



Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 5 (2): 114-147. Julio-Diciembre, 2014
http://www.rvcta.org
ISSN: 2218-4384 (versión en línea)
© Asociación RVCTA, 2014. RIF: J-29910863-4. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

Artículo

Estabilidad en el almacenamiento congelado de rebanadas de lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) empacadas en atmósfera modificada con CO₂

Slices' loin red tuna (*Thunnus* sp.) packed in modified atmosphere with CO₂ and their stability in frozen storage

Myrna Luisa **Medina Bracamonte**^{1*}, María Andreína **Guerra Hidalgo**², Marinela **Barreiro**¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), Facultad de Ciencias, UCV

²Departamento de Tecnología de Alimentos, Escuela de Biología, UCV

Universidad Central de Venezuela (UCV), Apartado Postal 47114, Caracas, 1041A, República Bolivariana de Venezuela.

*Autora para correspondencia: myrna.medina@ciens.ucv.ve

Aceptado 03-Febrero-2015

Resumen

La disponibilidad atún rojo fresco, entero y rebanado, como todo producto pesquero fresco está restringida para los consumidores en zonas distantes a los centros de producción por su estabilidad limitada en el almacenamiento. Por ello la industria pesquera en general, en la época de mayor producción, recurre a la congelación para conservar el excedente de producción, y al empacado para protegerlo del ambiente frío y seco del congelador, evitar su deshidratación y “quemaduras por frío”. El surgimiento del Empacado en Atmósfera Modificada como alternativa para incrementar la vida útil de productos alimenticios despertó la inquietud de evaluar la estabilidad de rebanadas de lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) fresco, congeladas y empacadas con 100 % de CO₂ durante su almacenamiento a las temperaturas convencionales para su distribución y venta, -10 y -18 °C, evaluando la estabilidad química, física, microbiológica y sensorial de las rebanadas de lomo de atún rojo durante ≈ 4 meses de almacenamiento congelado. El 50 % de las rebanadas se congeló a -10 °C (Tratamiento 1) y el 50 % restante a -18 °C (Tratamiento 2). Las rebanadas congeladas se empacaron individualmente, el 50 % en atmósfera de 100 % de CO₂ conservando la proporción 1:2 (rebanada:gas) y el 50 % restante en

atmósfera de aire. Se almacenaron a la temperatura correspondiente: Tratamiento 1 a -10 °C y Tratamiento 2 a -18 °C durante 111 días. Al final del almacenamiento el tratamiento P2 (100 % CO₂) ofreció mejor barrera a la pérdida de humedad, favoreció la estabilidad de la fracción de proteínas solubles en solución salina. Las muestras P2 tuvieron mayor aceptación sensorial, fueron las más oscuras y rojas, con menor recuento microbiológico, coincidiendo con el menor contenido en bases volátiles totales. A -10 °C la atmósfera de 100 % de CO₂ no evitó la “quemadura por frío” y los panelistas percibieron el “olor a pescado”.

Palabras claves: 100 % CO₂, almacenamiento congelado, EAM, empacado, rebanadas de lomo de atún fresco.

Abstract

The availability of fresh bluefin tuna, whole and sliced, as all fresh fish product is restricted to consumers in distant production centers for its limited stability in storage areas. Therefore, the fishing industry uses freezing to preserve the surplus production, and packaging to protect it from the cold, dry environment of the freezer, avoid dehydration and “freeze burning”. The Modified Atmosphere Packaging as an alternative to increase the shelf life of food products aroused the concern to evaluate the stability of slices’ loin red tuna (*Thunnus* sp.) fresh, frozen and packaging with 100 % CO₂ for conventional storage temperatures for storage, distribution and sale, -10 and -18 °C. Chemical, physical, microbiological and sensorial stability was evaluated for ≈ 4 months of frozen storage. Bluefin tuna loins were sliced, 50 % was frozen at -10 °C (Treatment 1) and 50 % remaining at -18 °C (Treatment 2). Fifty percent of slices were packed individually in modified atmosphere with 100 % CO₂ while retaining the ratio 1:2 (slice:100 % CO₂) and 50 % remaining at air atmosphere. They were stored at the temperature: Treatment 1 at -10 °C and Treatment 2 at -18 °C for 111 days. At the end of storage the P2 treatment offered better barrier to moisture loss, favored the stability of the soluble protein fraction. P2 samples had higher sensory acceptance, were darker and red, with lower microbiological counts, coinciding with the lowest content in total volatile bases. At -10 °C the atmosphere of 100 % CO₂ did not prevent “freeze burning” and the panelists perceived the “fishy”.

Key words: 100 % CO₂, frozen storage, MAP, packaging, slices of fresh tuna loin.

INTRODUCCIÓN

Los atunes rojos (*Thunnus* sp.) están entre los preferidos para el mercado de consumo fresco y para la elaboración de sashimi (Giménez, 2009), lomo de atún rojo crudo, plato de la gastronomía japonesa ampliamente aceptado por el consumidor venezolano, evidenciado por el incremento de restaurantes especializados en ella. Como todo producto pesquero, su disponibilidad como pescado fresco, entero y rebanado para los

consumidores en zonas distantes a los centros de producción está restringida por su estabilidad limitada en el almacenamiento. En ese sentido, Pérez-Villarreal y Pozo (1990) mencionan que dentro de la familia Scombridae el atún albacora (*Thunnus alalunga*) es el de mayor vida de anaquel; 20 días es el tiempo máximo de almacenamiento en hielo para conservar sus atributos de calidad y 30 días es el límite para ser considerado no apto para consumo. Los autores atribuyen esta estabilidad del atún albacora a su pH = 5,9 ± 0,12; porque

las bacterias deteriorativas se desarrollan mejor a pH superiores (Jay, 2000). Por ello, en general la industria pesquera en la época de mayor producción, recurre a la congelación como medio de conservación del excedente de producción, manteniendo la estabilidad microbiológica, nutritiva y sensorial, porque en condiciones normales, las temperaturas de congelación impiden el crecimiento de todos los microorganismos, aunque algunos puedan hacerlo a un ritmo extremadamente lento (Jay, 2000). El atún albacora puede ser almacenado a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 año, antes de ser procesado como conserva (atún envasado), sin merma de su calidad (Ben-gigirey *et al.*, 1999). Esto permite su transporte, manejo y comercialización a lo largo del año ampliando la oferta de productos pesqueros frescos en el mercado, y así disponer de ellos fuera de temporada controlando la oferta con respecto a la demanda (Burgess *et al.*, 1979; Parkin *et al.*, 1982; Sigurgisladottir *et al.*, 2000). Lo que resulta ventajoso para el consumidor y la industria.

En la práctica industrial y comercial, las temperaturas convencionales para el almacenamiento congelado, distribución y venta son -10 y $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. La primera se usa en la práctica doméstica para conservar el producto adquirido y que será consumido posteriormente (INF, 1990) y $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos es la temperatura a la cual se encuentran la mayoría de los congeladores a nivel comercial, para el almacenamiento, distribución y venta de los productos congelados (Frazier y Westhoff, 1993), y proporciona un margen de seguridad con respecto a los microorganismos deteriorativos y los patógenos, ya que cesa la actividad metabólica, y desde el punto de vista bioquímico reduce la actividad de muchas de las enzimas presentes, lo suficiente como para evitar un deterioro significativo (Jay, 2000).

Los atributos de calidad, sabor y textura del pescado crudo, pueden ser afectados por la duración y condiciones del almacenamiento congelado (Gallardo *et al.*, 1989; Ben-gigirey *et al.*, 1999; Tzikas *et al.*, 2009). Ambos atributos

comercialmente son importantes porque a través de ellos se evalúa la estabilidad del músculo de pescado en el almacenamiento congelado (Tzikas *et al.*, 2009).

Las proteínas de pescado en el almacenamiento congelado son muy inestables, la miosina es susceptible a desnaturalizarse, induciendo a pérdidas de propiedades funcionales como la solubilidad, entre otras, que se refleja en la alteración de la textura del músculo, acorde a observaciones e información recopilada por Namulema *et al.* (1999) y Badii y Howell (2002a); además la estabilidad en el almacenamiento congelado en las proteínas miofibrilares dependerá de la especie, así como de las condiciones del almacenamiento y de la metodología (Hastings *et al.*, 1985; Tsai *et al.*, 1989; Benjakul y Bauer, 2000; Ramírez *et al.*, 2000) y los mismos factores que conducen la desestabilización de las proteínas miofibrilares del músculo del pescado durante la congelación la favorecen durante su almacenamiento congelado (LeBlanc *et al.*, 1988), cuando se desnaturalizan, se disocian y se agregan (Chang y Regenstein, 1997; Careche *et al.*, 2002). Esto último se refleja en la disminución progresiva de la solubilidad de las proteínas en solución salina (PSSS) (Badii y Howell, 2002a; Matsumoto y Nogushi, 1992 cp Badii y Howell, 2002b), y se asocia con la dureza del músculo en las especies magras. En los atunes rojos, además, Chow *et al.* (2004) sugieren que la congelación perturba la estabilidad de la mioglobina (Mb) promoviendo simultáneamente la autooxidación y su agregación; y ello podría explicar la decoloración más rápida de la deoximio globina (DeoxyMb) en la parte interna del músculo de atún que la de la oximio globina (OxyMb) en la superficie entre los $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Hay evidencias de desnaturalización de las proteínas y de cambios en la textura en filetes de pescados almacenados por 30 semanas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Badii y Howell, 2002a). A $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, además de la desnaturalización de las proteínas hay disrupción del tejido en 24

semanas de almacenamiento congelado (Benjakul *et al.*, 2003). A $-27\text{ }^{\circ}\text{C}$ se han registrado cambios químicos significativos en filetes de pescado empacados en polietileno (PE) aunque se han conservado sus atributos sensoriales (Namulema *et al.*, 1999). La conservación de pescado congelado y almacenando adecuadamente a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ no es indefinida, hay bacterias en estado de latencia y continúan lentamente los cambios autolíticos. A $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hay disponibilidad de agua en estado líquido lo que apoya la solubilidad de las enzimas, sustratos y sales, incluyendo la conversión del óxido de trimetilamina (OTMA) a dimetilamina (DMA) y formaldehído (HCHO) (Sussman y Chin, 1966 cp LeBlanc *et al.*, 1988).

Durante la congelación y el almacenamiento congelado del músculo del pescado fresco además de la desnaturalización de las proteínas, ocurre la oxidación de los lípidos, impartiendo olores y sabores desagradables, particularmente si la superficie del pescado se deseca, además de comunicar un aspecto poco agradable (Burgess *et al.*, 1979). Ambos eventos son favorecidos por incidentes que ocurren en el músculo como la cristalización del agua disponible (entre un 75,5 y un 95 % dependiendo de la especie y de la temperatura de congelación), daño mecánico, deshidratación parcial, disminución del agua disponible para la solvatación de las proteínas, crioconcentración, modificación del pH (LeBlanc *et al.*, 1988; Vicetti-Valverde, 1994; Careche *et al.*, 1998; Foegeding *et al.*, 2000; Tejada, 2001; Orrego-Alzate, 2003). También se sabe que la actividad de las lipasas es mayor en el músculo rojo que en el blanco y, en los peces magros prevalecen los fosfolípidos, que al ser hidrolizados por la fosfolipasa, liberan los ácidos grasos, cuya oxidación es evidente durante el almacenamiento post mórtem del tejido muscular del pescado, y en caso del músculo rojo la magnitud dependerá de la concentración del hierro ferroso en la Mb endógena, que actuará como prooxidante. Las

proteínas miofibrilares inestables podrían interactuar con los ácidos grasos libres (Foegeding *et al.*, 2000) y/o con sus productos de oxidación (Careche *et al.*, 2002). Además se debe considerar que la operación de fileteado, al modificar la integridad tisular y celular, favorece la incorporación del O_2 atmosférico favoreciendo la exposición de los lípidos a la oxidación (Richards *et al.*, 1998; Undeland *et al.*, 1998), así como también con los componentes de la sangre, ambas interacciones favorecen las reacciones de oxidación en el filete más que en el pescado entero (Richards *et al.*, 1998).

