



Artículo

Efecto antioxidante y antimicrobiano de sales de ácidos orgánicos y extractos naturales en filetes de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) refrigerados

Antimicrobial and antioxidant effects of organic acids and natural extracts in refrigerated fillets golden catfish (*Brachyplatystoma rousseauxii*)

José Vicente **Pacheco Guerrero**¹, Elisabetta **Tomé**^{2*}, Marisa **Guerra**³, Rosa **Raybaudi**²

¹Instituto Universitario de Tecnología Jacinto Navarro Vallenilla, Departamento de Tecnología de Alimentos. Carretera vía El Pilar, Sector Canchunchú Florido, Carúpano, Estado Sucre, Venezuela.

²Universidad Central de Venezuela, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Escuela de Biología. Apartado 47097, Caracas 1041 A, Venezuela.

³Universidad Simón Bolívar, Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Valle de Sartenejas, Caracas, Venezuela.

*Autora para correspondencia: elisabetta.tome@ciens.ucv.ve

Aceptado 23-Marzo-2011

Resumen

En el presente trabajo fueron investigados los efectos del lactato de sodio, acetato de sodio, romero y ajo en soluciones acuosas a 2,5 % sobre la calidad microbiológica y oxidación lipídica en rebanadas de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) almacenadas a 4 °C. Los resultados mostraron que estas soluciones fueron eficaces ($p < 0,05$) contra la proliferación de distintas categorías de microorganismos deteriorativos, incluyendo poblaciones aeróbicas y psicrotóficas, *Pseudomonas* spp., bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno, bacterias ácido lácticas y Enterobacteriaceae. Se observó un efecto antimicrobiano específico de cada solución acuosa probada sobre poblaciones

microbianas específicas. La oxidación lipídica, expresada como valor de peróxido y valor del ácido 2-tiobarbitúrico, fue significativamente retrasada en todos los tratamientos, siendo las muestras tratadas con romero las mejor preservadas. La actividad antioxidante mostró el siguiente orden: romero > acetato de sodio > lactato de sodio > ajo. La vida útil de los productos tratados fue, al menos, de 15 días. Por lo tanto, el acetato de sodio, lactato de sodio, romero y ajo pueden ser utilizados como preservativos seguros para el pescado almacenado bajo refrigeración.

Palabras claves: acetato de sodio, calidad microbiológica, oxidación lipídica, rebanadas de bagre.

Abstract

This study was carried out to evaluate the effects on microbiological quality and lipid oxidation of fresh catfish sliced treated by dipping in 2.5 % aqueous solution of sodium lactate, sodium acetate, rosemary or garlic and stored at 4 °C. The results revealed that these solutions were effective ($p < 0.05$) against the proliferation of various categories of spoilage microorganisms; including aerobic and psychrotrophic populations, *Pseudomonas* spp., hydrogen sulfide-producing bacteria, lactic acid bacteria, and Enterobacteriaceae. Lipid oxidation, as expressed by peroxide value and 2-thiobarbituric acid value, was significantly delayed in sodium acetate and sodium-treated samples. The antioxidant activity followed the order: rosemary > sodium acetate > sodium lactate > garlic. The shelf life of the treated products was, at least, 15 days. Therefore, sodium acetate, sodium lactate, rosemary and garlic can be utilized as safe preservatives for fish under refrigerated storage.

Key words: lipid oxidation, microbial quality, sliced catfish, sodium acetate.

INTRODUCCIÓN

Recientemente, existe un considerable interés enfocado hacia la adición de antioxidantes naturales a productos alimenticios para sustituir antioxidantes sintéticos, debido a su potencial para prolongar la duración de los productos alimenticios e inhibir y retrasar la oxidación de los lípidos. (Ratanatriwong *et al.*, 2009; Yavas y Bilgin, 2010; Haghparast *et al.*, 2010) Los alimentos marinos contienen altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs, 'Polyunsaturated Fatty Acids'): ácido eicosapentanoico y ácido docosahexaenoico (Pigott y Tucker, 1987; Rahman *et al.*, 1995; Steffens, 1997; Ackman, 1999); debido a este contenido de lípidos insaturados, los productos pesqueros son susceptibles a perder su calidad a través de la oxidación lipídica, así como al desarrollo de

malos sabores y a la rancidez; siendo estos factores los principales limitantes para su producción y comercialización (St. Angelo, 1996; Frankel *et al.*, 2002). Se ha demostrado que un incremento en el consumo de n-3 PUFA reduce el riesgo de enfermedades coronarias, disminuye la hipertensión y previene ciertas arritmias cardíacas (Garg *et al.*, 2006). Diversos alimentos como pan, leche y helado están siendo satisfactoriamente enriquecidos con n-3 PUFA usando aceite de pescado encapsulado o refinado o n-3 PUFA a partir de microalgas (Kolanowski *et al.*, 1999).

Por otro lado, el deterioro del pescado es un proceso complejo en el cual están implicados mecanismos físicos, químicos y microbiológicos (Davis, 1999; Ghaly *et al.*, 2010). Las reacciones enzimáticas y químicas son usualmente las responsables de la pérdida inicial de la frescura, mientras que la actividad

microbiana es responsable del deterioro una vez abierto el empaque, por lo que ambas establecen la duración del producto (Gram, 1995; Gram y Huss, 1996; Ghaly *et al.*, 2010). Además, el deterioro de los productos marinos es dinámico con cambios de reacciones de descomposición y cambios entre diferentes grupos microbianos deteriorativos dependiendo de la composición del producto o la especie de pescado, así como el origen y condiciones de almacenamiento (Huss *et al.*, 1995; Gram y Dalgaard, 2002; Ghaly *et al.*, 2010).

El uso de buenas prácticas de manufactura y análisis de riesgos de puntos de control críticos (ARPC) es crucial en la producción, almacenamiento, distribución y venta de los alimentos refrigerados y debido a que los consumidores demandan alimentos frescos refrigerados con amplia vida útil, sin embargo es necesario impulsar las investigaciones encaminadas a identificar mecanismos para mantener o prolongar la vida útil de este tipo de alimentos. En tal sentido, se han realizado investigaciones sobre el efecto de las sales sódicas de los ácidos orgánicos de bajo peso molecular, tales como el ácido acético, láctico y cítrico, entre otras, para controlar el crecimiento microbiano, mejorar los atributos sensoriales y extender la vida útil de varios sistemas alimentarios incluyendo carnes (Maca *et al.*, 1997; Sallam y Samejima, 2004; Ratanatriwong *et al.*, 2009), aves (Williams y Phillips, 1998; Yavas y Bilgin, 2010) y pescados (Boskou y Debevere, 2000; Haghparast *et al.*, 2010). Adicionalmente a su efecto supresivo sobre el crecimiento de las bacterias deteriorativas del alimento, las sales orgánicas de lactato y citrato de sodio han mostrado poseer actividades antibacterianas contra varios patógenos intoxicantes incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Yersinia enterocolitica* (Lee *et al.*, 2002). Además de ello, estas sales están ampliamente disponibles, son económicas y 'generalmente reconocidas como seguras' (GRAS) (McWilliam-Leitch y Stewart, 2002).

Por otra parte, en los últimos años se ha venido explorando la incorporación de extractos naturales a partir del romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*), ajo (*Allium sativum*), pimienta (*Piper nigrum*), entre otros, como agentes antimicrobianos en materias primas de origen animal. Su utilización se ha intensificado tanto que ya estos fotoquímicos son empleados industrialmente en forma directa, como oleorresinas, en diversas formulaciones de alimentos (Burt y Reinders, 2003; Jałosińska y Wilczak, 2009; Krisch *et al.*, 2010).

En Venezuela, el bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) es una de las diferentes especies que pueden capturarse en el Río Orinoco y que posee una considerable demanda por el público consumidor, debido al exquisito sabor de su carne y a lo peculiar de su textura. Su comercialización se hace en áreas alejadas de los centros de consumo y principalmente en fresco, eviscerado y sin cabeza y conservado en hielo, lo cual incide en los altos costos de venta del mismo.

Actualmente se han venido estableciendo pequeñas empresas fileteadoras de pescado en algunos de los principales puertos de desembarco de esta especie, como una alternativa para minimizar los gastos de transporte y almacenamiento del pescado entero. Dichas empresas evisceran, eliminan cabeza y piel y obtienen pulpa de pescado entera y fileteada, siendo la misma empacada y almacenada bajo un sistema poco eficiente de refrigeración, lo cual conlleva a un rápido deterioro del alimento.

El objetivo principal de este estudio fue investigar los efectos antimicrobianos y antioxidantes de soluciones al 2,5% de acetato de sodio (AcS), lactato de sodio (LaS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre rebanadas frescas de bagre dorado empacadas en bandejas de poliestireno durante almacenamiento a 4 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación y tratamiento de las muestras de pescado

El bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) fue obtenido directamente de las flotas pesqueras que desembarcan pescado en los muelles ubicados en la población de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela. La temperatura media corporal de las muestras antes del desembarco fue de 5 ± 1 °C. Las muestras de pescado fueron seleccionadas de acuerdo al tamaño, coloración superficial, características de frescura y peso corporal. Las muestras fueron evisceradas *in situ* en forma manual, lavadas con agua potable fría (5 ± 1 °C) e inmediatamente cada ejemplar fue cubierto con hielo en su parte ventral y colocado dentro de una cava con hielo (se alternaron capas de hielo-pescado-hielo dentro de la cava) hasta llegar al sitio donde fueron procesados. La temperatura promedio del pescado durante su traslado de aproximadamente 6 horas fue de 4 ± 1 °C. Las muestras de bagre fueron sometidas a cortes de cabeza y cola y a fileteado, obteniendo filetes sin piel con un espesor promedio de 18 mm y peso promedio de 237 ± 23 g. Posteriormente los filetes fueron rebanados (91 g de peso promedio/rebanada). Las rebanadas fueron divididas en 5 lotes (aproximadamente 30 porciones de rebanadas cada uno); cuatro (4) lotes fueron tratados por inmersión durante 10 minutos en diferentes soluciones acuosas (2,5 % p/v) pre-enfriadas (4 °C) de AcS, LaS (C. I. Industrias Químicas Real, S. A., Cartagena, Colombia), Rom y Ajo (Herbalox® Seasoning Type W extracto de romero miscible en aceite y agua, y Aquaresin® extracto acuoso de ajo; Kalsec®, Inc., Mildenhall, UK), mientras que el quinto lote fue sumergido en agua destilada pre-enfriada como muestras control. La relación de rebanadas de pescado: solución fue de 1:2,5 (p/v). Después de la inmersión, cada lote fue

escurrido durante 5 minutos sobre una superficie estéril a temperatura ambiental (25 °C). Cinco rebanadas de cada tratamiento de inmersión fueron colocadas en una bandeja de poliestireno y empacadas con una película plástica. Este tipo de empaque permitió una condición aeróbica dentro del empaque durante el almacenamiento. Cada producto empacado fue codificado de acuerdo al lote respectivo a su preparación y almacenado a 4 °C. Las rebanadas de pescado fueron muestreadas para análisis en los días de almacenamiento 0, 3, 6, 9, 12 y 15. En cada ocasión a muestrear se tomaron tres rebanadas de cada lote para la evaluación microbiológica y de oxidación lipídica.

Composición proximal de las rebanadas de pescado

Antes de empacar y almacenar las rebanadas, se tomó una muestra de las mismas para determinar su composición mediante análisis de humedad, proteínas, grasas y cenizas de acuerdo con los métodos de la AOAC (1999). Los análisis fueron efectuados por triplicado y todos los reactivos fueron de grado analítico.

