



**UNIVERSIDAD CENTRAL
DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**EMPACADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA CON
CO₂ DE TROZOS DE LOMO DE ATÚN FRESCO
(*Thunnus sp.*) COMO ALTERNATIVA PARA
INCREMENTAR SU VIDA ÚTIL EN EL
ALMACENAMIENTO CONGELADO A -10 °C Y -18 °C**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela, por la bachiller María Andreina Guerra Hidalgo como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología.

Tutor(a): M.Sc. Myrna Medina

CARACAS, VENEZUELA
OCTUBRE - 2013

RESUMEN

El atún es una especie, que dentro de los recursos marinos, tiene un papel importante como parte de la dieta del consumidor. De allí que su captura, manipulación y procesamiento involucra a una industria, que tiene una gran importancia económica en Venezuela (González, 1998). El interés de los consumidores por disponer de alimentos frescos, con mínimo proceso, o de III gama, que posean una calidad sensorial, nutricional y microbiológica ha llevado a la Industria Agroalimentaria a incrementar la demanda en disponer de alimentos listos para consumir y con características similares a las del producto fresco. Este interés de los consumidores y el surgimiento del empaçado en atmósfera modificada como alternativa para incrementar la vida útil de productos alimenticios despertó la inquietud de evaluar la estabilidad del lomo de atún, fresco, congelado y empaçado en atmósfera modificada con 100 % de CO₂ durante su almacenamiento congelado. Para alcanzar este objetivo se evaluó la calidad microbiológica del lomo de atún, encontrándose en el límite entre un recuento aceptable y uno marginalmente aceptable (10⁵ UFC/g) para pescado fresco y congelado (ICMSF, 1986). Se rebanaron los lomos de atún (*Thunnus sp*). El 50 % de las rebanadas se congeló a -10 °C y el 50 % restante a -18°C. Cada rebanada congelada se empaçado en AM individualmente en bandejas multilaminadas conservando la proporción 1:2 pescado: 100 % CO₂ y su respectivo control. Las rebanadas acondicionadas se almacenaron a la temperatura correspondiente P1 (AM a -10°C) y P2 (AM a -18°C). Hubo descenso significativo de la humedad a los 15 días de almacenamiento, el cual fue menor para las muestras P2, las cuales fueron las más rojas y oscuras; con menor recuento microbiológico, dureza y masticabilidad estables en el almacenamiento. Para todos los tratamientos el malonaldehído se mantuvo por debajo del límite para consumo hasta los 15 días de almacenamiento, mientras las bases volátiles totales se mantuvieron por debajo de 30 mgN/100 hasta los 111 días de almacenamiento. Sensorialmente P2 presentó la mejor aceptación de todas las muestras.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	I
RESUMEN.....	III
INDICE GENERAL.....	IV
INDICE DE CUADROS.....	VI
INDICE DE FIGURAS.....	VII
INDICE DE FOTOS.....	VIII
INDICE DE ANEXOS.....	IX
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	4
ANTECEDENTES.....	5
Conservación del pescado.....	5
Congelación y almacenamiento congelado de productos pesqueros.....	6
Almacenamiento congelado.....	10
Cambios físicos y químicos durante el almacenamiento.....	11
Empacado en atmósfera modificada (EAM).....	15
Dióxido de Carbono.....	18
Recomendaciones para la operación de empacado en atmósfera modificada.....	20
El pescado. Composición química.....	21
El atún.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
1. Materia Prima.....	25
2. Tratamiento de los lomos de atún.....	25
3. Materiales de empaque.....	29
4. Determinaciones.....	30
4.1. Análisis físicos.....	30
4.2. Análisis químicos.....	31
4.2.1. Análisis proximal.....	31
4.2.2. Rancidez oxidativa (TBA).....	32
4.2.3. Bases volátiles totales (BVT).....	32

4.2.4. Proteínas solubles.....	33
4.3. Análisis microbiológico.....	33
4.3.1. Aerobios mesófilos, psicrófilos, coliformes totales.....	33
4.4. Evaluación sensorial.....	33
4.5. Análisis estadístico.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
Caracterización del lomo de atún fresco (<i>Thunnus sp.</i>).....	34
Composición proximal.....	34
Estabilidad microbiológica.....	37
Color.....	42
pH.....	48
Actividad de Agua (Aw).....	52
Análisis del Perfil de Textura.....	55
Humedad.....	63
Rancidez Oxidativa (TBA).....	65
Bases Volátiles Totales (BVT).....	68
Proteínas solubles en solución salina.....	72
EVALUACIÓN SENSORIAL.....	74
CONCLUSIONES.....	76
RECOMENDACIONES.....	77
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	78
ANEXOS.....	94

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas del Dióxido de Carbono.....	20
Cuadro 2. Composición proximal del atún según varios autores.....	24
Cuadro 3. Dimensiones promedios de las rebanadas de atún fresco (<i>Thunnus sp.</i>).....	28
Cuadro 4. Propiedades de barrera de cada uno de los materiales poliméricos integrantes del multilaminado usado durante esta experiencia como material de empaque, bandeja y película.....	30
Cuadro 5. Composición proximal de la muestra fresca de atún rojo en base húmeda.....	35
Cuadro 6. Composición proximal en bases seca química atún en porcentaje (%) según varios autores.....	36
Cuadro 7. Recuento microbiológico de las rebanadas de atún rojo en la muestra fresca y para los diferentes tratamientos durante 117 días de almacenamiento congelado.....	39
Cuadro 8. Coordenadas colorimétricas L, a y b en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	43
Cuadro 9. Determinación de pH en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	48
Cuadro 10. Actividad de agua (A_w) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	53
Cuadro 11. Parámetro Dureza en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	56
Cuadro 12. Parámetro Masticabilidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	57

Cuadro 13. Elasticidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	59
Cuadro 14. Parámetro Cohesividad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	61
Cuadro 15. Porcentaje de humedad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	63
Cuadro 16. Rancidez oxidativa (mg Malonaldehído/kg muestra) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	65
Cuadro 17. Bases volátiles totales (BVT) (mgN/100) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	68
Cuadro 18. Porcentaje de proteínas solubles en solución salina (PSS) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	71
Cuadro 19. Evaluación sensorial de las rebanadas de lomo de atún congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	75

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procesamiento de los lomos de atún fresco.....	27
Figura 2. Bandeja de PA/EVOH/PE.....	28
Figura 3. Estructura multicapas para la elaboración de las bandeja.....	29
Figura 4. Termoselladora. (1) Introducción de la bandeja conteniendo el producto en la cámara de vacío; (2) evacuación del aire, inyección de los gases protectores y termosellado; y (3) salida del producto empacado.....	29
Figura 5. Coordenadas de color L, a y b en el atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C...46	46

Figura 6. Biplot. Análisis de componentes principales.....	54
Figura 7. Parámetro Dureza en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	56
Figura 8. Parámetro masticabilidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenada según el tratamiento a -10 y -18 °C...58	
Figura 9. Parámetro elasticidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C...60	
Figura 10. Parámetro cohesividad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 °C y -18 °C.....	62
Figura 11. Porcentaje de humedad en el atún rojo y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	64
Figura 12. Rancidez oxidativa (mg Malonaldehído/kg muestra) en el atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.....	65
Figura 13. Bases volátiles totales (BVT) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C...69	

INDICE DE FOTOS

Foto 1. Lomos atún rojo (<i>Thunnus</i> sp.) recién adquirido.....	25
Foto 2. (a) Rebanadas de atún en el congelador de placas (b) Rebanadas de atún en la empacadora Multivac T200.....	28

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Manual de uso de la empacadora Multivac T200.....	94
Anexo 2. Ficha para la evaluación sensorial.....	97
Anexo 3. Fórmula para calcular la fuerza Centrífuga Relativa (FCR).....	97
Anexo 4. Curva patrón para proteína soluble (método de Bradford).....	98
Anexo 5. Curva patrón de Malonaldehído (TBA).....	98
Anexo 6. Fotos de las muestras empacadas a los tiempos 0, 15, 30, 54 y 111 días de almacenamiento.....	99

INTRODUCCIÓN

La actividad pesquera de Venezuela se centra principalmente en la producción de especies marinas, tales como los túnidos (*Thunnus albacares*; *Katsuwonus pelamis*; *Thunnus obesus*) y la sardina (*Sardinella aurita*); siendo el primer rubro objeto de la pesca industrial de altura y el segundo de origen artesanal. En nuestro país, la mayor proporción de las capturas proviene del Océano Pacífico Oriental (OPO), área en la cual Venezuela mantiene la tercera flota cerquera operativa (FAO, 2005). Para el año 2008, la producción de atún fue de 2.159,60 toneladas (INSOPESCA, 2008). Los atunes son especies, que dentro de los recursos marinos, tienen un papel importante como parte de la dieta del consumidor. De allí que su captura, manipulación y procesamiento involucra a una industria, que tiene una gran importancia económica en Venezuela (González, 1998).

El interés de los consumidores por disponer de alimentos frescos, con mínimo proceso, o de III gama, que posean una calidad sensorial, nutricional y microbiológica ha llevado a la Industria Agroalimentaria a incrementar la demanda en disponer de alimentos listos para consumir y con características similares a las del producto fresco. Parte de esta demanda procede de restaurantes, hotelería, cadenas de comida rápida (García y col., 2006).

El empaçado en atmósfera modificada que implica la eliminación del aire contenido en el empaque seguida de la inyección de un gas o mezcla de gases, tiene como objetivo conservar los atributos sensoriales y microbiológicos de los productos alimenticios. Este tipo de empaçado genera un ambiente gaseoso óptimo para la conservación del producto donde el empaque ejerce de barrera y aísla, en mayor o menor grado, dicho ambiente de la atmósfera externa y, junto con unas buenas prácticas de fabricación y la aplicación de frío, ya sea refrigeración o congelación, contribuyen a prolongar su vida útil manteniendo la calidad sensorial y la estabilidad microbiológica del producto durante la cadena

de comercialización, que en algunos casos se ha logrado duplicar e incluso triplicar con respecto al empaçado a presión atmosférica.

En el caso de los productos pesqueros, el deterioro de estos se inicia inmediatamente después de la muerte del animal debido al desarrollo de la microflora presente en ellos y a las reacciones químicas y enzimáticas de degradación. Las características físicas, químicas y microbiológicas de estos productos, una elevada actividad de agua, un pH neutro, la composición lipídica y la presencia de enzimas autolíticas así como de microorganismos en la superficie corporal limitan considerablemente su vida útil (García y col., 2006). Por estas razones, se hace necesario el uso de procesos tecnológicos que incorporen empaques con multicapas coextruídas, multicapas laminadas, empaques para atmósfera modificada y para empaçado al vacío, entre otros, que junto a la aplicación de frío (refrigeración o congelación), ayuden a mantener por más tiempo las propiedades o atributos de calidad del pescado.

La congelación como proceso de conservación, es uno de los más utilizados en carnes rojas, aves y pescados, sin embargo, se ha demostrado que durante el almacenamiento congelado ocurre un deterioro en la calidad de estos productos, en especial de los pesqueros y el cual es ocasionado por diversos factores como son: la especie de pescado, el método de congelación, la temperatura y el tiempo de almacenamiento congelado. Los procesos de deterioro en el pescado fresco, son dependientes de la temperatura y tanto el crecimiento de la microflora como las reacciones de degradación predominantes varían según ese parámetro. Por tanto, la conservación en condiciones óptimas de los productos de la pesca requiere, en la mayoría de los casos, un control estricto de la temperatura de congelación y de almacenamiento congelado.

Se han señalado como causas fundamentales de cambios en la calidad de productos pesqueros, la desnaturalización de las proteínas y la oxidación de lípidos. La miosina es la principal proteína estructural, y al desnaturalizarse se

altera su conformación, ocurriendo cambios en la retención de humedad, suavidad y succulencia del músculo de pescado (Benjakul y Bauer, 2000; citado por López, 2006)

Aún cuando hay diversos estudios de investigación publicados sobre la estabilidad del atún en congelación, son muy pocos los realizados con una atmosfera modificada de 100 % CO₂ que permitan conocer su comportamiento dentro del empaque durante el almacenamiento congelado. Es por ello, que se propuso como objetivo general de este trabajo, la utilización de un empackado en atmósfera modificada con 100 % CO₂ para prolongar la vida útil del atún (*Thunnus* sp.) durante el almacenamiento congelado a -10 °C y -18 °C con la finalidad de minimizar los daños físicos y químicos que ocurren durante el almacenamiento en congelación.

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la estabilidad física, química y microbiológica de las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) congeladas a -10 °C y -18 °C, empacadas en atmósfera modificada con 100 % de CO₂, y almacenadas a las temperaturas de congelación correspondientes.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la estabilidad microbiológica (aerobios mesófilos, aerobios psicrófilos, coliformes totales) de las rebanadas de lomo de atún congeladas a -10 y -18 °C, empacadas en atmósfera modificada con 100 % de CO₂, y almacenadas a las temperaturas de congelación correspondientes.
- Evaluar la estabilidad física (Aw, color, pH y textura) de las rebanadas de lomo de atún congeladas a -10 y -18 °C, empacadas en atmósfera modificada con 100 % de CO₂, y almacenadas a las temperaturas de congelación correspondientes.
- Evaluar la estabilidad química (análisis proximal, rancidez oxidativa, bases volátiles totales y proteínas solubles) de las rebanadas de lomo de atún congeladas a -10 y -18 °C, empacadas en atmósfera modificada con 100 % de CO₂, y almacenadas a las temperaturas de congelación correspondientes.
- Evaluar sensorialmente (color, olor, apariencia) las rebanadas de lomo de atún empacadas en atmósfera modificada con 100 % de CO₂, y almacenadas a las temperaturas de congelación correspondientes, a los 54 y 111 días de almacenamiento.

ANTEDECENTES

Conservación del pescado

La conservación del pescado fresco es muy limitada en el tiempo, si bien unas especies son más resistentes que otras. Ese hecho viene condicionado por las propias características de las especies. Las especies que habitan en aguas frías, próximas a 0 °C, al ser capturadas asciende su temperatura corporal varios grados y tras su muerte se inician las reacciones deteriorativas. Las especies que habitan en aguas cálidas, temperaturas igual o superior a 20 °C, al ser capturados no hay incremento de la temperatura corporal. Ambas especies, una vez capturadas, para conservarlas se colocan rápidamente a temperaturas de refrigeración lo más cercanas a 0 °C. En los primeros, ya se ha iniciado las reacciones de deterioro y, la refrigeración si bien las disminuye no las detiene; mientras que en los segundos, la temperatura de refrigeración es inferior a la de su hábitat y por tanto disminuye la velocidad con que se producen las reacciones químicas (Montero y Gómez-Guillén, 2008).

Las bacterias en los peces están en función al ambiente. Peces de aguas cálidas tienen una microflora mesófila, Gram-positiva (micrococcus, bacilos y coryneformes), mientras que los peces de aguas frías tienen una microflora predominantemente Gram-negativa (*Moraxella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* y *Vibrio*). Varios estudios han demostrado que los peces de aguas tropicales manipulados correctamente tienen una vida de anaquel más larga que los capturados en aguas frías (Shewan, 1977; Disney, 1976; Sumner y col., 1984; Poulter y col., 1981; citados por Ward y Baj, 1988). Es por eso que en la conservación de los productos pesqueros y durante su almacenamiento y comercialización es muy importante descender la temperatura para mantener su calidad en el tiempo. Por lo cual, el proceso de conservación debe iniciarse en el mismo momento en el que se captura el pez, colocándolo inmediatamente a temperaturas de refrigeración lo más cercanas a 0 °C. Sin embargo, no se

ralentizan los procesos autolíticos que acontecen tras la muerte del pez. Aún almacenado en frío, la vida útil de los productos pesqueros está limitada a unas horas o pocos días, por lo cual para su distribución y comercialización es muy importante buscar procesos o tecnologías que favorezcan una mayor vida útil del pescado (Montero y Gómez-Guillén, 2008).

El pescado es más sensible a la autólisis, a la hidrólisis y oxidación de las grasas, así como a la alteración por microorganismos comparado con otros productos de origen animal. Por lo cual, para mantenerlo se recurre a procesos de conservación cuyas intensidades son mayores que las usadas en la conservación de otros productos cárnicos (Sinde y col., 1998).

Las principales alteraciones o modificaciones que experimenta el pez recién capturado se deben a la acción bacteriana y a la autólisis o degradación de los componentes celulares, debido a la acción de enzimas presentes en los tejidos del pescado que pueden inducir modificaciones en color, sabor y apariencia (Burgess, 1971, Haard, 1992; citado por Namulema y col., 1999).

Congelación De Productos Pesqueros

Entre los procesos de conservación aplicados a productos pesqueros destaca la congelación, cuyo objetivo es conservar un producto que pueda almacenarse durante varios meses y que después de descongelado apenas haya cambiado durante el almacenamiento (Burgess, 1971). La congelación se utiliza a nivel industrial y doméstico (Namulema y col., 1999). El proceso de congelación consiste en disminuir la temperatura de un producto hasta que la mayor parte del agua libre se haya convertido en cristales de hielo (-5 a -30 °C).

La congelación debe su efecto conservador a la solidificación del agua disponible, disminuye la A_w , reduce las actividades microbiana y enzimática. Además al descender la temperatura disminuye la energía cinética entre las

moléculas disminuyendo la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas (INF, 1990; Rapin y Jacquard, 1999; Orrego Alzate, 2003).

En el caso de los productos pesqueros, el agua constituye entre el 60 y el 80 % de su composición proximal, a medida que avanza el proceso de congelación y disminuye el agua disponible, se concentran las fracciones de proteínas y grasa que representan la mayor parte de la materia seca (20 al 40 %), por lo cual se favorecen la desnaturalización de las proteínas y la inestabilidad de las grasas, lo que se reflejará en la alteración de los atributos sensoriales (Burgess, 1971).

El tiempo en el cual un alimento alcanza la temperatura de congelación puede afectar o modificar los atributos que definen la calidad del producto. Si ese tiempo es de 4 a 24 horas y hasta 72 horas (congelación lenta), se favorece la agregación de grandes cristales de hielo, los cuales rompen las células del tejido muscular, liberando las sales intracitoplasmáticas a los espacios intercelulares, aumentando su concentración allí, favoreciendo la deshidratación de la célula por ósmosis, así como también beneficia el contacto lípido-lipasa liberándose los ácidos grasos de los acilglicéridos, los cuales al reaccionar con las proteínas contribuyen a hacerlas hidrofóbicas perdiendo su solubilidad y desnaturalizándose. Esta formación de grandes cristales causa que las fibras musculares se encojan y se apelmacen, de tal manera, que al descongelar el músculo, se desprende una gran cantidad de exudado ofreciendo un producto de textura seca y fibrosa (INF, 1990; Tejada y col., 1996, citados por Mena, 2009; González, 2001; Chanona y col., 2006). Se ha demostrado que si el tiempo invertido en reducir la temperatura desde 0 a - 5 °C supera las 4 horas, el consumidor notará algún cambio en la textura del pescado congelado y cocido; y los tiempos que exceden las dos horas poseen un efecto adverso sobre la idoneidad para filetear y ahumar el pescado (Burgess, 1971).

Si por el contrario, el tiempo de congelación es menor a 2 horas (congelación rápida) la agregación de los cristales de hielo es pequeña y el daño celular es

menor. La congelación rápida supone un tiempo de congelación de 30 minutos o menos y se congelan piezas pequeñas de alimentos. Por ejemplo: filetes, porciones, rebanadas o pescados pequeños.

Para el proceso de congelación rápida se recurre a congeladores de placas de doble contacto, donde la transferencia de calor es por contacto directo entre el producto (con o sin empaque) y las placas. Estas últimas pueden estar dispuestas en forma vertical u horizontal.

Como ya se mencionó, conservar el pescado a temperaturas de 0 °C no disminuye las reacciones autolíticas que suceden tras la muerte del pez. Por lo cual, al almacenar en frío, la vida útil de los productos pesqueros está limitada a unas horas o pocos días. Por ello es muy importante considerar las buenas prácticas de fabricación (BPF) para minimizar las alteraciones indeseables. Benjakul y col. (2003) señalan que durante la captura de los peces se produce el deterioro causado por la actividad microbiana, si la manipulación no es adecuada, debido a los microorganismos presentes en el pez y a los del ambiente. Esto se asocia con la degradación y desnaturalización de las proteínas miofibrilares del músculo de pescado, que conduce a la pérdida de propiedades de la proteína.

Si bien el proceso de congelación reduce significativamente la actividad microbiana, ocurren cambios en las proteínas que acortan el tiempo de conservación del pescado congelado (Connell, 1960; Mackie, 1993, citados por (Badii y Howell, 2002). Estas alteraciones determinan la calidad del pescado congelado en términos de la funcionalidad de las proteínas.

En la práctica industrial y doméstica, los alimentos se congelan a una temperatura de -10 °C para conservar la calidad inicial y la integridad de un producto que será consumido posteriormente, así como también para crear una textura y consistencia en el alimento, de forma que sea apetecible para el consumidor (I.N.F, 1990).

La temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ proporciona un margen de seguridad con respecto a los microorganismos deteriorativos y los patógenos, ya que cesa la actividad metabólica, también reduce la actividad de muchas de las enzimas presentes en los alimentos lo suficiente como para evitar un deterioro significativo, pero continúa aún lentamente (Burgess, 1971; Potter, 1995). La actividad bacteriana no cesa durante la congelación, se reduce, y por debajo de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, las bacterias han perdido la capacidad de reproducirse y parte de la población bacteriana muere durante el proceso de congelación pero otra entra en fase de latencia sobreviviendo y activándose tan pronto se inicia el proceso de descongelación (Burgess, 1971). Por ello, Lannelongue y col. (1982) concluyen que el control de la actividad bacteriana en pescados es la clave para extender la vida útil de estos productos.

Las reacciones que causan pérdida de calidad de un alimento, como el pescado, se clasifican en 4 grupos: microbiológicas, enzimáticas, químicas y físicas, y las consecuencias de estas reacciones se reflejan en modificaciones del color, sabor, olor (Gould, 1989; citado por Welti- Chanes y Bermúdez, 2002). Estas reacciones pueden ocurrir a temperaturas de congelación tan bajas como $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Robertson, 1993). Es por ello que la aplicación de tecnologías que mantengan el pescado con su aspecto crudo o fresco, ha llevado a desarrollar operaciones de empacado que mantengan las características del producto fresco, minimizando el crecimiento bacteriano y ralentizando los procesos autolíticos y de oxidación.

Almacenamiento Congelado

El almacenamiento congelado es uno de los procesos más importantes para la conservación a largo plazo del pescado, se ha usado para mantener las propiedades sensoriales y nutricionales antes de que el pescado sea consumido o empleado en otros procesos tecnológicos. Adicionalmente, se puede facilitar su

transporte y manejo, así como también conservar los alimentos en épocas de abundancia para su posterior distribución en tiempos de escasez (Burgess, 1971).

El pescado una vez congelado se almacena habitualmente en más de un almacén frigorífico a lo largo de la cadena de comercialización, por lo que deberá haber un control de las temperaturas de cada uno de esos almacenes, para reducir el riesgo de que ocurran fluctuaciones de la temperatura de almacenamiento, que de suceder serán las responsables del deterioro en los atributos de calidad del músculo del pescado congelado, debido a reacciones indeseables ya mencionadas, que se manifiestan en alteraciones en los atributos de calidad. Un aumento, breve, de la temperatura de almacenamiento en un punto cualquiera de la cadena de frío puede reducir el tiempo de conservación (I.N.F., 1990). De hecho, el desarrollo de las reacciones de rancidez está estrechamente relacionado con la temperatura de almacenamiento (Robertson, 1993). Por tanto es muy importante conocer la "historia" del almacenamiento del producto.

La palatabilidad del pescado congelado y almacenado por largo tiempo está normalmente restringida por las pérdidas en sabor y/o textura. Estos cambios en el músculo del pescado son comercialmente importantes ya que determinan su duración o estabilidad en estado congelado (Colomenero y Borderias, 1983; Jiang y Lee, 1985; Pigott y Tucker, 1987; Haard, 1992; Santos-Yap y Emilia, 1996; Erickson, 1997; Simeonidou y col., 1997; citados por Tsikas y col., 2009).

La temperatura a la cual se debe almacenar un producto congelado no debe favorecer la acumulación inconveniente de agua libre y debe minimizar las alteraciones como pérdida de peso por la deshidratación durante el almacenamiento congelado, pérdida por goteo, endurecimiento por la deshidratación de las fibras musculares por la consecuente formación de hielo y la desnaturalización de las proteínas; pérdida de aroma causado por la descomposición y evaporación de componentes volátiles; absorción de sustancias aromáticas de otros productos, pérdida de sabor como consecuencia de la pérdida

por goteo, descomposición de componentes nutritivos (lípidos y vitaminas) por la oxidación y por la desnaturalización de proteínas (Tanaka, 1992, citado por González, 2001).

Potter (1995) advierte que los productos deben congelarse y almacenarse a la misma temperatura, la cual debe ser la misma durante su transporte a lo largo de la cadena de comercialización. Recomienda que los alimentos deben congelarse a una temperatura interna de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos y esa deberá ser la temperatura en el almacenamiento y transporte. Con esto se minimizarían las alteraciones antes mencionadas.

