



Artículo

Estabilidad química, física y microbiológica de lomo de atún (*Thunnus* sp.) rebanado. Empacado, congelado y almacenado a -20 °C

Chemical, physical and microbiological stability of tuna (*Thunnus* sp.) loin slices.
Packed, frozen and stored at -20 °C

Romaim **De Berardinis**¹, Myrna Luisa **Medina Bracamonte**^{2*}, Marinela **Barrero**²

¹Departamento de Tecnología de Alimentos, Escuela de Biología, UCV

²Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), Facultad de Ciencias, UCV
Universidad Central de Venezuela (UCV), Apartado Postal 47114, Caracas, 1041A, Venezuela.

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

Aceptado 08-Septiembre-2012

Resumen

La globalización ha introducido en Venezuela el consumo de pescado crudo, principalmente atún rojo (*Thunnus* sp.) para elaborar sushi y sashimi. Esto ha despertado el interés en conservar el atún fresco, congelado, para disponer de él a lo largo del año con los atributos que definen la calidad del atún fresco. El pescado congelado se empaqueta para protegerlo del ambiente frío y seco del congelador, evitar su deshidratación y quemaduras en la superficie del tejido muscular que modificarían la apariencia (color, textura), el sabor y el valor nutritivo durante el almacenamiento. El empaque, además debe ofrecer barrera al paso del oxígeno. Los filetes individuales de pescados magros pueden conservarse en almacenamiento congelado 6 meses a -18 °C y hasta 9 meses a -24 °C. Con este trabajo se propuso determinar el efecto de la operación de empaquetado antes y después de la operación de congelación de rebanadas de lomo de atún rojo. Tratamiento 1: empaquetadas al vacío y congeladas a -20 °C (V1); control: empaquetadas a presión atmosférica y congeladas a -20 °C (C1). Tratamiento 2: congeladas a -20 °C y empaquetadas al vacío después (V2); control: congeladas a -20 °C y empaquetadas a presión atmosférica después (C2). Para el empaquetado se recurrió a bolsas multilaminadas (PE/PA/PE), impermeables al O₂ del aire, al vapor de agua y con resistencia mecánica a bajas temperaturas. El

tratamiento V1 mantuvo la estabilidad química, microbiológica y sensorial de las rebanadas de lomo de atún, a 90 días de almacenamiento a -20 °C, la cuales fueron más rojas (a), menos amarillas (b) y más oscuras (L), con la menor producción de malonaldehído (0,64 mg/kg) de todos los tratamientos, y la mayor estabilidad de la fracción de proteínas solubles (10,03 %).

Palabras claves: almacenamiento congelado, color, empackado, fresco, lomo de atún, vacío.

Abstract

In Venezuela, the process of globalization has brought consumption mode of raw fish, mainly red tuna (*Thunnus* sp.) to prepare sushi and sashimi. This has sparked interest in the preservation of fresh frozen tuna to have throughout the year of the product with the attributes that define fresh tuna quality. Frozen fish is packaged to protect it from cold, dry environment of the freezer, prevent dehydration and burns on the surface of muscle tissue that would modify the appearance (color, texture), taste and nutritional value during storage. The package also must offer barrier to the passage of oxygen. Individual fillets lean fish can be preserved in frozen storage 6 months at -18 °C and up to 9 months at -24 °C. This work aimed to determine the effect of the operation of packed before and after of freezing tuna loin slices. Treatment 1: vacuum packed and frozen at -20 °C (V1); control: packed to air pressure and frozen at -20 °C (C1). Treatment 2: frozen at -20 °C and then vacuum packed (V2); control: frozen at -20 °C and then packed to air pressure (C2). For packing bags multilaminar was used (PE/PA/PE), they are impermeable to O₂ and water vapor, and mechanical strength at low temperatures. Treatment V1, maintained the chemical, microbiological and sensory stability of tuna loin slices, at 90 days of storage at -20 °C. Those slices were redder (a), less yellow (b) and darker (L), with the lower production of malonaldehyde (0.64 mg/kg) of all treatments, and the greater stability of the soluble protein fraction (10.03 %).

Key words: color, fresh, frozen storage, packaging, tuna loin, vacuum.

