capacidad de retención de agua [37].

El color es un parámetro importante en la calidad de los productos pesqueros, principalmente en especies de carne

roja, como la sardina. El sistema de medición del color Hunter emplea tres parámetros (a, b y L) y la relación a/b, la cual mide la coloración rojiza, por lo que su disminución se asocia a una oxidación de la mioglobina en metamioglobina [10]. Los resultados de esta experiencia se muestran en la TABLA III y fueron para a: 6,19 a 6,61; b: 14,21 a 18,17 y L: 40,54 a 46,10. Estos resultan similares a los reportados por González y col. [18], para esta misma especie, que obtuvieron valores de a, b y L de: 6,25; 18,18 y 46,19, respectivamente. Los parámetros obtenidos en el presente trabajo de a (6,19 a 6,61) y L (40,54 a 46,10), pueden ser tomados como referencia para la medición del color de esta especie, cuando tiene buen grado de frescura, e indicativos de una buena apariencia visual del tejido muscular y un característico color rojo. Por otra parte, la relación a/b fue para los meses de mayo y junio de 0,44 y 0,45, obteniendo diferencia estadística ($P < 0,05$) con respecto a julio (0,35). Los valores de los dos primeros meses fueron parecidos a los reportados en sardina (*Sardinella gibbosa*) en estado fresco, con un valor de a/b de 0,48, el cual disminuyó hasta 0,18 en almacenamiento refrigerado, producto de la oxidación de la hemoglobina [10].

En la TABLA IV se muestran los resultados de la determinación de los compuestos de degradación de ATP, se puede señalar que no se detectó este compuesto, pero si de ADP y AMP (0,16 a 0,22 y 0,17 a 0,18 µmol/g, respectivamente). Sin embargo, los niveles más altos cuantificables fueron del IMP con valores entre 5,03 a 5,64 µmol/g, estos indican que la materia prima tenía una buena frescura, que se refleja en el valor K%, que fue de 12,05, 15,83 y 24,12%, para los tres meses. En general cuando este parámetro es inferior a 20%, se tiene un pescado de excelentes condiciones de frescura, a medida que aumenta el período de almacenamiento y avanza el deterioro, este índice aumenta [19]. Un valor K% menor de 20% en productos pesqueros es considerado de alto grado de frescura, así por ejemplo en pescados recién capturados (< 11 horas), se obtiene uno menor de 8% [3, 23]. Por otra parte, cantidades entre 20-40% son indicativas de una frescura mediana y por encima de 40%, no es recomendable para su consumo [31]. Otra forma de evaluar la frescura en productos pesqueros es en base a la relación de los nucleótidos Hx/INO, lo cual permite clasificarlos en: 1. Acumuladoras de INO; 2. Acumuladoras de Hx, y 3. Intermedias entre las dos anteriores [14]. En el presente trabajo, los resultados de Hx/INO para los meses de mayo y junio, fueron de 0,19 y 0,40, respectivamente y se puede señalar que la sardina es formadora principalmente INO, sin embargo para el mes de julio, no mostró esta tendencia, sino como intermedia ya que la relación fue de 1,20. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($P > 0,05$) para los nucleótidos: ADP, IMP, AMP e INO, mientras que para Hx, valor K% y relación Hx/INO, los meses de mayo y junio no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre sí, pero el mes de julio fue diferente a los anteriores ($P < 0,05$). Estos resultados de valor K% y relación Hx/INO, son similares a los evaluados para esta

TABLA IV
PERFIL DE NUCLEÓTIDOS Y AMINAS BIÓGENAS
EN SARDINA (*Sardinella aurita*)/ NUCLEOTIDE AND BIOGENIC
AMINES PROFILE IN SARDINES (*Sardinella aurita*).