Análisis microbiológicos

Veinticinco gramos (25 g) de muestra de rebanadas de pescado fueron removidos asepticamente de las bandejas, colocados en una bolsa estéril y homogeneizados por 1 minuto en un Stomacher 400 Lab Blender (Seward Medical, London, UK) conteniendo 225 mL de solución salina peptonada estéril (0,1 % peptona + 0,85 % NaCl) (Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA - Difco™ Laboratories, Inc., Michigan, USA). Después de 30 minutos de pre-enriquecimiento inicial a temperatura ambiente, se prepararon diluciones seriadas apropiadas a partir de este homogeneizado en la misma solución estéril. Las diluciones fueron empleadas para la

enumeración y diferenciación de los microorganismos y géneros particulares en las muestras, en los distintos intervalos de tiempo pre-establecidos, durante el almacenamiento refrigerado.

Aerobios mesófilos

El recuento para microorganismos aerobios mesófilos fue determinado inoculando 0,1 mL del homogeneizado de cada muestra, de las diluciones seleccionadas, sobre placas estériles contenidas de medio de cultivo PCA (Plate Count Agar) solidificado (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) e incubadas por 48 horas a 35 °C (APHA, 1992).

Recuento para psicrótrofos

El recuento para psicrótrofos fue determinado utilizando el mismo método antes descrito exceptuando que las placas fueron incubadas a 7 °C por 10 días (Cousin *et al.*, 1992).

Recuento de pseudomonas

El recuento para la determinación de pseudomonas se efectuó en agar selectivo para pseudomonas (base) (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) suplementado con ceftrimida, fucidina y cefaloridina (CFC) (Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, UK). Se incubaron por 48 horas a temperatura de 25 °C.

Recuento de bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno (H₂S)

Los microorganismos productores de H₂S fueron enumerados sobre agar hierro de Lyngby (Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, UK). Después de la solidificación, las placas fueron cubiertas con una delgada capa del mismo medio de crecimiento e incubadas por 72 horas a 25 °C (Gram *et al.*, 1987). Colonias negras, color generado por la

precipitación de sulfuro ferroso, fueron caracterizadas por su morfología, reacción de Gram, producción de catalasa y oxidasa, prueba de DNasa, reducción del N-óxido de trimetilamina (TMAO, 'trimethylamine N-oxide'), fermentación de glucosa, lisina, ornitina y arginina, crecimiento en presencia de 6,5 % de NaCl, crecimiento a 4 °C y 37 °C y utilización del citrato, de acuerdo a Sallam (2007).

Recuento de bacterias ácido lácticas

Para la determinación de las bacterias ácido lácticas se empleó el agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS) (Merck, Darmstadt, Germany) y se realizó incubación por 48 horas a 30 °C en jarras para anaerobiosis (adaptado de Joffraud *et al.*, 2006).

Recuento de enterobacterias

El recuento para la determinación de enterobacterias se llevó a cabo utilizando Agar Glucosa Bilis Rojo Violeta (VRBGA, 'Violet Red Bile Glucose Agar') (Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA - Difco™ Laboratories, Inc., Michigan, USA). Las placas fueron cubiertas con el mismo medio, una vez sembrado el inóculo, e incubaron por 24 horas a 37 °C.

Evaluación de la oxidación lipídica

La evaluación lipídica fue llevada a cabo a través de dos índices diferentes, la medición del valor de peróxido (VP) y el ensayo del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA, '2-thiobarbituric acid') de acuerdo a Zhuang *et al.* (1996).

Medición del valor de peróxido (VP)

El valor de peróxido fue determinado de acuerdo con la AOAC Internacional (1999). Cinco gramos de muestra fueron pesados en un

matraz Erlenmeyer de 250 mL y luego calentados en un baño de maría a 60 °C por 3 minutos para fundir la grasa; posteriormente se añadieron 30 mL de una solución cloroformo-ácido acético (2:3) y se agitó fuertemente por 3 minutos hasta disolver la grasa. Luego se filtró en papel WhatmanTM (Whatman International

Limited, UK) para remover las partículas de carne. Se añadieron 0,5 mL de una solución saturada de yoduro de potasio al filtrado. Finalmente se tituló con tiosulfato de sodio (25 g/L) y el VP fue calculado y expresado en miliequivalentes de peróxido/kg de muestra de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{VP (meq/kg)} = \frac{\text{Volumen gastado en la titulación (mL)} \times \text{Normalidad del tiosulfato de sodio (meq/L)}}{\text{Peso de la muestra (kg)}} \times 1000$$

Determinación del valor de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)

El ensayo del ácido 2-tiobarbitúrico fue llevado a cabo de acuerdo al procedimiento de Schmedes y Hølmer (1989). Diez gramos de muestra fueron mezclados con 25 mL de ácido tricloroacético al 20 % (p/v) y homogeneizados bajo agitación por 30 s. Luego se procedió a filtrar y después de la filtración, 2 mL del filtrado fueron añadidos a 2 mL de una solución de TBA al 0,02 M, la cual estaba en un tubo de vidrio ámbar. Los tubos fueron incubados a temperatura ambiental en oscuridad por 20 horas, luego se midió la absorbancia a 532 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis SHIMADZU, modelo UVmini-1240 (SHIMADZU Corporation, Kyoto, Japón). El valor de TBA fue expresado como mg de malonaldehído/kg de muestra de pescado.

Análisis estadísticos

Durante cada ocasión de muestreo, cuatro muestras independientes a partir de cada condición de procesamiento, fueron objeto de pruebas microbiológicas y de oxidación lipídica. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo por triplicado y todos los conteos microbianos fueron convertidos a logaritmos base 10 de UFC/g muestra (\log_{10} UFC/g). Los datos fueron sujetos a análisis de varianza (ANOVA) usando el procedimiento del Modelo

Lineal General empleando el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versión 10.0 para Windows (SPSS Inc. Chicago IL, USA). Las diferencias entre los valores medios de los distintos tratamientos y periodos de almacenamiento fueron determinadas por la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD, 'Least Significant Difference' por sus siglas en inglés) y la significancia fue establecida como $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición proximal

El contenido promedio ($\pm D. S.$) de humedad, proteína, lípidos y cenizas (g/100 g de músculo de pescado) en el bagre crudo analizado fue de $67,86 \pm 1,43$; $20,93 \pm 0,56$; $6,32 \pm 0,72$ y $1,71 \pm 0,11$, respectivamente. La composición proximal del bagre crudo publicada en diferentes estudios (Izquierdo-Córser *et al.*, 2000; Perea *et al.*, 2008) mostró algún grado de diferencias, especialmente para el contenido de lípidos. Valores de grasa de 0,9 a 2,4 % fueron determinados por González *et al.* (2007) para la misma especie, objeto de esta investigación, en el delta del Orinoco. Tales variaciones en la composición química de los peces están muy relacionadas con la nutrición, variación sexual, talla, área donde habita, época de captura, así como a condiciones del medio

ambiente (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2000). La variación de composición, debido a las razones mencionadas anteriormente, es posible que de lugar a cambios en los atributos sensoriales, incluyendo el sabor, olor, textura, color y apariencia superficial, que controlan la aceptabilidad del pescado como alimento (González-Fandos *et al.*, 2005).

Evaluación microbiológica

El deterioro del pescado ocurre principalmente como resultado de la actividad bacteriológica, la cual conduce a pérdidas de calidad y un subsecuente deterioro (Liston, 1980). El daño bacteriano en los pescados y productos pesqueros refrigerados bajo condiciones de almacenamiento aeróbico es causado por organismos psicrotróficos Gram negativos, tales como, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Shewanella* y *Flavobacterium* spp. (FAO, 1995). Sin embargo, tales microorganismos no son los mismos en todos los casos y la microflora aislada entre los productos pesqueros difiere considerablemente de un estudio a otro, dependiendo de múltiples factores incluyendo las especies de pescados, su medio ambiente, el modo de captura, el tipo de producto a base de pescado (entero, entero eviscerado, filetes, rodajas), así como las condiciones climáticas y de almacenamiento (Gram y Dalgaard, 2002).

Contaje de aerobios en placas (CAP)

La calidad inicial del pescado utilizado en este estudio fue buena, como lo indica un bajo contenido inicial de bacterias ($< 4 \log_{10}$ UFC/g) antes de que las rebanadas de bagre fueran sometidas a los distintos tratamientos. El CAP inicial (\log_{10} UFC/g) en rebanadas de bagre promedió desde 3,21 en las muestras tratadas con Ajo hasta 3,72 en el control (Fig. 1). Esto indicó que la inmersión de las rebanadas de bagre en las diferentes soluciones de tratamiento no resultó en una reducción mar-

cada (solo 0,36-0,51 \log_{10} UFC/g) del CAP inicial. Para el día 6 de almacenamiento, sin embargo, los CAPs en las rebanadas de bagre para todos los distintos tratamientos aún estaban por debajo de 6 \log_{10} UFC/g, mientras que el del control alcanzó una cifra de 6,20 la cual está cerca del límite máximo recomendado de 7 \log_{10} UFC/g de CAP en el pescado crudo (ICMSF, 2002), lo que indica una vida útil microbiológica de alrededor de 7-8 días para las muestras control no tratadas.

En estudios similares utilizando otras variedades de pescado, Pantazi *et al.*, (2008) evaluaron la vida útil de rodajas de pez espada del Mediterráneo (*Xiphias gladius*) empacadas con aire, al vacío y en atmósferas modificadas almacenadas bajo refrigeración a 4 °C y estimaron una vida útil de 7 días para las muestras de pez espada empacadas con aire, 9 días al vacío y de 11 a 12 días en atmósferas modificadas. Del mismo modo, una vida útil de 15, 12 y 12 días ha sido estimada para rodajas de salmón del Pacífico (*Onchorhynchus nerka*) tratadas por inmersión en soluciones acuosas al 2,5 % de acetato de sodio, lactato de sodio y citrato de sodio, respectivamente, almacenadas bajo refrigeración a 1 °C (Sallam, 2007). Hozbor *et al.* (2006) estimaron una vida útil menor a 10 días para el salmón de mar (*Pseudoperca semifasciata*) almacenado en hielo a 0 °C. Una vida útil de 15-16 y 10-12 días ha sido estimada en trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*) entera sin eviscerar y fileteada almacenadas en hielo (Chytiri *et al.*, 2004).

No existe información en la literatura que presente un estudio sobre la vida útil del bagre dorado almacenado en ambiente refrigerado. Sin embargo, es una especie que posee alta resistencia al deterioro una vez fuera del agua y sus características fisicoquímicas, microbiológicas y morfológicas varían de acuerdo al ciclo hidrológico del Río Orinoco. Dicho ciclo comprende dos estaciones: inundación, durante la época lluviosa (Mayo a Noviembre) y temporada seca (Noviembre a Mayo) (Lewis *et al.*, 2000).