En la práctica industrial y comercial, se adoptan las dos temperaturas convencionales para el almacenamiento congelado y la distribución, -10 y $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, para conservar la calidad del alimento durante el tiempo deseado de almacenamiento, transporte y venta (INF, 1990).

Cambios físicos y químicos durante el almacenamiento congelado

La agregación de proteínas en el pescado congelado, depende de muchos factores, como la especie, la temperatura de almacenamiento, las fluctuaciones de temperatura, tiempo de almacenamiento y la degradación enzimática. La susceptibilidad de las especies de pescados a los cambios inducidos por el almacenamiento congelado es significativamente diferente. En pescado grasos congelados, cambio oxidativos en los lípidos y en los pigmentos afectan el olor y el color así como a las proteínas, mientras que en los magros, los principales cambios involucran la agregación de las proteínas, los cuales alteran la textura del músculo de pescado (Saeed y Howell, 1999 y 2001, Sikorski, Oley y Kostuch, 1976, citados por Badii y Howell, 2002). Los autores sugieren que el formaldehído juega un papel limitado en el endurecimiento del músculo durante el almacenamiento congelado y que otros factores como la oxidación de lípidos y la formación de cristales son más importantes. Concluyen que, los filetes de bacalao y eglefino (*Melonogrammus aeglefinus*) presentaron niveles de desnaturalización

de las proteínas y cambios en la textura similares durante el almacenamiento a -10 °C, mientras que Benjakul y col. (2003) encontraron la desnaturalización de proteínas y disrupción del tejido durante el almacenamiento congelado a -18 °C por 24 semanas de corvina, pez lagarto, pargo dorado y pargo patudo.

Durante el almacenamiento congelado de los productos pesqueros, las reacciones químicas y enzimáticas continúan lentamente. Las proteínas del pescado pueden sufrir una deshidratación irreversible, dentro de las proteínas, la mioglobina, en los peces de carne roja, puede oxidarse, sobre todo en la superficie, dando lugar a oximioglobina y metamioglobina de color pardo, y las grasas pueden también hidrolizarse y oxidarse.

Con respecto al color del músculo del atún se ha observado:

- Decoloración después de 6 meses de almacenamiento - 20 °C, mientras que apenas hubo decoloración en el intervalo de - 35 a -78 °C (no menciona el tiempo).

- Que la decoloración del músculo de atún congelado es independiente de la velocidad de congelación, pero dependiente de la temperatura de almacenamiento.

- Que se puede prevenir la decoloración en las muestras de atún muy frescas almacenadas a - 40 °C.

- Que la decoloración es más rápida en la porción interna del músculo que en la superficie, en las muestras almacenadas de - 3 a - 20 °C; y después de 3 a 6 meses de almacenamiento de -20 a - 30 °C. Este fenómeno se relaciona con la presión parcial de oxígeno en el músculo de atún (Bito, 1965a, Bito 1968, Hashimoto y Watabe, 1983, Chow 1991a, Bito y Honma, 1967; Matsuura y col., 1962, citados por Chow y col. 2004).

Las fluctuaciones en las temperaturas de almacenamiento determinan un aumento del tamaño de los cristales de hielo y la alteración física del alimento. Durante el almacenamiento congelado, puede ocurrir la deshidratación, especialmente en la superficie del pescado. Esto pasa cuando se evaporan los cristales de hielo en un área de la superficie y se produce la llamada *quemadura del hielo*. Cuando aparece este defecto surge una zona seca, granulosa y parduzca, en la que se producen las transformaciones químicas antes mencionadas y los tejidos se secan y endurecen (Frazier, 1981). Es por ello, que todos los alimentos congelados deben ser empacados para protegerlos de la deshidratación durante el almacenamiento congelado. La quemadura por congelación altera irreversiblemente el color, la textura, el sabor y el valor nutritivo de los alimentos congelados (Desrosier, 2000).

Dyer (1951) citado por López (2006), señaló que la extracción de las proteínas sarcoplasmáticas es poco afectada por el almacenamiento congelado y que la disminución de la solubilidad que se observa se debe principalmente a las proteínas miofibrilares. En esto coincide Chang y Regenstein (1997); citados por Namulema y col. (1999).

Otros autores mencionan que la agregación de las proteínas miofibrilares ocurre después de prolongados períodos de almacenamiento congelado (Jiang, 1977,1984; Kurokawa, 1979; Matsumoto, 1979,1980; Noguchi, 1982; Nosaki y col., 1978; Okada y col., 1974, citados por Tsai, 1988). Las proteínas miofibrilares, además de experimentar desnaturalización durante el proceso de congelación, también sufren alteraciones durante el almacenamiento congelado, en muchas especies de pescado se agregan, lo que conlleva a la modificación en la textura del músculo, a la pérdida de funcionalidad de las proteínas, como es la capacidad de formar geles (Sikorski y col., 1976; Matsumoto, 1980, citados por Benjakul y col., 2005; Tejada y col. 1996, citados por Castillo, 2001). Careche y col. (2002) señalan además la interacción de las proteínas con los lípidos y/o sus productos de oxidación, y que la forma en que estos factores causan los cambios

estructurales de las proteínas produciendo la desnaturalización y agregación aun está por establecerse. Sin embargo, la principal consecuencia práctica de estos fenómenos es un descenso de la capacidad de retención del agua que se manifiesta, después de la congelación, por un fuerte exudado; aunque este exudado contiene algunos aminoácidos, vitaminas, sales minerales, etc., la pérdida de valor nutritivo es pequeña; por el contrario, puede ser considerable la pérdida del peso, y la textura es más seca (Cheftel y Cheftel, 1980).

Por otra parte, Namulema y col. (1999), concluyeron que la temperatura de almacenamiento de $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ no es adecuada para prevenir la lipólisis, los cambios en la funcionalidad de la proteína ni el cambio en los atributos sensoriales en los filetes de Perca del Nilo empacados en PE, congelados a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas y almacenados a $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que una temperatura de almacenamiento de $-27\text{ }^{\circ}\text{C}$ conservó la mayor parte de los atributos sensoriales, pero registraron cambios químicos significativos. Por lo tanto, temperaturas muy bajas de almacenamiento, deben ser favorable para largos periodos de almacenamiento.

Anelich y col (2001), no encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a textura, aroma, apariencia y sabor en filetes de bagre africano (*Clarias gariepinus*) empacado al vacío y a presión atmosférica, almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 11 meses.

López (2006) concluyó que las porciones de bagre yaque (*Leiarius marmoratus*), con un porcentaje de grasa de 3,16 %, empacadas al vacío, glaseado y en polietileno, fueron estables desde el punto de vista fisicoquímico y sensorial hasta el 4to mes, almacenadas a dos temperaturas, -12 y $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las diferencias fueron significativas al 6to mes, en los parámetros analizados: proteínas totales solubles en solución salina, proteínas miofibrilares, líquido exprimible, ácidos grasos y TBA, siendo más acentuadas a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Arkoudelos y col. (2007) estudiaron los atributos de calidad de la Anguila (*Anguilla anguilla*) empacada bajo presión atmosférica, vacío y atmosfera modificada (40% CO₂, 30% N₂ y 30% O₂) y almacenadas a 0 °C, concluyendo que el uso del Empacado en Atmósfera Modificada (EAM) fue el tratamiento más eficaz para prolongar la vida útil de la anguila durante 18 días.

Empacado en Atmósfera Modificada (EAM)

El objetivo de empacar un alimento es proteger el contenido contra el deterioro que puede ser físico, químico o biológico durante el almacenamiento y distribución (Anandaswamy e lyengar, 1980; citados por López, 2006).

Dentro de las operaciones de empacado, se dispone del empacado de alimentos en atmósfera modificada (AM) que es un proceso que involucra, empacar el producto, extraer el aire del sistema empaque-alimento y reemplazarlo con un gas o con una mezcla de gases. Generalmente son los mismos gases presentes en el aire O₂, CO₂, N₂, pero en proporciones diferentes. Pueden ser combinaciones de 2 ó 3 gases. Cuyo objetivo es alargar la vida útil del producto refrigerado o congelado al reducir el crecimiento microbiano y retrasar el deterioro enzimático.

Es importante que la composición de la atmósfera modificada permanezca constante durante el mayor tiempo posible. Esto se consigue con materiales de empacado de permeabilidad adecuada. Dependiendo de las necesidades del alimento se opta por películas de alta barrera o por láminas permeables al paso de los gases, como sucede en los productos con una actividad metabólica intensa. También debe soportar la presión interna de los gases sin estallar gracias a su flexibilidad. Algunos son aptos para el termoformado y otros para el sellado por calor que permite el cierre hermético de los paquetes sin riesgo de goteo o pérdida de aromas (García y col., 2006).

La mezcla de gases dependerá del tipo de producto a empacar (Parry, 1993), si se trata de productos vegetales que respiran, o productos cárnicos, en los cuales el tejido ya no respira. Dependiendo de las exigencias del alimento a empacar, se requerirá una atmósfera con ambientes ricos en CO₂ y pobres en O₂, lo que reduce el proceso de deterioro en los productos, conservando sus características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas por un mayor tiempo (Ospina y Cartagena, 2008).

El incremento en la demanda de productos frescos, naturales, con mínimo proceso exige a la Industria pesquera extender la vida útil del pescado fresco refrigerado y congelado, para lo cual se ha buscado adaptar procesos de empacado, que han sido exitosos en la preservación de otro tipo de alimentos, como las frutas, hortalizas y otros productos cárnicos (Post y col, 1985). Este incremento ha estimulado a la industria de empaques para alimentos a desarrollar polímeros de alta barrera y de equipos termoselladores para materiales flexibles.

Disponer de una alternativa que extienda la vida útil del pescado conservado por congelación, aporta ventajas a la industria que redundan en beneficios económicos ya que se reducen las pérdidas asociadas a la distribución y exhibición de producto en tiendas minoristas o al detal, lo que puede conducir a mejoras en la comercialización de productos frescos y estabilizar el suministro a precios razonables (Lioutas, 1988, citado por Heidmann y Oetterer, 2003).

La vida útil de los productos pesqueros empacados en atmósfera modificada (EAM) puede ser extendida, dependiendo de la materia prima, temperatura, mezcla de gases y material de empaque. El % de incremento es de 0 a 280 % comparado con el almacenamiento aeróbico (Farber, 1991, Reddy, Armstrong, Rhodehamel, y Kauter, 1992; citados por Ozogul y col., 2004). Sivertsvik y col. (2004), coinciden con los autores e incorporan la relación volumen de gas/volumen del producto (g/p).

Se ha demostrado que una atmósfera con menos concentración de O₂ y mayor concentración de CO₂ y/o N₂ incrementa la vida útil que ofrece el almacenamiento en refrigeración de los alimentos perecederos, incluyendo el pescado (Parry, 1993). La concentración adecuada de CO₂ depende de la especie de pescado y la composición de los gases recomendada para pescados magros es 40% de CO₂, 30% N₂ y 30% de O₂, y para los pescados grasos, 40-60% de CO₂ en equilibrio con N₂ (Baker y col., 1986, Guidelines, 1985, citados por Heidmann y Oetterer, 2003; Cann y col., 1984, Soccol y Oetterer, 2003; citados por Sankar y col., 2008). Heidmann y Oetterer (2003) concluyen que la concentración adecuada de CO₂ depende también de la población microbiana inicial, la relación gas/producto y el empaque a utilizar.

Al respecto, Hong y col. (1996), consiguieron que empacando filetes de macarela (*Scomber scombrus* L.) con 100 % de CO₂ y almacenándolos a -2 °C, la vida de anaquel de estos, se mantuvo por 21 días. Además, encontraron que el color amarillo en los filetes experimentó un ligero incremento a los 7 días de almacenamiento y coincidiendo con la coordenada de color b (Hunter).

Por otra parte, Lopes y col. (2004) y Teodoro y col. (2007) empacaron sardinas (*S. brasiliensis*) en AM con 40 hasta 100 % de CO₂ y las almacenaron en refrigeración a 4 ± 1 °C y 2 ± 2 °C, respectivamente. Encontraron desde el punto de vista microbiológico, que la atmósfera de 100 % CO₂ mantuvo durante 18 y 22 días de almacenamiento, respectivamente, los aerobios mesófilos por debajo de 10⁵ UFC/g. Sin embargo, las BVT a los 6 días a 4 °C habían alcanzado el valor límite para consumo humano de 30mgN/100g, mientras que a 2 °C se mantuvieron por debajo del límite durante 20 días. Por lo cual, los autores concluyeron que la atmósfera enriquecida con CO₂ es el mejor método de conservación de las sardinas (*S. brasiliensis*) desde el punto de microbiológico y Lopes y col. (2004) concluyeron además que las BVT, es el parámetro decisivo para definir la vida útil de las sardinas empacadas en AM y refrigerada. El recuento microbiológico inicial fue diferente, las muestras almacenadas a 4°C tenía entre 10³ y 10⁴ UFC/g y las

muestras almacenadas a 2 °C, 10^2 UFC/g, además de la diferencia en las temperaturas de almacenamiento y en el recuento inicial, Teodoro y col. (2007), menciona la capacidad del grupo de bacterias para la desaminación de los grupos nitrogenados no proteicos.

Guedes y col. (2006) observaron que el empaçado con 100 % de CO₂ mantuvo el pH y las BVT en las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus albacares*) dentro de los límites aceptables durante 20 días de almacenamiento a 2 ± 2 °C mientras los aerobios mesófilos alcanzaron los 10^7 UFC/g en ese tiempo, comparado con las rebanadas empaçadas al vacío, a presión atmosférica y en AM con las siguientes proporciones de gases 40/60 y 80/20 CO₂/N₂. Observaron, en general, que al incrementar en el % de CO₂, aumentaba la vida útil de las rebanadas de lomo de atún, otorgándole mayor vida útil que las empaçadas a presión atmosférica.

Dióxido de Carbono

El Dióxido de Carbono (CO₂) es uno de los gases utilizados en el EAM, ya sea solo o en mezcla con O₂ y N₂. Es un gas incoloro, inodoro y de sabor ácido. Soluble en agua y en lípidos. No es tóxico ni inflamable. Se encuentra en la atmósfera en proporciones entre 0,035 - 0,06 %, y en la mezcla de gases para la conservación de alimentos suele ser el componente mayoritario, frecuentemente puede añadirse en proporciones alrededor de 60 % hasta el 100 %.

Se caracteriza por presentar un efecto bacteriostático proporcional a su concentración. La acción inhibidora del CO₂ sobre el crecimiento microbiano se debe a que se absorbe sobre la superficie del pescado como ácido carbónico, se disuelve en la fase acuosa del tejido muscular del pescado ionizándose y reduciendo el pH del medio (Banks y col., 1980; Gill y Penney, 1988, Devlieghere, Debevere y Van Impe, 1998a, 1998b, citados por Sivertsvik y col., 2004). El efecto neto es una reacción ácida, los microorganismos que son sensibles a la acidez son inhibidos mientras los ácido-tolerantes son estimulados.



El incremento de bacterias ácido lácticas que se ha observado en pescados almacenados en atmósferas con CO_2 debe ser el resultado de las condiciones anaeróbicas y el medio ácido creados por el CO_2 (Banks y col., 1980). Los autores citan a Sander y Soo (1978) quienes concluyeron que el CO_2 inhibe el incremento de las bacterias tradicionalmente asociadas con el deterioro mientras estimulan el crecimiento de las bacterias ácido lácticas a través de su absorción sobre la superficie de la muestras. Además de causar alteraciones directas en las propiedades fisicoquímicas de las proteínas (Daniels y col., 1985, citados por Heidmann y Oetterer, 2003).

El CO_2 es efectivo contra las bacterias Gram-negativas, bacterias aeróbicas deteriorativas como las *Pseudomonas* que causan decoloración, así como aromas y sabor desagradables en carnes, pollos y pescados (Parry, 1993). También presenta acción fungistática, que en productos pesqueros no es relevante.

Además el CO_2 tiene efectos sobre las enzimas citoplasmáticas, lo que contribuye a la disminución de la tasa de crecimiento bacteriano durante la etapa logarítmica y prolongar la fase de latencia microbiana. La efectividad del CO_2 en inhibir el crecimiento microbiano aumenta a temperaturas de refrigeración, y depende de la clase de microorganismos, condiciones del medio y barreras como pH, A_w , concentraciones de sal y azúcar (Heidmann y Oetterer, 2003; Fiallos, 2009). No se han encontrado referencias con respecto a la efectividad del CO_2 a temperaturas de congelación. La solubilidad del CO_2 en agua ha sido investigada (Carroll y col., 1991; Crovetto, 1991; Wilhelm, Battino y Witcock, 1977; citados por Sivertsvik y col., 2004), pero el conocimiento de la solubilidad y la velocidad de difusión dentro de los alimentos, como el pescado, no ha sido bien investigado. La única estimación de la difusibilidad del CO_2 dentro del pescado ha sido informada para los filetes de merluza del Pacífico a 0 °C y es de $5,19 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (Simpson,

Almonacid y Avelado, citados por Sivertsvik y col., 2004). En el Cuadro 1 se presentan algunas propiedades fisicoquímicas del Dióxido de Carbono.

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas del CO₂

Peso Molecular	44,01 g/mol
Temperatura de Sublimación (1 atm)	-78,50 °C
Presión crítica	73,825 bar
Densidad del gas (21.1 °C, 1 atm)	1,83 kg/m ³
Densidad del gas (1 atm y 15 °C)	1,87 kg/m ³
Temperatura crítica	31,10 °C
Solubilidad en agua (1 atm y 0 °C)	3,3699 g/l
Concentración en el aire	0,03 %

El pescado

Composición química

La composición química del pescado depende de muchas variables entre las que se destacan la especie, la edad, estado fisiológico, época y zona de captura. El pescado de más edad es generalmente más rico en grasa y, por lo tanto contiene una menor proporción de agua. En determinadas épocas del año, los peces están más delgados y su carne tiene un contenido mayor de agua con menor proporción de proteínas y grasa. Generalmente este estado aparece después del desove. Una vez que los animales se alimentan de nuevo, recuperan sus características habituales. Ordoñez y col (1998) citados por Marqués y col. (2006) señalan que de acuerdo con las estaciones, se observan cambios cíclicos en la composición de todas las especies de pescado.

El músculo del pescado se compone de agua, proteína, grasa y ceniza. La cantidad de carbohidratos es pequeña. De los cuatro componentes principales, la proteína es relativamente constante, ya que se trata de una sustancia estructural y no combustible como la grasa, que sirve de sustancia de reserva (Cheftel y

Cheftel, 1980). La distribución de los principales constituyentes proteicos del músculo es la siguiente:

- Proteínas sarcoplasmáticas (enzimas glicolíticas, mioglobulinas, etc): 25 a 30%
- Proteínas miofibrilares (actina y miosina): 65 a 75 %
- Proteínas del tejido conjuntivo (colágeno, elastina, etc.): 10 a 15%

Las proteínas poseen diferentes propiedades físicas y químicas que las hacen impartir distintas características a los alimentos. Muchas de estas propiedades dependen directamente de factores intrínsecos del polímero de la proteína, como es su estructura y composición de aminoácidos, o bien de factores extrínsecos, como pueden ser el pH, la temperatura y las sales. Al igual que otras moléculas de alto peso molecular, las proteínas ejercen una influencia muy marcada en las propiedades sensoriales de los alimentos, pero por tener un alto grado de orden estructural, son fácilmente alterables por un gran número de factores que causan la pérdida de estas propiedades funcionales (López, 2006).

Por otra parte, la fracción de lípidos en el músculo de pescado experimenta oscilaciones que ha llevado a establecer la distinción entre pescados magros o blancos (< 1% de grasa), pescados semigrasos (entre 2 % y 5 % de grasa) y pescados grasos (con más de 5 % de grasa). Además, para una misma especie hay oscilaciones de la fracción lípidica con respecto a la edad, el sexo, la etapa reproductiva, la alimentación, la temperatura del agua y la estación del año (Ludorff y Meyer, 1978). Según se explicó anteriormente, las especies de pescado pueden ser clasificadas en magras o grasas dependiendo de como almacenan los lípidos de reserva energética.

Los pescados magros usan el hígado como su depósito de energía y las especies grasas almacenan lípidos en células grasas en todas partes del cuerpo. Estas células grasas (que constituyen los depósitos de lípidos en las especies

grasas) están localizadas generalmente en el tejido subcutáneo, en los músculos del vientre y en los músculos que mueven las aletas y la cola. En algunas especies que almacenan cantidades extraordinariamente elevadas de lípidos, la grasa también puede ser depositada en la cavidad ventral (Huss, 1999).

En cuanto a los atributos sensoriales, para el pescado crudo, son importantes los que se refieren a su aspecto y a la frescura, es decir, color, olor, sabor, textura y jugosidad.

El Atún

El atún es un pez óseo perteneciente al Suborden Scombroidei y a la familia Scombridae. Los géneros más conocidos por su importancia pesquera son los pertenecientes a los géneros: *Thunnus* y *Katsuwonus*. La especie *Thunnus thynnus* conocido como aleta azul o atún rojo, alcanza de 2,5 a 3 m de longitud y 300 Kg. de peso o más. Es azulado en la parte superior del cuerpo, grisáceo con manchas plateadas en los laterales y blancuzco en la región ventral. Su carne es roja y el color se debe al sistema de vasos sanguíneos desarrollados particularmente en los músculos laterales del tronco. Se trata de un pez pelágico presente en todos los océanos, pero se captura principalmente en el Atlántico Noroccidental y en el Pacífico Occidental. Es la especie más apreciada en el mercado mundial de atún para consumo fresco y sashimi (González y col., 2009). La producción nacional de túnidos (*Thunnus albacares*, *Katsuwonus pelamis* y *Thunnus obesus*) proviene del Mar Caribe y del Pacífico Oriental (FAO, 2005).

En los peces pelágicos, como el atún, que nadan más o menos en forma continua, hasta el 48 % de su peso puede estar constituido por músculo oscuro, el cual está diseñado para movimientos continuos aunque no tan fuertes (Huss, 1999). El color rojo del músculo de algunas especies de atún, como el atún aleta azul del Atlántico (*Thunnus thynnus*), aleta azul del Pacífico (*Thunnus orientalis*), atún rojo del sur (*Thunnus maccoyii*) y *Katsuwonus pelamis*, es un atributo de calidad muy importante para el consumidor. Se debe a la presencia del pigmento

muscular, mioglobina, cuya cantidad en el músculo supera los 500mg/100g (Matsuura y Hashimoto, 1954,1959; citados por Chow y col., 1987). Sin embargo, el color rojo se oscurece gradualmente a marrón incluso cuando se almacena congelado y es la consecuencia del estado de oxidación de la mioglobina o deoximioglobina (Mb o DeoxiMb) ($\approx 40\%$) y se rige por las cantidades relativas de las tres formas de mioglobina: DeoxiMb, OxiMb y MetaMb (Matsuura y Hashimoto, 1954, 1959, Bito, 1976, Thiansilakul y col., 2011, citados por De Berardinis y col., 2012; Brown, 1962, Chow y col., 1987; Lindahl y col., 2001; Ueki y col., 2005) y en menor proporción de la hemoglobina. Ambas proteínas transportan el O_2 a nivel celular y contienen un grupo hemo con un Fe^{++} unido a cuatro moléculas de nitrógeno del anillo de porfirina. El quinto enlace orbital de Fe^{++} está enlazado al nitrógeno de la cadena lateral de la histidina de la globina, mientras que el sexto enlace está disponible. El O_2 se une a través de un enlace de coordinación con el Fe^{++} del grupo hemo de la Mb ($Mb-Fe^{++}-O_2$) formando la O_2Mb u OxiMb y el tejido muscular adquiere un color rojo brillante, que es el color atractivo y deseable para el consumidor de productos frescos. El tejido muscular del atún es susceptible a la autooxidación, frente al corte y a la congelación, oxidándose el Fe^{++} a Fe^{+++} , formando MetaMb ($Mb-Fe^{+++}-H_2O$) (MetaMb) de color marrón (Livingston y Brown, 1981; Kitahara y col., 1990; citados por De Berardinis y col., 2012; Anderson y Wu, 2005; Ueki y col., 2005), color que es índice de que el tejido ha envejecido, el pescado habrá perdido su nivel de calidad global y es inaceptable para el consumidor (Kropf, 1980; Smith y col., 1996; Melton, 1999; citados por De Berardinis y col., 2012; Barreiro y Sandoval, 2006). El cambio de color en presencia del O_2 del aire incide directamente sobre el valor comercial del producto. Por lo cual la determinación del color es importante en la evaluación de la estabilidad en el almacenamiento del atún.

La Mb de los peces es más inestable que la de los vertebrados superiores; dependerá del pez y de la presión hidráulica bajo la cual se desplace en el agua, por lo cual, la autooxidación y la agregación suceden incluso bajo condiciones

suaves (Suzuki y col., 1973; citados por De Berardinis y col., 2012; Aojula y col., 1987; Ueki y col., 2005).