	Mayo	Junio	Julio
Nucleótidos (µmol/g)			
ATP	ND	ND	ND
ADP	0,16 ± 0,07 ^a	0,13 ± 0,05 ^a	0,22 ± 0,12 ^a
IMP	5,64 ± 0,19 ^a	5,15 ± 0,77 ^a	5,03 ± 0,33 ^a
Hx	0,12 ± 0,06 ^a	0,28 ± 0,18 ^a	0,92 ± 0,05 ^b
AMP	0,17 ± 0,06 ^a	0,18 ± 0,08 ^a	0,15 ± 0,03 ^a
INO	0,70 ± 0,20 ^a	0,73 ± 0,12 ^a	0,79 ± 0,14 ^a
Valor K%	12,05 ± 2,06 ^a	15,83 ± 4,00 ^a	24,12 ± 2,31 ^b
Hx/INO	0,19 ± 0,16 ^a	0,40 ± 0,25 ^a	1,20 ± 0,28 ^b
Aminas biógenas mg%			
Triptamina	4,05 ± 0,05	ND	ND
Putrescina	ND	ND	1,15 ± 0,02
Cadaverina	3,00 ± 0,03	ND	ND
Histamina	3,05 ± 0,09 ^a	ND	16,80 ± 0,50 ^b
Tiramina	60,15 ± 0,56 ^c	11,60 ± 0,60 ^a	14,23 ± 2,06 ^b

Promedio ± desviación estándar. Medias con diferentes letras en el super índice (a,b,c), dentro de una misma fila, indican diferencias significativas a un nivel de probabilidad de P>0,05. ND: No detectado.

misma especie, en las cuales se determinó un K, entre 10,8 a 21,2%, y relaciones de Hx/INO entre 0,11 a 0,30 [36].

En la TABLA IV, se muestran los resultados en la determinación de aminas biógenas, se pueden observar bajos contenidos de estos compuestos. Lo cual implica una buena calidad de la materia prima, ya que la misma no ha sido afectada por deterioro microbiológico. El análisis estadístico, mostró diferencias significativas con respecto a la tiramina (P<0,05), para cada uno de los meses estudiados, mientras que entre mayo y julio, por comparación de medias se determinó diferencias significativas (P<0,05), para la histamina. En productos pesqueros, la evaluación de estos compuestos es importante ya que por ejemplo la histamina, es usada como indicadora de la calidad higiénica sanitaria de estos alimentos [39]. Los bajos niveles encontrados en los tres meses evaluados, pueden ser explicados por la buena frescura (1 a 2 días de capturada) de la sardina empleada, así como la correcta manipulación y almacenamiento con hielo. Por otra parte, si bien los niveles son bajos, se destaca las concentraciones de tiramina, entre 11,60 a 60,15 mg/Kg. Según Da Silva y col. [12] esta amina cuando es ingerida en cantidades superiores a 100 mg%, puede producir migraña en consumidores sensitivos.

Los resultados del perfil de ácidos grasos se muestran en la TABLA V, se puede señalar que la fracción mayoritaria fue la de saturados (SFA) con un porcentaje entre 41,79 a 43,20%; la segunda correspondió a los poliinsaturados (PUFA)

TABLA V
PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN SARDINA (*Sardinella*
aurita*)/ FATTY ACID PROFILE OF SARDINES (*Sardinella
***aurita*).**

Ácido graso %	Mayo	Junio	Julio
Saturados			
C10:0	0,84	1,55	0,33
C12:0	0,00	0,04	0,00
C14:0	12,06	12,56	11,85
C16:0	22,17	21,23	23,25
C18:0	4,34	4,51	4,37
C20:0	3,50	3,31	1,99
Total saturados	42,91	43,20	41,79
Monoinsaturados			
C16:1 (n-7)	12,85	11,09	11,96
C18:1 (n-9)	12,57	8,42	12,80
Total monoinsaturados	25,42	19,51	24,76
Poliinsaturados			
C18:2 (n-6)	2,08	1,82	2,19
C18:3 (n-3)	0,00	0,66	0,00
C20:4 (n-6)	1,98	2,66	2,20
C20:5 (n-3)	15,52	16,06	14,19
C20:6 (n-3)	12,00	15,80	14,79
Total poliinsaturados	31,58	37,00	33,37
Total	99,92	99,72	99,92