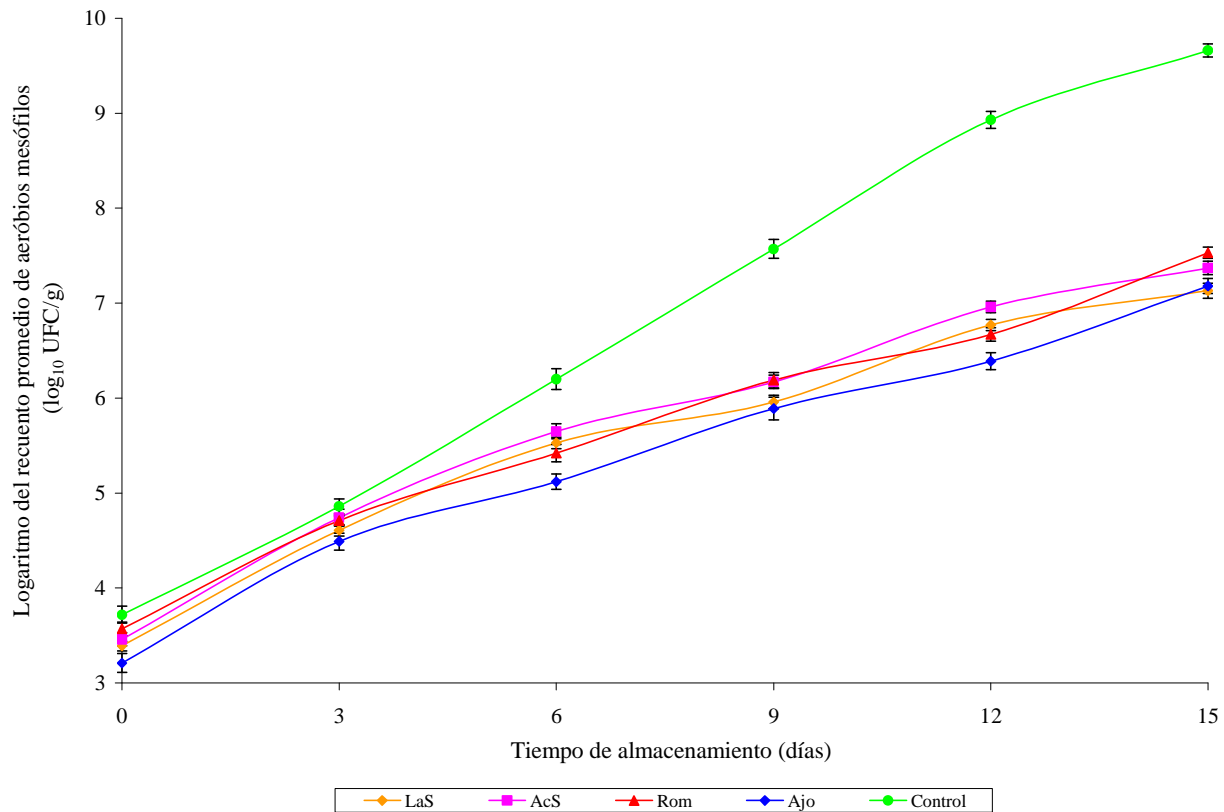


Figura 1.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre el conteo de aerobios en placas en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a 4 °C. Valores representan el promedio de aerobios \pm D. S. de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

Este estudio se llevó a cabo durante la época lluviosa, en la cual las condiciones fitosanitarias disminuyen considerablemente en los principales puertos de desembarque a lo largo del Río Orinoco; de aquí que el suministro de hielo, agua potable, manipuladores y lugares para el almacenamiento del pescado escaseen. Obviamente, ello conduce a una reducción drástica de la calidad del pescado y a una menor vida útil del mismo. En el punto de rechazo sensorial, el número común de las bacterias aerobias deteriorativas en los productos pesqueros aeróbicamente almacenados es típicamente 7-9 \log_{10} UFC/g (Gram y Huss, 1996; Olafsdóttir *et al.*, 1997). No obstante, las

normas, directrices y especificaciones suelen utilizar contajes totales mucho más bajos como índices de aceptabilidad (Olafsdóttir *et al.*, 1997).

Los distintos tratamientos aplicados a las rebanadas de bagre dorado retrasaron significativamente el crecimiento microbiano y extendieron la vida útil del producto hasta 15 días para todos los tratamientos. Al final del periodo de almacenamiento (día 15), las rebanadas de bagre tratadas con LaS, AcS, Rom y Ajo revelaron CAPs significativamente bajos ($p < 0,05$) (7,13; 7,37; 7,53 y 7,18 \log_{10} UFC/g, respectivamente) en comparación con el control (9,66 \log_{10} UFC/g). No obstante, no se observaron diferencias significativas entre los

CAPs de los distintos tratamientos ($p > 0,05$).

Estudios *in vitro* han demostrado la actividad antibacterial de los extractos y aceites esenciales contra *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* a niveles entre 0,2 y 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (Burt, 2004). Los organismos Gram negativos son ligeramente menos susceptibles que las bacterias Gram positivas. Se ha indicado que el tratamiento con extracto de romero produce una reducción significativa de la población microbiana, además de suprimir el crecimiento de *Streptococcus iniae* en tilapia (*Oreochromis* sp.) (Abutbul *et al.*, 2004). Mahmoud *et al.* (2004) utilizaron extracto de ajo y otros 9 aceites esenciales, por separado, logrando extender la vida útil en filetes de carpa (*Cyprinus carpio*) desde 4 a 12 días en almacenamiento refrigerado a 5 °C.

En el pescado, al igual que en otros productos cárnicos, un alto contenido en grasas parece reducir la efectividad antibacterial de los aceites esenciales. Por ejemplo, el aceite de orégano a 0,5 $\mu\text{L}/\text{g}$ es más efectivo contra *Photobacterium phosphoreum* en filetes de bacalao que sobre salmón, el cual es un pescado graso (Mejlholm y Dalgaard, 2002). El aceite de orégano es más efectivo en o sobre el pescado que el aceite de menta, aún en rebanadas de pescados grasos; esto fue confirmado en dos experimentos con pescados usando los dos aceites esenciales a la misma concentración (5-20 $\mu\text{L}/\text{g}$) (Tassou *et al.*, 1996; Koutsoumanis *et al.*, 1999). La extensión del aceite esencial sobre la superficie de pescado entero o la utilización del mismo en una capa para camarones parece eficaz en la inhibición de la flora natural de deterioro del camarón (Ouattara *et al.*, 2001; Harpaz *et al.*, 2003). La discrepancia de los efectos de los extractos naturales sobre el crecimiento microbiano en los productos pesqueros puede depender de una variedad de factores, incluyendo la concentración utilizada de dichos extractos naturales, el tiempo de inmersión, las especies

de pescados, el tipo de producto pesquero, el grado de contaminación microbiana, así como las condiciones de almacenamiento.

Contaje de bacterias psicotróficas (CBP)

Las bacterias psicotróficas son las principales contribuyentes del deterioro de los alimentos marinos a temperaturas de refrigeración (Kraft, 1992; Jay, 1996). En este trabajo, el CBP inicial (día 0) en las rebanadas de bagre promediaron desde 3,44 en las muestras sumergidas en Ajo hasta 4,47 \log_{10} UFC/g en el control (Fig. 2). Adicionalmente, el patrón de crecimiento de CBP mostró el mismo comportamiento como el de la CAP, con el control también siendo el más alto al día 15 (10,82 \log_{10} UFC/g), seguido por las muestras tratadas con AcS (8,29 \log_{10} UFC/g), Rom (7,79 \log_{10} UFC/g) y LaS (7,39 \log_{10} UFC/g), mientras que el menor conteo (7,17 \log_{10} UFC/g) fue detectado en las muestras tratadas con Ajo. La población psicotrófica, sin embargo, fue relativamente más alta que la CAPs, y para el día 15 de almacenamiento, la diferencia en el recuento osciló entre 0,48-log en las rebanadas sumergidas en Ajo a 1,12-log en la muestra control, lo cual se atribuyó a la condición de almacenamiento refrigerado (4 °C) del bagre en rebanadas. Estos resultados son similares a los encontrados por Sallam (2007) pero en salmón del Pacífico (*Onchorhynchus nerka*), quien reveló patrones similares de crecimiento para la población psicotrófica en el salmón durante el almacenamiento refrigerado (1 °C).

El período de almacenamiento refrigerado (4 °C) tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$) sobre el CBP, el cual aumentó en la medida que transcurría el tiempo de almacenamiento, independientemente del tratamiento. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el CBP inicial de las muestras tratadas con Ajo y el de los demás tratamientos, así como también entre las mues-

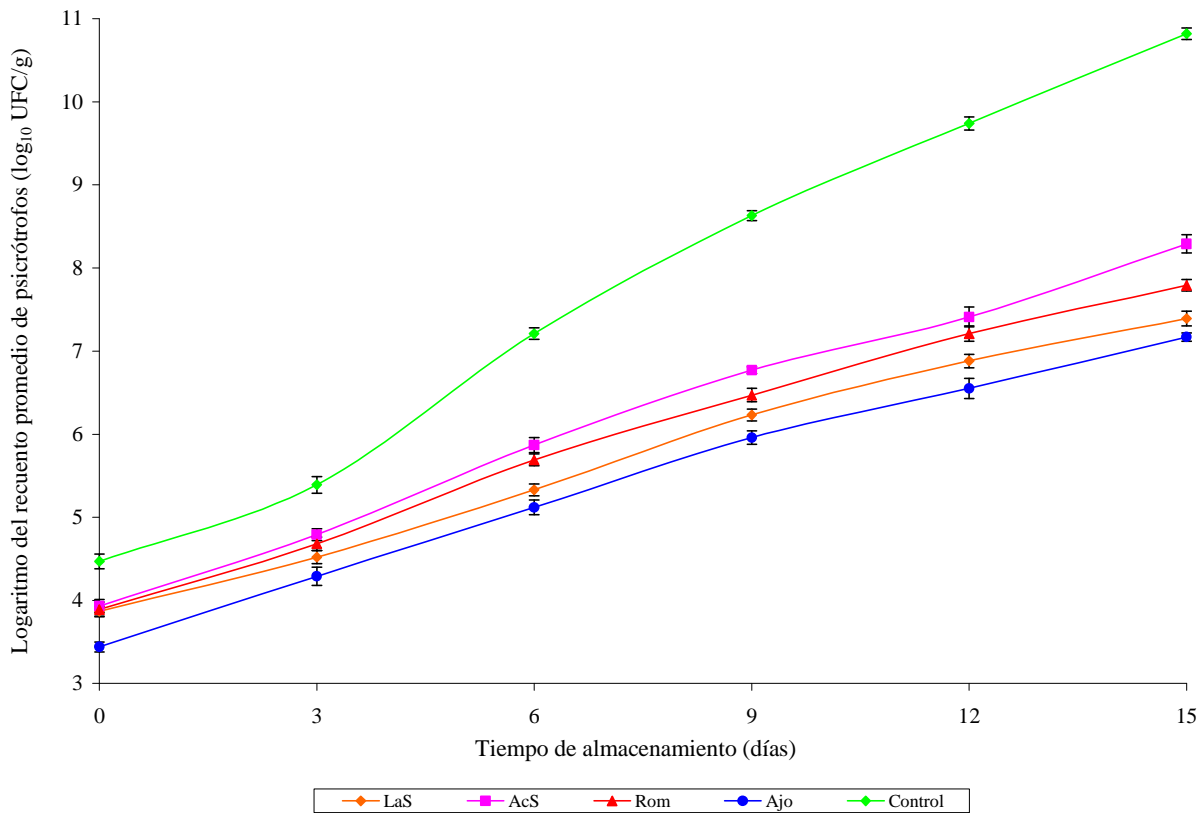


Figura 2.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de Sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre el conteo de bacterias psicrotróficas en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a 4 °C. Valores representan el promedio \pm D. S. de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

tras tratadas con el control, siendo estas diferencias significativas ($p < 0,05$) más marcadas para el final del período de almacenamiento (día 15) (1,72-3,65 unidades logarítmicas) entre todas las muestras y el control. Estos resultados concuerdan con los publicados por Williams *et al.* (1995), quienes indicaron que el tratamiento de filetes de bagre fresco con lactato de sodio (1 % ó 2 % de reducción), dio lugar a una reducción inicial significativa en el CBP comparado con el control y en el CBP al final del periodo de almacenamiento. Por el contrario, Sallam (2007), en la evaluación de la calidad microbiológica de rebanadas de salmón fresco utilizando soluciones acuosas de acetato, lactato

y citrato de sodio, señaló que los resultados no revelaron diferencia significativa ($p > 0,05$) entre el CBP inicial de los diferentes tratamientos o entre las muestras tratadas con el control; aunque, para el final del almacenamiento (día 15), fueron detectadas diferencias significativas ($p < 0,05$) (1,92-3,26 unidades logarítmicas) entre todas las muestras tratadas y el control, destacando que el CBP en las muestras tratadas con acetato de sodio fue de 1,05 y 1,34 unidades logarítmicas más bajas que las de las muestras tratadas con lactato y citrato de sodio, no detectando ninguna diferencia significativa entre esos tratamientos.