Por ello, si se requiere comercialmente mayor vida útil, particularmente en el caso de los filetes de músculo de pescado se debe recurrir a tratamientos de protección adicionales, tales como el envasado al vacío, envasado en atmósfera modificada, entre otros para prevenir el desarrollo de la oxidación de lípidos y sus efectos concomitantes sobre la aceptación sensorial, cambios en las proteínas miofibrilares y las pérdidas en antioxidantes endógenos (Tzikas *et al.*, 2009). Entre las buenas prácticas disponibles para minimizar esas alteraciones durante el almacenamiento del pescado congelado destaca el empaquetado tan pronto sale del congelador, si no fue empaquetado antes. De las operaciones de empaquetado el Empaquetado en Atmósfera Modificada (EAM) se ha empleado simultáneamente con el almacenamiento en refrigeración para incrementar la vida útil del producto. El EAM logra su objetivo a través del CO_2 el cual es soluble en agua y en la fracción lipídica del músculo, y al disolverse, además de reducir la presión interna del empaque, colapsando, forma ácido carbónico, disminuye el pH del tejido muscular, altera las propiedades fisicoquímicas de las proteínas, reduciendo su capacidad de retención de agua incrementado el goteo (SFIA, 1985; Soccol y Oetterer, 2003). El CO_2 es el principal responsable del efecto bacteriostático de la atmósfera modificada (AM), efecto que ha sido demostrado en truchas (*Oncorhynchus*

mykiss) con altas concentraciones del CO₂, además disminuyen los productos de oxidación lipídica por la baja concentración de O₂ (Arashisar *et al.*, 2004). El efecto bacteriostático depende de la concentración del CO₂, de la población inicial de bacterias, de la temperatura y del producto que está siendo empacado (Reddy *et al.*, 1991 cp Soccol y Oetterer, 2003). Otros autores coinciden e incluyen el material de empaque y la relación volumen de gas/volumen del producto (Bøknæs *et al.*, 2000; 2001; Arashisar *et al.*, 2004; Sivertsvik *et al.*, 2004). La recomendación para la conservación de rebanadas de lomo de atún (*Thunnus albacares*) en refrigeración es 100 % de CO₂ (Guedes *et al.*, 2006), así como también lo recomiendan Salgado *et al.* (2006) para pargo (*Pagrus pagrus*) y Teodoro *et al.* (2007) para sardinas (*Sardinella brasiliensis*), ambos en refrigeración. Si bien el EAM se ha empleado para extender la vida útil en refrigeración de productos pesqueros, Bak *et al.* (1999 cp Soccol y Oetterer, 2003) estudiaron el efecto del EAM bajo 100 % de N₂ en camarones (*Pandalus borealis*) almacenados a -17 °C, obteniendo mejor color, menor oxidación y mayor firmeza que los almacenados en aerobiosis, y promoviendo a 9 meses la vida de anaquel.

Bøknæs *et al.* (2000) concluyeron que combinar la congelación con el EAM es una alternativa con muy buenas perspectivas, porque integra el efecto inhibitor sobre los microorganismos y sobre la producción de trimetilamina (TMA), obteniendo filetes de bacalao EAM, descongelados, de primera calidad para el comercio minorista. Sin embargo, Bøknæs *et al.* (2001) encontraron mayor pérdida significativa por goteo en los filetes de bacalao, congelados, EAM, que en los filetes empacados en atmósfera de aire. Es por ello que se propuso valorar el efecto del EAM con 100 % CO₂ sobre la vida útil de rebanadas de lomo de atún rojo (*Thunnus sp.*) congeladas, durante su almacenamiento congelado a -10 y a -18 °C. Para ello se evaluó la estabilidad

química, física, microbiológica y sensorial de las rebanadas de lomo de atún rojo una vez descongeladas durante 4 meses de almacenamiento congelado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se adquirieron 12,390 kg de lomo de atún rojo refrigerado en el Mercado de Quinta Crespo (Caracas, Venezuela), en mayo del 2012. Cada lomo medía \approx 18 cm de largo por 15 cm de ancho (Fig. 1). 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. Los lomos de atún recién adquiridos provienen de atunes frescos congelados en alta mar, en cuyo proceso de enfriamiento se ha empleado sal (Márquez-Figueroa *et al.*, 2006).

Tratamiento de los lomos de atún

En la Fig. 2 se presenta el diagrama de flujo correspondiente a las operaciones y tratamientos aplicados a los lomos de atún para la valoración del EAM con 100 % de CO₂ en el almacenamiento congelado.

Los lomos se lavaron con agua potable de la red local, previamente hervida y refrigerada a 4 °C. Se rebanaron manualmente con cuchillo previamente higienizado, obteniéndose 52 rebanadas, cuyos peso y dimensiones promedio se presentan en el Cuadro 1.

Cada rebanada se colocó en una bolsa de polietileno de baja densidad (PEBD) Ziploc® y se ubicaron separadas unas de otras en un congelador de placas (Fig. 3). Se congelaron a -10 °C y a los 25 minutos se sacaron las primeras 26 rebanadas congeladas, el resto continuó en el congelador hasta alcanzar -18 °C (33 minutos). Finalizado el proceso de congelación, cada una de las



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

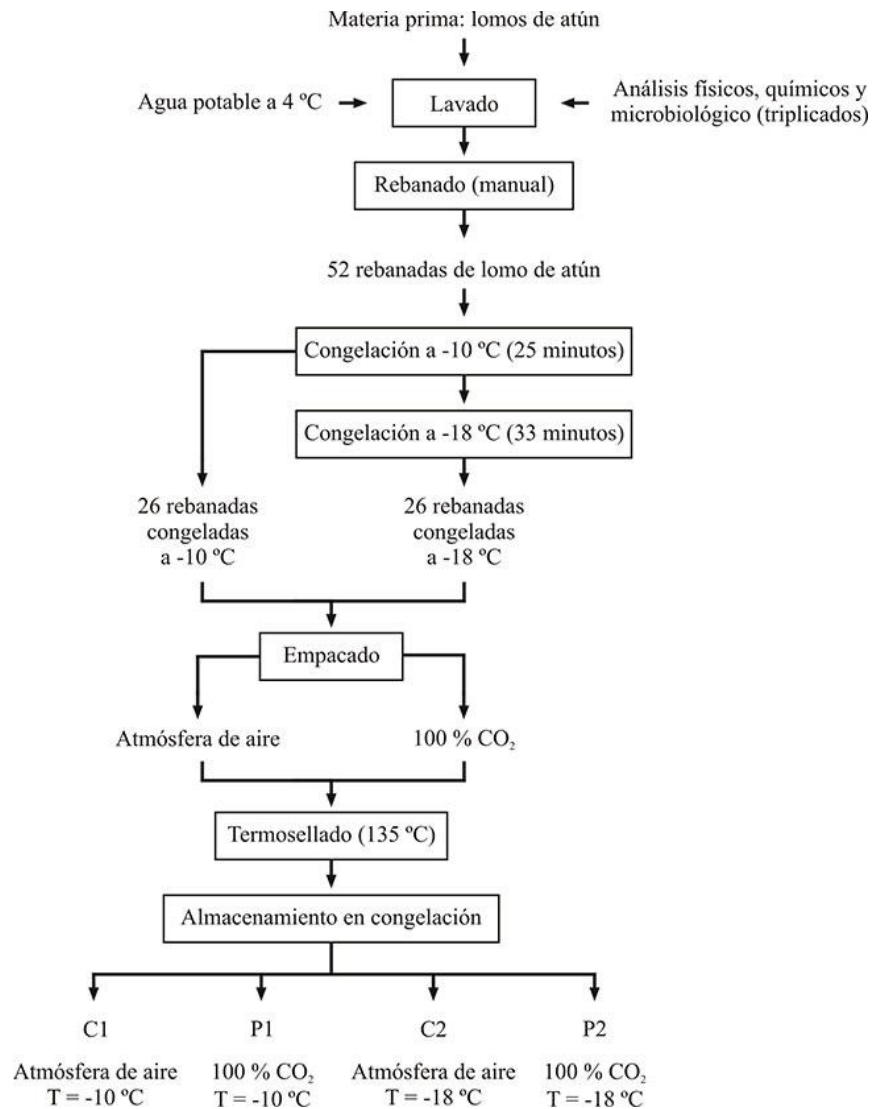


Figura 2.- Operaciones y tratamientos aplicados a los lomos de atún para evaluar el empaclado en atmósfera modificada con 100 % de CO₂ en el almacenamiento congelado.

Cuadro 1.- Peso y dimensiones promedio de las rebanadas de lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) fresco.

Dimensiones	Media \pm D. S.
Largo (cm)	12,79 \pm 1,56
Ancho (cm)	11,55 \pm 1,27
Grosor (cm)	1,50 \pm 0,05
Peso (g)	185,78 \pm 8,88

n = 52, D. S.: desviación estándar.



Figura 3.- Rebanadas de lomo de atún en bolsas de PEBD sobre las placas del congelador marca DOLE®.

rebanadas congeladas se sacó de la bolsa de PEBD y se colocó en una bandeja multilaminada de 18 cm de largo, 15 cm de ancho y 3,5 cm de alto.

Se colocaron las bandejas por par en la máquina termoselladora (Fig. 4). Veinte y seis bandejas se empacaron en atmósfera de aire (en aerobiosis: 21 % de O₂ y < 1 % de CO₂), representando el control. Las 26 bandejas

restantes se empacaron en atmósfera modificada (AM) con 100 % CO₂ (en anaerobiosis), en una proporción 2:1 (CO₂ : muestra) (Arashisar *et al.*, 2004, Özogul *et al.*, 2004, Torrieri *et al.*, 2006). La operación de termosellado se realizó a 135 °C con una película polimérica laminada. Los grupos formados fueron: Tratamiento 1 (almacenamiento a -10 °C): 13 muestras



Figura 4.- Operación de empacado de rebanadas de atún, en termoselladora MULTIVAC T200.

empacadas en atmósfera de aire (C1) y 13 muestras EAM con 100 % CO₂ (P1). Tratamiento 2 (almacenamiento a -18 °C): 13 muestras empacadas en atmósfera de aire (C2) y 13 muestras EAM con 100 % CO₂ (P2).

Material de empaque

Las bandejas multilaminadas: poliamida, etileno-vinil-alcohol y polietileno (PA/EVOH/PE); y para el termosellado a 135 °C, una película polimérica laminada: PA/PE 30/70 (SÜDPACK® Verpackungen, GmbH & Co. KG, Alemania). Las propiedades de barrera se presentan en el Cuadro 2.

El EVOH suele utilizarse en empaques para alimentos por su menor permeabilidad al O₂, favoreciendo la estabilidad del producto frente a las reacciones de degradación oxidativa. La PA aporta mejor resistencia del empaque a la perforación, estabilidad a bajas temperaturas, barrera a los gases (Alves y

Ardito, 1991) y termoformabilidad. El PE aporta la termosellabilidad.

Equipos

Congelador de placas marca DOLE®, Freze-Cel (Dole Refrigerating Company, Lewisburg, TN, USA) (Fig. 3), para el proceso de congelación de las rebanadas de lomo de atún a -10 y -18 °C. Máquina termoselladora MULTIVAC T200 (MULTIVAC Sepp Haggenmüller GmbH & Co. KG, Alemania) (Fig. 4) para la operación de termosellado a 135 °C, extracción del aire del empaque e inyección de la atmósfera de 100 % de CO₂. Un congelador marca Samsung (Samsung Group, Seúl, Corea del Sur), para el almacenamiento a -10 °C y un congelador horizontal marca General Electric (General Electric Company, Fairfield, CT, USA) para el almacenamiento a -18 °C.

Cuadro 2.- Propiedades de barrera de los materiales poliméricos integrantes del multilaminado usado como material de empaque, bandeja y película (García-Iglesias *et al.*, 2006).

Polímero	Permeabilidad en películas de 25 μm a 25 °C ($\text{cm}^3/\text{m}^2 \cdot \text{día} \cdot \text{atm}$)		Transmisión a 38 °C y 90 % H. R. ($\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{día}$)
	al O_2	al CO_2	de vapor de agua
PA	500	2000	5-13
EVOH	3 - 5	-	16-18
PEBD	7800	42000	18

PA: poliamida; EVOH: etileno-vinil-alcohol; PEBD: polietileno de baja densidad. H. R.: humedad relativa.

Determinaciones químicas, físicas, microbiológicas y evaluación sensorial de las muestras (rebanadas)

Una vez en el laboratorio se tomaron las muestras de los lomos de atún para las determinaciones químicas, físicas y microbiológicas a $t = 0$. Para las evaluaciones durante el almacenamiento en congelación se extrajo de cada uno de los congeladores 3 muestras seleccionadas al azar, para cada tiempo de evaluación y se descongelaron por inmersión en agua a temperatura ambiental, mostrando la integridad física del empaque y del termosellado durante el almacenamiento congelado. Las muestras seleccionadas, descongeladas se homogenizaron en un procesador de alimentos marca Osterizer® durante 1 minuto. Del homogenizado se tomaron 3 submuestras para cada una de las determinaciones. Los atributos físicos y químicos se evaluaron a $t = 15, 30, 54$ y 111 días de almacenamiento congelado; la evaluación sensorial a los 54 y 111 días y a los 117 días se realizó la evaluación microbiológica a las rebanadas de lomo de atún congeladas.

Determinaciones químicas

Composición proximal

Humedad: método gravimétrico indirecto N° 950.46 (AOAC, 2005). Se deshidrató la muestra (previamente homogeneizada), en una estufa marca Memmert, modelo U-40, a presión atmosférica y a 100 °C durante 4 horas, se determinó el peso y se continuó el proceso de secado a intervalos sucesivos de 1 hora con pesadas consecutivas hasta obtener peso constante. Los resultados se expresaron en porcentaje de humedad.

Proteína cruda: se aplicó el método micro-Kjeldahl, N° 940.25 (AOAC, 2005) en un digestor marca BÜCHI, modelo K-424 y un destilador BÜCHI, modelo K-314 (BÜCHI Labortechnik AG, Suiza). Factor de conversión: 6,25. Los resultados se expresaron en porcentaje de proteína cruda (base húmeda)

Grasa cruda: se siguió el método de Folch *et al.* (1957). Se empleó una relación muestra:cloroformo:metanol de 1:6:3 con agitación continua por 1 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: método gravimétrico directo N° 938.08 (AOAC, 2005). Se obtuvieron las cenizas por incineración en mufla marca

Felisa®, modelo FE-340 (Fabricantes Feligno, S. A. de C. V. México) a 500 ± 50 °C. Los resultados se expresan en porcentaje de cenizas (base húmeda).

pH

Se tomó 10 g de lomo de atún, se homogenizaron con 90 mL de agua destilada y se filtró. Se midió el pH con un potenciómetro marca OAKTON®, pH 510 Series (COVENIN, 1979).