con 31,58 a 37,00%; y la minoritaria fue de monoinsaturados (MUFA) con 19,51 a 25,42%, para los tres meses. Estos valores son similares y comparables a los determinados por Barreiro y Bello [4], para esta misma especie, que encontraron que la fracción mayoritaria fue igualmente de SFA (38%), seguida de PUFA (35%) y finalmente de MUFA (27%). El perfil de ácidos grasos puede depender de la especie evaluada [9], por ejemplo para sardina (*Sardinops melanostictus*) la mayoritaria fue PUFA (37 a 49%), seguida de SFA (35 a 41%) y finalmente MUFA (15 a 22%) [28]. De todas las fracciones anteriormente señaladas, es PUFA la que tiene más importancia desde el punto de vista nutricional, ya que ayuda a la prevención de enfermedades coronarias y trombosis. En esta fracción se cuantificaron araquidónico (1,98 a 2,26%), eicosapentaenoico (14,19 a 16,06%), docosahexaenoico (12,00 a 15,80%) y los ácidos grasos esenciales: linoleico y linolénico. El primero se determinó entre 1,82 a 2,08%, mientras que del segundo no se detectó en los meses de mayo y julio, pero en junio se obtuvo un valor de 0,66%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Barrero y Bello [4], que reportan de araquidónico (2,33%), linoleico (2,05%) y linolénico (0,63%), sin embargo para el eicosapentaenoico obtuvieron valores más altos (23,05%) y menores de docosahexaenoico (6,42%) a los evaluados en el presente estudio. Los niveles de PUFA determinados en todos

estos estudios permiten señalar que el consumo de la sardina (*Sardinella aurita*) capturada en Venezuela, se puede considerar como beneficioso para la prevención de enfermedades cardiovasculares.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se evaluaron y determinaron los principales índices físicos y químicos que definen las características iniciales de frescura de la especie sardina (*Sardinella aurita*) cuando tiene un tiempo de captura menor de 1 a 2 días, con lo cual se hace una contribución al estudio de las condiciones iniciales de su frescura y calidad, para servir de base a futuros trabajos relacionados con la manipulación, conservación y elaboración de productos a partir de esta especie.

Se puede señalar a manera de referencia para la sardina (*Sardinella aurita*) que los valores: pH 5,9; AL 17 a 24 $\mu\text{mol/g}$; SPs 74 a 78%; LE 15 a 18%; valor K% 12 a 24%; así como de color a: 6,2 a 6,9; L: 41 a 46; a/b: 0,35 a 0,44, son indicativos de las condiciones iniciales de frescura de este recurso, ya que reflejan una buena condición del tejido muscular, integridad de sus proteínas musculares y apariencia visual.