INTRODUCCIÓN

De los procesos de conservación de alimentos, la congelación está ampliamente difundida en la industria de productos pesqueros. Este proceso reduce considerablemente el número de microorganismos viables, más no los elimina, por lo cual es muy importante la calidad microbiológica inicial del producto a congelar. Si es bien conducido, retiene, el sabor, el aroma, el color y el valor nutritivo de los alimentos con poca influencia en su textura. El producto congelado durante el almacenamiento en congelación puede experimentar pérdida de su calidad, debido a que las reacciones

oxidativas y enzimáticas disminuyen pero no cesan (Alves y Ardito, 1991). Por ello se recurre al uso de un empaque adecuado para evitar o al menos retardar, aún más, algunas de esas reacciones indeseables (Tandler y Lee, 1985 cp Alves y Ardito, 1991). El empackado es parte integral del procesamiento de los alimentos, y de él dependerá el éxito de la conservación del producto. Deberá mantener la estabilidad física, química y microbiológica del producto no solo durante su almacenamiento, sino también durante su distribución y comercialización; jugando un papel fundamental en la vida útil de los productos frescos o transformados. La función principal es proteger al producto de aquellos factores

exógenos que puedan modificar los atributos que definen la calidad del producto, durante la cadena de comercialización (Brennan *et al.*, 1998), los cuales están relacionados con las alteraciones químicas y físicas, ya que a -18 °C no hay desarrollo microbiano. El empaque debe evitar que durante la comercialización del producto ocurran alteraciones como: deshidratación, oxidación de lípidos y pigmentos, estas últimas pueden ser aceleradas por la incidencia de la luz UV, daños mecánicos por compresión del producto principalmente en aquellos ubicados en las capas inferiores del paletizado o por manipulación inadecuada, alteraciones del olor y sabor característico del producto por absorción de olores extraños procedentes del ambiente de almacenamiento o por la migración de componentes desde el material de empaque al producto (Alves y Ardito, 1991).

De los productos pesqueros congelados para su comercialización destaca el atún (*Thunnus* sp.), el cual a lo largo de la historia de la humanidad ha sido muy apreciado como alimento para el ser humano. El atún es una excelente fuente de proteínas, ácidos grasos esenciales, vitaminas del complejo B y minerales. De los componentes mayoritarios, la fracción de lípidos (grasa cruda) oscila con la especie, y para una misma especie varía con respecto a la edad, el sexo, el tipo tejido muscular (blanco, oscuro o ventral), el momento biológico o etapa reproductiva, la alimentación, la temperatura del agua y la estación del año (Cheftel y Cheftel, 1980; Varona *et al.*, 1986; Pérez-Villarreal y Pozo, 1990; Huss, 1999; Izquierdo-Córser *et al.*, 2000). Esto ha llevado a distinguir entre peces magros (< 1 %), aquellas especies que almacenan los lípidos sólo en el hígado; peces semi-grasos (entre 2 % y 7 %), aquellos que almacenan lípidos en limitadas partes de sus tejidos corporales o, en menor cantidad que las especies grasas típicas; y los grasos (> 7 %), aquellos que almacenan lípidos en células distribuidas en otros tejidos del cuerpo (Huss,

1999). Los pescados grasos almacenados a -23,3 °C tienen una vida útil de 10 a 12 meses y los magros de 14 a 16 meses. Entre los peces grasos está la familia Scombridae a la cual pertenece el atún.

El atún rojo, “aleta azul” o ‘Northern Bluefin tuna’ (*Thunnus thynnus*) y formalmente atún, es la especie más apreciada mundialmente para consumo fresco y para preparar sashimi, para lo cual es conservado en congelación a -40 °C (Catarci, 2003). Se captura fundamentalmente en el Atlántico Noroccidental y en el Pacífico Occidental (Giménez, 2009). El proceso de globalización ha introducido en Venezuela la modalidad del consumo de pescado crudo, generándose una rápida aceptación del producto, evidenciado por la proliferación de centros de comida rápida y restaurantes especializados en este producto, aunado a la tendencia actual al consumo de alimentos con mínima transformación y libre de aditivos. Ello ha impulsado a la industria a utilizar tecnologías que permitan brindarle al consumidor alimentos frescos de calidad.

En Venezuela, el atún “aleta amarilla” (*Thunnus albacares*), objeto de la pesca industrial de altura, está incluido en el 54 % de las capturas nacionales. El subsector industrial atunero aporta alrededor de un 26 % del total general, proviniendo la mayor proporción de las capturas del océano Pacífico Oriental donde Venezuela mantiene la tercera flota cerquera operativa. La producción nacional de túnidos (*Thunnus albacares*, *Katsuwonus pelamis* y *Thunnus obesus*) proviene del Mar Caribe y del Pacífico Oriental (FAO, 2005).

La calidad comestible del sashimi elaborado con atún “aleta amarilla” (*Thunnus albacares*) simulando las condiciones de conservación en hielo de una tienda de sushi fue evaluada por Liu *et al.* (2010). Encontraron que el atún “aleta amarilla” almacenado en hielo mantuvo su calidad comestible por un período de 4 horas. Durante la primera hora exhibió el color rojo fresco, el aroma a pescado y sabor agradable, y por ende calificó como

comestible. Durante las tres horas siguientes el color fue oscureciéndose gradualmente y se perdieron el aroma y el sabor, revelando un descenso de la calidad comestible. Después de las 4 horas el sashimi ya no estaba fresco y perdió completamente el color y la sensación o palatabilidad bucal inherente y en consecuencia su valor comercial.