Rancidez oxidativa (TBA, '2-thiobarbituric acid')

Se homogenizaron 10 g de muestra con 50 mL de agua destilada en un homogenizador Nissei, modelo AM-3, Ace Homogenizer (Nihonseiki Kaisha, Ltd, Japón). El homogenizado se transfirió con 50 mL de agua destilada a un balón de macro Kjeldahl de 800 mL de capacidad, se le añadió 5 mL de una solución de EDTA-propilgalato al 0,5 % y 2,5 mL de HCl (1:2). Se destiló hasta obtener 75 mL del destilado en agua destilada. Se aforó a 100 mL y se transfirió una alícuota de 5 mL del destilado diluido a un tubo con tapa rosca, se le añadió 5 mL de solución de ácido 2-tiobarbitúrico 0,02 M en ácido acético al 95 %. Se dejó en baño de maría a 80 - 90 °C por 35 minutos. Se dejó enfriar y se midió la absorbancia a 538 nm con un espectrofotómetro marca Labomed, modelo Spectro 22 RS (Labomed, Inc, Los Angeles, CA, USA). La curva de calibración para el malonaldehído se presenta en la Fig. 5. Los resultados se expresaron en mg de malonaldehído/kg de muestra (Tarladgis *et al.*, 1960 modificado por Rhee, 1978).

Bases volátiles totales (BVT)

Se homogenizaron 10 g de muestra con 250 mL de agua destilada. Se trasvasó a un balón de macro Kjeldahl de 800 mL con 2 g de

óxido de magnesio como catalizador, y se destiló durante 15 minutos. El destilado se recogió en una solución de ácido bórico al 2 % e indicador rojo de metilo-azul de metileno. Se valoró el nitrógeno básico volátil. Los resultados se expresaron en mg N/100 g de muestra (Pearson, 1976).

Proteínas solubles en solución salina (PSSS)

Se homogenizaron 8 g de lomo de atún por 1 minuto en 160 mL de solución fría de KCl 0,6 M y NaHCO₃ 0,003 M a pH 7 en un homogeneizador Nissei, modelo AM-3, Ace Homogenizer (Nihonseiki Kaisha, Ltd, Japón). El homogeneizado se centrifugó en frío a 5000 rpm por 20 minutos en una centrífuga automática Sorvall Superspeed, modelo RC2-B (Ivan Sorvall, Inc., Newtown, CT, USA) (Montecchia *et al.*, 1997). Se cuantificó la fracción de PSSS en el sobrenadante por el método de Bradford (1976). Los resultados se expresaron en porcentaje de proteína cruda. Factor de conversión: 6,25.

Determinaciones físicas

Coordenadas colorimétricas

Se recurrió al espacio de color Hunter. Coordenadas rectangulares: L (luminosidad, 0 negro y 100 blanco), a (- verde, + rojo) y b (- azul, + amarillo). Se hizo la medición en cubos de aproximadamente 4 cm de arista (6 réplicas), con un colorímetro Macbeth®, modelo Color Eye® 2445 (Kollmorgen Instruments Corp., USA), calibrado con una placa de referencia blanca y una color negro (sin identificación). Las condiciones CIE fueron: iluminante D₆₅ y observador 10°.

Análisis microbiológico

Se evaluaron acorde a los métodos de la APHA (2001) los siguientes indicadores microbiológicos:

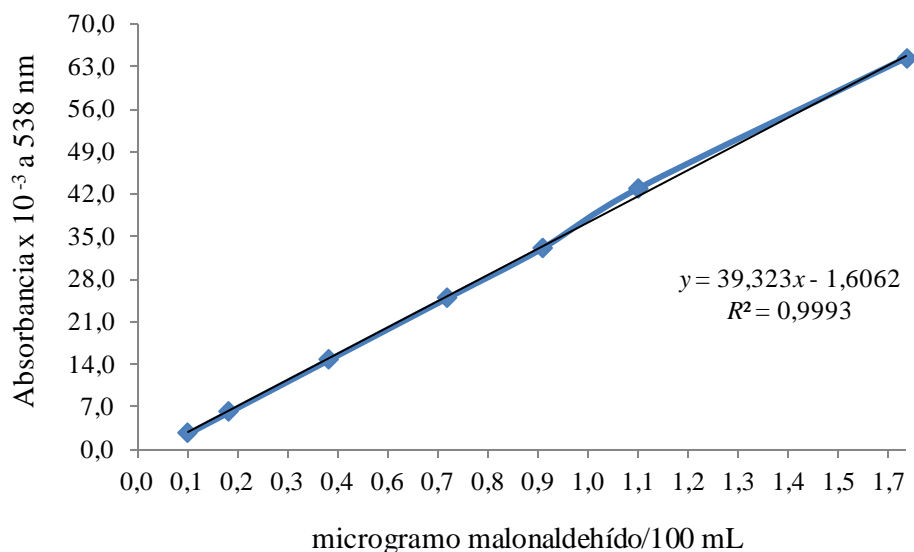


Figura 5.- Curva de calibración para el malonaldehído.

Aerobios mesófilos y psicrófilos. Coliformes totales y fecales

Se homogenizaron 10 g de lomo de atún con 90 mL de agua peptonada al 0,1 %, y de allí se realizaron 6 diluciones seriadas. Por cada dilución se inocularon 2 placas de Petrifilm™ (3M™, Minnesota, USA) para recuento aeróbico y 2 placas de Petrifilm™ (3M™, USA) para recuento de coliformes, cada una con 1,0 mL en el centro de la placa. Se presionó suave sobre la lámina difusora correspondiente a cada placa para distribuir el inóculo hasta que alcanzó el borde de la misma. Una placa para recuento aeróbico se incubó por 24 - 48 horas a 35 - 37 °C (aerobios mesófilos), la otra por 7 a 10 días a 4 °C (aerobios psicrófilos); y las placas para recuento de coliformes por 24 - 48 horas a 35 - 37 °C. Si hubo presencia de una burbuja de gas en la colonia, la identificación fue positiva para coliformes fecales. A los 117 días se realizó la evaluación microbiológica y los resultados se expresaron como UFC/g de muestra.

Evaluación sensorial

Se evaluó la preferencia de los panelistas con respecto a los atributos: color, olor y apariencia, a los 54 y 111 días de almacenamiento congelado de las rebanadas de lomo de atún rojo, a través de una escala hedónica de 9 puntos en forma creciente de aceptación (1 ‘me disgusta extremadamente’ y 9 ‘me gusta extremadamente’). Para ello, se descongelaron las muestras (seleccionadas al azar) a temperatura ambiental, se cortaron en cubos de aproximadamente 1 cm de arista y se presentaron a un panel de 13 y 11 personas, respectivamente, que consumían pescado regularmente.

Análisis estadístico de los datos

Se determinó la media y desviación estándar de los datos obtenidos, y se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un nivel de significancia de 5 % como prueba de hipótesis de comparación de medias para determinar si hubo o no diferencias significativas ($p < 0,05$ o $p > 0,05$) entre los 2 tratamientos. C1: control 1, congelado a -10 °C

y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂). P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂). C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂). P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂). La variable independiente, el tiempo de almacenamiento, y las variables dependientes P1 y P2, con sus respectivos controles C1 y C2. Se empleó el programa Statistica, versión 8.0 (StatSoft®, Inc., Tulsa, OK, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químicos

Composición proximal

En el Cuadro 3 se presenta la composición proximal de los lomos de atún recién adquiridos. Se caracterizaron por un contenido de humedad de 74,53 %. Peng *et al.* (2013) obtuvieron valores de 73,57 y 72,89 % para *T. albacares* y *Thunnus obesus*, respectivamente.

En el Cuadro 4 se muestran los valores porcentuales de humedad de las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C, y para apreciar el comportamiento en el tiempo la Fig. 6. El valor de humedad descendió para todos los tratamientos a los 15 días de almacenamiento congelado y no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los tratamientos. La disminución de la humedad cuantificada en las rebanadas de lomo de atún rojo es la consecuencia de la pérdida de la capacidad de retención de agua de las proteínas, por el daño mecánico causado al tejido muscular durante la operación de rebanado y la sublimación del agua solidificada en los cristales de hielo formados durante el proceso de congelación, los cuales serán más grades a -10 que a -18 °C como consecuencia de la menor velocidad del proceso de congelación. Por ello a los 15 días de

almacenamiento, las muestras con menor contenido de humedad fueron las congeladas y almacenadas a -10 °C, coincidiendo con los resultados de LeBlanc *et al.* (1988), quienes encontraron la mayor pérdida de humedad en filetes de bacalao congelados a -40 °C a los 20 días de almacenamiento a -30, -22, -15 y -12 °C; y con los de Sussman y Chin (1966 cp LeBlanc *et al.*, 1988) y Badii y Howell (2002b). Durante el proceso de congelación del músculo del pescado fresco se favorece, al igual que en el almacenamiento congelado, la desnaturalización de las proteínas y la oxidación lipídica (Burgess *et al.*, 1979). Ambos eventos son favorecidos por la cristalización del agua disponible, el daño mecánico en el tejido por la operación de rebanado del lomo, deshidratación parcial, disminución del agua disponible para la solvatación de las proteínas, crioconcentración, modificación del pH (LeBlanc *et al.*, 1988; Vicetti-Valverde, 1994; Careche *et al.*, 1998; Foegeding *et al.*, 2000; Tejada, 2001; Orrego-Alzate, 2003), hidrólisis de los triacilglicéridos y fosfoglicéridos por las lipasas y fosfolipasas, cuya actividad es mayor en el músculo rojo que en el blanco.

Entre los 15 y los 111 días el contenido de humedad osciló entre ≈ 70 y ≈ 72 % (Cuadro 4 y Fig. 6). A los 111 días no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los tratamientos. No obstante, el tratamiento con menor pérdida de humedad y mayor estabilidad de la misma durante el almacenamiento congelado fue P2. Durante el almacenamiento congelado continuarán sucediendo eventos que favorecen la desnaturalización de las proteínas y la oxidación de los lípidos tales como: deshidratación, disminución del agua disponible para la solvatación de las proteínas, crioconcentración, modificación del pH (LeBlanc *et al.*, 1988; Vicetti-Valverde, 1994; Careche *et al.*, 1998; Foegeding *et al.*, 2000; Tejada, 2001; Orrego-Alzate, 2003), hidrólisis de los triacilglicéridos y fosfoglicéridos por las lipasas y fosfolipasas, cuya actividad es mayor

Cuadro 3.- Composición proximal del lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) adquirido.

Parámetros	Porcentaje promedio (%) \pm D. S.	
	Base húmeda	Base seca
Humedad	74,53 \pm 0,02	-
Proteína cruda	22,51 \pm 0,32	88,38
Grasa cruda	1,23 \pm 0,25	4,83
Cenizas	1,50 \pm 0,03	5,89
Total	99,77	99,10

$n = 3$, D. S.: desviación estándar.

Cuadro 4.- Porcentaje de humedad en el lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

Tratamiento	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.

C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

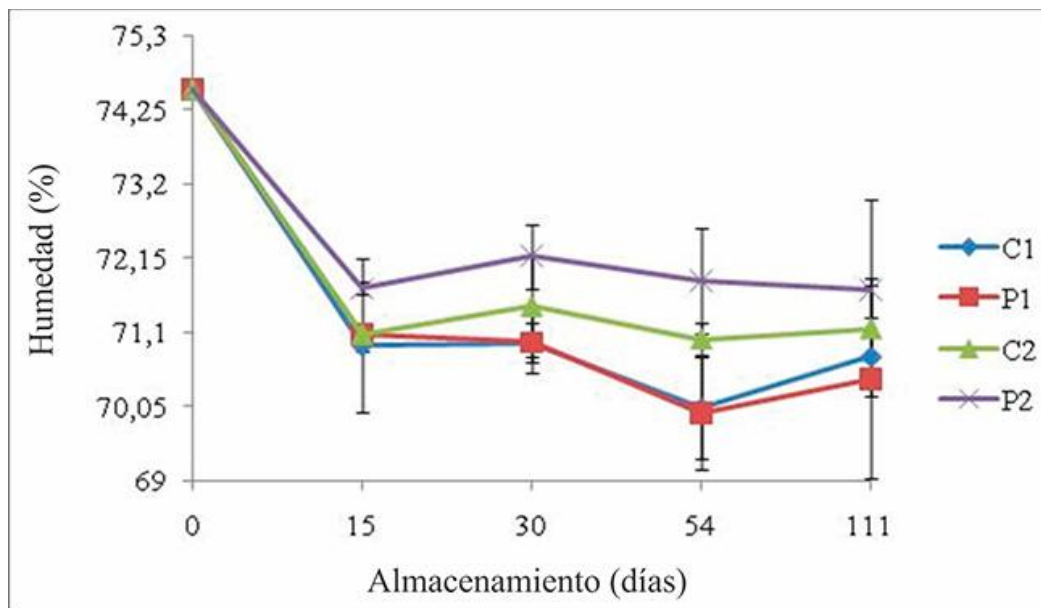
C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

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

en el músculo rojo que en el blanco, y el agua libre aún disponible a ambas temperaturas de almacenamiento congelado apoya la solubilidad de las enzimas y sus sustratos (Sussman y Chin, 1966 cp LeBlanc *et al.*, 1988), así como la de los gases presentes en la atmósfera del empaque. En las condiciones aeróbicas el O₂ difundirá y se disolverá en la fracción de agua libre disponible en las rebanadas de lomo de atún y favorecerá eventos como la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y la

oxigenación de la mioglobina (oximioglobina). Ambos eventos ocurrirán más rápidamente a -10 °C que -18 °C, además, De Berardinis *et al.* (2012) citan que el tejido muscular del atún es susceptible a la autooxidación, frente al corte y a la congelación, oxidándose el Fe⁺⁺ a Fe⁺⁺⁺, formando metamioglobina (Mb-Fe⁺⁺⁺ - H₂O) (MetaMb) de color marrón y la cual es más susceptible a la desnaturalización que las otras formas de Mb (Ueki *et al.*, 2005) y al desnaturalizase, el hierro, factor prooxidante



C1: control 1, congelado a -10°C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O_2 y < 1 % de CO_2).
 P1: proceso 1, congelado a -10°C y empacado en AM (100 % CO_2).
 C2: control 2, congelado a -18°C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O_2 y < 1 % de CO_2).
 P2: proceso 2, congelado a -18°C y empacado en AM (100 % CO_2).
 Las barras indican la desviación estándar.