Todos los distintos tratamientos (soluciones acuosas 2,5 % de LaS, AcS, Rom o

Ajo) utilizados en este estudio controlaron significativamente ($p < 0,05$) el crecimiento de bacterias psicrotróficas en las rebanadas de bagre. Por el contrario, se ha señalado que el tratamiento con LaS (2 %) tiene poco o ningún efecto sobre las poblaciones psicrotróficas en el camarón (Zhuang *et al.* 1996) y la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Nykänen *et al.*, 1998) durante el almacenamiento refrigerado. Por otra parte, Zhuang *et al.* (1996) indicaron que el tratamiento con acetato de sodio (2 %) resultó en una reducción significativa en el crecimiento de bacterias psicrotróficas en filetes de bagre de canal, pero no en el camarón, en comparación con los controles por más de 12 días de almacenamiento a 4 °C. Einarsson y Lauzon (1995) encontraron en camarón (*Pandalus borealis*), en una muestra control sin preservativos, sometido a marinación con NaCl, ácido cítrico y glucosa, un conteo de psicrotrófos (\log_{10} número de bacterias/g) > 6 a los 10 días a 4,5 °C.

Recuentos de pseudomonas

El desarrollo de una asociación deteriorativa en el pescado almacenado aeróbicamente consiste típicamente de bastones Gram negativos, psicrotróficos no fermentativos (Zambuchini *et al.*, 2008). Por lo tanto, en el almacenamiento bajo condiciones refrigeradas, la flora está compuesta casi exclusivamente por *Pseudomonas* spp. y *Shewanella putrefaciens* (Gram y Melchiorsen, 1996; Chytiri *et al.*, 2004; Hozbor *et al.*, 2006). El conteo inicial de *Pseudomonas* spp. (\log_{10} UFC/g) promedió desde 1,71 en las rebanadas de bagre tratadas con LaS hasta 2,19 en el control, mientras que para el final del almacenamiento, el conteo de *Pseudomonas* en las diferentes muestras fue de 5,47; 5,86; 6,12 y 6,39 en las muestras tratadas con LaS, Ajo, AcS y Rom, respectivamente (Fig. 3). El recuento de *Pseudomonas* spp. tuvo tendencia a incrementar en la medida que aumentó el tiempo de almacenamiento. Estos resultados concuerdan

con los publicados por Gram y Melchiorsen (1996). Recuentos más elevados (6,08; 6,36; 6,68 tratados con acetato, lactato y citrato de sodio, respectivamente) siendo 2 unidades logarítmicas más bajos que un control (8,73) fueron determinados por Sallam (2007) para rebanadas de salmón almacenadas a 1 °C. Asimismo, recuentos totales de *Pseudomonas* (\log_{10} UFC/g) de 5,04 y 6,00; sobre la superficie y en el tejido, respectivamente, en filetes de lenguado (*Solea solea* L.) almacenados después de 10 días a 0 °C, fueron indicados por Zambuchini *et al.* (2008).

Las especies de *Pseudomonas* están implicadas en los procesos de decadencia dado que estos microorganismos son capaces de provocar la deterioración del producto desarrollando gustos y olores desagradables, causados por su intensa actividad bioquímica (Zambuchini *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos en los distintos tratamientos aplicados a rebanadas de bagre mostraron una reducción significativa ($p < 0,05$) en las poblaciones de *Pseudomonas*, por lo que todas las diferentes muestras tratadas nunca alcanzaron una población igual o superior a $7 \log_{10}$ UFC/g, de aquí que, el tiempo de vida útil mínimo para éstas fue de 15 días en almacenamiento a 4 °C.

Bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno (H₂S)

Las bacterias productoras de H₂S constituyeron una mediana proporción de la microflora de las rebanadas de bagre (Fig. 4). Los conteos iniciales de estas bacterias permanecieron en bajos niveles (1,20; 1,26; 1,32 y 1,39 \log_{10} UFC/g, en las muestras tratadas con LaS, AcS, Ajo y Rom, respectivamente), así como también en las muestras control, en comparación con el recuento de *Pseudomonas* spp. durante todo el período de almacenamiento y al final del estudio (día 15). El conteo (\log_{10} UFC/g) de bacterias productoras de H₂S detectado para el

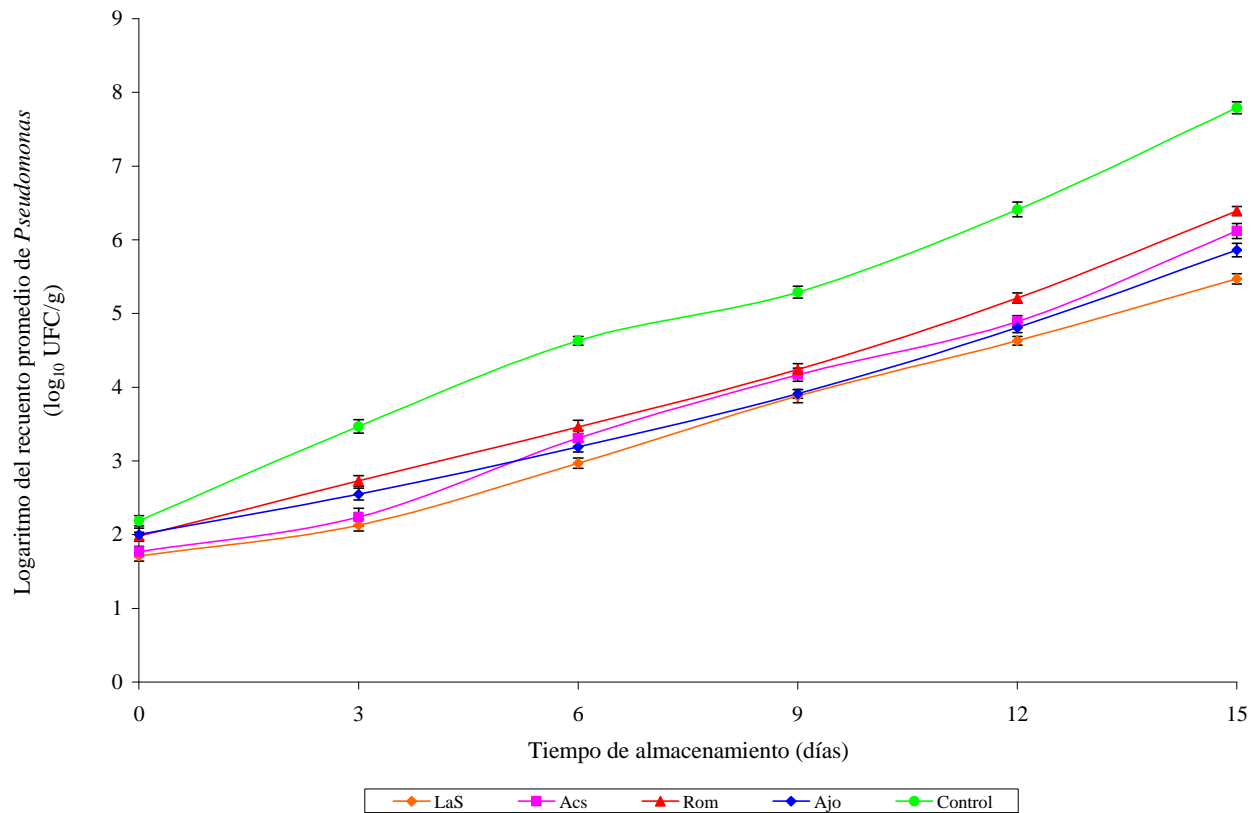


Figura 3.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre el conteo de *Pseudomonas* en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a 4 °C. Valores representan el promedio \pm D. S. de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

control fue 1,86 unidades logarítmicas más bajo que el de las *Pseudomonas* spp. (5,93 versus 7,79) en las muestras correspondientes al día 15. Este resultado es consistente con los establecidos para otras especies de productos pesqueros almacenados en frío, como trucha arco iris (Chytiri *et al.*, 2004), pulpo entero (*Octopus vulgaris*) (Vaz-Pires y Barbosa, 2004), rebanadas de salmón (Sallam, 2007), sepia (*Sepia officinalis*) y calamar (*Illex coindetii*) (Vaz-Pires *et al.*, 2008), filetes de pez espada (*Xiphias gladius*) empacados a vacío y en atmósferas modificadas (Pantazi *et al.*, 2008).

El deterioro bacteriano en pescados y productos pesqueros refrigerados bajo

condiciones de almacenamiento aeróbico es causado por organismos psicrotróficos Gram negativos, tales como, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Shewanella* y *Flavobacterium* spp. (Hobbs, 1991). Debido a que las bacterias productoras de H₂S, principalmente *S. putrefaciens* y *Pseudomonas* spp., son dos microorganismos psicrotróficos fuertemente competitivos (Koutsoumanis *et al.*, 1999), la fase lag inicial de las bacterias productoras de H₂S podría ser el resultado de la inhibición por parte de *Pseudomonas* spp. (Pantazi *et al.*, 2008). Se ha mencionado que *Pseudomonas* spp. puede inhibir el crecimiento de las bacterias productoras de H₂S (incluyendo *S. putrefaciens*) debido a la capacidad del ésta

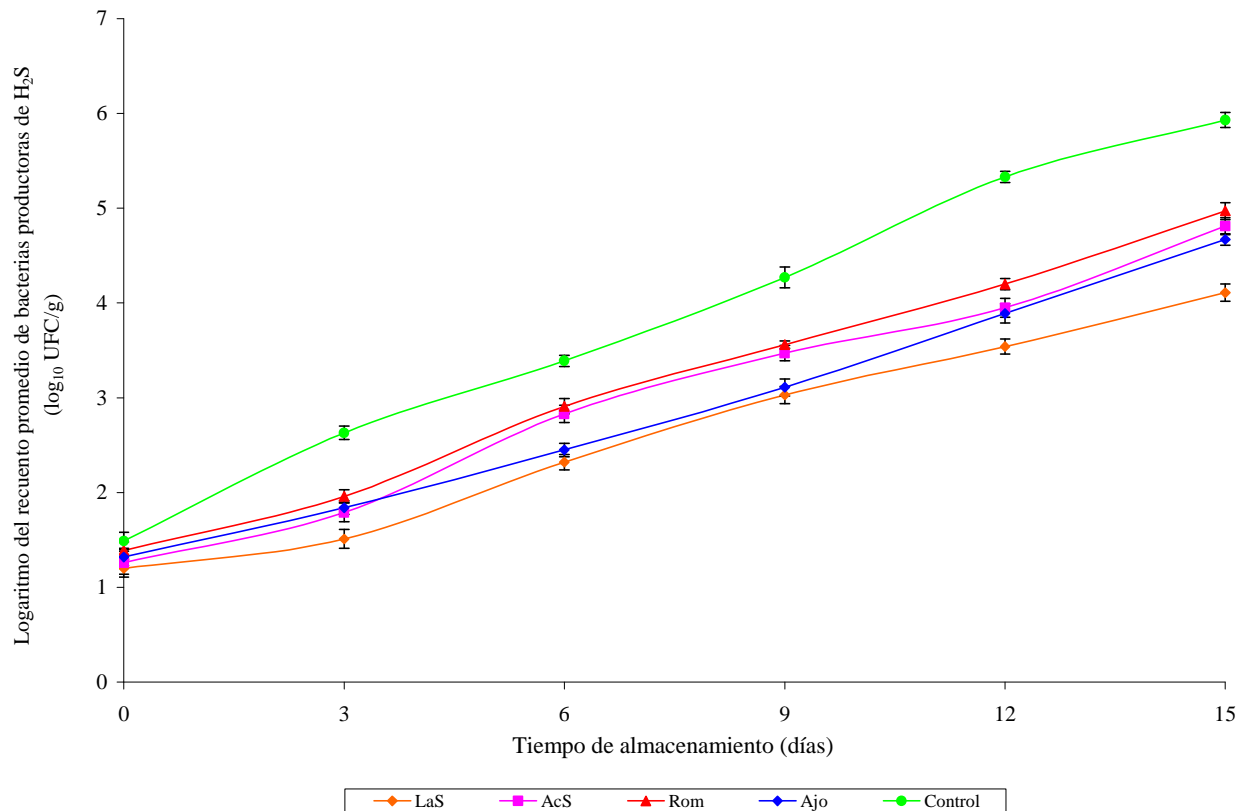


Figura 4.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre el conteo de bacterias productoras de H_2S en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a $4\text{ }^\circ\text{C}$. Valores representan el promedio $\pm D. S.$ de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