El color rojo del atún es un atributo de calidad muy importante y es la consecuencia del estado de oxidación de la mioglobina o deoximioglobina (Mb o DeoxiMb) ($\approx 40\%$) y se rige por las cantidades relativas de las tres formas de mioglobina: DeoxiMb, OxiMb y MetaMb (Matsuura y Hashimoto, 1954; 1959; Brown, 1962; Bito, 1976; Lindahl *et al.*, 2001; Ueki *et al.*, 2005; Thiansilakul *et al.*, 2011), y en menor proporción de la hemoglobina. Ambas proteínas transportan el O_2 a nivel celular y contienen un grupo hemo con un Fe ($^{++}$) unido a cuatro moléculas de nitrógeno del anillo de porfirina. El quinto enlace orbital de Fe ($^{++}$) está enlazado al nitrógeno de la cadena lateral de la histidina de la globina, mientras que el sexto enlace está disponible. El O_2 se une a través de un enlace de coordinación con el Fe $^{++}$ del grupo hemo de la mioglobina (Mb-Fe $^{++}$ - O_2) formando la oximioglobina (O_2 Mb) (OxiMb) y el tejido muscular adquiere un color rojo brillante. 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 $^{+++}$ - H_2O) (MetaMb) de color marrón (Livingston y Brown, 1981; Kitahara *et al.*, 1990; Anderson y Wu, 2005; Ueki *et al.*, 2005), color que es índice de que el tejido ha envejecido, el pescado habrá perdido su nivel de calidad global y es inaceptable para el consumidor (Kropf, 1980; Smith *et al.*, 1996; Melton, 1999; Barreiro-Méndez y Sandoval-Briceño, 2006). El cambio de color en presencia del O_2 del aire incide directamente sobre el valor comercial del producto.

La Mb de los peces es más inestable que la de los vertebrados superiores; dependerá del

pez y de la presión hidráulica bajo la cual se desplace en el agua, por lo cual, la autooxidación y la agregación suceden incluso bajo condiciones suaves (Suzuki *et al.*, 1973; Aojula *et al.*, 1987; Ueki *et al.*, 2005).

Por lo antes expuesto, ha surgido el interés de valorar el empaquetado al vacío del atún fresco, congelado a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, y almacenado a esta misma temperatura, la cual es la de mayor uso comercial en el país. El objetivo principal del empaquetado a vacío es proteger el tejido muscular fresco del contacto con el O_2 que favorece el crecimiento de microorganismos aerobios altamente deteriorativos, el desarrollo de la rancidez en los ácidos grasos insaturados y la decoloración del tejido muscular como consecuencia de la oxidación de los pigmentos del músculo; mantener aislado el músculo del ambiente frío y seco del congelador durante el tiempo del almacenamiento, conservando los atributos que definen la calidad del tejido muscular fresco. Para ello se planteó evaluar la estabilidad química, física, microbiológica y sensorial de rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) empacadas al vacío y a presión atmosférica, antes y después del proceso de congelación a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ y almacenadas a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Establecer el tiempo de almacenamiento a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ de las rebanadas de lomo de atún congeladas empacadas al vacío y a presión atmosférica, durante el cual se mantienen los atributos de las rebanadas de atún fresco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se adquirieron 3 lomos refrigerados de atún rojo (7 kg) en el Mercado de Quinta Crespo (Caracas, Venezuela), en abril de 2010. Los lomos de tamaño homogéneo entre 30 y 40 cm de longitud cada uno, se transportaron en cava con hielo al Laboratorio de Productos Pesqueros del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Tratamientos de los lomos de atún

En la Fig. 1 se presenta el diagrama de flujo correspondiente a las operaciones y tratamientos aplicados a los lomos de atún para su conservación, así como la toma de muestras para los análisis. Los lomos se lavaron con agua potable de la red local y se rebanaron, manualmente con cuchillo en 100 rebanadas, cuyos pesos y dimensiones promedios se presentan en el Cuadro 1.

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

Dimensiones	Media ± D. S.
Largo (cm)	14,50 ± 1,55
Ancho (cm)	11,38 ± 1,20
Grosor (cm)	1,72 ± 2,13
Peso (g)	125,30 ± 17,18

n = 100, D. S.: desviación estándar.