Figura 6.- Pérdida de humedad en las rebanadas de lomo de atún rojo (*Thunnus sp.*) empacadas durante el almacenamiento congelado.

de los ácidos grasos queda expuesto. Al desnaturalizarse las proteínas disminuye su capacidad de retención de agua. Estos eventos suceden más rápidamente a -10°C que a -18°C , por lo cual la pérdida de humedad será mayor a -10°C que a -18°C . En atmósfera anaeróbica (100 % CO_2), no hay O_2 , por lo cual no son favorecidas las reacciones de oxidación, pero el CO_2 , al igual que el O_2 , difundirá y se disolverá en la fracción de agua líquida aún disponible en el tejido muscular, formando ácido carbónico (H_2CO_3), el cual posteriormente se disociará en los iones correspondientes $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$, lo que incidirá en la disminución del pH y favorecerá la competencia por el agua de solvatación de las proteínas. Las velocidades de difusión, disolución del gas, formación del ácido carbónico y su disociación serán más rápidas a -10°C que a -18°C . Si bien no hubo diferencia significativa a los 111 días de almacenamiento,

a -10°C y en aerobiosis, la presencia del ácido carbónico y/o de sus iones inciden más sobre la desnaturalización de las proteínas y la pérdida de su capacidad de retención de agua, que las reacciones oxidativas. Mientras que a -18°C el resultado es lo opuesto, las velocidades de difusión y disolución del CO_2 son más lentas y más lenta la formación del ácido carbónico y su disociación por lo cual se conserva en el tiempo la capacidad de retención de agua de las proteínas. En aerobiosis la incorporación del O_2 a la fracción de agua disponible ocurrirá más lentamente que a -10°C y de allí su mayor capacidad de retención de agua. Lauzon *et al.* (2010) refieren que en el almacenamiento a 0°C hay mayor pérdida de peso con 100 % de CO_2 (entre 9 y 15 %) que con 75 % (de 3 a 5 %), y ninguna con 50 % en filetes de peces gadiformes empacados al detal. A 0°C el CO_2 se disuelve fácilmente por lo cual a esa

temperatura y altas concentraciones del gas hay mayor concentración de protones, mayor reducción del pH en el músculo del pescado y mayor competencia por el agua de solvatación de las proteínas disminuyendo su capacidad de retención de agua, incrementado el goteo (SFIA, 1985; Soccol y Oetterer, 2003).

Los lomos se caracterizaron por un contenido de proteína del 22,51 % (base húmeda) (Cuadro 3). Zaboutkas *et al.* (2006) tabularon para especies de la familia Scombridae de músculo rojo, valores de proteína (base húmeda) de 24,7 y 22,1 % para *T. alalunga* y 20,3 % para *T. thynnus*. Estess *et al.* (2014) un valor de 22,4 % para *Thunnus orientalis*. La fracción proteica es estable, sin embargo Pérez-Villarreal y Pozo (1990) destacan que puede haber diferencias de 5 % o menos con la estación del año y el tamaño del individuo. El porcentaje de lípidos en este trabajo fue 1,23 % (base húmeda). La fracción lipídica muestra mayor variación y puede ser contradictoria en valores según el tipo de músculo. Zaboutkas *et al.* (2006) tabularon valores porcentuales (base húmeda) de grasa de 2,3 en músculo rojo y 1,5 en músculo blanco y también de 7,6 en músculo rojo y 8,5 en músculo blanco para una misma especie (*T. alalunga*); además, valores de 1,7 en músculo rojo y 0,6 en músculo blanco para (*T. thynnus orientalis*). Pérez-Villarreal y Pozo (1990) mencionan que la relación es inversa entre los contenidos de lípidos y de humedad en el atún albacora, relación que se observó también entre los datos obtenidos en esta experiencia en el lomo de atún rojo y los informados por De Berardinis *et al.* (2012). Nakamura *et al.* (2007) citan que el contenido de lípidos en los músculos dorsales del atún difiere entre las especies, desde 0,5 % en los atunes “aleta amarilla” (*T. albacares*) silvestre y en el “ojo grande” (*T. obesus*), hasta 1,88 % en el atún barrilete (*Katsuwonus pelamis*) silvestre. Estess *et al.* (2014) publicaron valores porcentuales de grasa en músculo rojo de *T. orientalis* de 2,6; en dorsal blanco 1,4 y en ventral blanco 3,2. Si

bien el contenido de lípidos es relativamente bajo y debería favorecer la estabilidad del músculo en el almacenamiento, en los lípidos de origen marino predominan los ácidos grasos poliinsaturados, ya de por sí inestables por el número de insaturaciones en una sola molécula; y en el atún, pez migratorio, el contenido del ácido docosahexanoico (DHA, C22:6 ω -3) es mayor que en las especies no migratorias, característica general que no es afectada por la madurez del individuo, pero sí por la estación y la especie del pescado (Nakamura *et al.*, 2007). El sexo y los diferentes estados de madurez sexual influyen en la composición bioquímica de productos pesqueros (Zaboutkas *et al.*, 2006) y en el atún el estado silvestre y el cultivado está relacionado con el contenido de lípidos, atributo deseable para el sushi (Popovic *et al.*, 2012).

pH

El pH del lomo de atún rojo, fresco, evaluado en esta experiencia fue de 5,12 (Cuadro 5), menor a lo informado por Guedes *et al.* (2006) (5,60) y por Huss (1999) y Ruiz-Capillas y Moral (2005) (5,4). De Berardinis *et al.* (2012) informan 6,02 en lomo de atún rojo. Ben-gigirey *et al.* (1999) sostienen que el pH entre 5,7 y 5,9 es característico del atún albacora con alto grado de frescura; López-Gálvez *et al.* (1995) ha encontrado 5,8 en atún “ojo grande” (*T. obesus*), valor que indica buena calidad y según Márquez-Figueroa *et al.* (2006) denota que el pescado recibió una manipulación aceptable a bordo. El pH en el músculo del pescado inmediatamente después de muerto es \approx 7,4 pero el ácido láctico, producto de la glucólisis anaeróbica, lo reduce a 6,3 - 6,1 y puede alcanzar valores de 5,7 a 5,4 (Tsai *et al.*, 1989). Su cuantificación es importante porque sus variaciones pueden incidir en la estabilidad de las proteínas miofibrilares, y por ello está relacionado con el nivel de deterioro del músculo. Un músculo blando es el resultado de variaciones en el pH

Cuadro 5.- pH en el lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

Tratamiento	Almacenamiento (días)				
	0	15	30	54	111
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
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 \pm desviación estándar.

C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

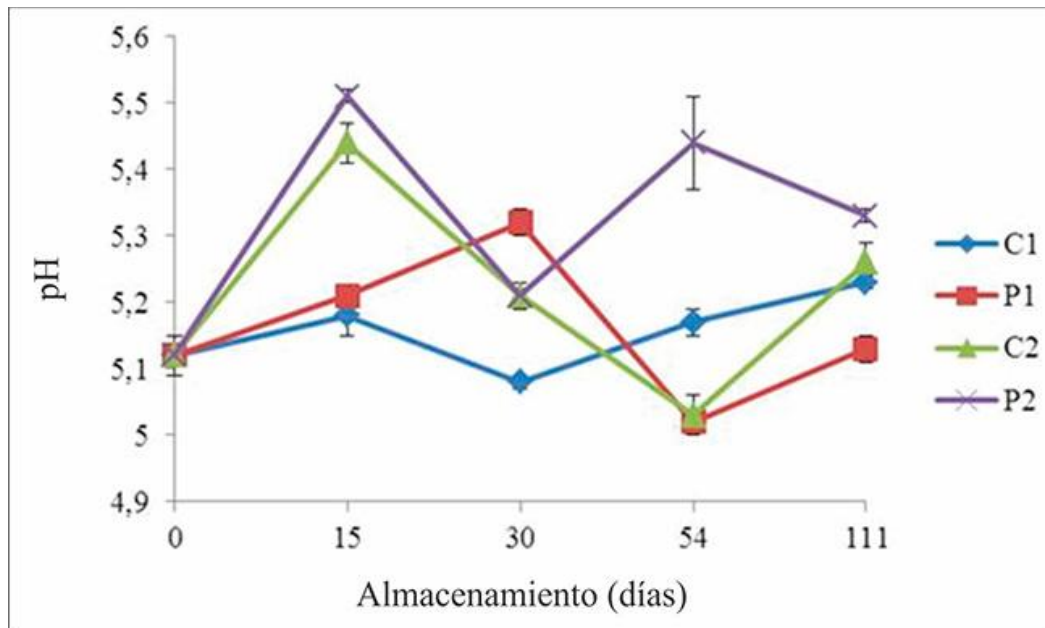
Superíndices con letras diferentes en una misma columna implica diferencias significativas ($p < 0,05$).

(Ayala-Galdós, 1994). El punto isoleléctrico de las proteínas miofibrilares se ubica entre 4,5 y 5,5; intervalo en el cual su solubilidad es menor (Huss, 1999), sin embargo, en el valor del pH inciden la especie de pescado, la técnica de captura y el tratamiento del pescado tras la misma (Ludorff y Meyer, 1978).

Durante el almacenamiento congelado de las rebanadas de lomo de atún rojo, si bien hubo fluctuaciones en el pH, estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las temperaturas a partir de los 15 días; a -10 °C hubo diferencia entre la presencia o no del 100 % de CO₂ a partir de los 30 días y a -18 °C la diferencia se manifestó antes, a los 15 días. Sin embargo, el pH se mantuvo en un intervalo estrecho, independientemente de la temperatura y de la presencia o no de 100 % CO₂ (Fig. 7). A -10 °C en las muestras empacadas en aerobiosis (C1) el pH incrementó de 5,12 a 5,23 con menos fluctuaciones, mientras que en presencia de 100 % CO₂ (P1) el aumento fue lineal hasta los 30 días, luego descendió a los 54 días por debajo del valor inicial y a los 111 días de almacenamiento congelado alcanzó un valor similar al inicial (5,13). A -18 °C las fluctuaciones fueron más pronunciadas

independientemente de la presencia o no de 100 % CO₂ y a los 111 días de almacenamiento el pH fue cercano entre ambos tratamientos con diferencia significativa ($p < 0,05$) entre ellos y ligeramente mayor al valor inicial. Si bien la congelación inhibe y reduce la población microbiana (Bøknæs *et al.*, 2000) responsable de la producción de compuestos alcalinos, durante el almacenamiento se observó (independientemente de la temperatura de almacenamiento) la tendencia del pH a aumentar, como también, a disminuir en las muestras empacadas en atmósfera con 100 % de CO₂.

El aumento del pH durante el almacenamiento es atribuido a la acumulación de compuestos básicos, como amonio y trimetilamina, producto de la actividad bacteriana en el tejido muscular (Villemure *et al.*, 1986; Ruiz-Capillas y Moral, 2005). El descenso del pH probablemente sea por la lenta formación del ácido carbónico y su posterior ionización, en la fracción acuosa y lipídica del tejido muscular (Banks *et al.*, 1980). La lenta difusión y disolución del CO₂ a las temperaturas de congelación y la lenta formación de ácido carbónico en el 20 % del



C1: control 1, congelado a -10°C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O_2 y $< 1\%$ de CO_2).

P1: proceso 1, congelado a -10°C y empacado en AM (100 % CO_2).

C2: control 2, congelado a -18°C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O_2 y $< 1\%$ de CO_2).

P2: proceso 2, congelado a -18°C y empacado en AM (100 % CO_2).

Las barras indican la desviación estándar.

Figura 7.- pH en el lomo de atún rojo (*Thunnus sp.*) fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18°C .

agua aún libre en el tejido muscular a esas temperaturas (Burgess *et al.*, 1979), explicaría las fluctuaciones en el pH más pronunciadas a -18°C que a -10°C y, que de todos los tratamientos, el empacado con 100 % de CO_2 y almacenado a -10°C (P1) fue el que logró mantener el pH aproximadamente igual al inicial.