para producir sideróforos, y esta interacción puede ser el principal factor que rige el desarrollo de la flora deteriorativa (Gram y Melchiorson, 1996).

Las rebanadas de bagre tratadas con las diferentes soluciones contuvieron contajes más bajos de bacterias productoras de H_2S durante todo el período de almacenamiento cuando se comparó con el control, y al final del almacenamiento, una reducción significativa ($p < 0,05$) se detectó en el contaje de bacterias productoras de H_2S en todas las diferentes muestras tratadas (4,11-4,97) en comparación con el control (5,93). La inhibición completa de las bacterias productoras de H_2S ha sido reportada en filetes de bacalao (*Gadus morhua*)

fresco rociados con buffer acetato 10 % y almacenado bajo atmósfera modificada durante 12 días a $7\text{ }^\circ\text{C}$ (Boskou y Debevere, 2000).

Un total de 27 géneros fueron aislados a partir de los recuentos de bacterias productoras de H_2S en este estudio. La mayoría de los aislados (81 %) fueron bacilos Gram negativos, móviles, catalasa y oxidasa positivos, no fermentativos, capaces de crecer a $4\text{ }^\circ\text{C}$, ornitina descarboxilasa positiva y, 59 % del 81 % de los aislados, no crecieron en presencia de NaCl 6,5 %. Las bacterias productoras de H_2S contribuyeron con un 9 % del total de la flora en las rebanadas de bagre, siendo *Shewanella putrefaciens* el principal organismo aislado. Enterobacteriaceae, Aeromonaceae y Vibriona-

ceae fueron las familias microbianas con mayor presencia en las rebanadas de bagre. Resultados similares han sido documentados para especies de tilapias frescas *Oreochromis mossambicus*, (Álvarez-R y Agurto-O, 2000), *Oreochromis niloticus* (Morales *et al.*, 2004) y carpa (*Cyprinus carpio*) (Mahmoud *et al.*, 2004).

Bacterias ácido lácticas (BAL)

El conteo inicial de BAL (\log_{10} UFC/g) varió desde 1,19 en las muestras tratadas con Rom a 1,78 en el control (Fig. 5). Un conteo final de 4,43 fue alcanzado en las muestras control al final del periodo de almacenamiento (día 15), mientras que las muestras tratadas con Rom y AcS alcanzaron una reducción significativa ($p < 0,05$) en comparación con el control. Por el contrario, no se alcanzó una reducción significativa ($p > 0,05$) en las muestras tratadas con Ajo y LaS a pesar de que contenían 0,47 y 0,57 unidades logarítmicas, respectivamente, más bajas que la del control. Las muestras tratadas con Rom mostraron un valor final de 2,97 unidades logarítmicas. Resultados similares fueron observados en albóndigas de carne almacenadas a 8 ± 1 °C por 12 días (Fernández-López *et al.*, 2005). Algunos estudios señalan que la mayoría de los compuestos fenólicos apolares del extracto de romero, presumiblemente, son los responsables de su actividad antibacteriana (Del Campo *et al.*, 2000; Karamanoli *et al.*, 2000). Davidson (1993) ha señalado que las bacterias Gram positivas son generalmente más susceptibles a los compuestos fenólicos apolares que las bacterias Gram negativas. De hecho, 292 géneros Gram positivos de BAL fueron aislados a partir de trucha empacada a vacío y los mismos estuvieron dentro de los intervalos de $4 - 6 \log_{10}$ UFC/g y $5 - 7 \log_{10}$ UFC/g cuando se almacenaron a 3 y 8 °C, respectivamente, durante 12 días (Lyhs *et al.*, 2002).

Aunque los productos pesqueros no son el hábitat ideal para BAL debido a su bajo

contenido de carbohidratos, estos microorganismos son encontrados en distintas especies de pescados frescos, productos pesqueros o en los contenidos intestinales de los pescados (Lyhs *et al.*, 1999). Además de ello, las BAL pueden competir por nutrientes o espacio con los microorganismos deteriorativos, tales como ciertas bacterias Gram negativas. Más aún, la producción de ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno y metabolitos de bajo peso molecular, pueden extender la vida útil de los productos alimenticios debido a su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de bacterias deteriorantes y patogénicas (Huss *et al.*, 1995).

Enterobacteriaceae (EBC)

La población de Enterobacteriaceae fue ligeramente más baja que aquella obtenida para otras bacterias en este estudio. El conteo inicial de EBC (\log_{10} UFC/g) varió desde 1,17 en las muestras tratadas con LaS a 1,44 en el control (Fig. 6). Se alcanzó un conteo final de 4,34 en las muestras control al final del periodo de almacenamiento (día 15), mientras que las muestras tratadas con LaS y Ajo alcanzaron una reducción significativa ($p < 0,05$) en comparación con el control. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las muestras tratadas con Rom y AcS, pero sí entre éstas y el control. Sallam (2007) indicó una reducción significativa ($p < 0,05$) en el contenido de EBC en rebanadas de salmón tratadas con LaS, similar a las encontradas en este estudio. De aquí que, el lactato de sodio se presenta como un potencial inhibidor de Enterobacteriaceae en el pescado.

Aunque las EBC pueden crecer a bajas temperaturas, su abundancia disminuye durante el almacenamiento refrigerado, posiblemente debido a que su relación de crecimiento es más baja que la del otro grupo de deterioradores psicrotróficos Gram negativos. La contribución de Enterobacteriaceae en la microflora del

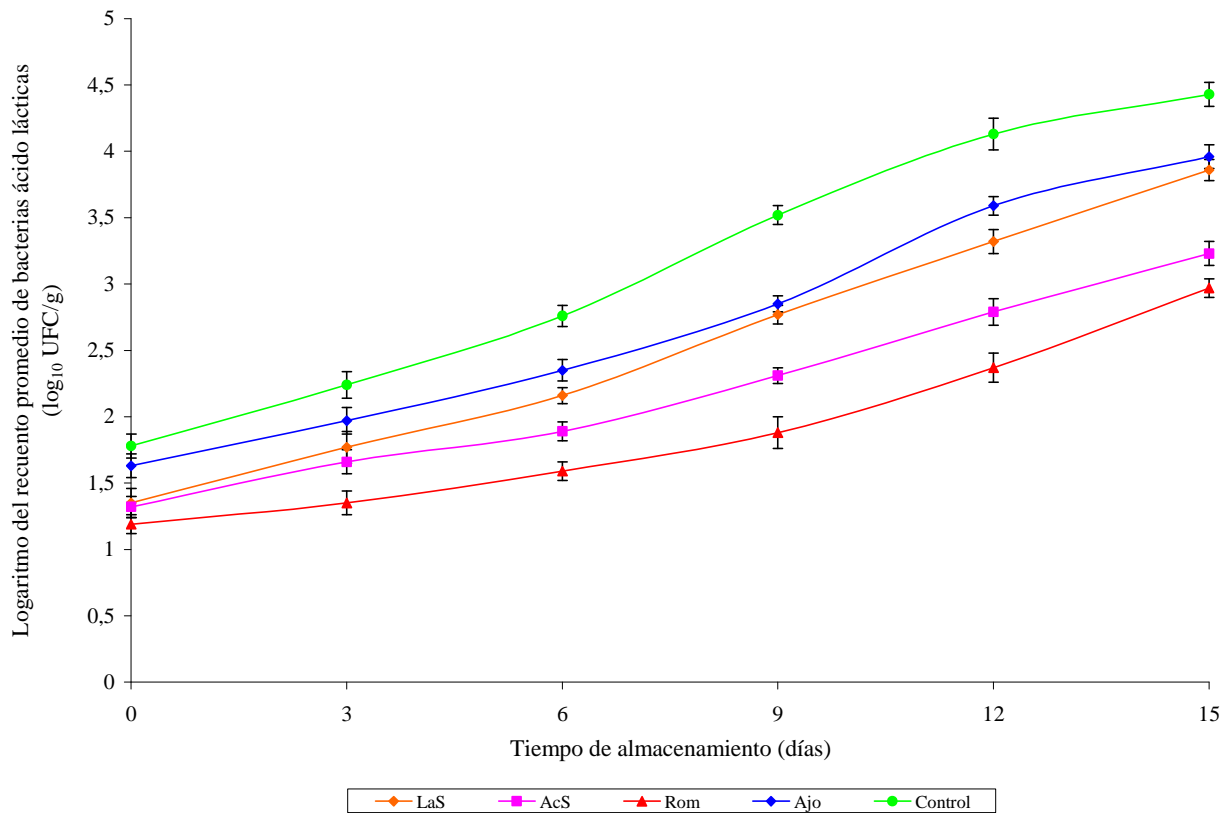


Figura 5.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre el conteo de bacterias ácido lácticas en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a 4 °C. Valores representan el promedio \pm D. S. de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

pescado y su potencial deteriorativo debe ser tomado como una consideración especial en el caso de aguas contaminadas o retardo del enfriamiento después de las capturas (Papadopoulos *et al.*, 2003).

Oxidación lipídica

La oxidación lipídica está asociada con el desarrollo de la rancidez y deterioro oxidativo. En el pescado, una cantidad de su alto contenido de PUFAs es altamente susceptible a la oxidación lipídica durante la manipulación, procesamiento y almacenamiento (Mendes *et al.*, 2009). Como consecuencia del deterioro oxidativo, se forman

hidroperóxidos, los cuales, a su vez, son inestables y se descomponen a aldehídos, cetonas, entre otros (St. Angelo, 1996). Estos productos de la oxidación secundaria pueden cambiar la calidad del alimento, bien sea el color, textura, flavor y olor (Fernández *et al.*, 1997).