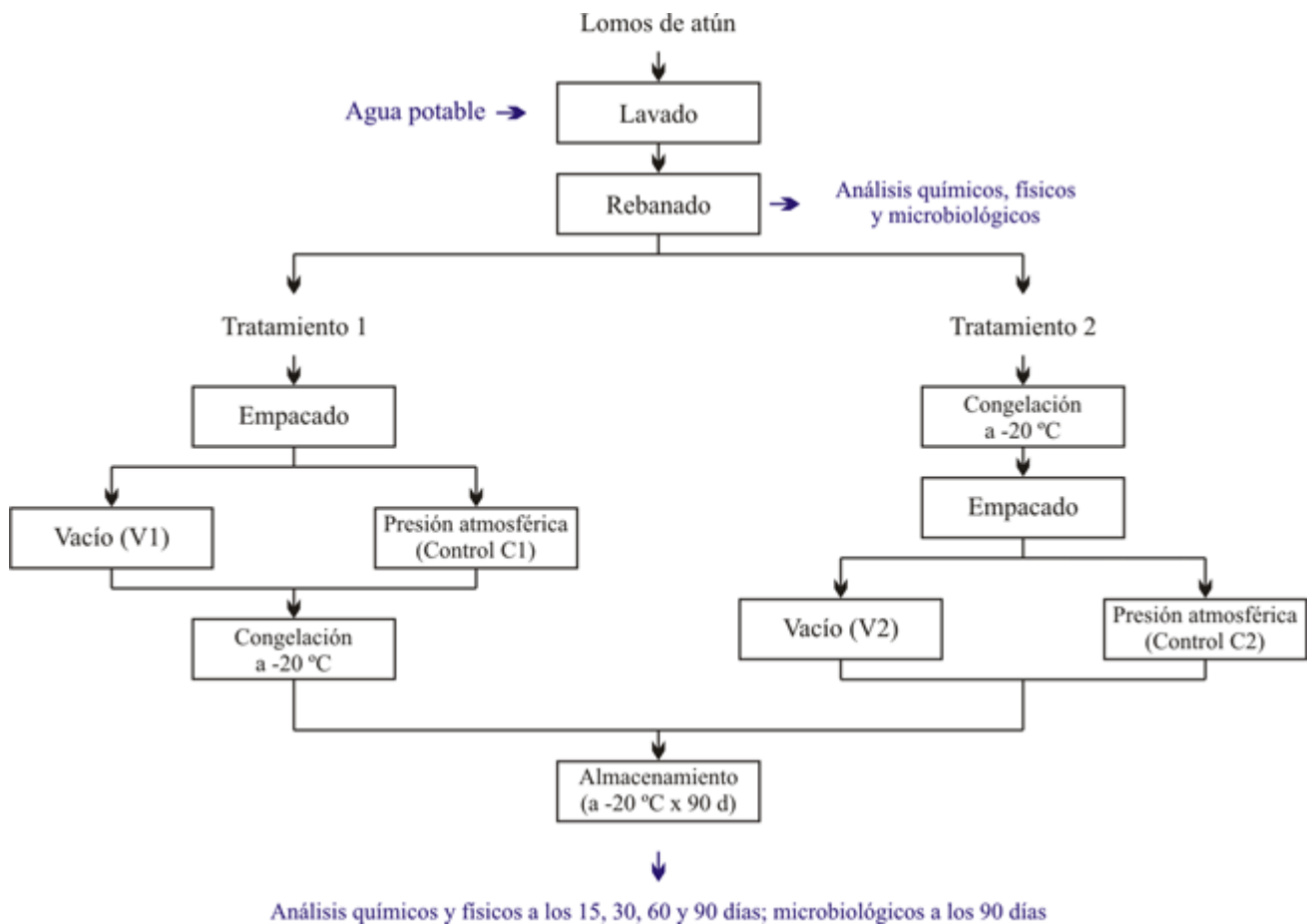


Figura 1.- Operaciones de empacado y congelación de las rebanadas de lomo de atún.

Se dividieron en 2 grupos. Tratamiento 1: 25 rebanadas empacadas al vacío (V1) y 25 empacadas a presión atmosférica (control C1), se termosellaron las bolsas y se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tratamiento 2: 50 muestras de rebanadas de lomo de atún inicialmente

se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que el centro de las muestras alcanzó esa temperatura, luego, 25 de ellas se empacaron al vacío (V2) y las otras 25 a presión atmosférica (control C2). Los productos de ambos tratamientos se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ x 90 días (Fig. 2).