Rancidez oxidativa (TBA, '2-thiobarbituric acid')

El contenido de malonaldehído, indicador de rancidez, en el lomo de atún fresco fue de 0,30 mg/kg (Cuadro 6). Bjerkeng y Johnsen (1995) encontraron 0,26 mg/kg de filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), Iriarte-Rota y Romero González (2006) 0,27 mg/kg en filetes de pez volador

(*Dactylopterus volitans*) congelado a -40°C después de 6 días de almacenamiento a -18°C , Suárez-Mahecha *et al.* (2009) 0,32 mg/kg en filetes de cachama (*Piaractus brachipomus*), De Berardinis *et al.* (2012) 0,13 mg/kg en el lomo de atún rojo, Ben-gigirey *et al.* (1999) 2,38 mg/kg en el atún albacora recién capturado y mencionan que es característico de los pescados ligeramente rancios pero con calidad visual aceptable.

Durante el almacenamiento se observó, que independientemente de la temperatura y de la presencia o no de 100 % CO_2 en la atmósfera del empaque, el contenido de malonaldehído aumentó progresivamente y a los 30 días a -18°C e independientemente de la presencia o no de CO_2 alcanzó 8 mg/kg, valor límite aceptado para consumo, el cual fue superado por las muestras almacenadas a -10°C . Cinco mg/kg es

Cuadro 6.- Rancidez oxidativa (mg malonaldehído/kg) en el lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

Tratamiento	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.

C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

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

sugerido como índice de buena calidad en los pescados congelados, refrigerados o almacenados en el hielo (Mbarki *et al.*, 2009; Suárez-Mahecha *et al.*, 2009). En las condiciones de trabajo descritas durante esta experiencia, la vida útil de las rebanadas de atún rojo fue de 30 días o un mes a -18 y de 15 días a -10 °C, independientemente de la presencia o no de 100 % CO₂ y usando como indicador de estabilidad la producción de malonaldehído.

El incremento del malonaldehído fue continuo, hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las temperaturas de almacenamiento a partir de los 54 días (7,7 semanas) y entre la presencia o no de 100 % CO₂ a -10 °C, y a -18 °C a los 111 días. En los primeros 54 días de almacenamiento, para todos los tratamientos, la producción del malonaldehído fue mayor que en los 57 días siguientes y la tendencia fue a estabilizarse hasta los 111 días (≈ 16 semanas). A los 111 días (3,7 meses) de almacenamiento congelado los valores de malonaldehído estaban entre 25,68 mg/kg (-18 °C y aire) y 37,25 mg/kg (-10 °C y aire). En condiciones aeróbicas el menor contenido de malonaldehído se encontró a -18 °C y en presencia de 100 %

de CO₂ el menor contenido de malonaldehído también se encontró a -18 °C. Ben-gigirey *et al.* (1999) informaron en atún albacora congelado completo e individualmente a -40 °C, luego de haberlo glaseado con agua fría y almacenado a -18 °C, el contenido de malonaldehído fue $\approx 2,5$ mg/kg a los 4 meses y al año 4,5 mg/kg; aproximadamente 10 veces menos de lo cuantificado en esta experiencia. Dentro de los elementos que favorecen la mayor producción de malonaldehído en el almacenamiento congelado destacan: la actividad de las lipasas es mayor en el músculo rojo que en el blanco; la alta concentración de Mb en el atún rojo, susceptible a la autooxidación, frente al corte y a la congelación formando MetaMb propensa a la desnaturalización exponiendo al medio el Fe⁺⁺⁺, elemento prooxidante de los ácidos grasos; así como la operación de corte que facilita mayor contacto con los componentes de la sangre (Richards *et al.*, 1998) favoreciendo la oxidación lipídica, las proteínas miofibrilares inestables podrían interactuar con los ácidos grasos libres (Foegeding *et al.*, 2000) y/o con sus productos de oxidación (Careche *et al.*, 2002). Por otra parte el método de TBA no es específico para el malonaldehído y el complejo

de color puede darse por la interacción con otros compuestos como proteínas, aminoácidos, y ácidos nucleicos, sobreestimándose el contenido de malonaldehído (Karlsdottir *et al.*, 2014). En cuanto al glaseado Josephson *et al.* (1985) concluyeron que protege al pescado blanco congelado a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ de la oxidación durante su almacenamiento a la misma temperatura; mientras Mena *et al.* (2010) encontraron incrementos significativos a los 15 y 30 días de almacenamiento a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el TBA en secciones de lomo de atún rojo (*T. thynnus*) glaseado con y sin hidrocoloides. Evidentemente la velocidad de difusión del O_2 a la temperatura de almacenamiento es importante para controlar la oxidación, aún en productos glaseados. El comportamiento de la producción de malonaldehído en esta experiencia coincidió con Namulema *et al.* (1999) quienes encontraron que los valores de TBA aumentaron hasta la octava semana para las muestras de filetes de perca del Nilo (*Lates niloticus*) almacenadas a -13 y $-27\text{ }^{\circ}\text{C}$, sin embargo fueron muy bajos ($< 0,4\text{ mg/kg}$) a ambas temperaturas, y señalan que esto no necesariamente refleja que las temperaturas de almacenamiento evaluadas controlen la oxidación lipídica, porque el bajo contenido de malonaldehído puede ser el resultado de su consumo en otras reacciones químicas. Benjakul *et al.* (2005) encontraron que la oxidación lipídica en varias especies de pescados, completos, aumentó con el tiempo de almacenamiento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la velocidad del incremento dependió de la especie, siendo el contenido de malonaldehído $< 4\text{ mg/kg}$ para todas las especies excepto corvina que alcanzó los 4 mg/kg a partir de las 15 semanas de almacenamiento. En esta experiencia el menor contenido de malonaldehído siempre estuvo en las muestras almacenadas a temperatura más baja ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$), coincidiendo con Namulema *et al.* (1999) quienes hallaron menor contenido de malonaldehído a -27 que a $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$, concluyendo que la temperatura de almacenamiento de $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ no es adecuada para prevenir la lipólisis. A

menor temperatura de almacenamiento congelado del pescado, mayor estabilidad lipídica frente a la oxidación evaluada por la producción de malonaldehído.

Bjerkeng y Johnsen (1995) concluyeron que materiales de empaque con buenas propiedades de barrera al O_2 inhiben el desarrollo de la rancidez en filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) almacenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. De Berardinis *et al.* (2012) encontraron que el empacado al vacío de las rebanadas de lomo de atún fresco y su posterior congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ protegió aún más de la rancidez oxidativa en los 90 días de almacenamiento congelado a la misma temperatura, pero la atmósfera anaeróbica generada por el 100 % de CO_2 no protegió las rebanadas de lomo de atún de la rancidez, por tanto, para evitar la rancidez oxidativa se requiere algo más que la ausencia del O_2 en la atmósfera del empaque y la temperatura de congelación y probablemente sea la estabilidad en el pH durante el almacenamiento; la atmósfera 100 % de CO_2 a temperatura de congelación favorece la fluctuaciones del pH y tiende a mantenerlo inferior a 5,5. A los 111 días de almacenamiento a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\text{pH} \approx 5,13$) el contenido de malonaldehído fue ligeramente inferior al cuantificado en presencia de O_2 , y a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\text{pH} \approx 5,33$) el contenido fue ligeramente mayor que en presencia de O_2 , mientras que De Berardinis *et al.* (2012) informan que el pH en las rebanadas empacadas al vacío se mantuvo en $\approx 6,0$ durante los 90 días de almacenamiento congelado.

Bases volátiles totales (BVT)

Los lomos de atún recién adquiridos se caracterizaron por contener $23,08\text{ mg N/100 g}$ de muestra (Cuadro 7). La calidad de un pescado crudo o congelado es satisfactoria si el contenido de BVT $< 30\text{ mg N/100 g}$ (Pantaleon, 1969 cp Ben-gigirey *et al.*, 1999; Márquez-Figueroa *et al.*, 2006). Otros valores señalados

Cuadro 7.- Bases volátiles totales (mg N/100 g) en el lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

Tratamiento	Almacenamiento (días)				
	0	15	30	54	111
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}
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.

C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

Superíndices con letras diferentes en una misma columna implica diferencias significativas (*p* < 0,05).

en especies de atún fresco: 29,3 mg N/100 g (Pérez-Villarreal y Pozo, 1990); 22,89 mg N/100 g (Ben-gigirey *et al.*, 1999); 24,47 mg N/100 g (Márquez-Figueroa *et al.*, 2006) y 21,85 mg N/100 g (De Berardinis *et al.*, 2012), coincidiendo con los resultados obtenidos durante esta experiencia a los 111 días de almacenamiento congelado (3,7 meses) (≈ 29 mg N/100 g de muestra). Independientemente de la temperatura, la calidad fue satisfactoria y el menor contenido de BVT siempre fue en las muestras EAM con 100 % de CO₂. Si bien hubo un incremento lineal y significativo (*p* < 0,05) de las BVT independientemente de la temperatura y de la presencia o no del CO₂, fue más lento en EAM para ambas temperaturas. Esta producción de BVT explicaría los aumentos en el pH durante el almacenamiento. La congelación inhibe la actividad bacteriana (Ben-gigirey *et al.*, 1999) responsable de la reducción del OTMA a TMA, y el EAM (50 % CO₂/10 % O₂) de productos pesqueros de origen marino puede inhibir el crecimiento y la actividad reductora del OTMA de *Shewanella putrefaciens* a temperaturas de refrigeración, mientras que concentraciones de CO₂ ≥ al 50 % parece ser, inhibe completamente el

crecimiento de esta bacteria en refrigeración (Boskou y Debevere, 1997). Las BVT no deberían incrementar durante el almacenamiento congelado (Moral-Rama, 1987 cp Ben-gigirey *et al.*, 1999), sin embargo, fue lo observado en esta experiencia y hay información de aumentos pequeños de TMA en filetes de bacalao (*Gadus morhua*) a -12 °C (LeBlanc *et al.*, 1988); de DMA, TMA y formaldehído durante 6 y 3 meses del almacenamiento congelado a -18 y a -25 °C, respectivamente en bloques de merluza roja (*Urophycis chuss*) (Kelleher *et al.*, 1982). Kelleher *et al.* (1982) desconocen si esa conversión del OTMA a TMA fue enzimática o de origen microbiano y si sucedió antes del proceso de congelación. Sin embargo, la congelación y la desorganización del tejido muscular aceleran la velocidad de descomposición enzimática del OTMA en DMA y formaldehído (Foegeding *et al.*, 2000), por lo cual esa podría ser la causa del incremento de las BVT durante el almacenamiento congelado.

Proteínas solubles en solución salina (PSSS)

El porcentaje de PSSS fue de 2,58 en lomo de atún rojo recién adquirido (Cuadro 8). Mena *et al.* (2010) y De Berardinis *et al.* (2012) informan 6,99 y 9,87 % respectivamente también en lomo de atún rojo. En general se observó que la solubilidad de la fracción de PSSS se incrementó hasta los 30 días de almacenamiento congelado y a partir de allí descendió hasta los 111 días (Fig. 8). Ruiz-Capillas *et al.* (2002) citan que ese comportamiento de la solubilidad de la fracción de PSSS (un incremento al inicio y una caída *a posteriori*), descrito por ellos en el calamar “volador” (*Illex coindetii*), no ha sido informado en pescado pero, citan a Montero *et al.* (1996) quienes lo observaron en músculo de sardina almacenado en congelación. Ruiz-Capillas *et al.* (2002) justifican la alta solubilidad de las proteínas en el calamar “volador”, sin eviscerar, por la actividad enzimática, y concluyeron que la alta solubilidad de las proteínas y la alta capacidad emulsificante indican baja agregación de las proteínas. El incremento en la solubilidad en los primeros tiempos del almacenamiento en congelación es atribuido a la desnaturalización de la fracción proteica por la pérdida de resistencia en los enlaces entre las fibras proteicas del músculo (Zayas, 1997 cp Sankar, 2009) o como consecuencia de la formación de cristales de hielo en las primeras etapas del almacenamiento congelado, cuando se redistribuyen los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrófobas (Ruiz-Capillas *et al.*, 2002). En la literatura consultada no se describe un incremento de la solubilidad de la fracción de PSSS en el primer mes del almacenamiento en congelación del músculo de varias especies de pescado incluyendo el lomo de atún rojo.

En las rebanadas de lomo de atún rojo EAM con 100 % de CO₂ y almacenadas a -18 °C (P2) se mantuvo ligeramente estable la solubilidad de la fracción de proteína por 15 días con respecto a los otros tratamientos. Luego aumentó significativamente ($p < 0,05$) a los 30 días de almacenamiento, y descendió

lentamente con respecto a los otros tratamientos y no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) (Cuadro 8 y Fig. 8). La desnaturalización previa y la agregación progresiva de las proteínas en el almacenamiento congelado fueron más lentas en las muestras EAM con 100 % de CO₂ y almacenadas a -18 °C (P2) que en los otros tratamientos y hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) con el control correspondiente (C2) y las muestras almacenadas a -10 °C, temperatura a la cual no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) entre las muestras EAM con 100 % de CO₂ y su control C1 (presencia de O₂). Por lo cual el evento que favoreció la solubilidad de la fracción de proteínas en el almacenamiento congelado se vio disminuido por la presencia del CO₂ a -18 °C.