Valor de peróxido (VP)

El índice de peróxidos se basa en la medida de la concentración de hidroperóxidos (productos primarios de la oxidación) (Guillén y Ruiz, 2004). El VP inicial (meq peróxido/kg de pescado) en las rebanadas de bagre analizadas varió entre 0,81 y 1,07. No se

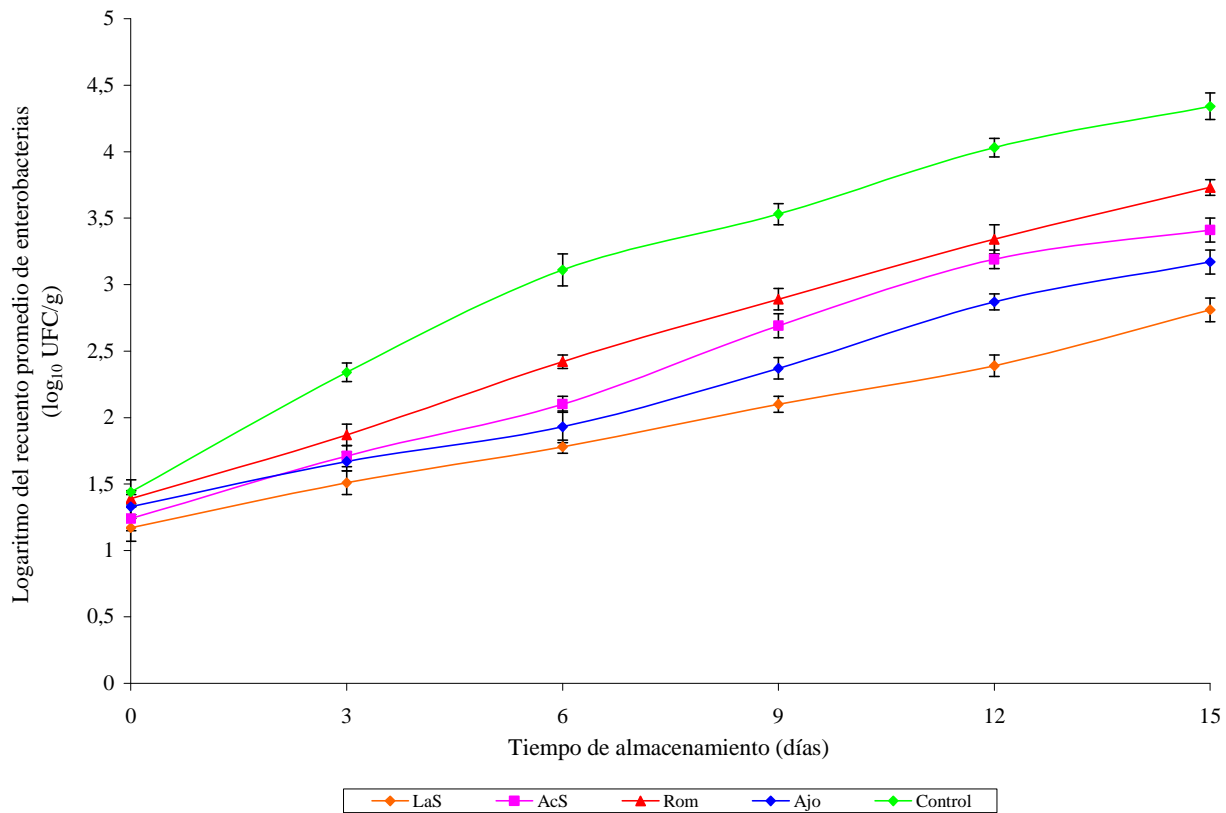


Figura 6.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre el conteo de Enterobacteriaceae en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a 4 °C. Valores representan el promedio \pm D. S. de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) durante los primeros 6 días de almacenamiento entre todas las muestras. Sin embargo, al final del período de almacenamiento, se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los VP entre las muestras control (5,79) y cada una de las muestras tratadas con Rom, AcS, LaS y Ajo, las cuales mostraron valores más bajos de 3,62, 4,06, 4,32 y 4,81, respectivamente (Fig. 7). Por el contrario, VP mucho más altos fueron registrados en anguillas (*Anguilla anguilla*) europeas evisceradas almacenadas a 3 ± 1 °C con hielo (19,7 meq peróxido/kg anguila) y sin hielo (21,6 meq peróxido/kg anguila) después de 19 días de almacenamiento (Özogul *et al.*, 2005).

La principal actividad antioxidante del romero (*Rosmarinus officinalis*) descansa básicamente en el carnosol y en los diterpenos epirosmanol e isorosmanol. Este último es comparable con la actividad antioxidante del butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) (Pokorný, 1991). Otros compuestos que también actúan en el romero son el ácido rosmarínico y ácido carnósico (Tieko-Nassau *et al.*, 2003). Diversos autores han estudiado el uso de extractos de romero como antioxidantes en productos cárnicos, por ejemplo, en embutidos de pavo (Barbut *et al.*, 1985); salchichas de pollo y puerco (Resurreccion y Reynolds, 1990); carne de res (St. Angelo *et al.*, 1990); productos reestructurados (Stoick *et al.*,

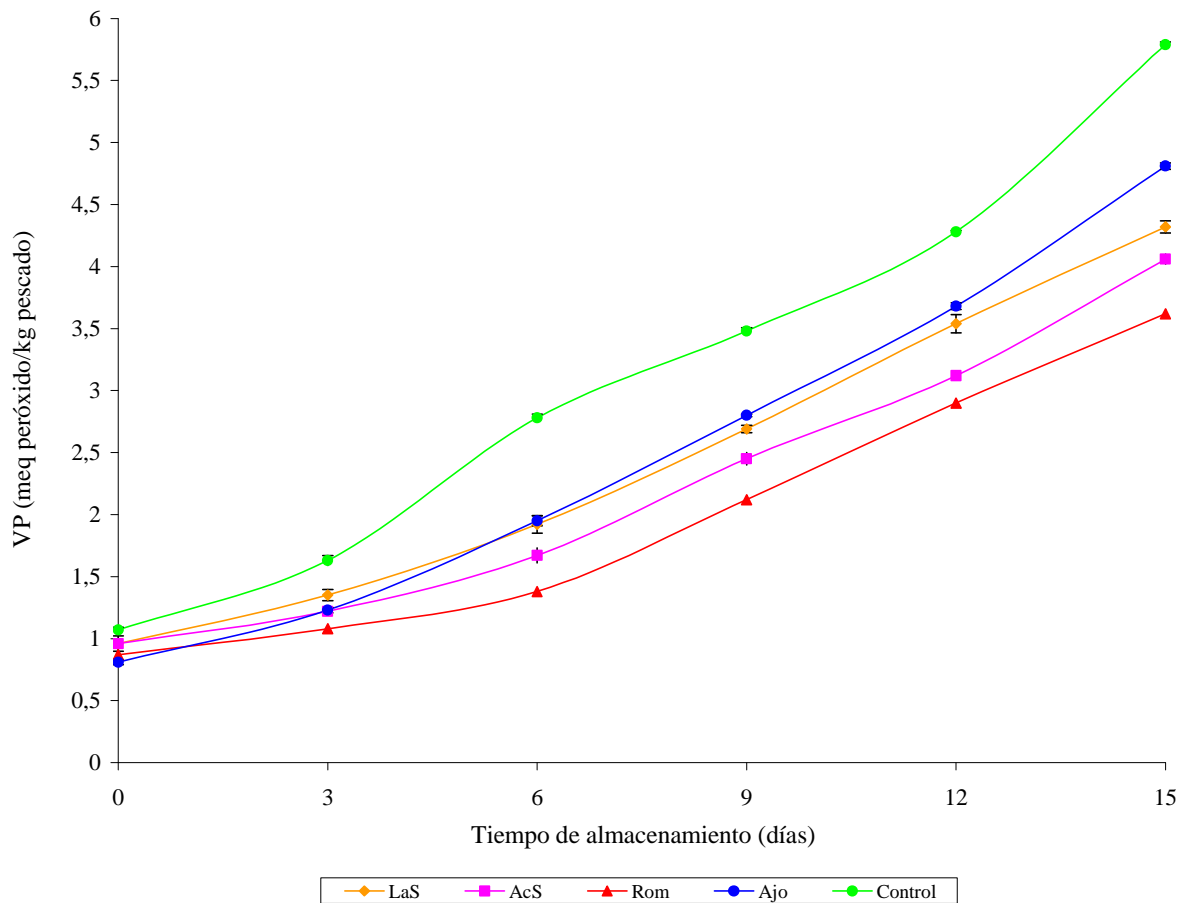


Figura 7.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre la oxidación lipídica (valor de peróxido; VP) en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a 4 °C. Valores representan el promedio \pm D. S. de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

1991; Liu *et al.*, 1992; Pizzocaro *et al.*, 1994); productos pesqueros (Wada y Fang, 1992) y embutidos (Ho *et al.*, 1995). Las muestras tratadas con Rom exhibieron el menor VP (3,62) al día 15 de almacenamiento entre todos los tratamientos ensayados, por lo que dicho resultado sugiere que el Rom tiene un potente efecto antioxidante sobre los lípidos presentes en el bagre dorado.

El tiempo tuvo un efecto significativo sobre el VP de cada tratamiento y el control, sin embargo, los VP en todas las muestras estuvieron muy por debajo del nivel aceptable

propuesto de 10-20 meq peróxido/kg de grasa de pescado (FAO, 1995).

Valor de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)

El TBA es ampliamente usado como indicador para la evaluación del grado de oxidación lipídica secundaria (Nishimoto *et al.*, 1985). Los valores de TBA (mg malonaldehído/kg de pescado) promediaron desde 0,48 en las muestras tratadas con Ajo a 0,57 en las muestras tratadas con AcS (Fig. 8). Los valores de TBA del control y de los tratamientos aumentaron significativamente

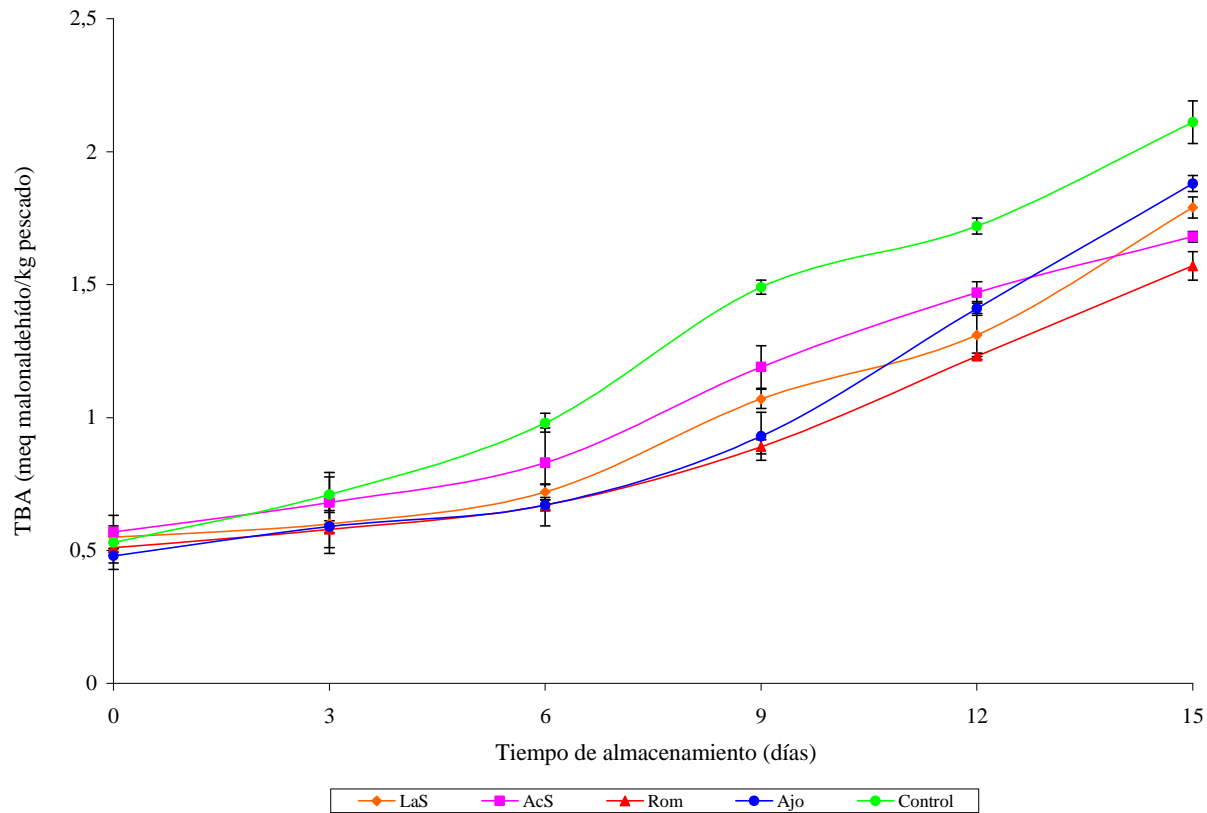


Figura 8.- Efectos de los tratamientos con lactato de sodio (LaS), acetato de sodio (AcS), romero (Rom) y ajo (Ajo) sobre la oxidación lipídica (valor de ácido 2-tiobarbitúrico; TBA) en rebanadas de bagre durante el almacenamiento a 4 °C. Valores representan el promedio $\pm D. S.$ de tres réplicas. LSD definido a $p < 0,05$.