Desde el punto de vista nutricional, se determinaron cantidades de calcio y hierro que hacen que este alimento, sea recomendable para su consumo, además el perfil de ácidos grasos mostró una alta proporción de poliinsaturados, especialmente el eicosapentaenoico y docosahexaenoico, los cuales son beneficiosos desde el punto de vista nutricional. Por otra parte se cuantificó niveles de cadmio, plomo y mercurio que no excedieron los valores límite de las normas nacionales.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento de la presente investigación a través de los proyectos PI 03-7134-2008/1 y Tipo A 03-00-6662-2007.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALCALÁ, F. Inconvenientes para la adecuada comercialización de la sardina en Venezuela. En: **Memorias del Taller Evaluación, Tecnología e Industrialización de Pequeños Pelágicos "Pablo Herrera"**. UCV-UDO. Cumaná. Edo. Sucre. 06-08 diciembre. 83-93pp. 2000.
- [2] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INC. (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 20th. Ed. Edited by Kenneth Helrich. Washington. D.C. 1298 pp. 1990.
- [3] AUBOURG, S.; PIÑEIRO, C.; GALLARDO, J.; BARROS-VELÁZQUEZ, J. Biochemical changes and quality loss during chilled storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). **Food Chem.** 90: 445-452. 2005.
- [4] BARRERO, M.; BELLO, R. Cambios en la composición de los ácidos grasos de la pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) lavada con una solución de bicarbonato de sodio al 0,5%. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** X (2): 136-144. 2000.
- [5] BELLO, R. Importancia del recurso pesquero: pequeños pelágicos en Venezuela y América Latina. En: **Memorias del Taller: Evaluación, Tecnología e industrialización de pequeños pelágicos "Pablo Herrera"**. UCV-UDO. Cumaná, Edo. Sucre. Venezuela. 6-15 pp. 2000.
- [6] BURT, J.; ARDÍ, R. Composition and deterioration of pelagic fish. In J.R. Burt, R. Hardy, & K.J. Whittle (Eds). **Pelagic fish: the resource and its exploitation**. Eds. Cambridge: The University Press. 115-141 pp. 1992.
- [7] CABELLO, A.; BELLO, R. Pesquería y comercialización de la sardina en el oriente de Venezuela. En: **III Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina**. Edo. Nueva Esparta. FAO. Fisheries Technical Paper. N 538. 115-119 pp. 1996.
- [8] CAPONT, L. La conserva y salazón de la sardina. Edt. Caixanova. Pontevedra. España. 180 pp. 2001.
- [9] CAPPLELN, G.; JESSEN, F. Glycolysis and ATP degradation in cod (*Gadus morhua*) at subzero temperature in relation to thaw rigor. **Lebensm.-Wiss. u.- Technol.** 34: 81-88. 2001.
- [10] CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Change of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during ice storage. **Food Chem.** 93 (4): 607-617. 2005.
- [11] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Norma Venezolana. COVENIN: 1336-78. Alimentos Determinación de Cadmio. 11 pp. 1978; COVENIN: 1158-82. Alimentos Determinación de Calcio. 1^{ra} Revisión. 13 pp. 1982; COVENIN: 1193-81. Alimentos Determinación de Cloruros. 10 pp. 1981; COVENIN: 1170-83. Alimentos Determinación de Hierro. 1^{ra} Revisión. 16 pp. 1983; COVENIN: 1178-83. Alimentos Determinación de Fósforo. 1^{ra} Revisión. Método 1. 15 pp. 1983; COVENIN: 1315-79. Alimentos Determinación de pH. Acidez lónica. 3 pp. 1979; COVENIN: 1335-78. Alimentos Determinación de Plomo. 14 pp. 1978; COVENIN: 1407-79. Alimentos Determinación de Mercurio. 12 pp. 1979; COVENIN 2952-1:97. Directrices para la Declaración de Propiedades Nutricionales y de Salud en el Rotulado de los Alimentos Envasados. 13pp. 1979; COVENIN: 1948-82. Pescado y Productos Marinos. Determinación del Nitrógeno Volátil. 4 pp. 1982; COVENIN: 1087: 1998. Sardinas en Conserva. 5^{ta} Revisión. 8 pp. 1998.
- [12] DA SILVA, M.; PINHO, O.; FERREIRA, I.; PLESTILOVÁ, L.; GIBBS, P. Production of histamine and tyramine by bacteria isolated from Portuguese vacuum-packed cold-smoked fish. **Food Control.** 13: 457-461. 2002.