La agregación de la fracción de PSSS, incluyendo las miofibrilares, sucede en el músculo de pescado congelado durante su almacenamiento en congelación y se evidencia por un descenso exponencial en la solubilidad de la fracción de PSSS (Suvanich *et al.*, 2000; Ruiz-Capillas *et al.*, 2002; Matsumoto y Nogushi, 1992 cp Badii y Howell, 2002b; Mena *et al.*, 2010). Es favorecida a temperaturas altas de congelación (Namulema *et al.*, 1999). Gill *et al.* (1979), Jiang *et al.* (1988), Reddy y Srikar (1991), Srikar y Reddy (1991), Huidobro *et al.* (1998), Namulema *et al.* (1999), Badii y Howell (2002a; 2002b), Saeed y Howell (2002), Benjakul *et al.* (2005) y Mena *et al.* (2010) informan del descenso exponencial de la fracción de PSSS en el músculo de varias especies de pescados congelados, incluyendo el lomo de atún rojo, durante su almacenamiento en congelación, siendo el descenso más rápido y mayor a temperaturas altas (-5, -10 y -13 °C) que a temperaturas bajas (-17, -18, -20, -30 y -35 °C). Los descensos ocurren inmediatamente después de congelado el músculo. Namulema *et al.* (1999) concluyeron que -13 °C no es la temperatura adecuada para prevenir los cambios en la funcionalidad de la proteína durante el almacenamiento. Tsai *et al.* (1989)

Cuadro 8.- Porcentaje de proteínas solubles en solución salina en el lomo de atún rojo (*Thunnus sp.*) fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

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

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

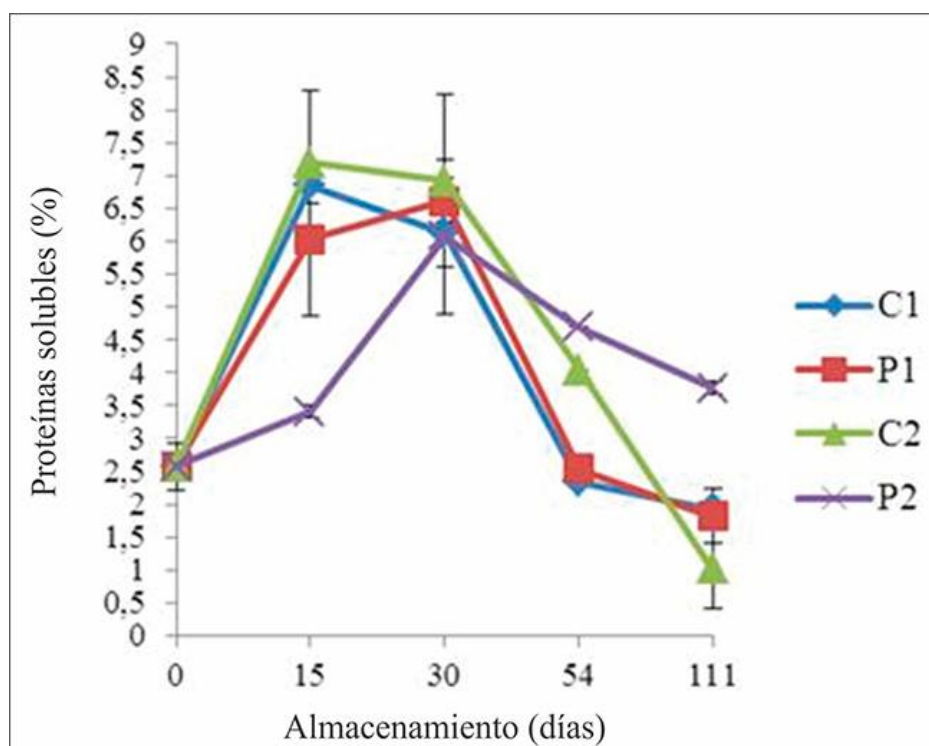
C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

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



C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

Las barras indican la desviación estándar.

Figura 8.- Contenido porcentual de proteínas solubles en solución salina en el lomo de atún rojo (*Thunnus sp.*) fresco y en las rebanadas, congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

citan que la agregación de las proteínas miofibrilares ocurre con frecuencia luego de un almacenamiento prolongado en congelación y es lo que se observa en esta experiencia, que el descenso de la solubilidad, indicador de la agregación proteica, se inició después de 30 días de almacenamiento congelado y al final del almacenamiento, la formación de los agregados proteicos evidenciados por la pérdida de solubilidad fue un descenso exponencial y más rápido a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, independientemente de la presencia o no de 100% CO_2 , que a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en presencia de la atmósfera con 100% de CO_2 .

El pH en el lomo de atún recién adquirido fue de 5,12 (Cuadro 5). Es conocido que la desnaturalización de las proteínas miofibrilares, además de ocurrir inclusive a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, se favorece por el pH post mórten $< 6,0$ y más específicamente, contribuye con la asociación actino-miosina favoreciendo su solubilidad, la cual a su vez es afectada por la temperatura y el tiempo de almacenamiento. Si el pH en las rebanadas de lomo de atún es aproximadamente igual al punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares (4,5 -5,5), éstas se hacen más hidrófilas favoreciendo las interacciones proteínas-solventes más que las proteínas-proteínas adquiriendo mayor solubilidad (Vicetti-Valverde, 1994; Sankar, 2009). Durante el almacenamiento congelado el pH en las muestras almacenadas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a los 15 días fue $\approx 5,2$ y estas fueron las que experimentaron un rápido incremento en la solubilización de la fracción de PSSS. En las muestras almacenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ el pH fue $\approx 5,4$ para C2 y 5,5 en las EAM con 100% de CO_2 (P2) (Cuadro 5). El pH en las muestras P2 fue más alcalino y en ellas, la fracción de PSSS se mantuvo más estable con respecto a los otros tratamientos. La razón probablemente sea que a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ como la difusión del CO_2 es más lenta, más lenta será su solubilización en la fracción acuosa del músculo y más lenta la formación del ácido carbónico y por ello el pH fue más alcalino que a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. La atmósfera con 100% de CO_2 en el almacenamiento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$

favoreció la estabilidad de la fracción de PSSS disminuyendo la desnaturalización y la agregación.

Análisis físicos

Coordenadas colorimétricas

En los lomos de atún recién adquiridos, los valores de las coordenadas colorimétricas L, a y b fueron 41,62; 7,88 y 12,87 respectivamente (Cuadro 9). El valor L mayor, pero a y b similares a lo informado por De Berardinis *et al.* (2012) también en lomo de atún rojo fresco (L 30,3; a 7,6 y b 11,80). En general, la tendencia observada al final del almacenamiento fue disminución de la coordenada L y aumento de a y b (excepto C1), coincidiendo con los resultados de De Berardinis *et al.* (2012) en rebanadas de lomo de atún rojo, congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, empacadas al vacío y almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, después de 90 días de almacenamiento.

De manera particular la tendencia en la coordenada L es disminuir y estabilizarse a partir de los 30 días de almacenamiento congelado. Al final del almacenamiento las muestras más claras correspondieron a las rebanadas de lomo de atún congeladas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, empacadas en atmósfera de aire y almacenadas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (C1) y las más oscuras a las congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, EAM con 100% de CO_2 y almacenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Si bien no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) los primeros 15 días del almacenamiento, la coordenada a se mantuvo estable en las muestras empacadas en aire y almacenadas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (C1) mientras aumentó en los otros tratamientos. A partir de los 30 días de almacenamiento hubo diferencias significativas ($p < 0,05$). En C1 la coordenada a disminuyó progresiva y significativamente ($p < 0,05$) y en C2 aumentó significativamente ($p < 0,05$) con tendencia a estabilizarse, mientras que las muestras congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, EAM con 100% de CO_2 y almacenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (P2)

Cuadro 9.- Coordenadas colorimétricas L, a y b en el lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) fresco y en las rebanadas congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento a -10 y -18 °C.

T	Almacenamiento (días)														
	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 ^{cc} (0,13)	10,31 ^b (0,05)	14,35 ^b (0,30)	25,91 ^{cc} (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 ^c (1,19)	8,86 ^a (0,04)	13,94 ^a (0,53)

$n = 3$, se muestra la media (desviación estándar). T = tratamiento.

C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

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

fueron las más estables en el tiempo. Al final del almacenamiento las muestras menos rojas correspondieron al control C1, mientras que P1, C2 y P2 se mantuvieron estables con respecto al tiempo 0. En las rebanadas de lomo de atún almacenadas a -18 °C (C2 y P2), de los 54 a los 111 días la coordenada a aumentó, mientras que en las muestras almacenadas a -10 °C (C1 y P1) disminuyó.

La coordenada b se mantuvo estable durante los 111 días de almacenamiento congelado, independientemente de la temperatura de almacenamiento y de la presencia o no de 100 % CO₂ en la atmósfera del empaque. A los 111 días de almacenamiento, en las muestras almacenadas a -10 °C (C1 y P1) el valor de b fue similar al valor en $t = 0$ (≈ 13), y a -18 °C la tendencia fue aumentar independientemente de la presencia o no de 100 % CO₂. El aumento en b (incremento del color amarillo) es atribuido a la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en la fracción lipídica del lomo de atún rojo (Ludorff y Meyer, 1978; Cheftel y Cheftel, 1992; Huss,

1997), por lo cual podría decirse que no hubo oxidación de los ácidos grasos durante los 111 días del almacenamiento congelado independientemente de la presencia o no de 100 % CO₂, sin embargo, la producción de malonaldehído en esta experiencia se incrementó progresivamente hasta los 54 días de almacenamiento independientemente de la temperatura y de la atmósfera dentro del empaque (Cuadro 6). 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, interfiriendo con la formación del color, siendo su presencia más significativa en avanzados grados de oxidación (Tironi *et al.*, 2004; Azhar y Nisa, 2006; Karlsdottir *et al.*, 2014). De Berardinis *et al.* (2012) encontraron incremento del color amarillo en el empaque al vacío de las rebanadas de lomo de atún congeladas y almacenadas a -20 °C, y el contenido de malonaldehído fue muy bajo.

El cambio de color en el músculo de atún rojo durante el almacenamiento congelado es causado por la formación de MetaMb, favorecida por factores como el pH, la temperatura, la fuerza iónica, la reacción de consumo de O₂ y altas concentraciones de CO₂. Chen y Chow (2001) y Thiansilakul *et al.* (2011) mencionan que la autooxidación de la mioglobina se refleja en el aumento de la coordenada L y en el descenso de la coordenada a. En el cuadro se aprecia que en condiciones de aerobiosis durante el almacenamiento congelado, a -10 °C se alcanzaron mayores valores de la coordenada L y menores de la coordenada a, en comparación a -18 °C; es decir, de acuerdo a lo mencionado en base al color por Chen y Chow (2001), el almacenamiento a -18 °C protegió aún más a las rebanadas de lomo de atún de la autooxidación de la Mb. Probablemente el O₂ difundió más rápidamente al interior de tejido y favoreció la autooxidación de la mioglobina más a -10 °C que a -18 °C. Al final del almacenamiento, independientemente de la temperatura de almacenamiento, las muestras EAM con 100 % de CO₂ (P1 y P2) fueron las más oscuras y rojas. Estos resultados coinciden con los de De Berardinis *et al.* (2012) en rebanadas de lomo de atún rojo, empacadas al vacío y congeladas después a -20 °C, al final de 90 días de almacenamiento.

Análisis microbiológicos

El título de aerobios mesófilos en el lomo de atún rojo recién adquirido fue de $2,19 \times 10^5$ UFC/g (Cuadro 10), superior a lo informado en atún (Ben-gigirey *et al.*, 1999; de Souza, 2004; Márquez-Figueroa *et al.*, 2006; De Berardinis *et al.*, 2012) y en otras especies como sardinas frescas (*Sardinella aurita*, *S. brasiliensis*) (Delgado-Bottini *et al.*, 2000; Silva, 2010), caballa (*Scomber colias japonicus*) (Stamatis y Arkoudelos, 2007), anchoas (*Engraulis encrasicolus*) (Pons-Sánchez-Cascado *et al.*, 2006). Coincidió con el

límite entre un recuento aceptable y uno marginalmente aceptable ($m = 5 \times 10^5$ UFC/g) para pescado fresco y congelado recomendado por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF, 1986). Los aerobios psicrófilos se detectaron $< 1,00$ UFC/g, mientras que Ben-gigirey *et al.* (1999) cuantificaron 10^3 UFC/g, y De Berardinis *et al.* (1999) ($70,98 \times 10^3$ UFC/g). Los aerobios mesófilos son indicadores de sanidad, y su ausencia advierte que la manipulación y las condiciones de conservación de los lomos adquiridos fueron adecuadas (MdA, 1981; Teodoro *et al.*, 2007), al igual que las operaciones previas a la congelación, como el rebanado y posterior manipulación antes del empacado no representaron fuentes de contaminación. La mayoría de la contaminación microbiana puede ocurrir durante el fileteado y subsecuente manejo previo al empacado (Huss, 1997; Jay, 2000). No se detectaron coliformes totales ni fecales; los cuales 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 las operaciones de distribución (Metin *et al.*, 2002; Barreiro-Méndez y Sandoval Briceño, 2006); por lo cual, el lomo de atún evaluado estaba en condiciones higiénicas adecuadas para que los procesos de congelación, empacado y almacenamiento congelado fuesen eficientes en la conservación de los atributos de calidad de las rebanadas de atún rojo.