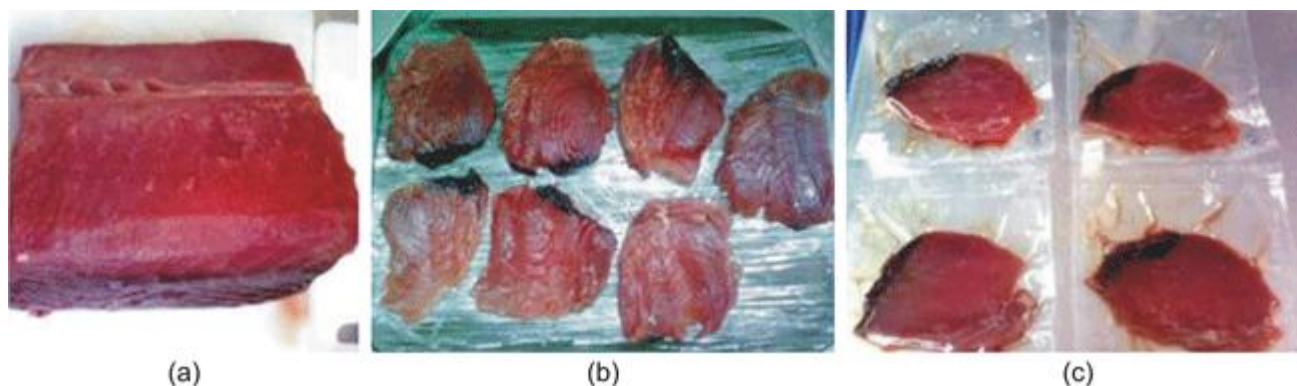


Figura 2.- Lomo de atún (a), rebanadas de lomo de atún (b) y rebanadas de lomo de atún empacadas al vacío (c).

Material de empaque

Bolsas multilaminadas Plastobarr XTRA (Coextruded Plastic Technologies, Inc., Edgerton, WI, USA), coextruidas de polietileno de baja densidad/poliamida(nailon)/polietileno de baja densidad (PEBD/PA/PEBD). El multilaminado ofrece las propiedades de barrera al O_2 de $3,2\text{ cm}^3/100\text{ in}^2/\text{día}$ a $\approx 23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($73,4\text{ }^{\circ}\text{F}$) y 0 % de humedad relativa; y al vapor de agua de $0,5\text{ cm}^3/100\text{ in}^2/\text{día}$ a $\approx 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($100\text{ }^{\circ}\text{F}$) y 90 % de humedad relativa (CPT, 2001). La PA aporta mejor resistencia del empaque a la perforación y buena estabilidad a bajas temperaturas, barrera a los gases (Alves y Ardito, 1991) y termoformabilidad. El PE aporta la termosellabilidad.

Equipos

Empacadora Vac Master SVP 20 (ARY, Inc., Kansas City, MO, USA), congelador de

placas marca So-Low, modelo U40-13 (So-Low Environmental Equipment, Co., Inc., Cincinnati, OH, USA) a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para el proceso de congelación de las rebanadas de lomo de atún y un congelador horizontal marca General Electric (General Electric Company, Fairfield, CT, USA) a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para el almacenamiento por 90 días de las rebanadas de lomo de atún empacadas.

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

Las muestras a analizar se seleccionaron al azar, tomando cada vez 3 muestras de cada tratamiento. Se descongelaron bajo inmersión en agua potable de la red local a temperatura ambiental. Se comprobó el termosellado de cada empaque y la integridad del mismo. El contenido de cada empaque fue homogeneizado durante 1 minuto en un procesador de alimentos

marca Osterizer®. A partir de cada homogeneizado se realizaron todas las determinaciones por triplicado, las cuales se realizaron a los 0, 15, 30, 60 y 90 días de almacenamiento, salvo las microbiológicas que se hicieron a los 0 y 90 días; y la evaluación sensorial a los 60 y 90 días.

Determinaciones químicas

Composición proximal

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

Proteína cruda: 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: método gravimétrico directo de extracción continua con hexano N° 991.36 (AOAC, 2005), en un equipo de extracción (Soxhlet) automatizado marca VELP® Scientifica, de la serie SER 148 (Usmate, Italia). Los resultados se expresaron en porcentaje de grasa cruda (base húmeda).

Cenizas: método gravimétrico directo N° 938.08 (AOAC, 2005). Incineración en mufla marca Felisa®, modelo FE-360, (Fabricantes Feligno, S. A. de C. V. México) a 500 - 550 °C hasta obtener peso constante. Los resultados se expresaron en porcentaje de cenizas (base húmeda).

pH

Norma Venezolana COVENIN 1315:79 (COVENIN, 1979). Se homogeneizaron 10 g de

muestra en 90 mL de agua destilada. Se filtró la suspensión y se determinó el pH usando un potenciómetro marca HANNA, modelo HI 8417 (HANNA Instruments Srl, Ronchi di Villafranca, Italia).