En el cuadro 2 se presenta la composición proximal del atún rojo evaluado por diferentes autores. El porcentaje de humedad se encuentra entre 70,47 y 82,55 %; el contenido de proteína entre 16,35 y 26,26 %. El porcentaje de grasa oscila entre 0,13 % y 11,31 %, valor inferior < 1% lo asocia a un pescado magro y el valor superior lo ubica como un pescado graso. Todos los autores reseñados trabajaron con lomo de atún y los cuatro últimos con atún rojo; cuatro de ellos reportan el contenido de grasa por debajo del 2 %, considerándose como un pescado magro, las diferencias probablemente se deban a la edad, sexo, alimentación, época de captura, ya que el lomo es el músculo con menos contenido lipídico. Las cenizas se mantienen entre 0,97 y 1,97 %.

Cuadro 2. Composición proximal del atún según varios autores

Autor	Humedad	Grasa cruda	Proteína cruda	Cenizas	Total
Huss (1999)	71,00	4,10	25,20	-	100,3
INN (2001)	71,90	0,70	26,10	1,30	100,00
Izquierdo y col. (2001)	71,45	1,78	23,45	1,14	97,82
Márquez y col (2006)	70,47	1,05	26,26	1,97	99,75
Mena (2009)	77,17	3,07	17,14	1,73	99,11
Rodríguez (2009)	72,08	11,31	17,12	1,40	101,91
De Berardinis y col (2012)	82,55	0,13	16,35	0,97	100,00
Cortez (2012) Lote 1	80,61	1,31	16,59	1,43	99,94
Cortez (2012) Lote 2	70,94	5,55	21,19	2,32	100,00

Los parámetros presentados por Huss (1999), no incluyen la fracción de cenizas y sin embargo, la composición proximal total supera el 100 %.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- Materia prima:

Se adquirieron 12,390 kg de lomo de atún rojo refrigerado (*Thunnus sp.*) en el Mercado de Quinta Crespo, Caracas, en mayo del 2012. Cada lomo medía aproximadamente 18 cm de largo por 15 cm de ancho. Se colocaron en una cava con hielo y se transportaron al laboratorio de productos pesqueros del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela en Caracas.



Foto 1. Lomos de atún rojo (*Thunnus sp.*) recién adquiridos.

2.- Tratamiento de los lomos de atún:

En la figura 1 se presenta el diagrama de flujo correspondiente a las operaciones y tratamientos aplicados a los lomos de atún para su conservación, así como la toma de muestras para los análisis. Se lavaron con agua potable de la red local, previamente hervida y refrigerada a 4 °C. Se rebanaron manualmente con cuchillo y se obtuvieron 52 rebanadas, cuyos pesos y dimensiones se presentan en el cuadro 3. Se colocó cada una de las rebanadas en bolsas de polietileno de baja densidad (PEBD) Marca Ziploc. Se ubicaron en un congelador de placas marca DOLE (Foto 3a) y se inició el proceso de congelación a los 25

minutos se sacaron las primeras 26 rebanadas congeladas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el resto continuó en el congelador hasta alcanzar $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una vez finalizado el proceso de congelación, cada una de las rebanadas congeladas se sacó de la bolsa de PEBD y se colocó individualmente en una bandeja (Fig.2) elaborada con una lámina compuesta de Poliamida, Etilen-Vinil-Alcohol y Polietileno (PA/EVOH/PE) (Fig.3), cuyas dimensiones son: 18 cm de largo, 15 cm de ancho y 3,5 cm de alto. Cada una de las bandejas se ubicó en la máquina selladora Multivac T200 (Fig.3b) para la extracción del aire, inyección de CO_2 y termosellado a $135\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una película polimérica laminada PA/PE 30/70 (Fig. 4). Las bandejas conteniendo las muestras control se empacaron a presión atmosférica, y las 26 restantes, se empacaron en atmósfera modificada (100 % CO_2), todas en una proporción 2:1 gas/muestra (Arahisar y col., 2004, Ozogul y col., 2004, Torrieri y col., 2006), para ello, primero se expusieron a una operación de vacío y luego a la inyección de CO_2 . Las muestras empacadas se almacenaron, 13 muestras a presión atmosférica y 13 muestras en 100 % CO_2 a -10°C en un congelador marca Samsung y 13 muestras empacadas a presión atmosférica y 13 en 100 % CO_2 a -18°C , en un congelador horizontal marca General Electric.

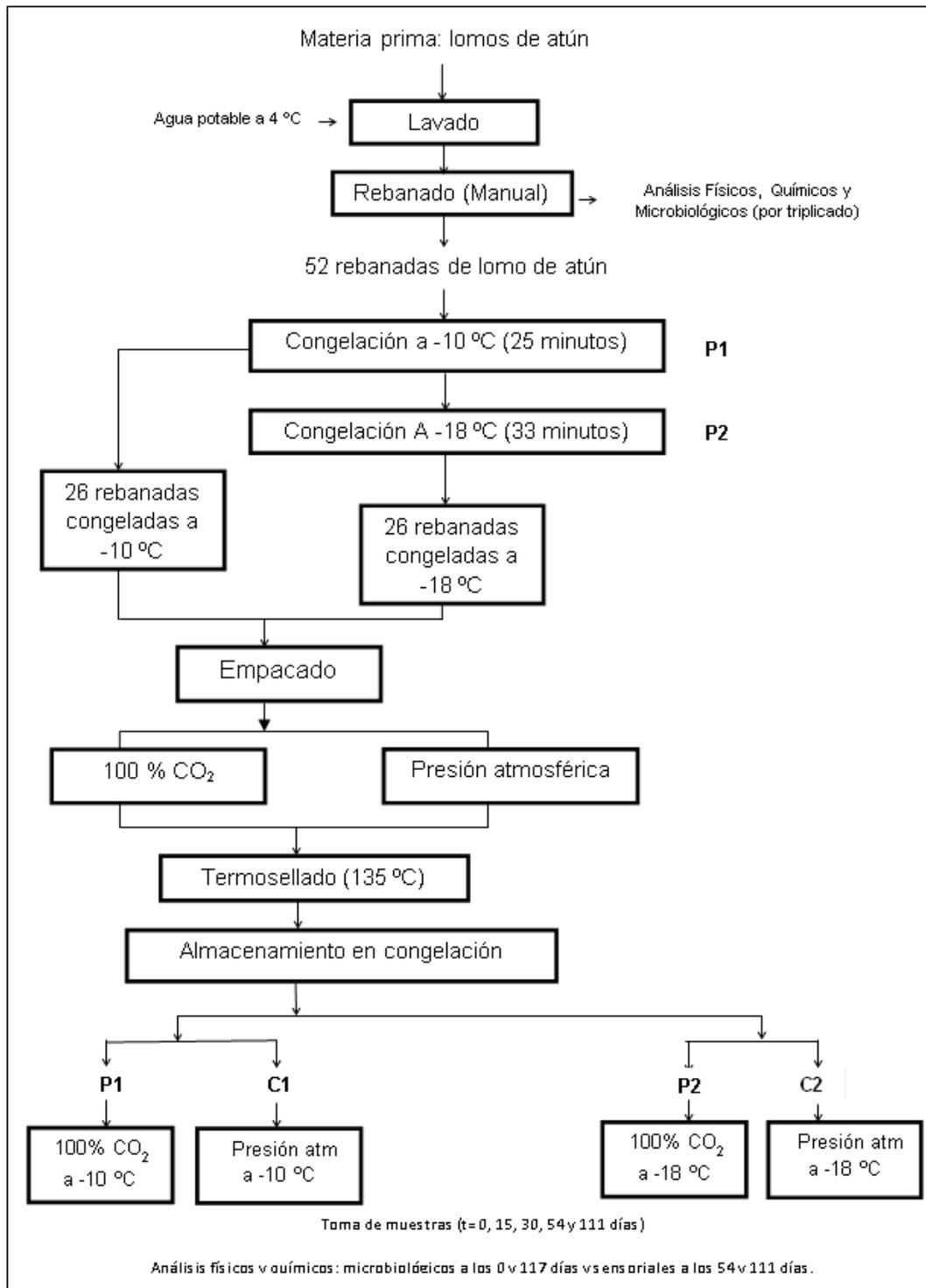


Figura 1. Procesamiento de los lomos de atún fresco.

Cuadro 3. Dimensiones promedios de las rebanadas de atún fresco (*Thunnus sp.*).

PARAMETROS	VALOR \pm DS
Largo (cm)	12,79 \pm 1,56
Ancho (cm)	11,55 \pm 1,27
Espesor (cm)	1,5 \pm 0,05
Peso (g)	185,78 \pm 8,88

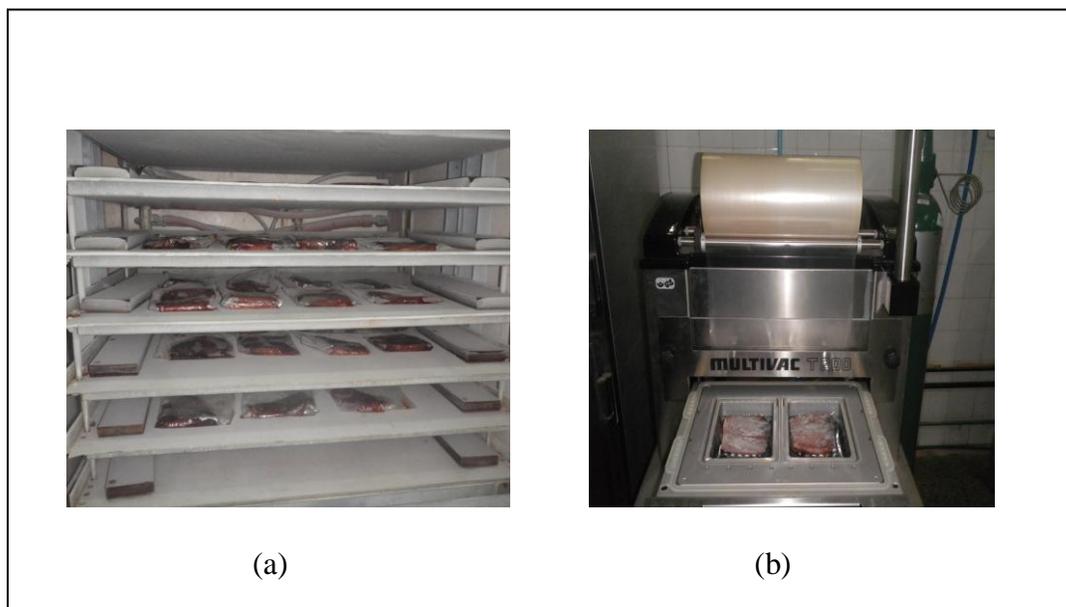


Foto 2. (a) Rebanadas de atún en el congelador de placas (b) Rebanadas de atún en la empacadora Multivac T200



Figura 2. Bandeja de PA/EVOH/PE.(García y col., 2006)

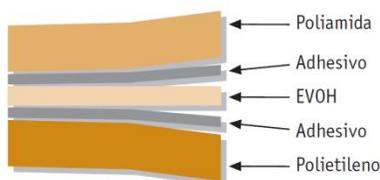


Figura 3. Estructura multicapas para la elaboración de las bandejas.

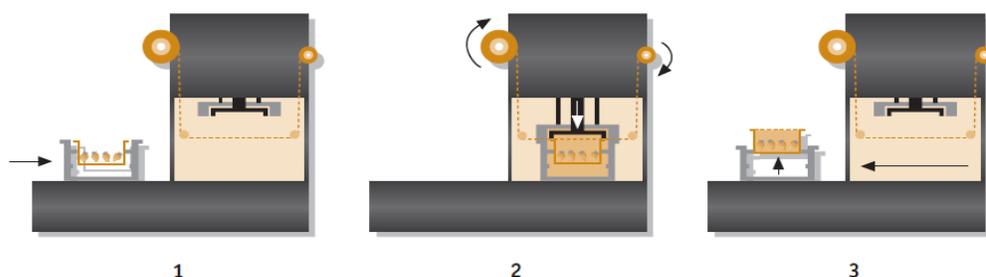


Figura 4. Termoselladora. (1) Introducción de la bandeja conteniendo el producto en la cámara de vacío; (2) evacuación del aire, inyección de los gases protectores y termosellado; y (3) salida del producto empacado. (García y col., 2006)

En el Anexo 1 se presenta el Manual de procedimiento para el funcionamiento de la empacadora Multivac T200.

3.- Materiales de empaque

Los materiales de empaque utilizados para este trabajo de investigación fueron bolsas de polietileno de baja densidad (PEBD), bandejas coextruidas multilaminadas, formadas por Poliamida (PA), Etilen-Vinil-Alcohol (EVOH) y Polietileno (PE) y una película polimérica laminada de PA/PE. En el cuadro 4 se presentan las propiedades de barrera de los materiales usados en el empaque en atmósfera modificada.

Cuadro 4. Propiedades de barrera de cada uno de los materiales poliméricos integrantes del multilaminado usado durante esta experiencia como material de empaque, bandeja y película para el EAM. García y col. (2006).

Material	Permeabilidad al O ₂ (cm ³ /m ² ·día·atm) películas de 25μ 25°C	Permeabilidad al CO ₂ (cm ³ /m ² ·día·atm) películas de 25μ 25°C	Transmisión de vapor de agua (g/m ² ·día) 38°C 90% HR
PA	500	2000	5-13
EVOH	3-5	-	16-18
PE	7800	42000	18

4. Determinaciones:

A tiempo cero se evaluaron los atributos físicos, químicos y microbiológicos del lomo de atún recién adquirido. A los tiempos 15, 30, 54 y 111 días de almacenamiento se evaluaron los atributos físicos y químicos de las rebanadas de lomo de atún empacadas con y sin CO₂ y almacenadas en congelación a -10 y -18 °C. Los análisis microbiológicos se realizaron a t=0 y t=117 días. La evaluación sensorial se realizó a los t= 54 y t= 111 días.

Para las determinaciones físicas, químicas, y microbiológicas, se extrajeron de cada uno de los congeladores 3 muestras seleccionadas al azar, para cada tiempo de evaluación. Las muestras seleccionadas se homogenizaron en un procesador de alimentos marca Osterizer durante un minuto. Se tomaron 3 submuestras para las determinaciones correspondientes.

4.1. Análisis Físicos

- **Color:** Se aplicó el sistema Hunter Lab o sistema L, a, b, basado en la teoría de los colores opuestos. Se comparan las respuestas rojas (a) con las verdes (dimensión rojo-verde); las respuestas azules (b) con las amarillas (dimensión amarillo-azul). La tercera dimensión es la luminosidad L, de 0 a 100, siendo 0 negro perfecto y 100 un blanco perfecto (DeMan, 1980; citado en Bello y Gil, 1992). Se cortaron cubos de la rebanada del lomo de aproximadamente 4 x 4 cm². Se usó un colorímetro marca Macbeth eye® modelo 2445, calibrado con una

placa de referencia blanca Hunterlab color estándar S/N CX1819 Date 5/06 Iluminante D65 10° Observer, y con otra negra (sin identificación). Se determinaron las coordenadas colorimétricas a (- verde, + rojo), b (- azul, + amarillo) y L (luminosidad) por sextuplicado.

- **Análisis de Perfil de Textura:** Se cortaron cubos de la rebanada de lomo de atún de aproximadamente 1x1cm. Se midió por doble compresión con un texturómetro marca Texture Analyser TA.XT2i® (Stable Micro Systems Haslemere, Surrey, K) equipado con un émbolo cilíndrico o plato de compresión de 75 mm de diámetro, a una distancia de 8 mm de la muestra y a una velocidad de ensayo de 1,5 mm/s hasta comprimir un 50 % de la altura de la muestra. Se calibró el equipo con una celda de carga de 5 kg utilizando el software Texture Expert Exceed versión 2.54. La determinación se hizo por sextuplicado.

- **pH:** Se tomó 10 g del homogenizado de lomo de atún, se combinó con 90 ml de agua destilada y se filtró. Se usó un potenciómetro marca "OAKTON pH 510 series". Norma venezolana COVENIN (1979) Número 1315.

- **Actividad de Agua (Aw):** Se tomaron porciones de las muestras homogenizadas de atún, por triplicado, y se colocaron en unas cápsulas plásticas con tapa, que se retiraban para leer la Aw en un equipo Decagon modelo CX-2, marca "Aqua Lab", el cual utiliza el proceso de enfriamiento de un espejo por efecto peltier (Decagon Devices Inc., Pullman, Washington).

4.2. Análisis Químico

4.2.1. Análisis Proximal

- **Humedad:** según AOAC (2005) N° 950.46. Se deshidrató la muestra previamente homogeneizada, en una estufa marca Memmert a presión atmosférica, a 100°C durante 4 horas y luego a intervalos sucesivos de una hora hasta peso constante. Los resultados se expresan en porcentaje de Humedad.

- **Proteína cruda:** se realizó según el método micro-Kjeldahl, AOAC (2005) N° 940.25. Factor de conversión: 6,25. Los resultados se expresan en porcentaje de proteína.

- **Grasa cruda:** Según el método de Folch, (1957) se empleó una relación muestra: cloroformo: metanol de 1:6:3 con agitación continua por una hora, luego se adicionó agua destilada en igual cantidad que los solventes, se dejó reposar de 24-48 horas en refrigeración. Luego se separó la fase clorofórmica evaporándola bajo campana, con aplicación de calor. Se calculó el porcentaje de grasa.

- **Cenizas:** se obtuvieron por incineración en mufla marca Felisa, modelo FE-340, a 500 ± 50 °C, según método AOAC (2005) N° 938.08. Los resultados se expresan en porcentaje de ceniza.

4.2.2. Rancidez oxidativa por el método del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA):

Se aplicó según el método señalado por Tarladgis y col. (1960) modificado por Rhee, S.K. (1978). Se homogenizaron 10 g de muestra y se destilaron con 5ml de una solución de EDTA propilgalato al 0,5 %. Se recogieron 75 ml del destilado, el cual se trasvasó a un balón de 100ml y se aforó con agua destilada; se tomó una alícuota de 5ml del destilado y se mezcló con 5ml de una solución del ácido 2-TBA en un tubo con tapa para dejarlo en baño de maría por 35 minutos. Se dejó enfriar y se midió la absorbancia a 538nm con un espectrofotómetro marca Labomed modelo Spectro 22RS. Los resultados se expresaron en mg de Malonaldehído por gramo de muestra.

4.2.3. Bases volátiles totales (BVT): según el método de Pearson (1976), 10 gramos de muestra se homogenizaron con 250ml de agua destilada y 2g de óxido de magnesio como catalizador, se destiló durante 15 minutos. Se recogió el destilado en ácido bórico al 2 % y el indicador rojo de metilo-azul de metileno y se valoró el nitrógeno básico volátil. Los resultados se expresan en mg N/100g de muestra.

4.2.4. Proteínas solubles: Se determinó según la metodología señalada por Montecchia y col. (1997), homogeneizando 8g de músculo, por 1 minuto, en 160 mL de solución fría de 0,6 M KCl, 0,003 M NaHCO₃, pH 7; en un homogenizador “Ace Homogenizer” (modelo Nissei AM-3), luego se centrifugaron en frío a 5000 rpm (3357,00g) durante 20 minutos (en una Centrífuga Marca Sorvall, modelo RC2-B) y se separó el sobrenadante que contiene las proteínas solubles en solución salina, las cuales se cuantificaron por el método de Bradford (1976).

4.3. Análisis Microbiológico

Las determinaciones de microorganismos indicadores se realizaron según APHA (2001) y usando placas con películas secas rehidratables (Petrifilm, 3M ®).

4.3.1 Aerobios mesófilos, psicrófilos, coliformes totales: Se homogenizaron 10 g de muestra con 90 mL de agua peptonada al 0,1 %, a partir del cual se realizaron 6 diluciones seriadas. Se sembró 1mL de cada dilución en el centro del medio deshidratado petrifilm, se distribuyó cada uno de los inóculos, ejerciendo presión suave sobre la lámina difusora correspondiente, hasta que la muestra alcanzó los bordes de los círculos. Se incubaron por 24-48 horas a 35-37 °C para aerobios mesófilos, 7-10 días a 4 °C para aerobios psicrófilos y 24-48 horas a 35-37 °C para coliformes totales y fecales. Los resultados se expresaron como UFC/g de muestra.

4.4. Evaluación Sensorial

Se realizó la evaluación sensorial de las muestras de rebanadas de lomo de atún congeladas y empacadas con y sin CO₂, y almacenadas en congelación durante 54 y 111 días a través de una escala hedónica de 9 puntos, en forma creciente de aceptación. Se presentaron a un panel de 13 y 11 personas respectivamente, que consumieran pescado regularmente, cubos de aproximadamente 1 x 1 cm. Parámetros a evaluar el color, olor y la apariencia (Anexo 2).

4.5. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos en cada tratamiento fueron tabulados en Excel y analizados con el programa Statistica 8.0 mediante una prueba de ANOVA de una vía, con un nivel de confianza de 95%. Los tratamientos fueron P1 = muestras congeladas a -10 °C, empacadas bajo atmosfera modificada con 100 % CO₂ y P2 = muestras congeladas a -18 °C, empacadas bajo atmosfera modificada con 100% CO₂. Cada uno de los tratamientos con su respectivo control empacado a presión atmosférica (C1 y C2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN DEL LOMO DE ATÚN FRESCO (*Thunnus sp.*)

Composición proximal

El análisis proximal es muy importante en el control de calidad de cualquier alimento. La composición química varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, tamaño, medio ambiente y época del año (Huss, 1999). En este sentido las variaciones pueden ser anuales, debido a las fluctuaciones ambientales (Lovell, 1991). Otros agentes endógenos, como los genéticos y los asociados al ciclo vital de cada especie, la nutrición y la madurez sexual, se encuentran entre los principales factores (Olson y col., 2002).

En el Cuadro 5 se presentan la media y la desviación estándar de los parámetros de la composición proximal del lomo de atún rojo fresco adquirido para esta experiencia. El lomo de atún fresco se caracterizó por un 74,53 % de humedad; 1,23 % de grasa cruda, 22,51 % de proteína cruda y 1,50 % de cenizas. La humedad superó lo hallado por la mayoría de los autores señalados en el cuadro 2, salvo lo reportados por Mena (2009), De Berardinis y col., (2012); y Cortez (2012) para el lote 1. La grasa cruda es aproximadamente igual a lo

encontrado por Cortez (2012) para el lote 1 y la proteína cruda se aproxima a lo encontrado por Izquierdo y col., (2001) y Cortez (2012) en el lote 2.

Cuadro 5. Composición proximal (% \pm DS) de la muestra fresca de atún rojo

Componentes (%)	% \pm DS
Humedad	74,53 \pm 0,02
Proteína cruda	22,51 \pm 0,32
Grasa cruda	1,23 \pm 0,25
Ceniza	1,50 \pm 0,03
TOTAL	99,77

n=3. Se muestra la media \pm desviación estándar

Por el contenido de lípidos, el lomo evaluado durante esta experiencia se ubica entre un músculo magro (< 1,0 %) y uno semi graso (entre 2 y 5 %) (Ludorff y Meyer, 1978), por lo cual se favorece la estabilidad en el almacenamiento. El porcentaje de cenizas fue 1,50 %, menos de lo encontrado por Márquez y col. (2006), Mena (2009) y Cortez (2012) para el lote 2 y mayor al resto de los autores (Cuadro 2). El porcentaje de cenizas es inferior a lo informado por Márquez y col. (2006) (1,97 %) quienes lo relacionan con el tratamiento con salmuera fría, recibido a bordo de las embarcaciones para bajar su temperatura corporal antes de ser congelado.

Para comparar los resultados se realizó el cambio de base húmeda a base seca de los resultados obtenidos durante esta experiencia y de los autores reseñados en el Cuadro 2, los cuales se presentan en el Cuadro 6. Estos resultados no totalizan 100 %; esto se puede deber a errores experimentales en las determinaciones gravimétricas.

Se aprecia que el contenido de proteína oscila entre 61,32 y 93,70 % con una media de 82,78 %. El porcentaje de grasa oscila entre 0,74 y 40,51 % con una media de 11,18 %; el mayor contenido de grasa lo obtuvo Rodríguez (2009)

seguido por Cortez (2012) para el lote 2. El porcentaje de cenizas en el rango de 4,00 y 7,98 % con un promedio de 6,08 %.

El contenido de proteína cruda determinado en la muestra de lomo de atún fresco durante esta experiencia fue de 88,37 %, mayor a los obtenidos por Huss (1999), Izquierdo y col. (2001), Mena (2009), Rodríguez (2009) y Cortéz (2012) para ambos lotes; y menor a los obtenidos por INN (2001), Márquez y col. (2006) y De Berardinis y col. (2012). Mientras el contenido de grasa cruda (4,83%) fue mayor al encontrado por INN (2001), Márquez y col. (2006) y De Berardinis y col. (2012); y menor al reportado por el resto de los autores. El contenido de cenizas fue de 5,89 menor al encontrado por Márquez y col (2006), Mena (2009) y Cortez (2012); y mayor al reportado por el resto de los autores. La menor desviación estándar en esta comparación, la presenta la fracción de cenizas con 1,40 y las mayores, las presentan la fracción de grasa cruda (11,85) y proteína cruda (10,18)

Cuadro 6. Composición proximal en base seca del atún según varios autores.