A los 117 días de almacenamiento congelado los títulos de aerobios mesófilos y psicrófilos alcanzaron el mismo orden 10^2 UFC/g para todos los tratamientos. Hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre cada uno de los tratamientos (C1, P1, C2 y P2) y la muestra fresca de lomo de atún rojo recién adquirido, pero no entre los tratamientos (Cuadro 10). El descenso en el título de aerobios mesófilos y el incremento de los aerobios psicrófilos ocurrió independientemente de la temperatura del

Cuadro 10.- Recuento microbiológico de las rebanadas de atún rojo (*Thunnus* sp.) en la muestra fresca y para los diferentes tratamientos a los 117 días de almacenamiento congelado.

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

n = 2, se muestra la media (desviación estándar).

UFC/g: unidades formadoras de colonias/g de muestra.

C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

Superíndices con letras diferentes en una misma fila implica diferencias significativas (*p* < 0,05).

almacenamiento congelado y de la presencia o no de 100 % CO₂ en el empaque. El contaje más bajo en ambos indicadores coincidió con el tratamiento P2 (congelación y almacenamiento a -18 °C con 100 % de CO₂). En general, en productos pesqueros congelados el contaje de microorganismo es más bajo que el correspondiente al producto fresco (Jay, 2000), porque las especies bacterianas difieren en su capacidad de respuesta a las temperaturas de congelación, las Gram negativas son sensibles a ellas y las Gram positivas medianamente resistentes a dichas temperaturas. Esta sensibilidad además dependerá de la fase de crecimiento en la cual se encuentren la población bacteriana, en la fase de crecimiento logarítmico son eliminadas con mayor facilidad que en las otras fases, por ello algunas de las especies bacterianas presentes en el pescado al momento de su captura pueden sobrevivir a la

congelación y una vez descongelado el pescado desarrollarse (Frazier y Westhoff, 1993). Esto probablemente explique en parte que el efecto inhibitorio de la atmósfera de 100 % de CO₂ fuese más evidente sobre la población de aerobios mesófilos y psicrófilos a -18 que a -10 °C. Al final del almacenamiento no se detectaron coliformes totales ni fecales.

Evaluación sensorial

En general, para ambas temperaturas de almacenamiento hubo mayor aceptación de los parámetros evaluados en las muestras EAM con 100 % de CO₂ (Cuadro 11). A los 54 días hubo diferencias significativas (*p* < 0,05) entre los tratamientos con y sin CO₂, a ambas temperaturas de almacenamiento para los 3 atributos evaluados. A los 111 días de almacenamiento en las rebanadas de lomo de

Cuadro 11.- Evaluación sensorial de las rebanadas de lomo de atún rojo (*Thunnus* sp.) 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

Se muestra la media ± la desviación estándar. Para t = 54, n = 13. Para t = 111, n = 11.

C1: control 1, congelado a -10 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P1: proceso 1, congelado a -10 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

C2: control 2, congelado a -18 °C y empacado en atmósfera de aire (21 % de O₂ y < 1 % de CO₂).

P2: proceso 2, congelado a -18 °C y empacado en AM (100 % CO₂).

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

atún, congeladas, empacadas y almacenadas según el tratamiento no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) ni para el color ni para la apariencia, pero si para el olor ($p < 0,05$), siendo las de mayor aceptación las empacadas con 100 % CO₂. Los panelistas señalaron que las muestras congeladas a -10 °C presentaban “quemaduras por frío”, las cuales fueron más extensas en las muestras empacadas en atmósfera de aire; y “olor a pescado”. Estas muestras fueron las que presentaron mayor contenido de malonaldehído (Cuadro 6) y menor valor de la coordenada b (Cuadro 9).

CONCLUSIONES

La atmósfera modificada con 100 % de CO₂ no evitó la deshidratación, pero a -18 °C (P2) la barrera a la pérdida de humedad en las rebanadas de lomo de atún, congeladas fue mayor. El ambiente anaeróbico favoreció el menor conteo de aerobios mesófilos (hubo una reducción de 3 ciclos log) y psicrófilos, lo que coincidió con un menor contenido en bases volátiles totales, aunque hubo un incremento

sostenido en la producción, que explica los aumentos en el pH durante el almacenamiento.

Se observó un efecto sinérgico entre la atmósfera de 100 % de CO₂ y la baja temperatura de almacenamiento congelado (-18 °C) que favoreció la estabilidad de la fracción de PSSS, mientras que a -10 °C, las consecuencias fueron inversas, no hubo estabilidad de la fracción de proteínas solubles obteniéndose los valores más altos de solubilidad (desnaturalización) el primer mes del almacenamiento para luego descender exponencial y muy rápidamente (agregación).

La atmósfera de 100 % de CO₂ no evitó la “quemadura por frío” en las muestras almacenadas a -10 °C, en las cuales los panelistas percibieron “olor a pescado” a los 111 días de almacenamiento y se encontró el mayor contenido de malonaldehído y el valor de la coordenada b fue aproximadamente igual al del lomo de atún recién adquirido.

En general desde el punto de vista sensorial las muestras con mayor aceptación de los atributos color, olor y apariencia fueron las empacadas en atmósfera modificada con 100 %

de CO₂, las cuales fueron las más oscuras y rojas (menor coordenada L y mayor coordenada a).

AGRADECIMIENTO

Las autoras agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV) el financiamiento del proyecto de grupo N° 03-00-6503-2006, titulado “El empaque del lomo de atún aleta azul (*Thunnus* sp.) como alternativa para aumentar el tiempo de vida de almacenamiento congelado”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, R.M. Vercelino e Ardito, E.F.G. 1991. Embalagem para carnes, produtos cárneos e pescados congelados. En Embalagem para produtos cárneos. (pp. 73-75, 78). Campinas, Brasil: Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Embalagens (Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA), Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL).
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (18va. ed.). Washington, USA.
- APHA. 2001. American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, D. C., USA. 1115 p.
- Arashisar, Şükriye; Hisar, Olcay; Kaya, Mükerrerem and Yanik, Telat. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. International Journal of Food Microbiology. 97(2):209-214.
- Ayala-Galdós, María Estela. 1994. Evaluación sensorial del pescado fresco. En Información básica: química, bioquímica y microbiología. (pp. 119-125). X Curso Internacional de Procesamiento de Productos Pesqueros. Perú.
- Azhar, K.F. and Nisa, K. 2006. Lipids and their oxidation in seafood. Journal of the Chemical Society of Pakistan. 28(3):298-305.
- Badii, Farah and Howell, Nazlin K. 2002a. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillets during frozen storage. Food Hydrocolloids. 16(4):313-319.
- Badii, Farah and Howell, Nazlin K. 2002b. A comparison of biochemical changes in cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) fillets during frozen storage. Journal of the Science of Food and Agriculture. 82(1):87-97.
- Banks, Harrell; Nicholson II, Ranzell and Finne, Gunnar. 1980. Shelf-life studies on carbon dioxide packaged finfish from the Gulf of Mexico. Journal of Food Science 45(2):157-162.
- Barreiro-Méndez, José. A. y Sandoval-Briceño, Aleida. J. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Caracas, Venezuela: Editorial Equinoccio (Universidad Simón Bolívar). pp. 13-129.
- Ben-gigirey, Begoña; De Sousa, Juan M. Vieites Baptista; Villa, Tomas G. and Barros-velazquez, Jorge. 1999. Chemical changes and visual appearance of albacore tuna as related frozen storage. Journal of Food Science. 64(1):20-24.
- Benjakul, Soottawat and Bauer, Friederich. 2000. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80(8):1143-1150.
- Benjakul, Soottawat; Visessanguan, Wonnop; Thongkaew, Chutima and Tanaka, Munehiko. 2003. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. Food Research International 36(8):787-795.

- Benjakul, Soottawat; Visessanguan, Wonnop, Thongkaew, Chutima and Tanaka, Munehiko. 2005. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand. *Food Hydrocolloids*. 19(2):197-207.
- Bjerkeng, B. and Johnsen, G. 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.
- Bøknæs, Niels; Østerberg, Carsten; Nielsen, Jette and Dalgaard, Paw. 2000. Influence of freshness and frozen storage temperature on quality of thawed cod fillets stored in modified atmosphere packaging. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT) - Food Science and Technology*. 33(3):244-248.
- Bøknæs, Niels; Østerberg, Carsten; Sørensen, Rie; Nielsen, Jette and Dalgaard, Paw. 2001. Effects of technological parameters and fishing ground on quality attributes of thawed, chilled cod fillets stored in modified atmosphere packaging. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT) - Food Science and Technology*. 34(8):513-520.
- Boskou, G. and Debevere, J. 1997. Reduction of trimethylamine oxide by *Shewanella* spp. under modified atmospheres *in vitro*. *Food Microbiology*. 14(6):543-553.
- Bradford, Marion M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1-2):248-254.
- Burgess, G.H.O.; Cutting, C.L.; Lovern, J.A. y Waterman, J.J. 1979. El pescado y las industrias derivadas de la pesca. Zaragoza, España: Editorial Acribia. pp. 142, 143, 152-155.
- Careche, Mercedes; del Mazo, María Luisa and Fernández-Martín, Fernando. 2002. Extractability and thermal stability of frozen hake (*Merluccius merluccius*) fillets stored at -10 and -30 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(15):1791-1799.
- Careche, Mercedes; Del Mazo, María Luisa; Torrejón, Purificación and Tejada, Margarita. 1998. Importance of frozen storage temperature in the type of aggregation of myofibrillar proteins in cod (*Gadus morhua*) fillets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(4):1539-1546.
- Chang, C.C. and Regenstein, J.M. 1997. Textural changes and functional properties of cod mince proteins as affected by kidney tissue and cryoprotectants. *Journal of Food Science*. 62(2):299-304.
- Cheftel, Jean Claude y Cheftel, Henri. 1992. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Volumen I. Capítulo II. Sección II-2. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A. pp. 65-289.
- Chen, Wen Lee and Chow, Chau Jen. 2001. Studies on the physicochemical properties of milkfish myoglobin. *Journal of Food Biochemistry*. 25(2):157-174.
- Chow, Chau Jen; Ochiai, Yoshihiro and Watabe, Shugo. 2004. Effect of frozen temperature on autoxidation and aggregation of bluefin tuna myoglobin in solution. *Journal of Food Biochemistry*. 28(2):123-134.
- COVENIN. 1979. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Alimentos. Determinación del pH. (acidez iónica). Norma Venezolana COVENIN 1315:79. Caracas, Venezuela.
- De Berardinis, Romaim; Medina-Bracamonte, Myrna Luisa y Barrero, Marinela. 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.

- de Souza, Wagner Guedes. 2004. Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de lombo de atum (*Thunnus albacares*). Dissertação para obtenção do Grau de Mestre. Faculdade de Veterinária, Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.
- Delgado-Bottini, Alejandra.; Valls-Puig, Jaime y Tomé-Boschian, Elisabetta. 2000. Evaluación de aminos biógenas, microbiológica y sensorial de sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. Revista Científica (FCV-LUZ). X(6):494-502.
- Estess, Ethan E.; Coffey, Daniel M.; Shimose, Tamaki; Seitz, Andrew C.; Rodriguez, Luis; Norton, Alex; Block, Barbara and Farwell, Charles. 2014. Bioenergetics of captive Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*). Aquaculture. 434:137-144.
- Foegeding, E. Allen; Lanier Tyre, C. y Hultin, Herbert O. 2000. Características de los tejidos musculares comestibles. En Química de los alimentos. (pp. 1039-1115). (2da. ed.). Zaragoza, España, Editorial Acribia, S. A.
- Folch, Jordi; Lees, M. and Sloane-Stanley; G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. The Journal of Biological Chemistry. 226:497-509.
- Frazier, W.C. y Westhoff, D.C. 1993. Microbiología de los alimentos. (4ta. ed.). Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- Gallardo, Jose M.; Aubourg, Santiago P. and Pérez-Martin, Ricardo I. 1989. Lipid classes and their fatty acids at different loci of albacore (*Thunnus alalunga*): effects of the precooking. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 37(4):1060-1064.
- García-Iglesias, Esther; Gago-Cabezas, Lara y Fernández-Nuevo, José Luis. 2006. Tecnologías de envasado en atmósfera protectora. Madrid, España: CEIM, Confederación Empresarial de Madrid-CEOE/Dirección General de Universidades e Investigación.
- Gill, T.A.; Keith, R.A. and Smith-Lall, B. 1979. Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in the myofibrillar proteins. Journal of Food Sciences. 44(3):661-667.
- Giménez, Carlos. 2009. El atún: la actividad atunera en el contexto de la pesca mundial y venezolana. Caracas, Venezuela: FUNDATÚN (Fundación para la Pesca Sostenida y Responsable de Túnidos). 376 p.
- Guedes, Wagner; Mársico, Eliane Teixeira; Silva, Leonardo Pessanha; de Almeida-Filho, Edivaldo Sampaio; de Freitas, Mônica Queiroz e Mano, Sérgio. 2006. Efeito da atmosfera modificada sobre a conservação de lombo de atum (*Thunnus albacares*) embalado. Revista Brasileira de Ciência Veterinária. 13(2):89-93.
- Hastings, Rosemary J.; Rodger, Graham W.; Park, Robin; Matthews, Anthony D. and Anderson, Evelyn M. 1985. Differential Scanning Calorimetry of fish muscle: the effect of processing and species variation. Journal of Food Science 50(2):503-506.
- Huidobro, Almudena; Mohamed, Gamal Fouad and Tejada Margarita. 1998. Aggregation of myofibrillar proteins in hake, sardine, and mixed minces during frozen storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46(7):2601-2608.
- Huss, H.H. 1997. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. FAO Documento Técnico de Pesca. N° 334. 174 p. ISBN 92-5-303446-7.
- Huss, H.H. 1999. El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. FAO Documento Técnico de Pesca. N° 348. ISBN 92-5-303507-2.
- ICMSF. 1986. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods 2. Sampling for