Rancidez oxidativa (TBA, ‘2-thiobarbituric acid’)

Se homogeneizaron 10 g de muestra con 50 mL de agua destilada y 5 mL de una solución de EDTA-propilgalato al 0,5 %. El homogeneizado se transfirió a un balón macro Kjeldahl con 47,5 mL de agua destilada y 2,5 mL de HCl. Se recolectaron 50 mL del destilado y se aforó a 100 mL con agua destilada. Se tomaron 5 mL y mezclaron con 5 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (0,02 M de TBA en ácido acético al 95 %). La mezcla se mantuvo en baño de maría a 80 - 90 °C por 35 minutos y luego se enfrió y midió la absorbancia a 538 nm en un espectrofotómetro marca Shimadzu, modelo UV-2501PC (SHIMADZU Corporation, Kyoto, Japón). Se elaboró una curva de calibración con malonaldehído. Los resultados se expresaron en mg de malonaldehído/kg de muestra (Tarladgis *et al.*, 1960 modificado por Rhee, 1978).

Bases volátiles totales (BVT)

Diez gramos de muestra se homogeneizaron con 50 mL de agua destilada. Se trasvasó a un balón macro Kjeldahl con 2 g de óxido de magnesio y se destiló durante 15 minutos. Se recogió el destilado en ácido bórico y valoró el nitrógeno básico volátil. Los resultados se expresaron en mg N/100 g de muestra (Pearson, 1976).

Proteínas solubles

Se aplicó el método de Montecchia *et al.* (1997) con las siguientes modificaciones: se procesaron 8 g de tejido muscular en un homogeneizador Nissei, modelo AM-3 (Nissei

Corporation, Japón) por 3 minutos a 10000 rpm. Se centrifugó en una centrifuga refrigerada Sorvall, modelo RC2B (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) a 2800 x g. Se determinó el contenido de nitrógeno total en el sobrenadante por el método de micro-Kjeldahl N° 940.25, factor de conversión 6,25 (AOAC, 2005). Los resultados se expresaron en porcentaje de proteína total en el sobrenadante.

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 aplicaron mediciones en porciones de rebanadas cortadas en cubos de 1 cm de arista (10 réplicas), usando un colorímetro Macbeth®, modelo Color Eye® 2445 (Kollmorgen Instruments Corp., USA), calibrado con una placa patrón de referencia. Condiciones CIE: observador estándar 10° e iluminante D₆₅.

Determinaciones microbiológicas

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

Aerobios mesófilos y psicrófilos

Se homogeneizaron 10 g de tejido muscular con 90 mL de agua peptonada al 0,1 %; a partir del homogeneizado se realizaron diluciones seriadas hasta 10⁻⁴. Se realizó siembra en profundidad y por duplicado en medio de cultivo PCA ('Plate Count Agar'), 1 mL de cada dilución. Se incubó por 24 a 48 horas a 35 - 37 °C (aerobios mesófilos) y de 7 a 10 días a 7 °C (aerobios psicrófilos). Los resultados se expresaron como UFC/g de muestra.

Coliformes totales y fecales

Se homogeneizaron 25 g de tejido muscular con 225 mL de agua peptonada al 0,1 %; a partir del homogeneizado se realizaron diluciones seriadas hasta 10⁻⁴. Se inoculó, por triplicado, 1 mL de cada dilución en tubos con caldo Lauril Sulfato Triptosa. Se incubó a 35 - 37 °C por 24 a 48 horas. De los tubos con respuesta positiva se transfirieron muestras con asa de siembra a tubos con caldo Bilis Verde Brillante que se incubaron a 35 - 37 °C por 24 a 48 horas para determinar el NMP de coliformes totales, de igual manera, se transfirieron muestras a tubos con Caldo EC (*Escherichia coli*) que se incubaron a 44,5 °C por 24 a 48 horas para determinar el NMP de coliformes fecales. Los resultados se expresaron como NMP/g de muestra.

Evaluación sensorial

Se descongelaron las muestras a temperatura ambiental y se cortaron en cubos de aproximadamente 1 cm de arista. Se presentaron a un panel de 16 personas que consumían pescado regularmente. Se evaluaron los atributos color, olor y apariencia. Se midió en una escala hedónica de 9 puntos, en forma creciente (1 'me disgusta extremadamente' y 9 'me gusta extremadamente').

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 dos vías con un nivel de significancia de 5 % como prueba de hipótesis de comparación de medias para determinar si hubo o no diferencias significativas ($p < 0,05$ ó $p > 0,05$) entre los dos tratamientos. Se empleó el programa Statgraphic® Plus, versión 5.1 (Statistical Graphics Corporation, Warrenton, VA, USA). La variable independiente, el tiempo de almacenamiento, y las variables dependientes,

V1 y V2, con sus respectivos controles C1 y C2. En aquellos resultados donde se observaron diferencias significativas se realizaron pruebas a posteriori utilizando la comparación del rango múltiple (prueba de Tukey).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las muestras, seleccionadas al azar para las evaluaciones correspondientes, durante el proceso de descongelación por inmersión en agua, mostraron integridad del empaque y del termosellado durante el almacenamiento a -20 °C.