Autor	Grasa cruda	Proteína cruda	Cenizas	Total
Huss (1999)	14,14	86,90	-	101,04
INN (2001)	2,49	92,88	4,63	100,00
Izquierdo y col. (2001)	6,24	82,14	4,00	92,38
Márquez y col.(2006)	3,56	88,93	6,67	99,16
Mena (2009)	13,45	75,08	7,58	96,11
Rodríguez (2009)	40,51	61,32	5,01	106,84
De Berardinis y col (2012)	0,74	93,70	5,56	100,00
Cortez (2012) Lote 1	6,76	85,56	7,37	99,69
Cortez (2012) Lote 2	19,10	72,92	7,98	100
Guerra (2013)	4,83	88,37	5,89	99,09
Promedio	11,18	82,78	6,08	-
DS	11,85	10,18	1,40	-

Estas variaciones pueden deberse, como ya se señaló, a factores como sexo, tamaño, edad, estado fisiológico o etapa reproductiva, tipo de tejido muscular, blanco, oscuro o ventral, y de factores extrínsecos como nutrición del individuo, zona y método de captura, época del año, temperatura del agua (Cheftel y Cheftel; 1980 Huss, 1999; Varona y col., 1986; Pérez y Pozo, 1990; Izquierdo y col., 2000 citados por De Berardinis y col., 2012). En el Cuadro 2 se observa que de los autores reseñados, Cortez (2012) en el lote 2, encontró mayor porcentaje de grasa cruda y menor contenido de humedad, además fue uno de los 3 autores cuya composición proximal totalizó 100 %. Esta proporción probablemente se deba a que el pescado de más edad es generalmente más rico en grasa y con menos proporción de humedad. En determinadas épocas del año, los peces están más delgados y el músculo tiene un contenido mayor de agua con menos proporción de proteína cruda y grasa cruda, generalmente esta situación aparece después del desove (Márquez y col., 2006). Esto posiblemente sea el caso de los resultados de De Berardinis y col. (2012) y Cortez (2012) en el lote 1. Ordoñez y col. (1998) citados por Márquez y col. (2006), señalan que en el atún además del arenque y la caballa los cambios que se observan en la composición proximal van de acuerdo a la estación del año, y son más evidentes en el atún por el alto contenido de grasa, así como en otras especies pelágicas. Por ello es preciso señalar la época del año en que se hace la captura y el tipo de músculo con el cual se está trabajando. Estas consideraciones son muy importantes porque la proporción de los componentes en el músculo son determinantes en la estabilidad del producto en el almacenamiento; y en el caso del atún rojo, los son el contenido de lípidos y el de mioglobina (De Berardinis y col., 2012).

Estabilidad microbiológica

La evaluación microbiológica aporta información de la frescura o calidad comestible del pescado, el objetivo es conocer la calidad higiénica del producto adquirido. En los peces vivos y recién capturados la flora bacteriana depende más del ambiente de captura, que de la especie. Los microorganismos se encuentran en toda la superficie externa (piel y branquias) y en los intestinos (Shewan, 1977;

citado por Huss, 1999). El número total de microorganismos varía considerablemente y se ha establecido como rango normal $10^2 - 10^7$ ufc /cm² en la superficie de la piel, y en las branquias e intestinos entre 10^3 y 10^9 ufc/g (Liston, 1980 citado por Huss, 1999). Los peces capturados en aguas muy frías y limpias contienen menor número de microorganismos, mientras que los capturados en aguas cálidas presentan recuentos ligeramente superiores. Números muy elevados, por ejemplo 10^7 ufc/cm², se encuentran en peces capturados en aguas muy contaminadas. Diferentes especies de bacterias pueden ser encontradas en la superficie de los peces. Las bacterias en peces de aguas templadas son clasificadas en psicotróficas y psicrófilas, de acuerdo al rango de su temperatura de crecimiento. Las psicotróficas (tolerantes al frío) son bacterias capaces de crecer a 0 °C pero su óptimo es alrededor de los 25 °C. Las psicrófilas (amantes del frío) son bacterias con una temperatura máxima de crecimiento alrededor de los 20 °C y su óptimo a 15 °C (Morita, 1975). La microflora en peces de aguas templadas está dominada por bacterias psicrófilas Gram negativas, pertenecientes a los géneros: *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, así como miembros de las familias Vibrionáceas (*Vibrio* y *Photobacterium*) y Aeromonadáceas (*Aeromonas* sp.).

La microbiología indica la calidad higiénica sanitaria de los productos alimenticios y por eso se incluye en la evaluación de la estabilidad de los productos procesados. Los aerobios mesófilos y coliformes son indicadores de la estabilidad microbiológica. En los productos congelados, la respuesta de los microorganismos a las temperaturas de congelación es variable: unos la resisten, pero son susceptibles de sufrir lesiones durante el almacenamiento congelado y en el proceso de descongelación, aunque sólo en determinadas circunstancias y otros se ven inactivados por la congelación casi en cualquier circunstancia (ICMSF, 1980).

En el Cuadro 7, se presenta el recuento de los microorganismos aerobios mesófilos, psicrófilos, coliformes totales y fecales, determinados en el atún fresco

(día 0) y en las rebanadas de lomo de atún congelado, empacadas en AM y almacenadas en congelación durante 117 días de almacenamiento.

Cuadro 7. Recuento microbiológico (UFC/g) de las rebanadas de atún rojo en la muestra fresca y para los diferentes tratamientos durante 117 días de almacenamiento congelado.

Indicadores	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	117			
		C1	P1	C2	P2
Aerobios mesófilos	2,19 x 10 ^{5a}	5,40 x 10 ^{2b}	5,60 x 10 ^{2b}	4,60 x 10 ^{2b}	4,05 x 10 ^{2b}
(UFC/g)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)
Aerobios psicrófilos	< 1 ^a	5,70 x 10 ^{2b}	5,00 x 10 ^{2b}	5,20 x 10 ^{2b}	3,10 x 10 ^{2b}
(UFC/g)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)
Coliformes totales	< 1 ^a				
(UFC/g)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)
Coliformes fecales	< 1 ^a				
(UFC/g)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)

n = 2, se muestra la media ± desviación estándar. UFC: Unidades Formadoras de Colonias

C1: congelado y empacado a Patm a -10°C P1: procesamiento 1, congelado y empacado en AM (100% CO₂) a -10°C

C2: congelado y empacado a Patm a -18°C P2: procesamiento 2, congelado y empacado en AM (100% CO₂) a -18°C

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas p<0,05

La muestra de lomo de atún recién adquirido se caracterizó por un título de aerobios mesófilos de 2,19 x 10⁵ UFC/g, superior a lo hallado por Ben-Gigirey y col.(1999) (< 500 UFC/g) en *Thunnus alalunga*; Delgado y col. (2000) (10² - 10³ UFC/g) en sardinas frescas (*Sardinella aurita*), por Márquez y col. (2006) (2,2x10³ UFC/g) en atún, por Stamatis y Arkoudelos (2007) (2,8 log UFC/ g) en caballa (*Scomber colias japonicus*), por Pons-Sánchez-Cascado y col. (2006) (10³ - 10⁴ UFC/g) en anchoas (*Engraulis encrasicolus*), por De Souza (2004) (3,5 log UFC/g) en lomo de atún (*Thunnus albacares*) y por Silva (2010) en sardinas (*S. brasiliensis*) (4,61 log UFC/g) y *Cetengraulis edentulus* (4,09 log UFC/g); y es igual al valor límite entre un recuento aceptable y uno marginalmente aceptable (m = 5 x 10⁵ UFC/g) para pescado fresco y congelado recomendado por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF, 1986).

A los 117 días de almacenamiento el título de aerobios mesófilos descendió para todos los tratamientos, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la muestra fresca de atún rojo y los tratamientos (P1, C1, P2 y C2).

Desde el momento de su captura, los pescados, poseen bacterias psicrófilas, la mayoría de las cuales sobreviven a la congelación y pueden desarrollarse cuando el pescado se descongela; por ejemplo, especies psicrófilas de *Pseudomonas*, *Achromobacter* y *Flavobacterium* (Frazier, 1981). En la muestra fresca de atún rojo se detectaron < 1 UFC/g de aerobios psicrófilos, mientras que Ben-Gigirey y col., 1999, encontró 10^3 UFC/g en *Thunnus alalunga*; Delgado y col. (2000) encontraron < 10 UFC/g en sardinas frescas (*Sardinella aurita*); y Silva (2010) 4,25 log UFC/g en sardinas (*S. brasiliensis*) y 4,26 log UFC/g en *Cetengraulis edentulus*. A los 117 días de almacenamiento se detectaron psicrófilos en el orden de 10^2 UFC/g para todos los tratamientos, siendo significativamente diferentes ($p < 0,05$) con respecto a la muestra fresca, independientemente de la temperatura de congelación y de la presencia o no del CO_2 .

En el lomo fresco no se detectaron coliformes totales. La ICMSF (1986) acepta 500 NMP/g de coliformes totales para pescado fresco y congelado. Márquez y col. (2006) encontraron en atún fresco $3,8 \times 10^2$ NMP/g. Los coliformes no son comunes en pescados y mariscos recién capturados en alta mar y su presencia indica prácticas de higiene deficientes en los barcos de pescas y en los distribuidores de pescado fresco (Metin y col., 2002; Barreiro y Sandoval, 2006). Tampoco se detectaron coliformes fecales en el producto recién adquirido que es lo esperado en productos pesqueros capturados en alta mar. Por lo cual el lomo de atún evaluado estaba en condiciones higiénicas adecuadas para que los procesos de congelación, empaquetado y almacenamiento congelado fueran eficientes.

Los microorganismos requieren la presencia de humedad en una forma disponible, para que puedan crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas

(ICMSF, 1980). En esta experiencia el contenido de humedad inicial fue de 74,53%, ambiente propicio para el desarrollo de microorganismos deteriorativos, luego del proceso de congelación y almacenamiento a dos temperaturas -10 y -18 °C, este porcentaje disminuyó y se mantuvo entre un 71 y 72 % durante los 111 días de almacenamiento y P2 perdió menos humedad y tuvo menos recuento de mesófilos. Hay bacterias que se desarrollan (naturalmente, muy lentas), entre - 8 °C y -10 °C; que son indeseables porque son responsables de alteraciones sensoriales, pero no son patógenas ni tóxicas. La congelación y el almacenamiento a -18 °C, tal como se practica habitualmente o incluso a temperaturas más bajas, no elimina por completo a los microorganismos. Algunas especies como las bacterias Gram negativas, desaparecen progresivamente; la flora bacteriana del pescado disminuye considerablemente durante la conservación en estado congelado; por el contrario, otras no resultan prácticamente afectadas por la congelación: Las bacterias que deterioran los pescados son típicamente psicrófilas (Cheftel y Cheftel, 1983; INF, 1990)

Los aerobios mesófilos son indicadores de sanidad, y su ausencia indica que la manipulación y las condiciones de conservación fueron adecuadas (MdA, 1981; Teodoro y col., 2007). Sin embargo, Huss (1997) analiza que el recuento total de viables es de valor dudoso en el análisis de productos pesqueros congelados porque durante la congelación y almacenamiento frigorífico la población bacteriana puede sufrir daño celular desconocido e incontrolado, y por tanto, un recuento muy bajo puede llevar a conclusiones falsas sobre la higiene del producto procesado. Según el autor, el recuento total de viables es de utilidad para medir las condiciones de la materia prima a procesar. En esta experiencia, el lomo de atún que fue rebanado, congelado, empacado en AM (100 % CO₂) y almacenado a - 10 y -18 °C por 117 días.

Para que el recuento total de viables sea útil y se haga una correcta interpretación de los resultados es esencial poseer un conocimiento profundo de las condiciones de manipulación y elaboración antes del muestreo.

La estimación del número de bacterias en los alimentos se utiliza con frecuencia como evaluación retrospectiva de la calidad microbiológica, o para evaluar la presunta “inocuidad” alimentaria. La finalidad del análisis microbiológico de los productos pesqueros es evaluar la posible presencia de bacterias u organismos de importancia para la salud pública, y proporcionar una impresión sobre la calidad higiénica del pescado, incluyendo el abuso de temperatura e higiene durante la manipulación y el procesamiento. En general, los resultados microbiológicos no proporcionan ninguna información sobre la calidad comestible y la frescura del pescado. Sin embargo, el número de bacterias específicas del deterioro está relacionado con el tiempo de duración remanente y esto puede ser predicho a partir del número de bacterias (Huss, 1999).

Color

En el cuadro 8 se presentan los valores para las coordenadas colorimétricas L, a y b. En la muestra fresca de atún rojo el valor de **L** fue de 41,62 mayor a lo encontrado por De Berardinis y col. (2012) en lomo de atún fresco (30,3) y a Cortez (2012) para el lote 1 y 2 (23,53 y 34,56 respectivamente). Hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) a lo largo del almacenamiento independientemente de la temperatura de congelación y de la presencia o no del CO_2 . El más estable en el tiempo, cuyas muestras fueron menos oscuras, fue el Control 1 (Congelado a -10°C en presencia de O_2). El tratamiento con menor luminosidad a los 111 días de almacenamiento fue P2 (congelado a -18°C y empacado con CO_2). Al final del almacenamiento las muestras C1 son las más luminosas, mientras que las más oscuras corresponden a las muestras congeladas y empacadas en atmósfera de CO_2 a -18°C (P2), aunque no hubo diferencia significativa entre ellas.

En la muestra fresca de atún rojo el valor de **a** fue de 7,88 cercano al encontrado por De Berardinis y col. (2012) en lomo de atún fresco (7,6) y menor al encontrado por Cortez (2012) en lomo de atún fresco para el lote 1 y 2 (8,51 y 8,46 respectivamente). Se observa que durante el almacenamiento C1 se mantuvo

Cuadro 8. Coordenadas colorimétricas L, a y b en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Almacenamiento (días)															
P	0			15			30			54			111		
	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*	L	a*	b*
C1	41,62 ^a (1,06)	7,88 ^a (0,41)	12,87 ^a (0,53)	35,68 ^b (1,30)	7,83 ^a (1,01)	12,50 ^a (1,03)	32,79 ^d (0,17)	6,09 ^c (0,02)	13,00 ^a (0,08)	31,27 ^d (0,79)	5,76 ^c (0,48)	12,79 ^a (0,70)	38,32 ^b (1,92)	5,13 ^c (0,72)	13,17 ^a (0,74)
P1	41,62 ^a (1,06)	7,88 ^a (0,41)	12,87 ^a (0,53)	28,77 ^c (2,39)	8,54 ^a (1,28)	14,34 ^b (1,13)	37,85 ^b (0,61)	8,15 ^a (0,10)	11,84 ^a (1,04)	26,11 ^{ce} (0,13)	10,31 ^b (0,05)	14,35 ^b (0,30)	25,91 ^{ce} (1,77)	8,81 ^a (0,23)	13,17 ^a (0,66)
C2	41,62 ^a (1,06)	7,88 ^a (0,41)	12,87 ^a (0,53)	29,53 ^c (1,34)	8,26 ^a (0,12)	11,76 ^a (0,74)	24,74 ^e (1,31)	9,38 ^b (0,30)	12,42 ^a (0,55)	36,50 ^b (2,30)	6,22 ^c (0,04)	9,07 ^d (0,91)	27,27 ^c (3,91)	8,51 ^a (1,29)	13,61 ^a (0,18)
P2	41,62 ^a (1,06)	7,88 ^a (0,41)	12,87 ^a (0,53)	29,34 ^c (0,22)	8,20 ^a (0,02)	12,86 ^a (0,40)	24,43 ^e (0,61)	8,62 ^{ab} (1,06)	9,90 ^c (1,03)	29,27 ^c (0,08)	7,75 ^a (0,12)	10,30 ^c (0,08)	24,02 ^e (1,19)	8,86 ^a (0,04)	13,94 ^a (0,53)

n=3, se muestra la media ± desviación estándar.

Superíndice con letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05).

L: Luminosidad; a*: (-verde, +rojo); b*: (-azul, +amarillo)

estable hasta los 15 días, disminuyendo significativamente hasta los 111 días. Mientras que con los otros tratamientos hubo un ligero incremento en el color rojo que tendió a estabilizarse para las atmósferas con CO₂ a los 30 días. Al final de los 111 días de almacenamiento, el tratamiento más estable y cuantitativamente más rojo fue el congelado a -18 °C y con CO₂. En P2 los valores de la coordenada **a** fluctuaron muy poco.

En la muestra fresca de atún rojo el valor **b** fue de 12,87 mayor al encontrado por De Berardinis y col. (2012) en la muestra fresca con 11,80 y al de Cortez (2012) para el lote 1 con 8,14 y menor al del lote 2 (14,38). Para la coordenada **b** se observa que de todos los tratamientos, C1 se mantuvo estable a lo largo del almacenamiento congelado. De todos los tratamientos, P2 (congelación y almacenamiento congelado a -18 °C y CO₂) mantuvo estable la coordenada **b** durante los 15 días del almacenamiento, disminuyendo significativamente a los 30 y aumentado hasta el final del tiempo de almacenamiento. En el caso de P1 (congelado a -10° C y CO₂) hubo un incremento significativo a los 15 días y con fluctuaciones, se mantuvo estable a lo largo del almacenamiento y C2 se mantuvo estable hasta los 30 días para aumentar al final aunque no significativamente. Al final del almacenamiento aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, la muestra con mayor valor de **b** fue P2 seguida de C2. Es decir las muestras congeladas a -18°C independientemente de la presencia o no del CO₂ fueron las mas amarillas.

La presencia del O₂ favorece la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en la fracción lipídica del lomo de atún (tratamientos C1 y C2). Esta sería la causa del incremento en el color amarillo (**b**) durante el almacenamiento congelado (Marcano, 1973; Ludorff y Meyer, 1978; Cheftel y Cheftel, 1992; Huss, 1997; Gallo, 2001; López, 2006). Sin embargo, las muestras con mayor valor de (**b**) fueron P2 y C2.

El cambio de color en el atún durante el almacenamiento congelado es causado por la formación de metamioglobina y puede deberse a factores tales como el pH, temperatura, fuerza iónica, a la reacción de consumo de oxígeno y a altas concentraciones de CO₂. En este sentido, Thiansilakul y col. (2011) determinaron las coordenadas de color de soluciones de OxiMb y MetaMb, cada una de 0,2 mg de proteína/mL, extraídas del Pequeño Atún Oriental (*Euthynnus affinis*): L* (79,12), a* (11,11) y b* (33,30); y L* (82,72), a* (4,22) y b* (38,85), respectivamente. El mayor valor de a* y menor valor de b* en la solución OxiMb indicó que era más roja que la MetaMb, significativamente ($p < 0,05$). Chen y Chow (2001) mencionan que la causa del aumento en el valor L y del descenso en el valor de a es la autooxidación de la mioglobina. Por lo cual, el mayor valor de L* coincidiendo con un menor valor a* en la solución MetaMb sugirió autooxidación de la mioglobina. Sin embargo, en esta experiencia se observó:

En C1 se observa una disminución de L y de a, y aumento de b, por lo cual el proceso de congelación a -10 °C durante los 111 días de almacenamiento no protege el color rojo de la mioglobina. En P1, C2 y P2 se observa una disminución de L, aumento de a y b. Considerando lo expuesto Thiansilakul y col. (2011) en la Figura 10 se aprecia que el comportamiento de las coordenadas L y a, durante los 111 días de almacenamiento, es inverso, para lo tratamientos P1, C2 y P2, es decir, conservan la oximioglobina, no hay autooxidación de la misma. A - 10°C, la atmósfera de CO₂, conserva el color rojo con respecto al control C1. La temperatura de congelación de -18 °C conserva el color rojo y en atmósfera de CO₂ es mas estable en el tiempo. A - 10°C y en anaerobiosis, hubo pérdida del color rojo a partir de los 15 días de almacenamiento. Lo contrario ocurrió con el resto de las muestras, donde a partir de los 15 días de almacenamiento el color rojo aumentó, siendo P2 el más estable y con las muestras más rojas.

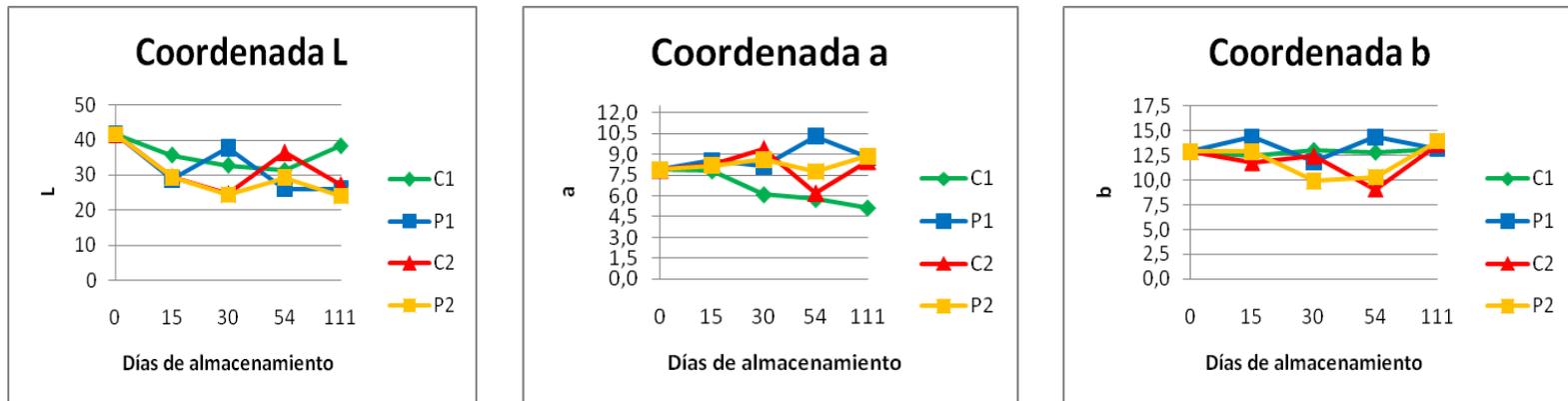


Figura 5. Coordenadas de color L, a y b en el atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

pH

En el Cuadro 9, se muestran los valores de pH encontrados en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C. En la muestra fresca el pH fue 5,12; superior a 5,03 en atún rojo encontrado por Cortez (2012) en el lote 2 e inferior a 5,8 obtenido por López Gálvez y col. (1995) y Ben-Gigirey y col. (1999), ambos en *Thunnus alalunga*; y Márquez y col. (2006) en músculo de atún (5,83); Ruiz-Capillas y Moral (2005) en atún ojo grande (5,40), Guedes y col. (2006) en atún aleta amarilla (5,60), en rebanadas de atún rojo 6,02 y 6,03 encontrados por De Berardinis y col. (2012) y Cortez (2012) para el lote 2, respectivamente; e inferior a la franja de pH post mortem mencionada por Guedes y col. (2006) de 5,4 a 7,2 la cual puede variar dependiendo de la especie de pescado.

En el pescado, el pH está relacionado directamente con la frescura, y el valor de 7,0 es aceptable y se encuentra en el pescado recién extraído del mar. Disminuye con el rigor mortis a 6,2 - 6,5; elevándose posteriormente a 6,6 - 6,7 (Huss, 1999; Ruiz-Capillas y Moral, 2005; Pascual-Anderson y Calderón y Pascual, 2000; Abbas y col. 2008 citados por De Berardinis y col, 2012). Huss (1999), señala que esa disminución, puede llegar a 6,0 y se debe a la reducción de la concentración del O₂ en el interior celular, iniciándose procesos catabólicos enzimáticos como la hidrólisis del glucógeno, con formación de ácido láctico.

Durante el almacenamiento congelado hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el tiempo y entre los tratamientos. El pH al final de 111 días de almacenamiento congelado fue de 5,23 (C1) y 5,26 (C2) para -10 y -18 °C de almacenamiento congelado respectivamente, manteniendo relativamente estable el pH de la muestra fresca. Esto fue lo encontrado por Landeros y López (2005) e Iriarte y Romero (2006), en salmón coho, congelado a - 40 °C, empacado en bolsa de polietileno (PE) y almacenado a - 20 °C durante 12 meses y en filetes de pez volador, empacados en poliestireno (PS) y envoplast®, congelados a - 40 °C y almacenados - 18 °C durante 95 días, respectivamente. El pH inicial de cada una de las muestras (6,06 y 6,43)

Cuadro 9. Determinación de pH en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Temperatura	pH	ALMACENAMIENTO (días)				
		0	15	30	54	111
-10 °C	C1	5,12 ± 0,03 ^a	5,18 ± 0,03 ^d	5,08 ± 0,01 ^a	5,17 ± 0,02 ^d	5,23 ± 0,01 ^d
	P1	5,12 ± 0,03 ^a	5,21 ± 0,01 ^d	5,32 ± 0,02 ^e	5,02 ± 0,01 ^f	5,13 ± 0,02 ^a
-18 °C	C2	5,12 ± 0,03 ^a	5,44 ± 0,03 ^b	5,21 ± 0,01 ^d	5,03 ± 0,03 ^f	5,26 ± 0,03 ^d
	P2	5,12 ± 0,03 ^a	5,51 ± 0,01 ^c	5,21 ± 0,02 ^d	5,44 ± 0,07 ^b	5,33 ± 0,01 ^e

n=3, se muestra la media ± desviación estándar.