- microbiological analysis: principles and specific applications. (2nd. ed.). Blackwell Scientific Publications.
- INF. 1990. Instituto Nacional del Frío. Alimentos congelados: procesado y distribución. Zaragoza, España: Editorial Acribia. 184 p.
- Iriarte-Rota, María Milagros y Romero-González, Gleydi del Valle. 2006. Efecto del tiempo de almacenamiento a -18 °C sobre las características bacteriológicas y físico-químicas de filetes del pez volador (*Dactylopterus volitans*). Revista Científica (FCV-LUZ). XVI (2):195-201.
- Jay, James M. 2000. Modern food microbiology. (6th. ed.). Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc. pp. 101, 323-339.
- Jiang, Shann Tzong; Hwang, Der Chyan and Chen, Chin Sang. 1988. Effect of storage temperatures on the formation of disulfides and denaturation on milkfish actomyosin (*Chanos chanos*). Journal of Food Science. 53(5):1333-1335.
- Josephson, David B.; Lindsay, Robert C. and Stuibler, David A. 1985. Effect of handling and packaging on the quality of frozen whitefish. Journal of Food Science. 50(1):1-4.
- Karlsdóttir, Magnea G.; Petty, Holly T. and Kristinsson, Hordur G. 2014. Oxidation in aquatic foods and analysis methods. In Antioxidants and Functional Components in Aquatic Foods. (pp. 1-22). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Kelleher, Stephen D.; Buck, Ernest M.; Hultin, Herbert O.; Parkin, Kirk L.; Licciardello, Joseph J. and Damon, Rickard A. Jr. 1982. Chemical and physical changes in red hake blocks during frozen storage. Journal of Food Science. 47(1):65-70.
- Lauzon, Hélène L.; Margeirsson, Björn; Sveinsdóttir, Kolbrún; Guðjónsdóttir, María; Karlsdóttir, Magnea G.; Martinsdóttir, Emilía. 2010. Overview on fish quality research. Impact of fish handling, processing, storage and logistics on fish quality deterioration. Skýrsla Matís. 39-10.
- LeBlanc, Eileen L.; LeBlanc, Raynald J. and Blum, Ilya E. 1988. Prediction of quality in frozen cod (*Gadus morhua*) filets. Journal of Food Science. 53(2):328-340.
- López-Gálvez, Daniel; de la Hoz, Lorenzo and Ordoñez, Juan A. 1995. Effect of carbon dioxide and oxygen enriched atmospheres on microbiological and chemical changes in refrigerated tuna (*Thunnus alalunga*) steaks. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 43(2):483-490.
- Ludorff, W. y Meyer, V. 1978. El pescado y los productos de la pesca. (2da. ed.). Zaragoza, España: Editorial Acribia. pp. 11-30.
- Márquez-Figueroa, Yunilde del Valle; Cabello, Ana Mercedes; Villalobos, Luz Bettina; Guevara, Gracia; Figuera-García, Bertha Elena y Vallenilla-González, Osmicar Manuel. 2006. Cambios físicos-químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de la conserva de atún. Zootecnia Tropical. 24(1):17-29.
- Mbarki, Raouf; Miloud, Najla Ben; Selmi, Salah; Dhib, Soukeina and Sadok, Saloua. 2009. Effect of vacuum packaging and low-dose irradiation on the microbial, chemical and sensory characteristics of chub mackerel (*Scomber japonicus*). Food Microbiology. 26(8):821-826.
- 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.
- Mena, Sarahi; Rodríguez, Leonardo y Barrero, Marinela. 2010. El glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus thynnus*) congelado y almacenado a -10 °C. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 60(3):270-279.

- Metin, Suhendan; Erkan, Nuray; Baygar, Tacnur and Ozden, Ozkan. 2002. Modified atmosphere packaging of fish salad. *Fisheries Science*. 68(1):204-209.
- Montecchia, C.L.; Roura, S.I.; Roldán, H; Pérez-Borla, O. and Crupkin, M. 1997. Biochemical and physicochemical properties of actomyosin from frozen pre- and post-spawned hake. *Journal of Food Science*. 62(3):491-495.
- Nakamura, Yoshi Nori; Ando, Masashi; Seoka, Manabu; Kawasaki, Ken ichi; Tsukamasa, Yasuyuki. 2007. Changes of proximate and fatty acid compositions of the dorsal and ventral ordinary muscles of the full-cycle cultured Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* with the growth. *Food Chemistry*. 103(1):234-241.
- Namulema, A.; Muyonga J.H. and Kaaya, A.N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27 °C. *Food Research International*. 32(2):151-156.
- Orrego-Alzate, Carlos Eduardo. 2003. *Procesamiento de alimentos*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. 321 p.
- Özogul, F.; Polat, A. and Özogul, Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*. 85(1):49-57.
- Parkin, Kirk L.; Wells, Mary Jo and Brown, W. Duane. 1982. Modified atmosphere storage of rockfish fillets. *Journal of Food Science*. 47(1):181-184.
- Pearson, D. 1976. *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. España: Editorial Acribia. pp. 180-183.
- Peng, Shiming; Chen, Chao; Shi, Zhaohong and Wang, Lu, 2013. Amino acid and fatty acid composition of the muscle tissue of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *Journal of Food and Nutrition Research*. 1(4):42-45.
- Pérez-Villarreal, B. and Pozo, R. 1990. Chemical composition and ice spoilage of albacore (*Thunnus alalunga*). *Journal of Food Science*. 55(3):678-682.
- Pons-Sánchez-Cascado, S.; Vidal-Carou, M.C.; Nunes, M.L. and Veciana-Nogues, M.T. 2006. Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. *Food Control*. 17(7):564-569.
- Popovic, Natalija Topic; Kozacinski, Lidija; Strunjak-Perovic, Ivancica; Coz-Rakovac, Rozelindra; Jadan, Margita; Cvrtila-Fleck, Zeljka and Josip, Barisic. 2012. Fatty acid and proximate composition of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) muscle with regard to plasma lipid. *Aquaculture Research*. 43(5):722-729.
- Ramírez, José A.; Martín-Polo, Martha O. and Bandman, Everett. 2000. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state. *Journal of Food Science*. 65(4):556-560.
- Reddy, G. Vidya Sagar and Srikar, L.N. 1991. Preprocessing ice storage effects on functional properties of fish mince protein. *Journal of Food Science*. 56(4):965-968.
- Rhee, Ki Soon. 1978. Minimization of further lipid peroxidation in the distillation 2-thiobarbituric acid test of fish and meat. *Journal of Food Science*. 43(6):1776-1778.
- Richards, Mark P.; Kelleher, Stephen D. and Hultin, Herbert O. 1998. Effect of washing with or without antioxidants on quality retention of mackerel fillets during refrigerated and frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(10):4363-4371.
- Ruiz-Capillas, C.; Moral, A.; Morales, J. and Montero, P. 2002. The effect of frozen storage on the functional properties of the muscle of volador (*Illex coindetii*). *Food Chemistry*. 78(2):149-156.

- Ruiz-Capillas, Claudia and Moral, Antonio. 2005. Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry* 89(3):347-354.
- Saeed, Suhur and Howell, Nazlin K. 2002. Effect of lipid oxidation and frozen storage on muscle proteins of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(5): 579-586.
- Salgado, Raquel Lima; da Costa, Juliana de Castro Beltrão; Conte-Júnior, Carlos Adam; Fernández, Manuela; de Freitas, Mônica Queiroz e Mano, Sérgio Borges. 2006. Efeitos da embalagem em atmosfera modificada sobre as alterações microbiológicas, químicas e sensoriais de pargo (*Pagrus pagrus*). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 13(2)94-97.
- Sankar, T. V. 2009. Functional properties of fish proteins: a review. *Fishery Technology*. 46(2):87-98.
- SFIA. 1985. Sea Fish Industry Authority. Guidelines for the handling of fish packed in a controlled atmosphere. Edinburgh, UK.
http://www.seafish.org/media/Publications/Guidelines_for_the_handling_of_fish_packed_in_a_controlled_atmosphere.pdf
- Sigurgisladottir, Sjöfn; Ingvarsdottir, Helga; Torrisen, Ole J.; Cardinal, Mireille and Hafsteinsson, Hannes. 2000. Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International*. 33(10):857-865.
- Silva, Sabrina da Costa. 2010. Validade comercial de sardinhas inteiras e refrigeradas avaliada por análises físico-químicas, bacteriológicas e sensorial. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.
- Sivertsvik, Morten; Rosnes, Jan Thomas; Jeksrud, Willy K. 2004. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 2: raw fish fillets. *Journal of Food Engineering*. 63(4):451-458.
- Socol, Marcilene C. Heidmann and Oetterer, Marília. 2003. Use of modified atmosphere in seafood preservation. *Brazilian archives of Biology and Technology*. 46(4):569-580.
- Srikar, L.N. and Reddy, G. Vidya Sagar. 1991. Protein solubility and emulsifying capacity in frozen stored fish mince. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 55(3):447-453.
- Stamatis, Nikolaus and Arkoudelos, John 2007. Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. *Food Control*. 18(4):292-300.
- Suárez-Mahecha, Héctor; Pardo-Carrasco, Sandra Clemencia; Cortés-Rodríguez, Misael; Ricaurte, Sandra Catalina y Rojano, Benjamín. 2009. Evaluación de nueva tecnología para mitigar las espinas intramusculares en filetes de cachama (*Piaractus brachypomus*) (Pisces: Characidae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 62(1):4989-4997.
- Suvanich, V.; Jahncke, M.L. and Marshall, D.L. 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of Food Science* 65(1):24-29.
- Tarladgis, Basil G.; Watts, Betty M.; Younathan, Margaret T. and Dugan, Leroy. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 37(1):44-48.
- Tejada, Margarita. 2001. Aggregation of myofibrillar proteins during frozen storage of fish. In *Novel processes and control*

- technologies in the food industry. (pp. 212-226). Amsterdam, Netherlands: IOS Press.
- Teodoro, Anderson Junger; de Andrade, Édira Castello Branco e Mano, Sérgio Borges. 2007. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Brasil)*. 27(1):158-161.
- Thiansilakul, Yaowapa; Benjakul, Soottawat and Richards, Mark P. 2011. Isolation, characterisation and stability of myoglobin from Eastern little tuna (*Euthynnus affinis*) dark muscle. *Food Chemistry*. 124(1):254-261.
- Tironi, V.A.; Lopez, L.B.; Pellegrino, N.; Añón, M.C. and Tomás, M.C. 2004. Malonaldehyde-induced microstructural modifications in myofibrillar proteins of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). *Journal of Food Science*. 69(7):C519-C523.
- Torrieri, E.; Cavella, S.; Villani, F.; Masi, P. 2006. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Food Engineering*. 77(4):1078-1086.
- Tsai, Shu Fang; Wang, Jeng Hwan and Jiang, Shann Tzong. 1989. Stability of muscle proteins from some subtropics fish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37(3):749-752.
- Tzikas, Z.; Papavergou, E.; Soultos, N.; Ambrosiadis I. and Georgakis, Sp. 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.
- Ueki, Nobuhiko; Chow, Chau Jen and Ochiai, Yoshihiro. 2005. Characterization of bullet tuna myoglobin with reference to the thermostability-structure relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(12):4968-4975.
- Undeland, Ingrid; Ekstrand, Bo and Lingnert, Hans. 1998. Lipid oxidation in minced herring (*Clupea harengus*) during frozen storage. Effect of washing and precooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(6):2319-2328.
- Vicetti-Valverde, Rodolfo. 1994. Proteínas del músculo de pescado. En *Información básica: química, bioquímica y microbiología*. (pp. 23-45). X Curso Internacional de Procesamiento de Productos Pesqueros. Perú.
- Villemure, G.; Simard, R.E. and Picard, G. 1986. Bulk storage of cod fillets and gutted cod (*Gadus morhua*) under carbon dioxide atmosphere. *Journal of Food Science*. 51(2):317-320.
- Zaboukas, N.; Miliou, H.; Megalofonou, P. and Moraitou-Apostolopoulou. 2006. Biochemical composition of the Atlantic bonito *Sarda sarda* from the Aegean Sea (eastern Mediterranean Sea) in different stages of sexual maturity. *Journal of Fish Biology*. 69(2):347-362.