Análisis químicos

Composición proximal

En el Cuadro 2 se presentan la media y la desviación estándar de los parámetros de la composición proximal del lomo de atún fresco. Se caracterizó por un 82,55 % de humedad; 0,13 % de grasa cruda y 16,35 %, de proteína cruda. La humedad superó lo hallado en la literatura para el atún y otros peces, mientras que la grasa y la proteína cruda fueron inferiores a lo informado para las especies *Thunnus thynnus*, *Thunnus albacares* y *Thunnus* sp. (Huss, 1999; INN, 2001; Izquierdo *et al.*, 2001; Márquez-Figueroa *et al.*, 2006; Castro-González *et al.*, 2007). Por el contenido de lípidos el lomo es un músculo magro (< 1,0 %) y debe ser estable en el almacenamiento.

Cuadro 2. Composición proximal del lomo de atún fresco (*Thunnus* sp.).

Parámetro	Porcentaje promedio (%) \pm D. S.
Humedad	82,55 \pm 0,86
Proteína cruda	16,35 \pm 0,92
Grasa cruda	0,13 \pm 0,05
Cenizas	0,97 \pm 0,10
Total	100

$n = 3$, D. S.: desviación estándar.

En los peces la relación contenido de humedad y grasa, es inversa. En determinadas épocas del año los peces tienen menos peso, el tejido tiene mayor contenido de agua y menor proporción de proteínas y de grasa. Generalmente después del desove y a mayor edad los peces tienen más grasas y menos agua (Huss, 1999; Márquez-Figueroa *et al.*, 2006). El contenido de cenizas fue de 0,97 %, cercano a lo hallado por Castro-González *et al.* (2007) en *Thunnus albacares* (0,90 %). Otros autores informan desde 1,14 hasta 1,97 % (INN, 2001; Izquierdo *et al.*, 2001; Márquez-Figueroa *et al.*, 2006). Márquez-Figueroa *et al.* (2006) consideran que 1,97 % de cenizas en atún fresco es relativamente bajo porque el atún recién capturado es sometido a bordo de las embarcaciones a una salmuera fría para bajar su temperatura corporal antes de ser congelado.

Es importante determinar la composición proximal de la materia prima cada vez que se procese pescado porque sus componentes varían considerablemente no solo entre las diferentes especies y entre individuos de una misma especie, sino también entre los diferentes tipos de tejido muscular, así como con otros factores ya mencionados en la Introducción (Cheftel y Cheftel, 1980; Varona *et al.*, 1986; Pérez-Villarreal y Pozo, 1990; Huss, 1999; Izquierdo-Córser *et al.*, 2000). Por ello es preciso señalar la época del año en que se hace la captura y el tipo de músculo con el cual se está trabajando. Estas consideraciones son muy importantes porque la proporción de los componentes en el músculo son determinantes en la estabilidad del producto en el almacenamiento; y en el caso del atún rojo, los son el contenido de lípidos y el de mioglobina.

pH

En el Cuadro 3 se presentan las determinaciones del pH en las rebanadas de lomo de atún fresco y en las congeladas durante el almacenamiento a -20 °C para cada tratamiento. No hubo diferencias significativas

Cuadro 3.- pH en las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) empacadas según el tratamiento y almacenadas a -20 °C.

Tratamiento	Almacenamiento (días)				
	0	15	30	60	90
C1	6,02 ± 0,01	5,16 ± 0,01 ^a	6,16 ± 0,01 ^a	6,02 ± 0,01 ^a	6,02 ± 0,02 ^a
V1	6,02 ± 0,01	5,83 ± 0,00 ^a	6,16 ± 0,00 ^a	5,91 ± 0,02 ^a	6,00 ± 0,00 ^a
C2	6,02 ± 0,01	5,85 ± 0,01 ^a	6,20 ± 0,01 ^a	5,99 ± 0,01 ^a	6,10 ± 0,01 ^a
V2	6,02 ± 0,01	5,85 ± 0,01 ^a	6,14 ± 0,01 ^a	5,95 ± 0,01 ^a	5,98 ± 0,00 ^a

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

C1: empacadas a presión atmosférica y congeladas. V1: empacadas al vacío y congeladas.

C2: congeladas y empacadas a presión atmosférica. V2: congeladas y empacadas al vacío.