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas p<0,05

se mantuvo relativamente estable al final del almacenamiento, 6,27 y 6,13 respectivamente.

En esta experiencia las muestras cuyo pH se mantuvo estable en el almacenamiento fueron las empacadas a presión atmosférica a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (C1), mientras que en las muestras empacadas en atmósfera de CO_2 el pH aumentó hasta los 30 días de almacenamiento y hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) con respecto al Control (C1), disminuyendo posteriormente hasta alcanzar el valor inicial a los 111 días de almacenamiento. Esta diferencia significativa no puede ser atribuida a la presencia del CO_2 , ya que se esperaría disminución del pH. Los mayores valores de pH se obtuvieron en P2 a los 15, 54 y 111 días, y a su vez es la muestra en la que se observa mayores fluctuaciones en el pH a lo largo del almacenamiento, probablemente debido a la disolución parcial del CO_2 en la fracción de agua disponible en el tejido congelado.

A los 54 y a los 111 días de almacenamiento hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre cada uno de los tratamientos y su control respectivo. A $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ de almacenamiento, las muestras con CO_2 tienen un pH más ácido que el control, mientras se observa lo inverso a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Esto posiblemente se deba a que a esa temperatura, hay menor cantidad de agua disponible para la difusión del CO_2 y la posterior acidificación del medio.

En condiciones de refrigeración ($2 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) el CO_2 en pescado empacado en AM, difunde en el tejido del pescado disolviéndose en la fracción acuosa del tejido, generando la formación de ácido carbónico, que produce una barrera contra el aumento del pH por la producción de bases volátiles, estabilizándolo (Guedes y col., 2006). Lopes y col. (2004) evaluaron el efecto del empacado en atmósferas modificadas sobre la conservación de sardinas (*Sardinella brasiliensis*), encontrando que el pH incrementó durante el tiempo de almacenamiento a $4 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 18 días con excepción de las muestras almacenadas con 100% de CO_2 , que mantuvieron el pH inicial ($\sim 6,65$). Sus resultados fueron consistentes con

otros autores (Stiles, 1990; Hood y Mead, 1993; Mano y col., 1995) quienes señalan que altas concentraciones de CO₂ mantienen el pH inicial durante más tiempo por la formación de CO₂ en ácido carbónico (H₂CO₃) lo que ocurre en el tejido, como ya se mencionó anteriormente. Se ha indicado que cuando se empaqueta con altas concentraciones de CO₂, y este se disuelve en el músculo del pescado, suele ocurrir un colapso o deformación del empaque (Stenström, 1985; Parry, 1993; Fagan y col, 2004; Ozogul y Ozogul, 2006).

En el pescado congelado aproximadamente el 20 % del agua libre está en estado líquido (Burgess, 1971) y a temperaturas de congelación la velocidad de difusión de los gases disminuye. Durante esta experiencia no se observó ninguna deformación o colapso en los empaques que contenían 100 % CO₂, probablemente debido a la poca difusión del CO₂ en la fracción de agua disponible en el tejido congelado. Por lo tanto, el efecto inhibitorio del CO₂ sobre la producción de BVT de origen microbiano sería demorado en el tiempo, puesto que cierta cantidad de CO₂ tiene que disolverse en la parte acuosa del tejido y formar el ácido carbónico para inhibir el crecimiento bacteriano, esta inhibición sería proporcional con la concentración de CO₂ disuelto en el producto (Gill y Penney, 1988; Devlieghere, Debevere, y Van Impe, 1998a, 1998b; citados por Sivertsvik, 2004). Considerando también que la congelación ejerce efecto inhibitorio sobre el crecimiento microbiano, se evidenció en esta experiencia una disminución de los aerobios mesófilos de un orden de 10⁵ a 10² UFC/g.

La determinación del pH y su estabilidad en productos pesqueros es de interés, además porque las fluctuaciones en los niveles de pH pueden indicar el grado de deterioro del músculo y afectar la estabilidad de las proteínas miofibrilares, componentes principales del músculo del pescado, ocasionando un reblandecimiento muscular (Ayala, 1994). La estabilidad de las proteínas es alterada porque al descender el pH se puede alcanzar su pH isoeléctrico, desnaturalizándose las proteínas, perdiendo la capacidad de retener el agua, el tejido pierde agua y las sustancias solubles en ella como vitaminas y minerales

(Huss, 1999); las muestras P2 perdieron más agua a los 15 días y sin embargo, el pH fue de 5,5. En algunas especies de pescado el pH final (en el *rigor mortis*) puede ser menor a 6,1. En especies como las caballas grandes el pH extremo en el *rigor* puede llegar a ser tan bajo como 5,8, y en atún se han encontrado valores tan bajos como 5,4 (Huss, 1999; Ruiz-Capillas y Moral, 2005). Si bien pH tan bajos no son frecuentes en teleósteos marinos, durante esta experiencia cuantificamos en el producto recién adquirido 5,12.

Actividad de Agua (a_w)

Se aprecia en el cuadro 10, que la a_w del atún fresco supera el valor de 0,90 que es el más bajo para el crecimiento de la mayoría de las bacterias deteriorativas y la a_w de la mayoría de los alimentos frescos está por encima de 0,99 (Jay, 1994; Jay, 1996), en la muestra de lomo de atún fresco recién adquirido para esta experiencia fue de 0,97. Cortez (2012) señala una a_w en lomo de atún de 1 y 0,978 para los meses de diciembre 2011 y febrero de 2012 respectivamente.

Cuadro 10. Actividad de agua (a_w) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

aw	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	0,97 ± 0,00 ^a	0,99 ± 0,00 ^b			
P1	0,97 ± 0,00 ^a	0,99 ± 0,00 ^b	0,99 ± 0,00 ^b	0,99 ± 0,00 ^b	0,98 ± 0,00 ^c
C2	0,97 ± 0,00 ^a	0,99 ± 0,00 ^b	0,98 ± 0,00 ^c	0,99 ± 0,00 ^b	0,99 ± 0,00 ^b
P2	0,97 ± 0,00 ^a	0,99 ± 0,00 ^b	0,98 ± 0,00 ^c	0,99 ± 0,00 ^b	0,99 ± 0,00 ^b

n=3. Se muestra la media ± desviación estándar.

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas $p < 0,05$.

El agua es, quizás, el factor individual que más influye en la alteración de los alimentos. Se ha demostrado que alimentos con el mismo contenido de agua se alteran de forma distinta, por lo que se deduce que la cantidad de agua no es por sí sola una herramienta indicativa del deterioro de los alimentos. De este hecho surge el concepto de a_w , que indica la fracción total de agua libre contenida en un producto, y en consecuencia, disponible para el crecimiento de microorganismos y para el desarrollo de diversas reacciones químicas que afectan la estabilidad del producto (Placido y Alemán, 2002; Badui, 2006; Aqualab, 2008).

Este parámetro se define como el cociente entre la Presión de vapor del agua contenida en el alimento (P) y la Presión de vapor del agua pura a la misma temperatura (P_o) ($a_w = P/P_o$) (ICMSF, 1980; Jay, 1996). Este concepto está relacionado con la humedad relativa (HR) de la siguiente manera: R.H: $100 \times a_w$ (Christian, 1963 citado por Jay, 1994; Frasier, 1981). La A_w es un factor crítico que determina la vida útil de los productos. Este parámetro establece el límite para el desarrollo de muchos microorganismos, mientras que otros como temperatura, pH o contenido en azúcares, generalmente influyen en la velocidad de crecimiento. La a_w más baja para el crecimiento de la mayoría de las bacterias que producen deterioro en alimentos está alrededor de 0,90 (Jay, 1996; Aqualab, 2008).

Durante los 111 días de almacenamiento congelado hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos y el producto fresco, las cuales se manifestaron a partir de los 15 días de almacenamiento. Se mantuvieron estable a lo largo del mismo las rebanadas congeladas a $-10\text{ }^\circ\text{C}$ sin CO_2 . Con CO_2 se mantuvo estable entre los 15 y 54 días manifestándose un descenso significativo a los 111 días. Las rebanadas congeladas a $-18\text{ }^\circ\text{C}$ experimentaron un descenso significativo a los 30 días del almacenamiento a la misma temperatura, estabilizándose en 0,99 a partir de los 54 días, independientemente de la presencia o no del CO_2 .

Desde el punto de vista de la a_w , el producto (rebanadas de lomo de atún congeladas) es un ambiente favorable para el desarrollo de microorganismos deteriorativos, sin embargo hubo disminución de los aerobios mesófilos de un orden de 10^5 a 10^2 y los aerobios psicrófilos si bien se detectaron < 1 UFC/g en $t=0$, a los 117 días de almacenamiento se cuantificaron en el orden de 10^2 para todos los tratamientos (Cuadro 8). Si bien, Jay (1996), señala que la mayoría de los microorganismos deteriorativos crecen a una $a_w = 0,97$ (como las *Pseudomonas*), en esta experiencia la a_w fue superior, lo que favorecería el crecimiento de esos microorganismos, sin embargo el recuento de aerobios mesófilos descendió durante el almacenamiento y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, con y sin CO_2 a -10 y -18 °C a los 117 días de almacenamiento, para estos microorganismos ni para los psicrófilos. El proceso de congelación disminuyó el desarrollo de los microorganismos presentes en las rebanadas de atún rojo.

La medida del valor de a_w es una herramienta de predicción de la estabilidad física, química y microbiológica, y por consiguiente, de la vida útil de los alimentos (Labuza, 1980; citado por Plácido y Alemán, 2002). Determina la cantidad de agua disponible para los microorganismos o la utilizada como barrera de protección de los lípidos frente al oxígeno. La a_w es una propiedad intrínseca del alimento y se relaciona de manera no lineal con el contenido de humedad de este (Badui, 2006).

Para las condiciones de trabajo aplicadas en esta experiencia, la a_w varió muy poco en el almacenamiento en congelación y el análisis de componentes principales (ACP) realizado lo podemos ver a través de un biplot (Fig. 7), en el cual la humedad y la A_w son inversamente proporcionales, siendo la primera la que presenta mayores fluctuaciones a lo largo del estudio y la segunda, la que menos variaciones presenta en los 111 días de almacenamiento a -10 °C y -18 °C; por lo cual se puede prescindir de la determinación de la actividad de agua.

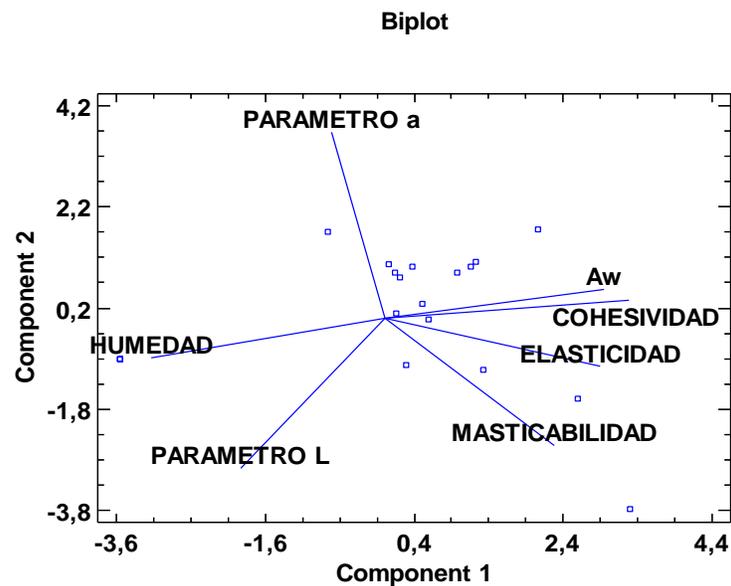


Figura 6. Biplot. Análisis de componentes principales.

Análisis del Perfil de Textura

El Análisis de Perfil de Textura (APT) en los alimentos es un procedimiento instrumental para medir, cuantificar y desarrollar nuevos parámetros relacionados con la textura. La magnitud de estos parámetros estará influenciada por las variables introducidas en las mediciones, como la tasa de deformación (Peleg, 1976; citado por Osorio y col., 2004) y para que ellas puedan proveer información objetiva y que se pueda comparar es necesario ejecutar las mediciones bajo unas condiciones normalizadas. Consiste en una prueba de doble compresión en las cuales la altura de las muestras es reducida del 80 al 90% de su altura inicial, lo cual resulta casi siempre en la ruptura del alimento (Lu y Chen, 1998; citados por Osorio y col., 2004). Durante esta experiencia se aplicó la doble compresión hasta reducir la altura inicial de la muestra a un 50 %.

La determinación de la textura es una determinación importante en productos pesqueros ya que la misma esta relacionada con la calidad del tejido muscular en

relación al estado de las proteínas miofibrilares y del colágeno. La textura involucra varios factores relacionados con estas proteínas de los cuales el grado de desnaturalización y la cantidad de agua ligada a ellas son los más importantes. Un tejido con proteínas miofibrilares y colágeno que no han sufrido desnaturalización y ni pérdida de agua, presenta mejor textura que uno con estas proteínas degradadas. La textura es evaluada por métodos sensoriales o por métodos instrumentales. Las metodologías instrumentales son más complicadas y requieren de equipos costosos que no son accesibles a todos los laboratorios. En estos se coloca una porción de una muestra y la misma se somete a una fuerza (ICTA, 1998), que en esta experiencia se determinó por medio de una compresión, medida en Kg.

Si bien el almacenamiento en congelación es un medio de conservación, el pescado congelado y almacenado en congelación puede experimentar reacciones químicas y bioquímicas que se reflejen en la textura. Al final del almacenamiento en congelación el producto es más duro y fibroso, con menos jugosidad y estos cambios son atribuidos a alteraciones en las proteínas miofibrilares, los cuales dependen de la especie y de factores tecnológicos como el procesamiento previo al proceso de congelación, o las condiciones de almacenamiento (Sikorski y Kolakowska, 1994; citados por Castillo, 2001).

En el cuadro 11 se aprecian los valores del parámetro dureza, que es la fuerza para comprimir un alimento. En el atún rojo fresco, la dureza fue 3,48 kg similar a lo obtenido por Cortez (2012) en el lote 2 (3,40 kg) y mayor a lo obtenido en el lote 1 (2,32 kg). Hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre P1 y P2 a los 15 días de almacenamiento con respecto a la muestra fresca. A los 30 días hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre C1 y C2 y entre los procesos P1 y P2. Para el control 1 a los 54 y 111 días de almacenamiento el valor se duplicó y para el resto de los tratamientos disminuyó a lo largo del almacenamiento.

Cuadro 11. Parámetro Dureza en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Dureza (kg)	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	3,48 ± 0,01 ^a	3,61 ± 0,30 ^a	3,31 ± 0,23 ^a	6,55 ± 0,03 ^e	6,54 ± 0,02 ^e
P1	3,48 ± 0,01 ^a	2,72 ± 0,13 ^c	2,37 ± 0,20 ^c	3,19 ± 0,17 ^a	2,19 ± 0,07 ^c
C2	3,48 ± 0,01 ^a	3,35 ± 0,66 ^a	4,53 ± 0,13 ^d	2,78 ± 0,11 ^c	2,67 ± 0,26 ^c
P2	3,48 ± 0,01 ^a	3,03 ± 0,69 ^b	3,38 ± 0,42 ^a	3,55 ± 0,10 ^a	2,38 ± 0,10 ^c

n=3, se muestra la media ± desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas p<0,05

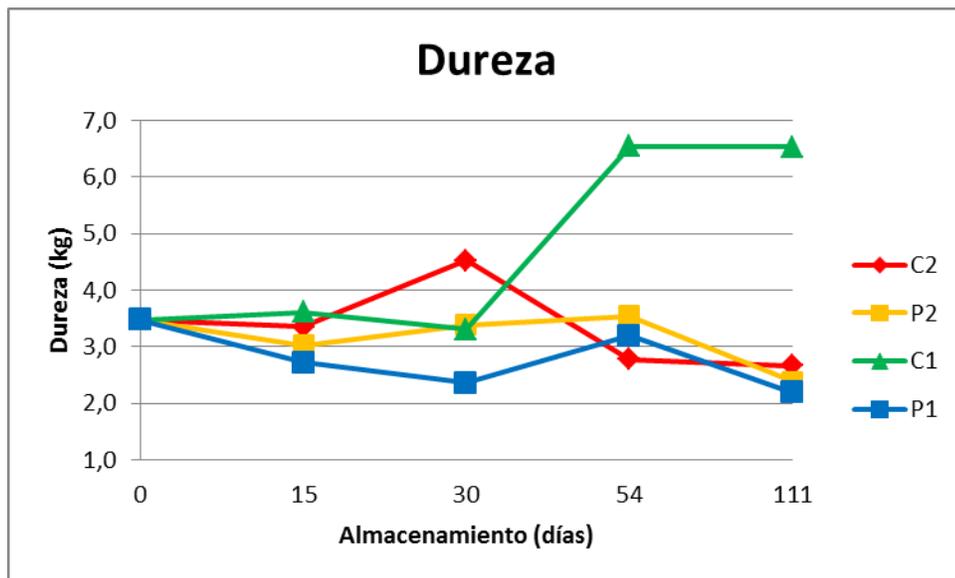


Figura 7. Parámetro Dureza (kg) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

En el cuadro 12, se observan los valores del parámetro masticabilidad, definido como el producto de la elasticidad por la cohesión y la dureza. Representa la energía requerida para masticar un alimento hasta que este listo

Cuadro 12. Parámetro Masticabilidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Masticabilidad (adimensional)	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	1618,46 ± 90,76 ^a	2762,52 ± 176,14 ^c	4517,14 ± 274,17 ^c	7425,41 ± 230,53 ^d	13654,34 ± 293,78 ^e
P1	1618,46 ± 90,76 ^a	2801,42 ± 149,03 ^b	2175,44 ± 119,44 ^b	4384,38 ± 967,59 ^c	3687,17 ± 59,00 ^c
C2	1618,46 ± 90,76 ^a	1884,16 ± 432,93 ^{ab}	2808,12 ± 736,04 ^b	2846,63 ± 579,43 ^b	3002,62 ± 846,31 ^b
P2	1618,46 ± 90,76 ^a	2312,99 ± 458,37 ^b	2623,28 ± 401,06 ^b	3187,74 ± 153,77 ^b	3941,54 ± 59,18 ^c

n=3, se muestra la media ± desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas p<0,05

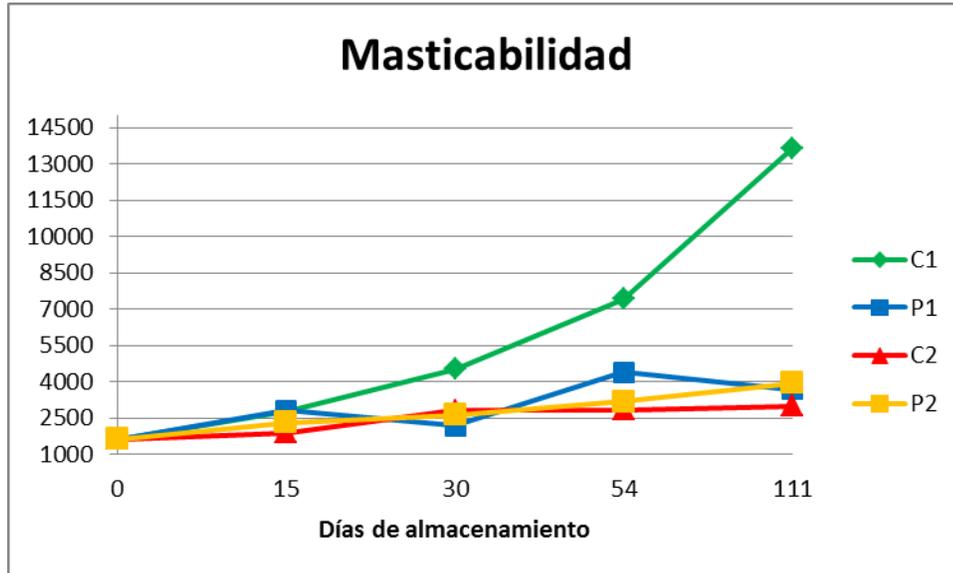


Figura 8. Parámetro masticabilidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenada según el tratamiento a -10 y -18 °C

para ser deglutido (Osorio, 2004). En el atún rojo fresco fue de 1618,4, menor a lo medido por Cortez (2012) para el lote 1 y 2 de 2010,70 y 2715,34, respectivamente. El mayor incremento en la masticabilidad se obtuvo a los 111 días de almacenamiento de las muestras congeladas a -10 °C y empacadas a presión atmosférica (C1), sin embargo a lo largo del tiempo de almacenamiento fue aumentando; mientras que en el resto de los tratamientos apenas alcanzó a duplicarse.

Un término muy utilizado en el campo de los alimentos es la elasticidad. Szczesniak (1973) citado por Chávez y col. (2000) señala que elasticidad es la tasa a la cual un material deformado regresa a su condición inicial después de que la fuerza deformante ha sido retirada (definición física). La elasticidad varía a medida que cambian las propiedades mecánicas del alimento (Aguilera y Durán, 1996; citados por Castro y de Hombre Morgado, 2007). Otros autores indican que la elasticidad es la altura que recupera el alimento durante el tiempo que transcurre entre la primera y la segunda compresión y que también, la elasticidad

es la que mide cuanto de la estructura original del alimento se ha roto por la compresión original (definición sensorial) (Rosenthal, 1999; citado por Hleap y Velasco, 2010).

En el cuadro 13 se observan los valores de la elasticidad en el músculo del lomo de atún congelado. En el atún rojo fresco se requirió de 2,15 s para deformar el tejido. Cortez (2012) midió para el lote 1 y 2, 2,94 y 3,63 s respectivamente. A lo largo del período de almacenamiento la fuerza deformante aumentó para todos los tratamientos y hubo diferencias significativas ($p < 0,05$), salvo en el C2 que no hubo diferencias entre los 15 y los 54 días de almacenamiento.

Cuadro 13. Elasticidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Elasticidad (s)	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	2,15 ± 0,01 ^a	2,41 ± 0,04 ^b	2,93 ± 0,06 ^c	3,36 ± 0,19 ^e	3,88 ± 0,05 ^f
P1	2,15 ± 0,01 ^a	2,41 ± 0,03 ^b	3,05 ± 0,05 ^c	3,38 ± 0,01 ^e	3,27 ± 0,06 ^e
C2	2,15 ± 0,01 ^a	2,51 ± 0,21 ^b	2,83 ± 0,13 ^c	2,58 ± 0,13 ^b	2,80 ± 0,09 ^c
P2	2,15 ± 0,01 ^a	2,45 ± 0,29 ^b	2,19 ± 0,02 ^d	2,79 ± 0,04 ^c	3,16 ± 0,02 ^e

n=3, se muestra la media ± desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas $p < 0,05$

Entre los tratamientos las diferencias se inician a partir de los 30 días de almacenamiento con la muestra P2. A los 54 días no hay diferencias entre C1 y P1 ya los 111 días no hubo diferencias entre los procesos P1 y P2. En la Fig. 10 se aprecia que la pendiente del incremento a los 15 días es menor que en el resto del periodo de almacenamiento y es aproximadamente igual para todos los tratamientos, pero el proceso que mantiene la fuerza deformante más o menos estable a lo largo de los 111 días de almacenamiento es el C2, congelación a -18°C y empacado a presión atmosférica.

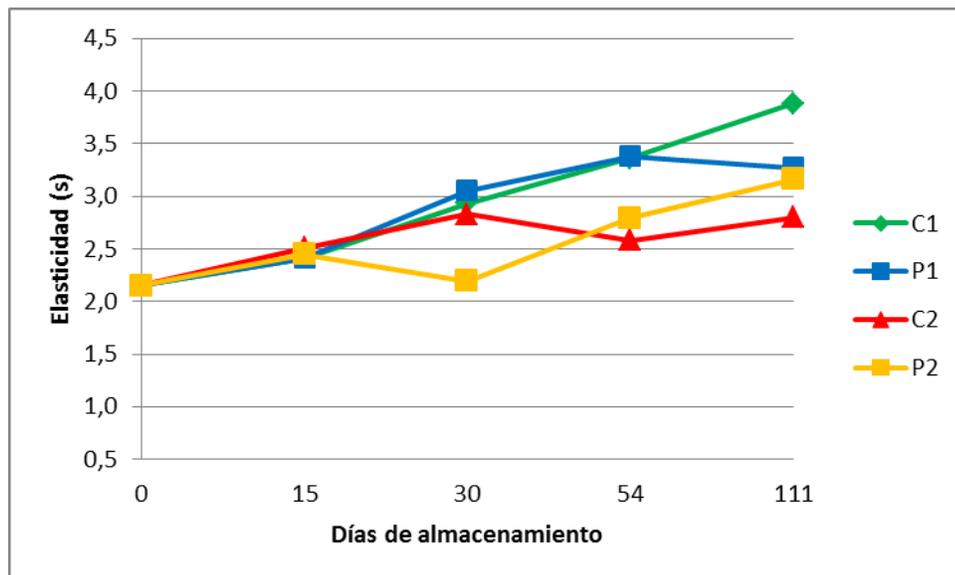


Figura 9. Parámetro elasticidad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18°C .