($p < 0,05$) durante el tiempo de almacenamiento; y para el final del período del mismo (día 15) las muestras tratadas con Rom alcanzaron un valor significativo ($p < 0,05$) de TBA más bajo (1,57) en comparación con el control o con las muestras tratadas con Ajo, LaS y AcS, las cuales alcanzaron mayores niveles (1,88, 1,79 y 1,68, respectivamente). El efecto significativo del tiempo de almacenamiento sobre los valores de TBA ha sido verificado en filetes de bagre (*Ictalurus nebulosus marmoratus*) tratados con lactato de sodio (2 %) y filetes control después de 8 días de almacenamiento a 1 °C (Williams *et al.*, 1995). Por otra parte, estos resultados concuerdan con los de Rajesh *et al.* (2002),

quienes observaron una reducción en los valores de TBA en muestras de filetes de pez profeta (*Scomberomorus guttatus*) tratadas con acetato de sodio (2 %) comparadas con las muestras control durante almacenamiento refrigerado. Shalini *et al.* (2000) también observaron valores más reducidos de TBA en filetes de *Lethrinus lentjan* tratados con acetato de sodio y empacados al vacío durante el almacenamiento refrigerado.

Las muestras tratadas con Ajo fueron las que arrojaron el valor promedio más alto (1,88 mg malonaldehído/kg de pescado) entre todas las soluciones ensayadas; en contraposición, las muestras tratadas con Rom (1,57 mg malonaldehído/kg de pescado) fueron las que

mostraron el valor más bajo. Estos resultados coinciden con los publicados por Fernández-López *et al.* (2005) quienes señalaron que el único extracto que no mostró ninguna propiedad antioxidante fue el extracto de ajo, lo que sugiere una actividad pro-oxidante unida al producto de ajo. Los mayores efectos antioxidantes se encontraron en las muestras tratadas con los extractos de romero. Por el contrario, valores de TBA mayores fueron registrados en trucha (*Onchorynchus mykiss*) entera y fileteada (16,21 y 19,41 mg/g, respectivamente) después de 18 días de almacenamiento en hielo ($2 \pm 0,5$ °C) (Chytiri *et al.*, 2004). Valores de TBA mucho más bajos fueron determinados en muestras de *Etroplus suratensis* (0,31, 0,34 y 0,39 mg malonaldehído/kg de pescado en muestras empacadas con aire, al vacío y con inmersión en acetato de sodio empacada al vacío, respectivamente) almacenadas a 0-2 °C (Manju *et al.*, 2007) y también en filetes de macarela (*Scomberomorus commerson*) y tiburón (*Carcharhinus dussumieri*) ($< 0,40$ mg malonaldehído/kg de muestra de pescado, para ambas especies de pescados) almacenadas a -18 °C durante 6 meses (Sahari *et al.*, 2009).

Un valor de TBA dentro del intervalo de 1-2 mg malonaldehído/kg de muestra de pescado es tomado usualmente como valor de aceptabilidad (Lakshmanan, 2000). En todas las muestras, los valores de TBA estuvieron dentro del intervalo durante el período de almacenamiento, no siendo así para las muestras control las cuales superaron el límite superior el último día de almacenamiento.

El escaso incremento en los valores de VP y TBA tanto del control como de las muestras tratadas en este estudio, indicó que los lípidos del bagre son estables durante el almacenamiento refrigerado si se compara con otros peces no grasos como el salmón (Sallam, 2007).

CONCLUSIONES

La inmersión de las rebanadas frescas de bagre en soluciones acuosas (2,5 %) de acetato de sodio y lactato de sodio, así como de romero y ajo, fue eficaz contra la proliferación de distintas categorías de microorganismos deteriorativos, así como también en el retraso de la oxidación lipídica y extensión de la vida útil del producto durante almacenamiento refrigerado; por lo que el acetato de sodio, lactato de sodio, romero y ajo, pueden ser utilizados como preservativos para el pescado en almacenamiento refrigerado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abutbul, S.; Golan-Goldhirsh, A.; Barazani, O. and Zilberg, D. 2004. Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*. 238(1-4):97-105.
- Ackman, Robert G. 1999. Fatty acids. In *Marine biogenic lipids, fats and oils*. (pp. 103-137). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Álvarez-R., Julia D. y Agurto-O, Claudia P. 2000. Bacterioflora Gram negativa aerobia de tilapias silvestres y cultivadas en la región central de Venezuela durante el período 1999-2000. *Veterinaria Tropical*. 25(2):209-228.
- AOAC. 1999. Association of Official Analytical Chemist. *Official Methods of Analysis*. (16ta. ed.). Gaithersburg, MD, USA.
- APHA. 1992. American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (3rd. ed.). Washington D. C., USA.
- Barbut, Shai; Josephson, David B. and Maurer, Arthur J. 1985. Antioxidant properties of rosemary oleoresin in turkey sausage. *Journal of Food Science*. 50(5):1356-1359,1363.

- Boskou, G. and Debevere, J. 2000. Shelf-life extension of cod fillets with an acetate buffer spray prior to packaging under modified atmospheres. *Food Additives and Contaminants*. 17(1):17-25.
- Burt, Sara. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94(3):223-253.
- Burt, Sara A. and Reinders, Robert D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. 36:162-167.
- Chytiri, S.; Chouliara, I.; Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*. 21(2):157-165.
- Cousin, M.A.; Jay, J.M. and Vasavada, P.C. 1992. Psychrotrophic microorganisms. In *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (3rd. ed.). (pp. 153-168). Washington, D.C., USA: American Public Health Association.
- Davidson, P.M. 1993. Parabens and phenolic compounds. In *Antimicrobials in foods*. (pp. 263-306). New York, USA: Marcel Dekker.
- Davis, K. 1999. Calidad y alteración del pescado crudo. En *El pescado y los productos derivados de la pesca: composición, propiedades nutritivas y estabilidad*. (pp. 225-256). Zaragoza, España: Acribia, S. A.
- Del Campo, J.; Amiot, M.J. and Nguyen-The, C. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*. 63 (10):1359-1368.
- Einarsson, Hjörleifur and Lauzon, Hélène L. 1995. Biopreservation of brined shrimp (*Pandalus borealis*) by bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(2):669-676.
- FAO. 1995. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper, N° 348. Rome.
- Fernández-López, J.; Zhi, N.; Aleson-Carbonell, L.; Pérez-Álvarez, J.A. and Kuri, V. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*. 69(3):371-380.
- Fernández, Juana; Pérez-Álvarez, J.A. and Fernández-López, José A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*. 59(3):345-353.
- Frankel, Edwin N.; Satué-Gracia, Teresa; Meyer, Ann S. and German, J. Bruce. 2002. Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(7):2094-2099.
- Garg, M.L.; Wood, L.G.; Singh, H. and Moughan, P.J. 2006. Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. *Journal of Food Science*. 71(5): R66-R71.
- Ghaly, A.E.; Dave, D.; Budge, S. and Brooks, M.S. 2010. Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. *American Journal of Applied Sciences*. 7(7):859-877.
- González, Deokie; Mamerto, Marín; Hernández, María; Acosta, Luis; Gutiérrez, Carmen y Armas, Ángel. 2007. Caracterización de la composición bromatológica y evaluación de los parámetros de calidad (pH y NBV-T), en tres especies de pescado capturadas en la estación de pesca Nabaida, Punta Pescador, delta del Orinoco 2005-2006. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales*. 67(168):105-116.

- González-Fandos, E.; Villarino-Rodríguez, A.; García-Linares, M.C.; García-Arias, M.T. and García-Fernández, M.C. 2005. Microbiological safety and sensory characteristics of salmon slices processed by the sous vide method. *Food Control*. 16(1):77-85.
- Gram, L. 1995. Bacteriological changes. In *Quality and quality changes in fresh fish*. (pp. 51-64). Rome: FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Fisheries Technical Papers, N° 348.
- Gram, Lone and Dalgaard, Paw. 2002. Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*. 13(3):262-266.
- Gram, Lone and Huss, Hans Henrik. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*. 33(1):121-137.
- Gram, L. and Melchiorson, J. 1996. Interaction between fish spoilage bacteria *Pseudomonas* sp. and *Shewanella putrefaciens* in fish extracts and on fish tissue. *Journal of Applied Microbiology*. 80(6):589-595.
- Gram, Lone; Trolle, Gunilla and Huss, Hans Henrik. 1987. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 °C) and high (20 °C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology*. 4(1):65-72.
- Guillén, M.D. and Ruiz, A. 2004. Study of the oxidative stability of salted and unsalted salmon fillets by ¹H nuclear magnetic resonance. *Food Chemistry*. 86(2):297-304.
- Haghpour S.; Kashiri H.; Shabanpour B. and Pahlavani M.H. 2010. Antioxidant properties of sodium acetate, sodium citrate and sodium lactate on lipid oxidation in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) sticks during refrigerated storage (4°C). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 9(1)73-86.
- Harpaz, S.; Glatman, L.; Drabkin, V. and Gelman, A. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection*. 66(3):410-417.
- Ho, C.P.; Huffman, D.L.; Bradford, D.D.; Egbert, W.R.; Mikel, W.B. and Jones, W.R. 1995. Storage stability of vacuum packaged frozen pork sausage containing soy protein concentrate, carrageenan or antioxidants. *Journal of Food Science*. 60(2):257-261.
- Hozbor, M.C.; Saiz, A.I.; Yeannes, M.I. and Fritz, R. 2006. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT) - Food Science and Technology*. 39(2):99-104.
- Hobbs, J. 1991. Fish: microbiological spoilage and safety. *Food Science and Technology Today*. 5(3): 166-173.
- Huss, H.H.; Dalgaard, P. and Gram, L. 1995. Microbiology of fish and fish products. In *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*. (pp. 413-430). Amsterdam: Elsevier Science Publishing.
- ICMSF. 2002. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management*. New York, NY, USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Izquierdo-Córser, Pedro; Torres-Ferrari, Gabriel; Barboza de Martínez, Yasmina; Márquez-Salas, Enrique y Allara-Cagnasso, María. 2000. Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 50(2):187-194.