- [13] DELGADO, A.; VALLS, J.; GONZÁLEZ, A. Evaluación física y química de la sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. **Rev. Cientif. FCV-LUZ**. XI (1): 22-29. 2001.
- [14] EHIRA, S.; UCHIYAMA, H. Determination of fish freshness using the K-value and comments on some other biochemical changes in relations to freshness. In: **Seafood Quality Determination**. D.E. Kramer & J. Liston (Eds). Elsevier Science Publishers. Amsterdam. 209 pp. 1987.
- [15] REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA. Gaceta Oficial Nº 38377 del 10-02-2006. Providencia administrativa que regula la pesca y actividades conexas del recurso hidrobiológico de la especie sardina (*Sardinella aurita*). Caracas. 344.450 - 344.452 pp. 2006.
- [16] GARCÍA-ARIAS, M.; PONTES, E.; GARCÍA-LINARES, M.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. Cooking-freezing-reheating (CFR) of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions. **Food Chem**. 83: 349-356. 2003.
- [17] GARCÍA-ARIAS, M.; PONTES, E.; GARCÍA-LINARES, M.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. Gridding of sardine fillets. Effects of frozen and thawed modality on their protein quality. **Lebensm-Wiss. u. Technol**. 36 (8): 763-769. 2003.
- [18] GONZÁLEZ, D.; VALLS, J.; GONZÁLEZ, A. Evaluación física, química y sensorial de tronquitos de sardina (*Sardinella aurita* V.) durante su almacenamiento congelado a -18°C . **Rev. Cientif. FCV-LUZ**. XII (4): 278-285. 2002.
- [19] HUSS, H. Cambios *postmortem* en pescado. En: **El Pescado Fresco: su Calidad y Cambios de su Calidad**. FAO. Fisheries Technical Paper. Nº 248, Rome, FAO. 42-45pp. 1998.
- [20] INSTITUTO SOCIALISTA DE LA PESCA Y ACUICULTURA (Insopesca). Estadísticas Pesqueras Producción Artesanal Marítima. Año 2006. 4 pp. 2009.
- [21] KILINC, B.; CAKLI, S. Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardinella pilchardus*) during marination. **Food Chem**. 88 (2): 275-280. 2004.
- [22] KIRPAL, S. Health benefits and potencial risk related to consumption of fish or fish oil. **Reg. Tox. Pharm**. 38: 336-344. 2003.
- [23] LOSADA, V.; PIÑEIRO, C.; BARROS-VELÁZQUEZ, J.; AUBOURG, S. Inhibition of chemical changes related to freshness loss during storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in slurry ice. **Food Chem**. 93: 619-625. 2005.
- [24] LUZIA, L.; SAMPAIO, G.; CASTELLUCCI, C.; TORRES, E. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chem**. 83: 93-97. 2003.
- [25] MONTGOMERY, D. Experimentos con un solo factor: el análisis de varianza. Capítulo 3. En: **Diseño y Análisis de Experimentos**. Ed.2. Editorial Limusa, México. 681 pp. 2002.
- [26] PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G. Influence of ice storage on ray (*Raja clavata*) wing muscle. **J. Sci. Food Agric**. 64 (1): 9-18. 1994.
- [27] RODRÍGUEZ, C. El pescado como alimento, especies comerciales. En: **La Manipulación a Bordo de Pesca de la Costera Artesanal**. Edt. Gráficas Lar. España. 253 pp. 2000.
- [28] SHIRAI, N.; TERAYAMA, M.; TAKEDA, H. Effect of season on the fatty acid composition and free amino acids content of the sardine (*Sardinops melanostictus*). **Comp. Biochem. and Physiol. Part B**. 131: 387-393. 2002.
- [29] SMITH, J. Evaluation of analytical data. Chapter 4. In: **Food Analysis**. 2nd Ed. Aspen Publication, Maryland, EUA. Edt. Suzanne Nielsen. 55- 69 pp. 1998.
- [30] STATISTICAL GRAPHICS SYSTEMS CORPORATION. User's Guide. Statgraphics. Versión 6,0. STSC: E.U.A. 1992.
- [31] OKUMA, H.; TAKAHASHI, H.; YAZAWA, S.; SEKIMUKAI, S. Development of a system with double enzyme reactors for the determination of fish freshness. **Analyt. Chim. Acta**. 260: 93-98. 1992.
- [32] OZOGUL, F.; POLAT, A.; OZOGUL, Y. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). **Food Chem**. 85: 49-57. 2004.
- [33] VALLS, J. Optimización y estudio de la validación de una metodología por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la determinación de ácido láctico en sardinas (*Sardinella aurita*). Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Trabajo de Grado. 292 pp. 2009.
- [34] VALLS, J.; BELLO, R.; KODAIRA M. Validation of liquid chromatography analysis of biogenic amines in canned fish products. **J. Aquatic. Food Product Tech**. 8 (3): 79-91. 1999.
- [35] VALLS, J.; BELLO, R.; KODAIRA, M. Validation of liquid chromatography analysis of ATP-related compounds in sardines. **J. Aquatic Food Product Tech**. 10 (3): 67-78. 2001.
- [36] VALLS, J.; DELGADO, A. Evaluación de los productos de degradación del ATP en sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. **Rev. Cientif. FCV-LUZ**. X (5): 383-390. 2000.

- [37] VALLS, J.; PAREDES, A.; GONZÁLEZ, D.; GONZÁLEZ, A. Evaluación física, química, microbiológica y sensorial de filetes de sardina (*Sardinella aurita* V.) empacados al vacío y congelados a -18°C . **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XIV (2): 115-123. 2004.
- [38] VALLS, J.; PAREDES, A.; GÓNZALEZ, D. Estabilidad de Filetes de Sardina (*Sardinella aurita*) en almacenamiento congelado a -18°C . **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XVI (2): 176-185.2006.
- [39] VECIANA-NOGUES, M.; MARINE-FONT, A.; VIDAL-CAROU, M. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. **J. Agric. Food Chem.** 45(6): 2036-2041. 1997.
- [40] WATABE, S.; KAMAL, M.; HASHIMOTO, K. Postmortem changes in ATP, creatine phosphate, and lactate in sardine. **J. Food Sci.** 56 (1): 151-153. 1991.