En el cuadro 14 se observan los valores para la cohesividad, la cual es atribuida a la red tridimensional que forman las proteínas miofibrilares (Ramos y col., 1998 citados por Rodríguez, 2006) y representa el punto límite hasta donde puede deformarse la muestra antes de romperse (Osorio, 2004). En el atún fresco, la cohesividad fue de 0,23, la cual fue menor a la obtenida por Cortez (2012) de 0,34 y 0,32 (Lote 1 y 2 respectivamente). Hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) a los 15 días de almacenamiento con respecto al tiempo 0. La cohesividad se

duplicó a partir de los 30 días de almacenamiento para todas las muestras menos para P2 (congelada, EAM y almacenada a -18°C), cuyo valor disminuyó hasta 0,35. A los 54 y 111 días para todos los tratamientos los valores de cohesividad oscilaron entre 0,41 y 0,52. Es inversamente proporcional a la humedad y si se le aplica un análisis de parámetros principales, se puede corroborar esto.

Cuadro 14. Parámetro Cohesividad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18°C

Cohesividad (adimensional)	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	$0,23 \pm 0,02^a$	$0,43 \pm 0,03^c$	$0,48 \pm 0,02^e$	$0,52 \pm 0,04^f$	$0,52 \pm 0,02^f$
P1	$0,23 \pm 0,02^a$	$0,43 \pm 0,01^c$	$0,45 \pm 0,03^c$	$0,51 \pm 0,01^f$	$0,43 \pm 0,01^c$
C2	$0,23 \pm 0,02^a$	$0,39 \pm 0,01^b$	$0,43 \pm 0,03^c$	$0,41 \pm 0,01^c$	$0,51 \pm 0,01^f$
P2	$0,23 \pm 0,02^a$	$0,44 \pm 0,03^c$	$0,35 \pm 0,01^d$	$0,42 \pm 0,02^c$	$0,45 \pm 0,01^f$

n=3, se muestra la media \pm desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas $p < 0,05$

La aw está relacionada también con la textura de los alimentos. Alimentos con una Aw elevada tienen una textura más jugosa, tierna y masticable. Si la aw disminuye, aparecen atributos de textura indeseables como dureza y sequedad. En este sentido, se aprecia en el cuadro 9 que el parámetro dureza se duplicó para C1 (rebanadas congeladas a -10°C , empacadas a Presión Atmosférica) a los 54 y 111 días de almacenamiento congelado y para el resto de los tratamientos disminuyó a lo largo del almacenamiento. El mayor incremento en la masticabilidad se obtuvo a los 111 días de almacenamiento congelado, de las muestras congeladas a -10°C , empacadas a presión atmosférica, y almacenadas a la misma temperatura (C1). Mientras que en el resto de los tratamientos apenas alcanzó a duplicarse (Cuadro 10). En el cuadro 11 podemos ver que la elasticidad

si bien aumentó para todos los tratamientos en los 111 días de almacenamiento congelado, no alcanzó a duplicarse, y fue menor el incremento en las muestras congeladas a -18°C . En el cuadro 12 podemos observar que la cohesividad se duplicó a partir de los 30 días de almacenamiento para todas las muestras menos para las P2 (congeladas, EAM y almacenadas a -18°C).

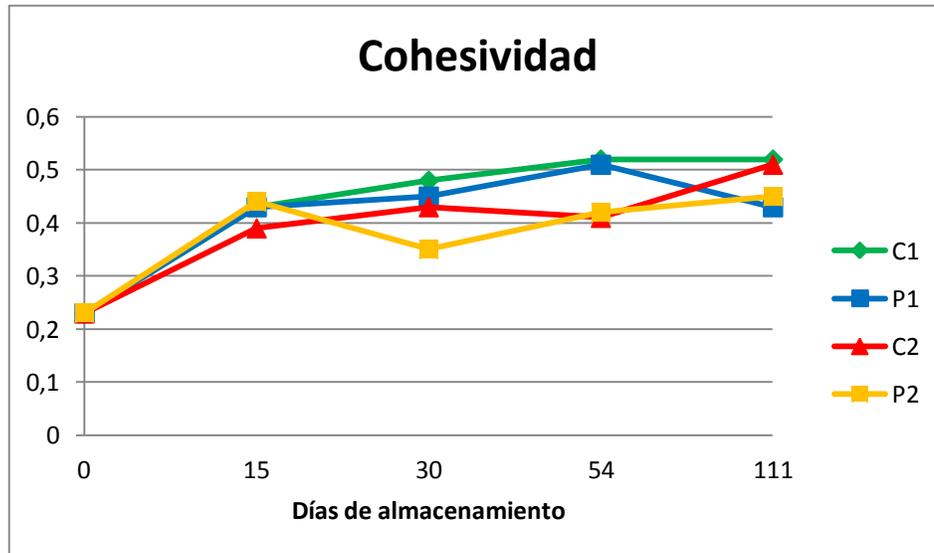


Figura 10. Parámetro cohesividad en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10°C y -18°C .

Humedad

En el cuadro 15 se muestra la variación del porcentaje de humedad entre el atún rojo fresco y las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18°C . El porcentaje de humedad en la muestra fresca fue de $74,53 \pm 0,02$ disminuyendo hasta $70,45 \pm 1,41$ a los 111 días de almacenamiento. Hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el tiempo de almacenamiento y entre los tratamientos a los 30 y 54 días.

Se observa un descenso significativo en el porcentaje de humedad para todas las muestras congeladas, empacadas y almacenadas a -10 y -18°C entre el

Cuadro 15. Porcentaje de humedad (% \pm DS) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Humedad	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	74,53 \pm 0,02 ^a	70,92 \pm 0,09 ^b	70,94 \pm 0,40 ^b	70,04 \pm 0,72 ^d	70,76 \pm 0,56 ^b
P1	74,53 \pm 0,02 ^a	71,07 \pm 0,10 ^b	70,96 \pm 0,28 ^b	69,96 \pm 0,79 ^d	70,45 \pm 1,41 ^b
C2	74,53 \pm 0,02 ^a	71,07 \pm 1,09 ^b	71,47 \pm 0,72 ^{bc}	71,01 \pm 0,23 ^b	71,15 \pm 0,63 ^b
P2	74,53 \pm 0,02 ^a	71,72 \pm 0,09 ^b	72,18 \pm 0,45 ^c	71,83 \pm 0,75 ^b	71,70 \pm 1,28 ^b

n=3. Se muestra la media \pm desviación estándar.

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas $p < 0,05$.

tiempo cero y los 15 días de almacenamiento. Entre los 15 y los 111 días de almacenamiento congelado el contenido de humedad fluctuó para todos los tratamientos, manteniéndose entre el 71% y 72%, salvo a los 54 días para las muestras congeladas a -10 °C (C1 y P1), cuyos porcentajes de humedad descendieron hasta un 70 % aproximadamente (Fig.5). Los valores de humedad obtenidos indican una disminución en función del tiempo, con respecto al valor inicial, indicando que pudo ocasionarse una ligera deshidratación del producto, a pesar de estar protegido por el empaque e independientemente de la atmósfera contenida en el empaque. Es probable que durante la descongelación de las muestras ocurriera una pérdida de agua, previa al análisis. Sin embargo, la Aw incrementó a partir de los 15 días de almacenamiento y se mantuvo alrededor de 0,99 hasta los 111 días.

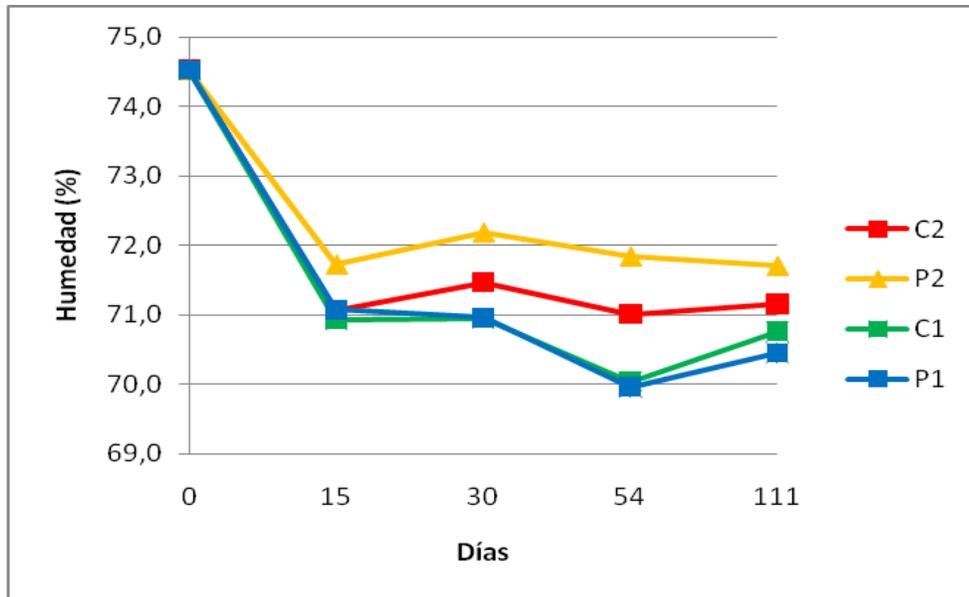


Figura 11. Porcentaje de humedad en el atún rojo y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

Rancidez Oxidativa (TBA)

Los ácidos grasos, poliinsaturados, presentes en los lípidos del pescado son muy susceptibles a la oxidación, lo que origina cambios físico-químicos que alteran los atributos de calidad como el color, olor y aroma. En el cuadro 16, se observan los valores de TBA para el atún rojo fresco y las rebanadas congeladas, empacadas según el tratamiento y almacenadas a -10 y -18 °C. En la muestra fresca el valor de TBA fue $0,30$ mg Ma/kg, aproximado a lo encontrado por Iriarte y Rota (2006) de $0,27$ mg Ma/kg en filetes de pez volador y Suarez y col. (2009) de $0,32$ mg Ma/kg en filetes de cachama; menor al encontrado por Cortez (2012) de $2,00$ y $6,99$ mg Ma/kg para el lote 1 y lote 2 respectivamente y mayor al valor encontrado por De Berardinis y col (2012) de $0,13$ mg Ma/kg en el atún rojo.

Cuadro 16. Rancidez oxidativa (mg Malonaldehído/kg muestra) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

TBA	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	0,30 ± 0,02 ^a	1,60 ± 0,13 ^{ab}	8,82 ± 0,39 ^c	33,66 ± 2,91 ^d	37,25 ± 0,13 ^e
P1	0,30 ± 0,02 ^a	1,32 ± 0,21 ^{ab}	9,02 ± 0,29 ^c	33,76 ± 2,88 ^e	35,46 ± 0,21 ^g
C2	0,30 ± 0,02 ^a	0,70 ± 0,02 ^b	7,77 ± 0,07 ^c	22,71 ± 0,12 ^f	25,68 ± 0,23 ^h
P2	0,30 ± 0,02 ^a	0,70 ± 0,02 ^{ab}	8,28 ± 0,07 ^c	26,37 ± 0,42 ^f	27,86 ± 0,99 ⁱ

n=3, se muestra la media ± desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica diferencias significativas $p < 0,05$.

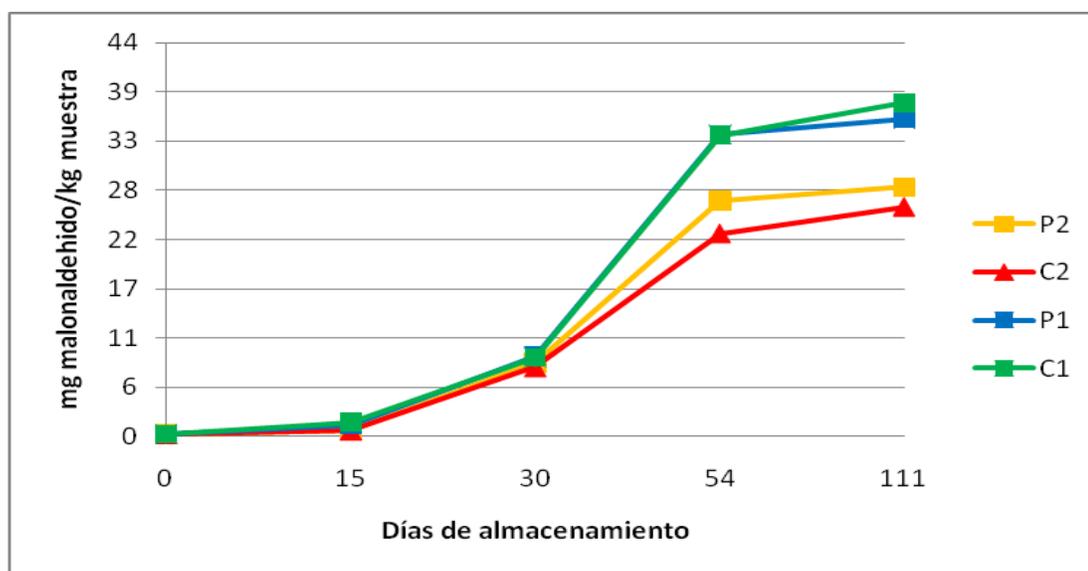


Figura 12. Rancidez oxidativa (mg Malonaldehído/kg muestra) en el atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

Se observa que el contenido de malonaldehído incrementa a lo largo del tiempo de almacenamiento, y la velocidad también, para todos los tratamientos, siendo menor el incremento a -18 °C y menor aún en ausencia de CO₂ (C2). Se ha sugerido que 5 mg Ma/kg de TBA indica buena calidad en los pescados

congelados, refrigerados o almacenados en el hielo, y se acepta para consumo hasta 8 mg Ma/kg (Schormuller, 1969; citado por Suárez y col., 2009). En esta experiencia se alcanzaron valores desde 7,77 hasta 9,02 mg de malonaldehído/kg a los 30 días de almacenamiento, entre los cuales no hubo diferencia significativa, independientemente de la temperatura de almacenamiento y de la presencia o no del CO₂. El menor contenido de malonaldehído durante el almacenamiento a - 10 °C fue en presencia de CO₂ (P1), y a - 18 °C en ausencia de CO₂ (C2). Las diferencias significativas entre las temperaturas se obtienen a partir de los 54 días de almacenamiento y a partir de los 111 días hay diferencias significativas entre la presencia o no del CO₂. A partir de los 54 días se observa, para todos los tratamientos una disminución en la velocidad de producción del malonaldehído, el cual tiende a estabilizarse a partir de los 111 días de almacenamiento. El comportamiento encontrado en esta experiencia coincide con lo observado en productos congelados y empacados en aerobiosis como el caso de Namulema y col. (1999) en perca del Nilo (*Lates niloticus*), donde el TBA incrementó hasta los 56 días (8 semanas) de almacenamiento a - 27 y -13 °C, estabilizándose hasta los 70 días (10 semanas), a partir de los cuales el contenido declinó para ambas temperaturas. Durante el almacenamiento el mayor contenido correspondió a -13 °C. López-Gálvez y col. (1995), concluyen que a temperatura de refrigeración (2 ± 2 °C) el contenido de TBA no es influenciado por la AM (20/80 CO₂/aire; 40/60 CO₂/aire y 40/60 CO₂/O₂) en rebanadas de atún (*Tunnus alalunga*), ya que no encontraron un patrón consistente de respuesta entre el contenido de malonaldehído y la AM.

Namulema y col. (1999), justifican esa disminución de los valores de TBA por la reacción del malonaldehído con otros constituyentes del músculo de pescado según Bidlack, Kwon y Snyder (1972) y Seo (1976). Molina y col. (2001) y Rodríguez (2009) encontraron incrementos en el TBA en el bagre (*Pseudoplatystoma coruscans*) almacenado a -16 °C y 5 °C y en el atún (*Thunnus sp.*) a -10 °C. En ese sentido Huss (1998) menciona que el índice de TBA no necesariamente refleja con exactitud la oxidación lipídica, ya que el Malonaldehído

puede interactuar con otros componentes como las proteínas, los ácidos nucleicos, aminoácidos, e inclusive con otros aldehídos, siendo su presencia más significativa en avanzados grados de oxidación. Durante el almacenamiento congelado puede ocurrir la hidrólisis de lípidos en el músculo de pescado, con la consecuente acumulación de ácidos grasos libres. A su vez, se lleva a cabo la insolubilización de la actinmiosina en solución salina, debido a la formación y estabilización del complejo proteína – ácido graso. Por otro lado, hay evidencias de que ciertos compuestos como el Malonaldehído y los radicales libres, productos de la oxidación, reaccionan con las proteínas disminuyendo su solubilidad. La oxidación lipídica está estrechamente relacionada con el porcentaje de proteínas solubles, es decir, al aumentar el valor de TBA, se registra mayor oxidación lipídica, lo que conlleva a una mayor desnaturalización proteica, que se evidencia en la disminución de las proteínas solubles (111 días de almacenamiento).

La oxidación de los lípidos en el pescado congelado disminuye la vida útil de muchas especies, principalmente de aquellas donde el contenido de ácidos grasos poliinsaturados es elevado y son sustratos para reacciones catalizadas por enzimas con actividad lipooxigenasa y peroxidasa. Los productos finales de la oxidación de los ácidos grasos insaturados son los aldehídos y las cetonas, causantes del deterioro del sabor y olor característicos del pescado congelado.

Bases Volátiles Totales (BVT)

En el cuadro 17 se observan los valores de BVT para las rebanadas de atún rojo fresco y las rebanadas congeladas, empacadas según el tratamiento y almacenadas a -10 y -18 °C. El valor para la muestra fresca de atún fue de 23,08 mgN/100, cercano a lo obtenido por Márquez y col (2006) de 24,47 mgN/100 y mayor a los obtenidos por Bengigirey y col., (1999) de 22,89, De Berardinis y col. (2012) y Cortez (2012) para el lote 1, con valores de 21,85 y 19,87 mgN/muestra respectivamente.

Cuadro 17. Bases volátiles totales (BVT) (mgN/100) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empaçadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Temperatura	BVT (mgN/100)	ALMACENAMIENTO (días)				
		0	15	30	54	111
-10 °C	C1	23,08 ± 0,06 ^a	24,18 ± 0,25 ^c	26,10 ± 0,15 ^d	28,00 ± 0,15 ^g	29,10 ± 0,15 ^h
	P1	23,08 ± 0,06 ^a	23,94 ± 0,14 ^c	25,98 ± 0,00 ^d	27,95 ± 0,27 ^g	29,00 ± 0,15 ^{hi}
-18 °C	C2	23,08 ± 0,06 ^a	24,62 ± 0,14 ^b	26,09 ± 0,15 ^d	28,30 ± 0,15 ^f	29,13 ± 0,15 ^h
	P2	23,08 ± 0,06 ^a	24,58 ± 0,16 ^b	25,55 ± 0,31 ^e	28,16 ± 0,27 ^{fg}	28,72 ± 0,27 ⁱ

n=3, se muestra la media ± desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica diferencias significativas $p < 0,05$.

El incremento en el tiempo fue significativo en todos los intervalos para todos los tratamientos. Esto coincide con Bengigirey y col. (1999) quienes encontraron también un incremento significativo en la producción de BVT en muestras de atún albacora (*Thunnus alalunga*), conocido como atún blanco, congelado a - 40 °C, a los 3 meses de almacenamiento a - 25 °C. Después de lo cual hubo un descenso significativo más pronunciado en las muestras almacenadas a - 25 °C que a -18 °C. Destacando que estas últimas experimentaron un incremento al mes de almacenamiento para descender luego de 12 meses. Estas muestras se trataban de especímenes completos, no procesados, menos manipulados. Sin embargo, el incremento observado en esta experiencia es lento en el tiempo, considerando que hubo una manipulación previa y con mayor superficie de exposición, coincidiendo con los resultados de estabilidad microbiológica y de pH obtenidos.

En esta experiencia, a los 15 días de almacenamiento hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las temperaturas (-10 y -18 °C) independientemente de la presencia de CO₂ o no, coincidiendo con lo observado en el pH (Cuadro 7). A los 30, 54 y 111 días de almacenamiento la menor producción de BVT la tienen P2, P1 y P2 respectivamente, en el tiempo y solo se refleja en el pH en P1. La menor producción de BVT fue a los 30 días en presencia de CO₂ y a -18 °C (P2) y

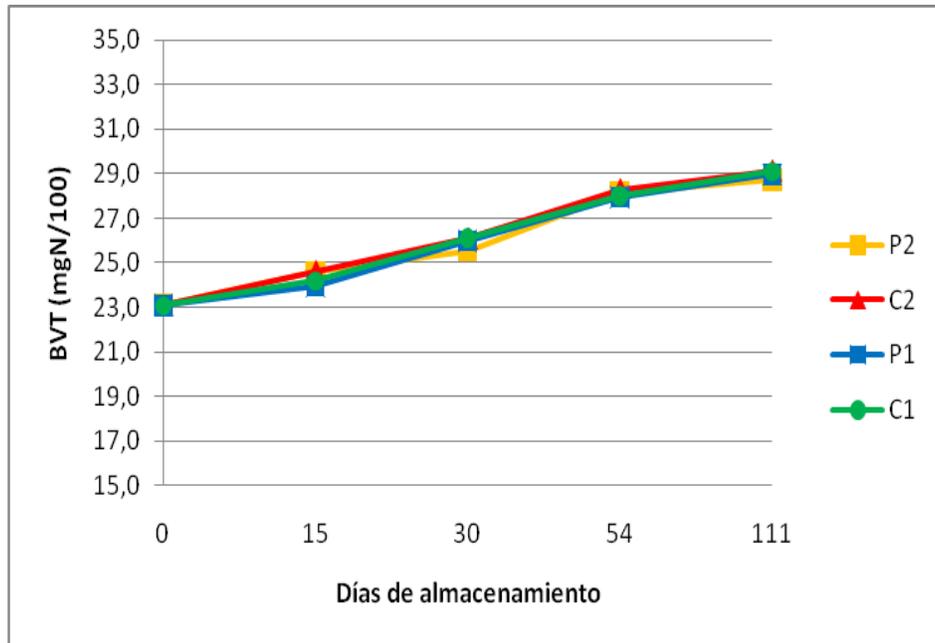


Figura 13. Bases volátiles totales (BVT) (mgN/100) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

fue significativamente diferente con el resto de los tratamientos. El menor contenido de BVT a los 54 y 111 días de almacenamiento se obtuvo en presencia de CO_2 e independientemente de la temperatura de almacenamiento. Aún así, en esta experiencia los valores de BVT no superaron el límite de 30-35 mg NBVT/100g permitido como el máximo aceptable en pescados (Márquez y col., 2006).

Las BVT pueden ser usadas como un indicador de calidad en el pescado fresco antes de congelarlo, ya que no cambian durante el almacenamiento congelado (Moral-Rama, 1987, citado por Ben-gigirey y col., 1999), ya que depende de la actividad microbiana. La determinación de BVT incluye trimetilamina (producida por deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros (Huss, 1999).

El análisis de BVT refleja sólo los últimos estadios del deterioro avanzado y es generalmente considerado poco confiable para medir el deterioro durante los primeros diez días de almacenamiento de algunas especies (Rehbein y Oehlenschlager, 1982; citados por Huss, 1999). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las BVT no reflejan el modo de deterioro (bacteriano o autolítico). Entre los microorganismos predominantes en la descomposición del pescado en aerobiosis se encuentra *Shewanella putrefaciens* (Jørgensen y Huss, 1989; Ordóñez y col., 2000), capaz de convertir el óxido de trimetilamina (OTMA), el cual abunda en grandes cantidades en los pescados de origen marino, en trimetilamina (TMA), que es uno de los principales sustratos para la producción de bases volátiles, teniendo, por lo tanto, una correlación directa con el valor de BVT. Jørgensen y Huss (1989), observaron la conversión del OTMA en TMA a partir de contajes próximos a 10^7 UFC/ml.

Proteínas solubles en solución salina

En el cuadro 18, se muestran los porcentajes de proteínas solubles en solución salina, separadas de las rebanadas de atún rojo fresco y de las rebanadas congeladas, empacadas según el tratamiento y almacenadas a -10 y -18 °C. En la muestra fresca, el porcentaje de proteína soluble fue de 2,58 % menor que lo encontrado por Mena (2009), De Berardinis y col. (2012) y Cortez (2012) para el lote 1 y 2 con 6,99 %, 9,87%, 5,04% y 7,70 % respectivamente.