- Jałosińska, Małgorzata and Wilczak, Jacek. 2009. Influence of plant extracts on the microbiological shelf life of meat products. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 59(4):303-308.
- Jay, J.M. 1996. Seafoods. In *Modern food microbiology* (5th. ed.). (pp. 118-130). New York, NY, USA: Chapman & Hall.
- Joffraud, Jean Jacques; Cardinal, Mireille; Cornet, Josiane; Chasles, Jean Sébastien; Léon, Sandrine; Gigout, Frédérique and Leroi, Françoise. 2006. Effect of bacterial interactions on the spoilage of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*. 112(1):51-61.
- Karamanoli, K.; Vokou D.; Menkissoglu U. and Constantinidou, H.I. 2000. Bacterial colonization of phyllosphere of Mediterranean aromatic plants. *Journal of Chemical Ecology*. 26(9):2035-2048.
- Kolanowski, W.; Swiderski, F. and Berger, S. 1999. Possibilities of fish oil application for food products enrichment with omega-3 PUFA. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 50(1):39-49.
- Koutsoumanis, K.; Lambropoulou, K. and Nychas, G.J.E. 1999. A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. *International Journal of Food Microbiology*. 49(1-2):63-74.
- Kraft, Allen A. 1992. Psychrotrophic bacteria in foods. Disease and spoilage. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Inc. pp. 99-112. (Chapter 5, Spoilage of eggs and fish).
- Krisch, Judit; Pardi, Zsuzsanna; Tserennadmid, Rentsenkhand; Papp, Tamás and Vágvolgyi, Csaba. 2010. Antimicrobial effects of commercial herbs, spices and essential oils in minced pork. *Acta Biologica Szegediensis*. 54(2):131-134.
- Lakshmanan, P.T. 2000. Fish spoilage and quality assessment. In *Quality assurance in seafood processing*. (pp. 26-40). Cochin, India: Society of Fisheries Technologists.
- Lee, Yee Lean; Cesario, Thomas; Owens, John; Shanbrom, Edward and Thrupp, Lauri D. 2002. Antibacterial activity of citrate and acetate. *Nutrition*. 18(7):665-666.
- Lewis, William M. Jr.; Hamilton, Stephen K.; Lasi, Margaret A.; Rodríguez, Marco and Saunders, James F. III. 2000. Ecological determinism on the Orinoco floodplain. *BioScience*. 50(8):681-692.
- Liston, J. 1980. Microbiology in fishery science. In *Advances in fishery science and technology*. (pp. 138-157). Farnham, Surrey, UK: Fishing News Books Ltd.
- Liu, H.F.; Booren, A.M.; Gray, J.I. and Crackel, R.L. 1992. Antioxidant efficacy of oleoresin rosemary and sodium tripolyphosphate in restructured pork steaks. *Journal of Food Science*. 57(4):803-806.
- Lyhs, Ulrike; Björkroth, Johanna and Korkeala, Hannu. 1999. Characterisation of lactic acid bacteria from spoiled vacuum-packaged, cold-smoked rainbow trout using ribotyping. *International Journal of Food Microbiology*. 52(1-2):77-84.
- Lyhs, Ulrike; Korkeala, Hannu and Björkroth, Johanna. 2002. Identification of lactic acid bacteria from spoiled, vacuum-packaged 'gravad' rainbow trout using ribotyping. *International Journal of Food Microbiology*. 72(1-2):147-153.
- Maca, J.V.; Miller, R.K. and Acuff, G.R. 1997. Microbiological, sensory and chemical characteristics of vacuum-packaged ground beef patties treated with salts of organic acids. *Journal of Food Science*. 62(3):591-596.
- Mahmoud, Barakat S.M.; Yamazaki, Koji; Miyashita, Kazuo; II-Shik, Shin; Dong-Suk, Chang and Suzuki, Tetsuya. 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*. 21(6):657-666.

- Manju, S.; Leema, Jose; Srinivasa-Gopal, T.K.; Ravishankar, C.N. and Lalitha, K.V. 2007. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of pearlspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. *Food Chemistry*. 102(1):27-35.
- McWilliam-Leitch, E.C. and Stewart, C.S. 2002. Susceptibility of *Escherichia coli* O157 and non-O157 isolates to lactate. *Letters in Applied Microbiology*. 35(3):176-180.
- Mejlholm, O. and Dalgaard, P. 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*. 34(1):27-31.
- Mendes, Rogério; Cardoso, Carlos and Pestana, Carla. 2009. Measurement of malondialdehyde in fish: a comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry*. 112(4):1038-1045.
- Morales, Graciela; Blanco, Laura; Arias, María Laura y Chaves, Carolina. 2004. Evaluación de la calidad bacteriológica de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) proveniente de la Zona Norte de Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54(4):433-437.
- Tieko-Nassau, Renata; Guaraldo-Gonçalves, Lireny Aparecida; Azevedo-Pereira da Silva, Maria Aparecida and Beserra, Frederico José. 2003. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*. 63(1):43-49.
- Nishimoto, J.; Suwetja, I.K. and Miki, H. 1985. Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel (*Scomber japonicus*) muscle during storage at low temperature. In *Memoirs of Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Japan*. 34(1):89-96.
- Nykänen, Anne; Lapveteläinen, Anja; Kallio, Heikki and Salminen, Seppo. 1998. Effects of whey, whey-derived lactic acid and sodium lactate on the surface microbial counts of rainbow trout packed in vacuum pouches. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT)*. 31(4):361-365.
- Olafsdóttir, G.; Martinsdóttir, E.; Oehlenschläger, J.; Dalgaard, P.; Jensen, B.; Undeland, I.; Mackie, I.M.; Henehan, G.; Nielsen, J. and Nilsen, H. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science & Technology*. 8(8):258-265.
- Ouattara, B.; Sabato, S.F. and Lacroix, M. 2001. Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus* spp.). *International Journal of Food Microbiology*. 68(1-2):1-9.
- Özogul, Yesim; Özyurt, Gulsun; Özogul, Fatih; Kuley, Esmeray and Polat, Abdurrahman. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chemistry*. 92(4):745-751.
- Pacheco-Aguilar, R.; Lugo-Sánchez, M.E. and Robles-Burgueño, M.R. 2000. Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. *Journal of Food Science*. 65(1):40-47.
- Pantazi, D.; Papavergou, A.; Pournis, N.; Kontominas, M.G. and Savvaidis, I.N. 2008. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. *Food Microbiology*. 25(1):136-143.
- Papadopoulos, V.; Chouliara, I.; Badeka, A.; Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass

- (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*. 20(4):411-420.
- Perea, Aide; Gómez, Elieth; Mayorga, Yamile and Triana, Cora Yohanna. 2008. Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 58(1):91-97.
- Pigott, G.M. and Tucker, B.W. 1987. Science opens new horizons for marine lipids in human nutrition. *Food Reviews International*. 3(1-2):105-138.
- Pizzocaro, F.; Senesi, E. e Babbini, G. 1994. Effetto protettivo di salvia e rosmarino freschi su hamburger surgelati di carne bovina. *Industrie Alimentari*. 33(324):289-294.
- Pokorný, Jan. 1991. Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science & Technology*. 2(9): 223-227.
- Rahman, Suriah, Abdul; Huah, Teh Sing; Hassan, Osman and Daud, Nik Mat. 1995. Fatty acid composition of some Malaysian freshwater fish. *Food Chemistry*. 54(1):45-49.
- Rajesh, R.; Ravishankar, C.N.; Srinivasa-Gopal, T.K. and Varma, P.R.G. 2002. Effect of vacuum packaging and sodium acetate on the shelf life of seer fish during iced storage. *Packaging Technology and Science*. 15(5):241-245.
- Ratanatriwong, Puntarika; Prachaiyo, Preyatudsaney and Wongsangasri, Pisit. 2009. Effect of organic acid and salt mixture on shelf-life extension and growth inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in moo yor. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. 2(3):351-361.
- Resurreccion, Anna V.A. and Reynolds, A.E. Jr. 1990. Evaluation of natural antioxidants in frankfurters containing chicken and pork. *Journal of Food Science*. 55(3):629-631,654.
- Sahari, M.A.; Nazemroaya, S. and Rezaei, M. 2009. Fatty acid and biochemical changes in mackerel (*Scomberomorus commerson*) and shark (*Carcharhinus dussumieri*) fillets during frozen storage. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 3(3):519-527.
- Sallam, Khalid Ibrahim. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*. 18(5):566-575.
- Sallam, K.I. and Samejima, K. 2004. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT)*. 37(8):865-871.
- Schmedes, A. and Hølmer, G. 1989. A new thiobarbituric acid (TBA) method for determining free malondialdehyde (MDA) and hydroperoxides selectively as a measure of lipid peroxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 66(6):813-817.
- Shalini, R.; Indra-Jasmine, G.; Shanmugam, S.A. and Ramkumar, K. 2000. Sodium acetate and vacuum packaging to improve shelf life of refrigerated *Lethrinus lentjan* fillets. *Fishery Technology*. 37(1):8-14.
- St. Angelo, A.J. 1996. Lipid oxidation in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36(3):175-224.
- St. Angelo, A.J.; Crippen, K.L.; Dupuy, H.P. and James, C. Jr. 1990. Chemical and sensory studies of antioxidant-treated beef. *Journal of Food Science*. 55(6): 1501-1539.
- Steffens, W. 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*. 151(1-4):97-119.
- Stoick, S.M.; Gray, J.I.; Booren, A.M. and Buckley, D.J. 1991. Oxidative stability of restructured beef steaks processed with oleoresin rosemary, tertiary butyl-

- hydroquinone, and sodium tripolyphosphate. *Journal of Food Science*. 56(3):597-600.
- Tassou, C.C.; Drosinos, E.H. and Nychas, G.J.E. 1996. Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere or air. *Journal of Food Protection*. 59(1):31-34.
- Vaz-Pires, Paulo and Barbosa, Alexandra. 2004. Sensory, microbiological, physical and nutritional properties of iced whole common octopus (*Octopus vulgaris*). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT)*. 37(1):105-114.
- Vaz-Pires, Paulo; Seixas, Pedro; Mota, Micaela; Lapa-Guimarães, Judite; Pickova, Jana; Lindo, Andreia and Silva, Teresa. 2008. Sensory, microbiological, physical and chemical properties of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*) stored in ice. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT) - Food Science and Technology*. 41(9):1655-1664.
- Wada, Shun and Fang, Xing. 1992. The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and α -tocopherol in sardine oil model system and frozen-crushed fish meat. *Journal of Food Processing and Preservation*. 16(4):263-274.
- Williams, S.K. and Phillips, K. 1998. Sodium lactate affects sensory and objective characteristics of tray-packed broiler chicken breast meat. *Poultry Science*. 77(5):765-769.
- Williams, S.K.; Rodrick, G.E. and West, R.L. 1995. Sodium lactate affects shelf life and consumer acceptance of fresh catfish (*Ictalurus nebulosus marmoratus*) fillets under stimulated retail conditions. *Journal of Food Science*. 60(3):636-639.
- Yavas, E. and Bilgin, B. 2010. Effect of calcium lactate, sodium diacetate and sodium chloride mixture on the microbiological, chemical and sensory properties of chicken nuggets stored in refrigeration and under modified atmospheres. *International Journal of Poultry Science*. 9(1):66-71.
- Zambuchini, B.; Fiorini, D.; Verdenelli, M.C.; Orpianesi, C. and Ballini, R. 2008. Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT) - Food Science and Technology*. 41(9):1733-1738.
- Zhuang, Rong Yu.; Huang, Yao Wen and Beuchat, Larry R. 1996. Quality changes during refrigerated storage of packaged shrimp and catfish fillets treated with sodium acetate, sodium lactate or propyl gallate. *Journal of Food Science*. 61(1):241-244,261.