Cuadro 18. Porcentaje de proteínas solubles en solución salina (PSS) (% \pm DS) en el lomo de atún rojo fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C

Proteínas solubles	ALMACENAMIENTO (días)				
	0	15	30	54	111
C1	2,58 \pm 0,36 ^a	6,85 \pm 0,27 ^b	6,13 \pm 0,17 ^b	2,34 \pm 0,03 ^a	1,93 \pm 0,12 ^a
P1	2,58 \pm 0,36 ^a	6,04 \pm 1,17 ^b	6,62 \pm 0,34 ^b	2,53 \pm 0,04 ^a	1,82 \pm 0,41 ^a
C2	2,58 \pm 0,36 ^a	7,19 \pm 1,09 ^b	6,92 \pm 1,32 ^b	4,05 \pm 0,00 ^c	1,01 \pm 0,60 ^d
P2	2,58 \pm 0,36 ^a	3,41 \pm 0,09 ^a	6,07 \pm 1,18 ^b	4,69 \pm 0,00 ^c	3,77 \pm 0,09 ^c

n=3, se muestra la media \pm desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica que hay diferencias significativas $p < 0,05$

A los 15 días de almacenamiento todos los tratamientos incrementaron significativamente la fracción de proteínas solubles ($p < 0,05$), salvo P2, cuyo incremento menor (3,41%) y no significativo ($p > 0,05$), y fue el más estable. Todos tienden a estabilizarse hasta los 30 días y luego disminuyen, mientras que P2 aumenta hasta los 30 días y disminuye más lentamente a los 54 y 111 días de almacenamiento hasta 3,77 % siendo mayor al valor inicial de proteínas solubles encontradas en la muestra fresca. Este comportamiento es lo opuesto a lo esperado en pescados congelado y almacenado en congelación. Se ha observado en perca del Nilo (*Lates niloticus*) tanto a -13° como a -27 °C, la disminución fue mayor a -13 °C; bacalao y eglefino congelados a -80 °C y almacenados a -10 y -30 °C por 210 días; en filetes de sardinas y de lebranche, y en otras especies de pescados congelados a -18 °C (Namulema y col., 1999; Badii y Howell, 2002; Valls y col., 2004 y 2008; Benjakul y col., 2005).

Entre las justificaciones Namulema y col. (1999) explican que a menor temperatura de almacenamiento se favorece la agregación de proteínas (Samsom

y Regenstein, 1988). Benjakul y col. (2005), señalan, el alto contenido de formaldehído producido durante el almacenamiento congelado a partir del óxido de trimetilamina en algunas especies mientras que en otras es la formación de puentes disulfuros y las interacciones hidrofóbicas contribuyen a la pérdida de solubilidad de las proteínas (Lim y Haard, 1984; Sotelo, Pineiro, y Perez-Martub, 1995; Jiang, Hwang y Chen, 1988, citados por Benjakul y col. 2005) Valls y col. (2008) encontró luego de la disminución de las proteínas solubles un aumento que justifica por la actividad de las enzimas proteolíticas (catepsinas, calpaínas) del tejido muscular que, dependiendo de la temperatura de congelación empleada y las condiciones del almacenamiento, pueden ejercer su acción y aumentar la fracción de PS, posteriormente las proteínas son afectadas significativamente por la congelación y pierden parte del agua enlazada, aumentando así su hidrofobicidad, con lo cual disminuye la proteína soluble. De Berardinis y col. (2012) encontraron que las proteínas solubles incrementaron cuantitativamente a los 90 días de almacenamiento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, siendo cercanas al valor del lomo de atún fresco.

El descenso mas lento fue el de las muestras congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ en atmósfera de CO_2 . A los 111 días de almacenamiento, las muestras almacenadas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ independientemente de la presencia o no de CO_2 , tuvieron valores cercanos a la obtenido en la muestra fresca. A $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, P2 mantuvo un valor cercano, pero por encima de lo obtenido en el valor inicial.

El tiempo y la temperatura de almacenamiento son dos factores que afectan en forma significativa la solubilidad de las proteínas y su pérdida de solubilidad durante el almacenamiento del pescado congelado puede ser atribuida a las interacciones no covalentes e hidrofóbicas con otros compuestos, como los lípidos y aminoácidos (Tsai, 1989; González, 2001). La fracción proteica miofibrilar es desnaturizada inclusive a temperaturas de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Vicetti, 1994; citado por Valls y col., 2004).

Las proteínas tienen diferentes propiedades físicas y químicas que influyen en los atributos sensoriales de los alimentos. Muchas de estas propiedades dependen directamente de factores intrínsecos del polímero de la proteína, como es su estructura y composición de aminoácidos, o bien de factores extrínsecos, como pueden ser el pH, la temperatura, las sales, etc. Al igual que otras moléculas de alto peso molecular, las proteínas ejercen una influencia muy marcada en las propiedades sensoriales de los alimentos, pero por tener un alto grado de orden estructural, son fácilmente alterables por un gran número de factores que causan la pérdida de estas propiedades funcionales. El método de proteínas solubles en solución salina es utilizado como un índice del grado de desnaturalización de las proteínas miofibrilares, puesto que permite estudiar las variaciones que sufren las mismas durante el almacenamiento congelado, ya que estas constituyen un alto porcentaje de las proteínas totales del pescado que se ven afectadas en sus propiedades funcionales como consecuencia de agentes desnaturalizantes tales como: la temperatura y el tiempo de almacenamiento congelado.

EVALUACIÓN SENSORIAL

En el cuadro 19 se presentan los resultados de la evaluación sensorial realizada a los 54 y 111 días de almacenamiento en las rebanadas de lomo de atún, congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C. A los 54 días hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos con y sin CO₂, en ambas temperaturas de almacenamiento para los tres atributos evaluados. Por otra parte, entre P1 y P2 no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) ni para el color ni para la apariencia. A los 111 días de almacenamiento, hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en la evaluación del olor entre las rebanadas empacadas con y sin CO₂ almacenadas a - 18 °C.

Cuadro 19. Evaluación sensorial de las rebanadas de lomo de atún congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

Tratamiento	ALMACENAMIENTO (días)					
	54			111		
	Color	Olor	Apariencia	Color	Olor	Apariencia
C1	4,08±2,22 ^a	4,69±1,55 ^a	4,00±1,96 ^a	4,09±2,17 ^a	4,64±1,57 ^a	4,09±2,43 ^a
P1	6,54±1,76 ^b	5,38±1,38 ^{ab}	6,08±1,85 ^b	4,50±2,32 ^a	5,27±1,49 ^{ab}	4,45±1,86 ^a
C2	4,62±1,85 ^a	5,08±1,44 ^a	5,08±2,06 ^{ab}	3,91±1,58 ^a	4,73±1,27 ^a	4,36±1,86 ^a
P2	6,69±1,65 ^b	6,46±1,20 ^b	6,92±1,75 ^b	5,27±2,45 ^a	6,55±1,44 ^b	5,64±2,46 ^a

t=54, n=13, se muestra la media ± desviación estándar

t=111, n=11, se muestra la media ± desviación estándar

Superíndice con letras diferentes en una misma columna implica diferencias significativas $p < 0,05$.

Para esta evaluación sensorial se aplicó una escala hedónica de 9 puntos, donde se evaluó la preferencia de los participantes. Se pidió al panelista que luego de su primera impresión respondiera cuánto le agradaba o desagradaba el producto, esto lo informó de acuerdo a una escala numérica en la hoja de evaluación (Anexo 2).

Conclusiones

- El lomo de atún fresco se caracterizó por presentar un 74,53 % de Humedad, 22,51 % de Proteína cruda, 1,50 % de Cenizas y 1,23 % de Grasa cruda.
- La calidad microbiológica del lomo de atún, se encontró en el límite entre un recuento aceptable y uno marginalmente aceptable (10^5 UFC/g) para pescado fresco y congelado (ICMSF, 1986).
- El indicador microbiológico Aerobios Mesófilos disminuyó significativamente en dos ciclos logarítmicos a los 117 días de almacenamiento congelado, siendo P2 (100 % CO₂ y almacenadas a -18 °C) el de menor contaje. Los Aerobios Psicrófilos aumentaron significativamente a los 117 días, hasta un orden de 10^2 UFC/g, siendo P2 el de menor contaje.
- Las rebanadas congeladas, empacadas con atmósfera de 100 % de CO₂ y almacenadas a -18 °C (P2) mantuvieron más estables los parámetros humedad, color rojo y en el análisis de perfil de textura, la dureza y masticabilidad. Al final del almacenamiento fue presentó menor producción de BVT.
- El proceso C1, donde se congelaron las muestras, se empacaron a presión atmosférica y se almacenaron a -10 °C, no conservó el color rojo de las rebanadas de atún durante los 111 días de almacenamiento; las muestras más rojas y más oscuras fueron las del proceso P2.
- Para el tratamiento con CO₂ a -18 °C y su control, la rancidez oxidativa (TBA) se mantuvo dentro de los límites permitidos para consumo (8 mg Ma/kg), hasta los 30 días de almacenamiento. El resto de los tratamientos se mantuvo estable hasta los 15 días de almacenamiento.

- Los panelistas encontraron diferencias para todos los atributos sensoriales y para todos los tratamientos entre los 54 y 111 días de almacenamiento congelado. El almacenamiento con 100% de CO₂ de las rebanadas de atún congeladas a -18 °C y almacenadas a la misma temperatura tuvieron la mejor apreciación en la escala hedónica y las muestras congeladas a -10 °C obtuvieron la menor, estas últimas presentaban quemaduras por el frío y “olor a pescado” a los 111 días de almacenamiento.

RECOMENDACIONES

- Incluir en este estudio la determinación del porcentaje de líquido exprimible en las muestras procesadas a fin de evaluar el efecto de la congelación y descongelación sobre la integridad del tejido muscular del atún.
- Realizar una evaluación sensorial a los 30 días de almacenamiento para conocer la percepción de los panelistas sobre las muestras y comparar con los valores obtenidos de TBA y BVT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMETEK. 2010. Principios y Teorías de la Textuometría. Metrotec: instrumentos de control de calidad. Lloyd instruments. [En línea]: http://www.metrotec.es/metrotec/WWW_DOC/Textuometria_Principios-1-PPS-E-R1.pdf [Consulta: 21 de enero de 2012].
2. Anderson, C. y W. Wu. 2005. Analysis of carbon monoxide in commercially treated tuna (*Thunnus* sp.) and mahi mahi (*Coryphaena hippurus*) by gas chromatography/mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(18):7019-7023
3. Annelich, L., Hoffman, L. y M. Swanepoel. 2001. The quality of frozen African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) fillets under long-term storage conditions. J. Sci. Food. Agric. 81(7): 632-639
4. AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. 18th Ed. William Horwitz y George W. Latimer (Ed). Washington. USA. 1298 p.
5. Aojula, H. S., M. Wilson y I.E.G. Morrison. 1987. Functional consequences of haem orientational disorder in sperm-whale and yellow-fin-tuna myoglobins. Biochemical Journal. 243(1):205-210.
6. APHA (American Public Health Association). 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Ed. Marvin y Speck. Washington. D.C. 1115 p.
7. AQUALAB, 2008. Actividad de agua en alimentos. Decagon devices inc régent instruments inc. Lab-ferrer. [En línea]: [http:// www.aqualab.com.avdiaz.files.wordpress.com](http://www.aqualab.com.avdiaz.files.wordpress.com). [Consulta: 20 febrero 2013]
8. Arahisar, S., O. Hisar, M. Kaya y T. Yanik. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging om microbiological and chemical

- properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. International Journal of Food Microbiology. 97: 209-214
9. Arkoudelos, J; N. Stamatis y F. Samaras. 2007. Quality attributes of farmed eel (*Anguilla anguilla*) stored under air, vacuum and modified atmosphere packaging at 0 °C. Food Microbiology 24: 728-735.
 10. Ayala, M. 1994. Evaluación sensorial del pescado fresco. X Curso Internacional de Procesamiento de Productos Pesqueros. Lima- Perú.
 11. Badii, F. y N. Howell. 2002. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillets during frozen storage. Food Hydrocolloids. 16: 313-319
 12. Badui, S. 2006. Química de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Pearson. México. 716 p.
 13. Banks, H; R. Nichelson y G. Finne. 1980. Shelf-life on carbon dioxide packaged finfish from Gulf of Mexico. Journal of Food Science 45: 157-162
 14. Barreiro, J. A. y Sandoval, A.J. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Caracas, Venezuela: Editorial Equinoccio (Universidad Simón Bolívar). 13-129 p.
 15. Barrero, M.; Y. Castillo y M. Kodaira. 2007. Influence of washing and frozen storage on the myofibrillar proteína fraction in sardine mince flesh. Revista Científica. FCV-LUZ XVII (4): 405-411.
 16. Bello, R. y Gil Rivas, W. 1992. Evaluación y aprovechamiento de la cachama cultivada, como fuente de alimento. Organización de las Naciones unidas para la Agricultura y Alimentación. México, D.F. 121 p. [En línea]: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB494S/AB494S00.htm#TOC>
[Consulta: 21 de noviembre de 2012].

17. Ben-Gigirey, B., J. Vieites Baptista De Sousa, T. Villas y J. Barros-Velásques. 1999. Chemical changes and visual appearance of albacore tuna as related to frozen storage. *J. Food Sc.* 64(1): 20-24.
18. Benjakul, S., W. Visessanguan, C. Thongkaew y M. Tanaka. 2003. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. *Food REsearch International*. 36: 787-795
19. Benjakul, S., W. Visessanguan, C. Thongkaew y M. Tanaka. 2005. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand. *Food Hydrocolloids*. 19: 197-207.
20. Bidlack, W., T. Kwon y H.E. Snyder. 1972. Production and binding of malonaldehyde during storage of cooked pork. *Journal of Food Science*. 37: 664-667.
21. Bjerkeng, B. y G. Johnsen. 1995. Frozen storage quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as affected by oxygen, illumination and fillet pigment. *Journal of Food Science*. 60(2):284-288.
22. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 72: 248-254.
23. Brown, W. D. 1962. The concentration of myoglobin and hemoglobin in tuna flesh. *Journal of Food Science*. 27(1):26-28.
24. Burgess, G; C. L. Cutting, J. A Lovern y J.J. Waterman. 1971. *El pescado y las industrias derivadas de la pesca*. Editorial Acribia. Zaragoza. España.

25. Careche, M., M.L. del Mazo y F. Fernández-Martín. 2002. Extractability and thermal stability of frozen hake (*Merluccius merluccius*) fillets stored at – 10 and – 30 °C. J. Sci. Food Agric. 82:1791-1799.
26. Castillo, Y. 2001. Evaluación del efecto de lavado con una solución de NaHCO₃ al 0.5% sobre las proteínas de la pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) congelada a -40°C. Trabajo especial de grado. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
27. Castro, E. y R. A. de Hombre Morgado. 2007. Parámetros mecánicos y textura de los alimentos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Universidad de Chile. 142p.
28. Castro, M.I., V.A. Ojeda, B.S. Montaña, C.E. Ledesma y R.F. Pérez. 2007. Evaluación de los ácidos grasos n-3 de 18 especies de pescados marinos mexicanos como alimentos funcionales. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 57(1):85-93.
29. Chaijan, M.; S. Benjakul; W. Visessanguan y C. Faustman. 2007. Characterisation of myoglobin from sardine (*Sardinella gibbosa*) dark muscle. Food Chemistry 100(1): 156-164.
30. Chanona, J., L. Alamilla, E. Mendoza y G. Gutiérrez. 2006. Refrigeración y Congelamiento en: Hui, Y., I. Guerrero y M. Resmini. Ciencias y Tecnología de Carnes. Primera Edición. Editorial Lumusa. México. 395-435p
31. Chávez Franco, S., E. Vázquez y C. Saucedo. 2000. Propiedades biomecánicas de frutos de zarzamora. Revista Agrociencia 34 (3): 329-335.

32. Cheftel, J. C., H. Cheftel y P. Besancon. 1983. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Volumen II. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España.
33. Cheftel, J. C y H. Cheftel. 1980. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Volumen I. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España.
34. Chen, W. y C. Chow. 2001. Studies on the physicochemical properties of milkfish myoglobin. *Journal of Food Biochemistry*. 25(2):157-174.
35. Chow, C., Y. Ochiai, S. Watabe y K. Hashimoto. 1987. Autoxidation of Bluefin tuna myoglobin associated with freezing and thawing. *Journal of Food Science*. 52 (3): 589- 591.
36. Chow, C., Y. Ochiai y S. Watabe. 2004. Effect of frozen temperature on autoxidation and aggregation of bluefin tuna myoglobin in solution. *Journal of Food Biochemistry*. 28: 123-134.
37. Church, I. J. y A. Parsons. 1995. Modified atmosphere packaging technology: a review. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 67: 143-152.
38. COVENIN (1315-79). Alimentos. Determinación del pH (Acidez iónica). Fondonorma. Caracas. Venezuela.
39. De Berardinis, R., M. Medina y M. Barrero. 2012. Estabilidad química, física y microbiológica de lomo de atún (*Thunnus* sp.) rebanado. Empacado, congelado y almacenado a -20 ° C. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 3 (2): 177-201.
40. Delgado, A., J. Valls y E. Tomé. 2000. Evaluación de aminas biógenas, microbiológica y sensorial de sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. X (6):494-502.

41. Desrosier, N. 2000. Conservación de los alimentos. Compañía Editorial Continental. México.
42. Donn, W. y N. Baj. 1988. Factors affecting microbiological quality of seafoods. Food Technology. 43 (3): 85-89.
43. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2005. Resumen informativo de la pesca por países: Republica Bolivariana de Venezuela.FID/CP/VEN. Italia.

[En línea]: <http://www.fao.org/FCP/es/VEN/profile.htm> [Consulta: 8 abril 2013]
44. Fiallos, C. 2009. Estudio comparativo de la influencia del empaque, en la tilapia fresca almacenado a temperaturas de refrigeración. Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica Del Litoral. Guayaquil. Ecuador. [En línea]: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/13798/1/D-42970.pdf> [Consulta: 5 febrero 2013]
45. Frazier, W. 1981. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. 2da edición. España. 512p.
46. Folch, J.; M. Lees y G. Sloane. 1957. A simple methods for isolation and purification of total lipids from tissues. J. Biol. Chem. 266: 497-509
47. Gallo, M. 2001. Conservación de los productos hidrobiológicos por congelación. Curso CYTED “Avances en Tecnología de Productos Acuáticos”. Curso de Interfacultades de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas, Venezuela.
48. García I., E; L. Gago y J. L. Fernández. 2006. Informe de vigilancia tecnológica: Tecnologías de envasado en atmósfera protectora. Asociación empresarial de Alimentos de la Comunidad de Madrid (ASEACAM). Madrid. Depósito Legal: M-42 918-2006. [En línea]:

http://www.madrimasd.org/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/vt/vt3_tecnologias_de_envasado_en_atmosfera_protectora.pdf [Consulta: 5 de mayo de 2011].

49. Giménez, C., A. Delgado, R. Lozada, M. Correia y R. Baloa. 2009 El Atún: La actividad atunera en el contexto de la pesca mundial y venezolana. Primera edición. Fundación para la pesca sostenida y responsable de túnidos (FUNDATUN). Venezuela. 376p.
50. González, D. 1998. Composición química y bioquímica del atún. Cambios en su procesamiento. Seminario de Post-grado. Curso de Interfacultades de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas, Venezuela.
51. González, D. 2001. Evaluación física, química y organoléptica de la sardina (*Sardinella aurita*) tipo round durante su almacenamiento congelado. Tesis de Maestría. Curso de Interfacultades de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas, Venezuela.
52. González, D.; J. Valls y A. González Cantillo. 2002. Evaluación física, química y sensorial de tronquitos de sardina (*Sardinella aurita* v.) durante su almacenamiento congelado a -18 ° C. Revista Científica, FCV-LUZ. XII (4): 278-285.
53. Guedes, W., E. Teixeira, L. Pessanha, E. Sampaio, M. Queiroz y S. Mano. 2006. Efeito da atmosfera modificada sobre a conservação de lombo de atum (*Thunnus albares*) embalado. Rev. Bras. Ci. Vet. 13 (2): 89-93
54. Heidmann, M. y M. Oetterer. 2003. Use of Modified Atmosphere in seafood preservation. Brazilian archives of Biology and Technology. 46(4): 569-580.

55. Hleap, J. I. y A.V. Velasco. 2010. Análisis de las propiedades de textura durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). Rev. Bio. Agro. 8(2): 46-56.
56. Hong, L. C., E.L. Leblanc, Z.J. Hawrysh y R.T. Hardin. 1996. Quality of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.) fillets during modified atmosphere storage. Journal of Food Science 61(3): 646-651.
57. Huss, H.H. 1997. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. FAO Documento Técnico de Pesca. N° 334. 174 p.
58. Huss, H.H. 1998. El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de Calidad. FAO. Documento Técnico de Pesca N°348. 202 p.
59. Huss, H.H. 1999. El pescado fresco, su calidad y cambios de calidad. Organización de las Naciones unidas para la Agricultura y Alimentación. Documentos técnicos de pesca-T348. [En línea]. <http://www.fao.org/DOCREP/V7180S/V7180S00.HTM> [Consulta: 8 abril 2013]
60. ICMSF. 1980. Ecología microbiana de los alimentos. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Volumen 1. Editorial Acribia.
61. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1986. Microorganisms In Foods 2. Sampling for microbiological analysis. Principles and specific applications. 2nd Ed. Blackwell Scientific Publications. University of Toronto. Press, Toronto.
62. ICTA, 1998. Manual de Métodos físico químicos para evaluar la calidad de productos acuícolas. Curso-Taller Regional sobre procesamiento y mercadeo de pescado de aguas continentales y acuicultura. Facultad de Ciencias. UCV-FAO-CONICIT. 67p.

63. INSOPESCA, 2008. Estadísticas pesqueras. Producción Pesquera y Acuícola. Cierre 2008.
64. Instituto Nacional del Frío (INF). 1990. Alimentos congelados: procesado y distribución. Editorial Acribia, S.A. España. 184p.
65. Instituto Nacional de Nutrición (INN). 2001. Tabla de Composición de Alimentos para Uso Práctico. Publicación No. 54. Serie Cuadernos Azules. Caracas. Venezuela.
66. Izquierdo-Córser, Pedro; Torres-Ferrari, Gabriel; Barboza de Martínez, Yasmina; Márquez-Salas, Enrique y Allara-Cagnaso, María. 2000. Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 50(2):187-194.
67. Izquierdo, P; G. Torres; M. Allara; J. Barros; P. Delgado y J. Añez. 2001. Efecto de tres métodos de cocción en la composición proximal y el perfil de ácidos grasos del atún (*Thunnus thynnus*). Rev. Científica FCV-LUZ. XI (4): 367 – 372.
68. Jay, J. 1994. Microbiología moderna de los alimentos. 3ra edición. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 804p.
69. Jay, J. 1996. Modern Food Microbiology. Fifth edition. Chapman and Hall. International Thomson Publishing. New York. USA.
70. Kodaira, M. 1981. Estudio de la alteración de la carne de curvinata (*Macrodon ancylodon*) congelada. Trabajo de Ascenso. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
71. Lannelongue, M., M.O. Hanna, G. Finne, R. Nickelson y C. Vanderzant. 1982. Storage of finfish fillets (*Archosargus probatucephalus*) packaged in

- modified gas atmospheres containing carbón dioxide. *Journal of Food Protection*. 45(5):440-444
72. Lindahl, G., K. Lundströmd y E. Tornberg. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science*. 59(2):141-151.
73. López-Gálvez, D; L. de la Hoz y J. Ordóñez. 1995. Efecto de las atmósferas enriquecidas con dióxido de carbono y oxígeno en los cambios microbiológicos y químicos de rodajas de atún (*Thunnus alalunga*) refrigerado. *J. Agric. Chem.* 43 (2): 483-490
74. Lopes, M., E.T. Mársico, L.G. Sobreiro, L.P. Silva, C.A. Conte-Júnior, H.S. Pardi y S. Mano. 2004. Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 99(552): 207-210
75. López, M. 2006. Estudio de la estabilidad de porciones de bagre yaqué (*Letarius marmoratus*) durante el almacenamiento congelado utilizando tres tipos de empaque. Tesis de Maestría. Curso de Interfacultades de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas, Venezuela.
76. Lovell, R. 1991. Foods from Aquaculture. *Food Technology*. 45 (9): 87-92.
77. Ludorff, W y V. Meyer. 1978. El pescado y los productos de la pesca. 2da edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
78. Marcano, A. 1973. Evaluación sensorial y objetiva de la calidad del Caribe (*Scomberomorus maculatus*) congelado, empacado con y sin vacío. Trabajo especial de grado. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas.

79. Márquez, Y.; A. Cabello, L. Bettina Villalobos, G. Guevara; B. E. Figuera García y O.M. Vallenilla González. 2006. Cambios físicos-químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de la conserva de atún. *Zootecnia Tropical* **24**(1): 17-29.
80. Mbarki, R.; N. Miloud; S. Selmi; S. Dhib y S. Sadok. 2009. Effect of vacuum packaging and low-dose irradiation on the microbial, chemical and sensory characteristics of chub mackerel (*Scomber japonicus*). *Food Microbiology* **26**: 821–826.
81. MdA. 1981. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório de Referência Animal (LANARA). Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I. Métodos Microbiológicos. Brasília, Brasil.
82. Mena, S. 2009. Degradación de las proteínas en el lomo de atún (*Thunnus* sp) empacado con películas comestibles y almacenado a -10°C. Trabajo especial de grado. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. UCV. Caracas.
83. Metin, S., N. Erkan, T. Baygar, y O. Ozden. 2002. Modified atmosphere packaging of fish salad. *Fisheries Science*. **68**(1):204-209.
84. Montecchia, C.L., S.I. Roura, H. Roldán, O. Pérez-Borla y M. Crupkin. 1997. Biochemical and physicochemical properties of Actomyosin from frozen pre- and post- spawned hake. *Journal of Food Science* **62** (3): 491-495
85. Montero, P. y C. Gómez-Guillén. 2008. Nuevas tecnologías de conservación y calidad del pescado. *Revista alimentaria, investigación, tecnología y seguridad*. Volumen 45. Nº 389. 77-82 p.
86. Morita, 1975. Psychrophilic bacteria. *Bacteriological. Reviews*. **39**(2): 144-167.

87. MULTIVAC Better Packaging. Instrucciones de Servicio Multivac T200. 216p.
88. Namulema, A., J.H. Muyonga y A.N. Kaaya. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27 °C. Food Research International. 32:151-156.
89. Olsson, G., R. Olsen, M. Carleheog y R. Ofstad. Seasonal variation in chemical and sensory characteristics of farmed and wild atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture. 217(1-4): 191-205.
90. Ordoñez, J.A., D. López-Gálvez, M. Fernández, E. Hierro y L. de la Hoz. 2000. Microbial and physicochemical modifications of hake (*Merluccius merluccius*) steaks stored under carbon dioxideenriched atmospheres. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80:1831-1840.
91. Orrego Alzate, C. E. 2003. Procesamiento de alimentos. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Primera edición. 315 p.
92. Osorio, J.F., H. Ciro Velásquez y L.G. Mejía. 2004. Caracterización textural y fisicoquímica del queso Edam. Rev.Fac.Agr.Medellín. 57(1): 2275-2286.
93. Ospina, S., y J. Cartagena. 2008. La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. Revista Lasallista de Investigación 5(2):112-123
94. Ozogul, F., Polat, A., Ozogul. Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry 85: 49-57
95. Pantazi, D., A. Papavergou, N. Pournis, MG. Kontominas y IN. Savvaidis. 2008. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. Food Microbiology 25(1):136-43.

96. Parry, R. T. 1993. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods. Blackie Academic and Professional. United Kingdom. 299p.
97. Placido, M. y Alemán, M.P. 2002. Método higrométrico rápido para determinar actividad del agua. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* **3** (4): 229-235.
98. Pons-Sánchez-Cascado, S., N.C Vidal, M.L Nunes y M.T. Veciana. 2006. Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. *Food Control* 17(7):564-569.
99. Post, L., D. Lee, M. Soberg., D. Furgang, J. Specchio y C. Graham. 1985. Development of botulinal toxin and sensory deterioration during storage of vacuum and modified atmosphere packaged fillets. *Journal of Food Science*. 50:990-996.
100. Rapin, P. y P. Jacquard. 1999. Formulario del Frio. Marcombo Boixare Editores. España. 469p
101. Robertson, Gordon. 1993. Food packaging. Marcel Dekker. New York, Estados Unidos. 431p.
102. Rodríguez, L. 2009. Evaluación de la técnica del glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus* sp) congelado. Trabajo Especial de Grado. Departamento de Tecnología de Alimentos. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. UCV.
103. Rodríguez, N. 2006. Estudio de la estabilidad durante el almacenamiento congelado de porciones de pescado, incorporando proteína de soya. Tesis de Postgrado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

104. Ruiz-Capillas, C. y A. Moral. 2005. Sensory and biochemical aspect of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry* 89 (3): 347-354.
105. Sankar, R., K.V. Lalitha, L. Jose, S. Manju y T.K.S Gopal (2008). Efect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (*Etroplus suratensis* Bloch) stored at 0-2 °C. *Food Microbiology* 25: 518-528.
106. Seo, C.W. 1976. Hydro carbon production from free dried meats. *Journal of Food Science*. 41: 594-597.
107. Sinde, E., C.S. Gallardo, A. Saa, A. Castillo y L.A. Rodríguez. 1998. Estudio bacteriológico de palitos de merluza congelados. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2 (1): 20-23.
108. Stamatis, N. y J. Arkoudelos. 2007. Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. *Food Control*. 18(4):292-300.
109. Srikar, L. N., H. S. Seshadari y A. Fazal. 1989. Changes in lipids and proteins of marine catfish (*Tachysurus dussumieri*) during frozen storage. *International J. Food Sci and Technol*. 24: 653- 658.
110. Stenström, I.M., 1985. Microbial flora of cod fillets (*Gadus morhua*) stored at 2 °C in different mixtures of carbon dioxide and nitrogen/oxygen. *Journal of Food Protection*. 48: 585-589.
111. Suárez, H., S. Pardo, M. Cortéz, S. Ricaurte y B. Rojano. 2009. Evaluación de nueva tecnología para mitigar las espinas intramusculares en filetes de cachama *Piaractus brachypomus* (Pisces: Characidae). *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 62(1): 4989-4997.
112. Teodoro, A., E. de Andrade y S. Mano. 2007. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas

- (*Sardinella brasiliensis*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Brazil)*. 27(1):158-161.
113. Thiansilakul, Y., S. Benjakul y M. Richards. 2011. Isolation, characterisation and stability of myoglobin from Eastern little tuna (*Euthynnus affinis*) dark muscle. *Food Chemistry*. 124(1):254-261.
114. Torrieri, E., S. Cavella, F. Villani y P. Mais. 2006. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Food Engineering*. 77: 1078-1086.
115. Tsai, S., J. Wang y S. Liang. 1989. Stability of muscle proteins from some subtropics fish. *J. Agric. Food. Chem.* 37(3):749-752.
116. Tzikas, Z., E. Papavergou, N. Soultos, I. Ambrosiadis y S. P. Georgakis. 2009. Quality loss of mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) skinned fillets kept under vacuum during frozen storage. *Journal of Aquatic Food Product technology*. 18 (3): 266-283.
117. Ueki, N., Chow, J. Chau y Y. Ochiai. 2005. Characterization of bullet tuna myoglobin with reference to the thermostability-structure relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(12):4968-4975.
118. Valls, J., A. Paredes, D. González y A. González. 2004. Evaluación física, química, microbiológica y sensorial de filetes de sardine (*Sardinella aurita* V.) empacados al vacío y congelados a -18 °C. *Revista Científica FCV-LUZ*. XIV. 2: 115-123.
119. Valls, J., A. Xiques y A. Escalona. 2008. Evaluación física y química de filetes de lebranche (*Mugil liza*) en almacenamiento congelado a -18°C. *Revista Científica FCV-LUZ*. XVIII. 3: 329-338.
120. Wang, T.; K. Sveinsdóttir; H. Magnússon, y E. Martinsdóttir. 2008. Combined Application of Modified Atmosphere Packaging and Superchilled

Storage to Extend the Shelf Life of Fresh Cod (*Gadus morhua*) Loins. Journal of Food Science. 73(1): 11-19.

121. Welti Chanes, J. y D. Bermúdez Aguirre. 2002. Nuevas tendencias en el procesamiento de alimentos. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas. México. [En línea]:

http://www.educapalimentos.org/site2/archivos/actualidad_alimentaria/NUEVAS%20TENDENCIAS%20PROC%20ALIMENTOS.pdf [Consulta: 13 de abril de 2011]

Consultas en línea:

- <http://encyclopedia.airliquide.com/encyclopedia.asp?languageid=9&GasID=26&CountryID=19> [Consulta: 10 de febrero de 2012]

Anexo 1. Manual de uso de la empacadora Multivac T200

Manual de la máquina empacadora MULTIVAC T200

-Encender el compresor (On) ubicado en la pared externa de la planta piloto (sentido Este).

-Revisar y abrir las conexiones de agua, aire y gas, en ese mismo orden. El manómetro de la bombona del gas debe estar entre 75 y 100 PSI.

-Encender la máquina en la perilla roja, ubicada a la derecha de la Multivac T200 y esperar a que precaliente, hasta alcanzar la temperatura adecuada para que haya un buen sellado (135 °C); la temperatura depende del micraje de la bandeja (17, 35, 45, 55 y 60). Mientras mayor sea el micraje de la bandeja, la temperatura será mayor.

-Bandejas de 17mµ y 35mµ temperatura máxima 130 °C, bandejas de 45mµ temperatura máxima 140 °C y bandeja de 55mµ temperatura máxima 150 °C.

-Colocar las bandejas (previamente lavadas con agua y jabón) en los espacios correspondientes y nivelar los bloques, según la profundidad de las bandejas seleccionadas. Esperar que la máquina indique en la pantalla, con una flecha (←), que la gaveta ya puede ser introducida y presionar la tecla con la receta a usar para realizar la extracción del aire (vacío), inyección del gas correspondiente y termosellado; y cuando la maquina lo indique en la pantalla, (→), sacar la gaveta.

-Al terminar todo el proceso de empacado, se apaga la máquina Multivac T200 en la perilla roja, se cierran las conexiones de agua, aire y gas y se apaga el compresor (off)

Notas importantes:

-Para crear una receta se disponen de seis espacios numerados (teclas del 1 al 6, dispuestas al lado de la pantalla), se puede grabar una receta por número y es necesario dejar la tecla presionada hasta que la pantalla indique receta cargada, en las mismas se puede grabar la presión del gas, temperatura de sellado y evacuación del aire.

-La tecla con el Número 1 tiene cargada una receta automática la cual no debe modificarse, puesto que es una receta de referencia o patrón.

-Para diseñar una receta se deben seguir los siguientes pasos:

1) Presionar la segunda tecla  (de izquierda a derecha) ubicada debajo de la pantalla, en la cual se regula el nivel de evacuación del aire (en milibares), con las flechas

que se encuentran a la derecha de la pantalla . Lo recomendado por el técnico de Danimex son 10mb. Luego de colocar el valor ajustado, presionar la tecla seleccionada para guardarlo como parte de la receta.

2) Presionar la tercera tecla del panel  para introducir el segundo parámetro, que es la presión del gas a inyectar, la cual se debe ajustar dependiendo de la zona del país donde se encuentre, en el caso del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ubicado en Colinas de Bello Monte-Caracas, se recomienda una presión atmosférica de 890 mb. A nivel del mar, la presión es de 1 atmósfera que equivale a 1013,25mb. Luego de colocar el valor ajustado, presionar la tecla seleccionada para guardarlo como parte de la receta.

3) Presionar la cuarta tecla del panel  para introducir el tercer parámetro de la receta, la temperatura de sellado, que puede variar entre 125 °C a 135 °C, ésta dependerá del micraje de la bandeja a utilizar. El tiempo de sellado es de 2 segundos. Debe recordarse que luego de colocar el valor ajustado, hay que presionar la tecla seleccionada para guardarlo como parte de la receta.

La receta utilizada para este Trabajo de Grado fue la Número 3, con las siguientes características:

- Presión de evacuación: 90mb
- Inyección de gas: 896mb
- Temperatura de sellado: 135 °C

Consideraciones:

- Se puede controlar la velocidad de desplazamiento de la película polimérica, usando el freno (perilla ubicada a la izquierda de la bobina del polímero)
- Si la máquina no corta bien la película polimérica al sellar las bandejas, revisar las cuchillas, y también la presión del aire que puede estar muy baja si esto ocurre.
- Se debe tomar en cuenta que si se utiliza una temperatura de sellado mayor o igual a 130 °C es posible que la película polimérica se arrugue, si esto ocurre, la temperatura debe disminuirse.

-Si la película polimérica queda floja o arrugada, se debe ajustar la bobina de la película con la perilla del freno o sino revisar la presión del gas, que puede estar muy baja.

-Limpieza de la máquina: Se debe limpiar con jabón líquido de bajo pH (3-5) y desinfectar con alcohol absoluto. También se recomienda colocar vaselina en los rieles de la gaveta para que esta ruede con más facilidad.

-Si se requiere hilvanar la película polimérica, usar la paleta, la cual debe estar previamente esterilizada.

Algunos errores importantes que proporciona la máquina:

*Error 68: la bombona de gas se acabó, la válvula esta cerrada o el transductor de presión esta malo.

*Error 78: alguna puerta está abierta.

*Error 76: falta de agua.

*Error 66: el compresor no funciona o la válvula de gas esta cerrada.

Anexo 2. Ficha para la evaluación sensorial

FECHA: _____

NOMBRE: _____

Instrucciones: A continuación se presenta una muestra de atún crudo. Por favor haga su evaluación de acuerdo a la escala que se le presenta a continuación tomando en cuenta el color, olor y apariencia.

1. Me disgusta extremadamente.
2. Me disgusta mucho
3. Me disgusta moderadamente
4. Me disgusta ligeramente
5. Me es indiferente
6. Me gusta ligeramente
7. Me gusta moderadamente
8. Me gusta mucho
9. Me gusta extremadamente

Muestra	Color	Olor	Apariencia
_____	_____	_____	_____
Muestra	Color	Olor	Apariencia
_____	_____	_____	_____
Muestra	Color	Olor	Apariencia
_____	_____	_____	_____
Muestra	Color	Olor	Apariencia
_____	_____	_____	_____

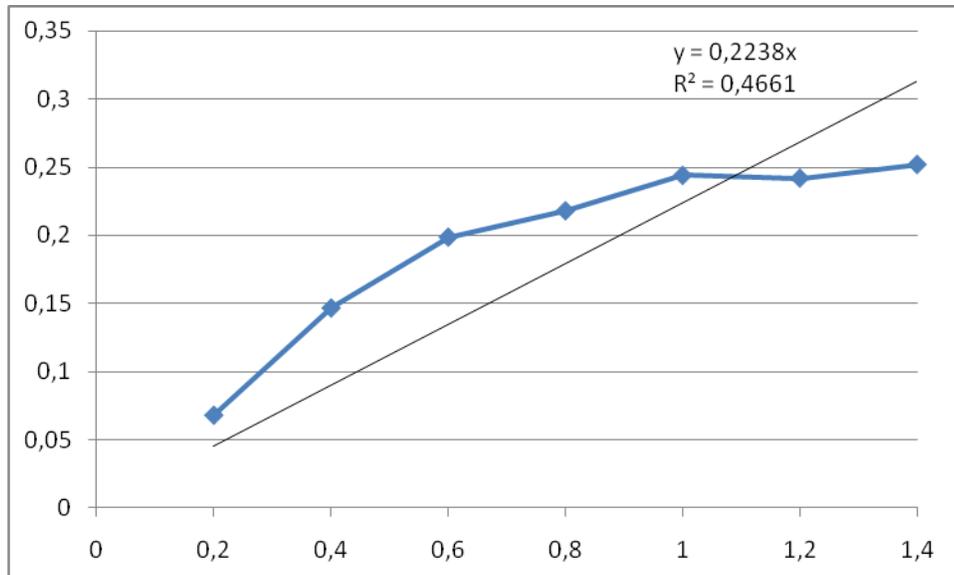
Comentarios: _____

GRACIAS POR SU PARTICIPACION

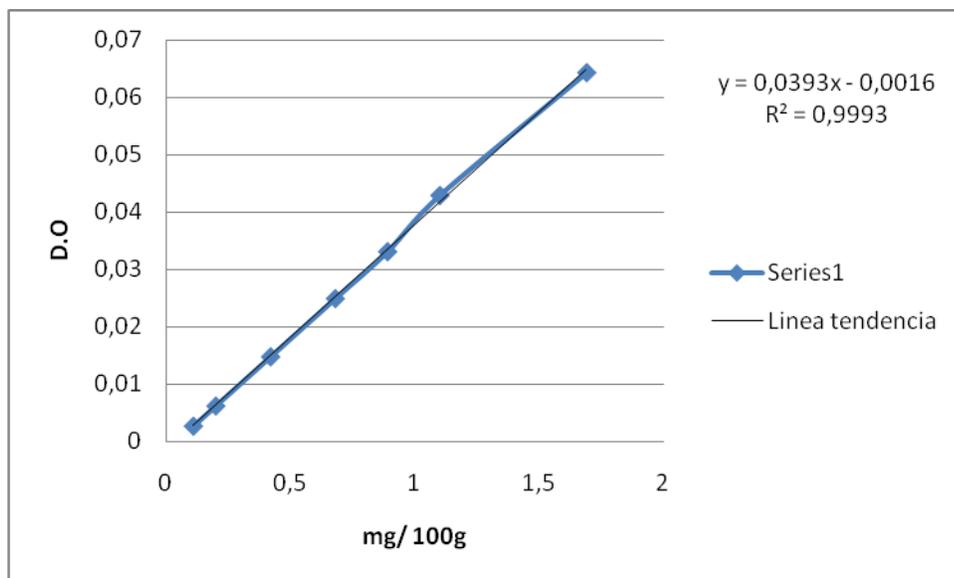
Anexo 3. Fórmula para calcular la Fuerza Centrífuga Relativa (FCR)

$$FCR = \frac{4\pi^2 \times (\text{rpm})^2 \times r}{3600 \times 980 \text{ cm/seg}^2}$$

Anexo 4. Curva patrón para proteínas solubles (Método de Bradford)



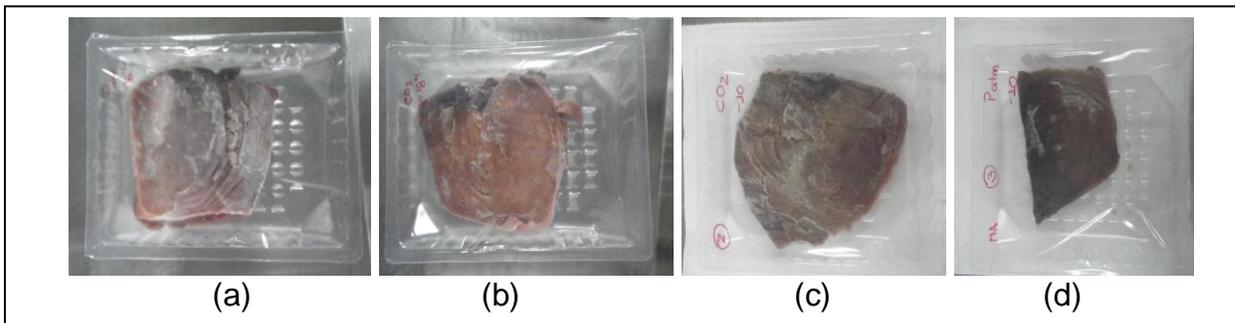
Anexo 5. Curva patrón de Malonaldehído (TBA)



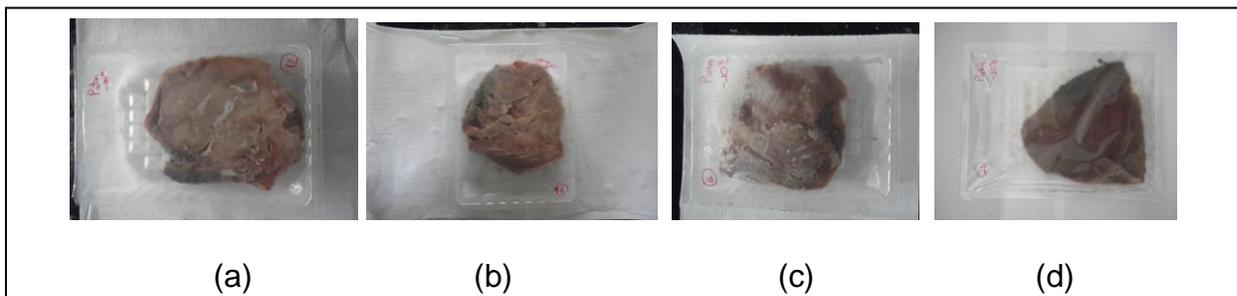
Anexo 6. Fotos de las muestras empacadas a los tiempos 0, 15, 30, 54 y 111 días de almacenamiento



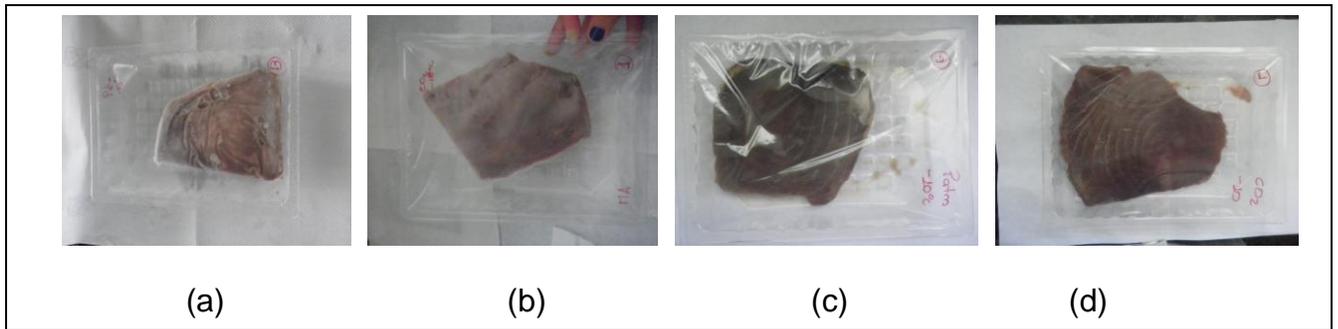
a) Lomos de atún recién adquiridos



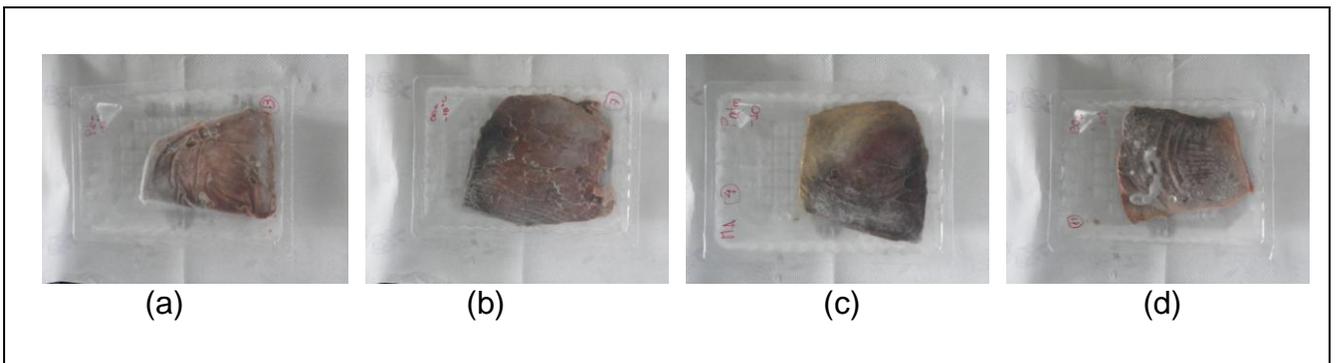
Rebanadas de atún congeladas y empacadas a tiempo cero con: (a) Presión atm. -18°C (b) CO₂ -18°C (c) Presión atm. -10°C (d) CO₂ -10°C



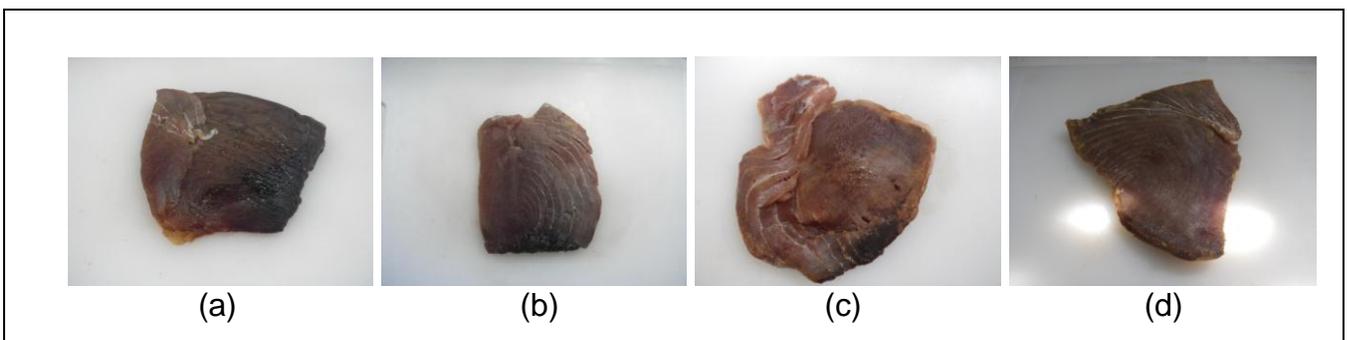
Rebanadas de atún congeladas y empacadas a t=15 días con: (a) Presión atm.-18°C (b) CO₂ -18°C (c) Presión atm. -10°C (d) CO₂ -10°C



Rebanadas de atún congeladas y empacadas a t=30 días con: (a) Presión atm. -18°C (b) CO₂ -18°C
(c) Presión atm. -10°C (d) CO₂ -10°C



Rebanadas de atún congeladas y empacadas a t=54 días con: (a) Presión atm. -18°C (b) CO₂ -18°C
(c) Presión atm. -10°C (d) CO₂ -10°C



Rebanadas de atún congeladas y empacadas a t=111 días con: (a) Presión atm.-18°C (b) CO₂ -18°C
(c) Presión atm. -10°C (d) CO₂ -10°C