Letras iguales en superíndices, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$).

entre los tratamientos ($p > 0,05$). El pH del atún recién adquirido para esta experiencia fue de $6,02 \pm 0,01$. Para Landeros-Ampuero y López-Salinas (2005) este valor representa el pH post mórtem, lo que significa que la operación de congelación a bordo de la embarcación se realizó en esa etapa y estuvo dentro de lo esperado. Los autores encontraron un valor de 6,06 en el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) cultivado. Iriarte-Rota y Romero-González (2006) hallaron en el pez volador (*Dactylopterus volitans*) un valor de pH 6,43; Morillo-Montiel *et al.* (2004-2005) 6,0 en el 95,1% de las lisas (*Mugil curema*) y en el 98,1 % de las corvinas (*Cynoscion acoupa*) recién capturadas en el Lago de Maracaibo (Zulia, Venezuela). Márquez-Figueroa *et al.* (2006) 5,83 en atún fresco congelado, y según los autores, indica buena calidad, lo que denota que el pescado recibió una aceptable manipulación a bordo.

En el pescado, el pH está relacionado directamente con la frescura y el valor de 7,0 es aceptable (Huss, 1999; Ruiz-Capillas y Moral, 2005) y se encuentra en el pescado recién extraído del mar, disminuyendo con el rígor mortis a 6,2 - 6,5; elevándose posteriormente a

6,6 - 6,7 (Pascual-Anderson y Calderón y Pascual, 2000; Abbas *et al.*, 2008). Esta disminución, señala Huss (1999), puede llegar a 6,0 y se debe a la reducción de la concentración del O₂ en el interior celular, iniciándose procesos catabólicos enzimáticos como la hidrólisis del glucógeno, con formación de ácido láctico. De acuerdo con Huss (1998 cp Susanto *et al.*, 2011), el pH más bajo registrado en atún se encuentra entre 5,4 y 5,6.

No hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) en el tiempo ni entre los tratamientos. El pH en las rebanadas de lomo de atún se mantuvo en ≈ 6 durante los 90 días de almacenamiento a -20 °C, independientemente de que se empacaran antes o después de congelar y en presencia o no de O₂. Hubo un ligero descenso a los 15 días en C1, a los 30 días se obtuvo el mayor pH para todos los tratamientos (6,14 - 6,20) y a los 60 días retornó a valores ≈ 6 , manteniéndose hasta los 90 días de almacenamiento. Esta tendencia coincide con la hallada por autores como Molina *et al.* (2001) en *Pseudoplatystoma corruscans* empacado en envases flexibles Cryovac de baja permeabilidad al O₂ (15 cm³/m² · d a 25 °C) y almacenado durante 83

días a $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$; y Valls *et al.* (2004) en filetes de sardina (*Sardinella aurita* V.) empacados al vacío, congelados y almacenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Landeros-Ampuero y López-Salinas (2005) registraron un valor de 6,27 en el salmón coho, (congelado inicialmente a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) después de 12 meses de almacenamiento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, empacado en bolsa de polietileno (PE).

Iriarte-Rota y Romero-González (2006) informan de un pH promedio de 6,31 en filetes de pez volador, empacados en poliestireno (PS) y envoplast®, congelados a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y almacenados $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, entre los 6 y 67 días de almacenamiento congelado, que luego descendió a 6,13 a los 95 días del almacenamiento. El pH, en las especies comentadas, presentó una tendencia a mantenerse constante en el almacenamiento congelado entre los -16 y $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, independientemente de la permeabilidad al O_2 del material de empaque. Huss (1997) señala que aún a temperatura de congelación hay producción de sustancias nitrogenadas en el músculo del pescado, consecuencia de reacciones enzimáticas, las cuales neutralizan el ácido láctico formado, revirtiendo los valores de pH hacia la neutralidad.

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

En el Cuadro 4 se presenta el contenido de malonaldehído en el lomo de atún fresco y procesado, como índice de rancidez oxidativa. El lomo de atún fresco presentó un contenido de malonaldehído de 0,13 mg/kg. A los 90 días de almacenamiento congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). El mayor contenido de malonaldehído correspondió al control C2 (2,60 mg/kg), rebanadas congeladas primero y empacadas en presencia de O_2 , que duplicó el de las rebanadas congeladas primero y empacadas al vacío (V2) después (1,10 mg/kg). Las rebanadas empacadas al vacío y congeladas después, presentaron menor contenido de

malonaldehído ($V1 = 0,64\text{ mg/kg}$). El contenido de malonaldehído tanto en la materia prima recién adquirida, como en las rebanadas al final de los 90 días de almacenamiento congelado, independientemente del tratamiento o de la presencia o no del O_2 , se encontró por debajo de los valores propuestos como índices de calidad en los pescados congelados, refrigerados o almacenados en el hielo (de 5 mg/kg), y para consumo (8 mg/kg) (Schormuller, 1969 cp Mbarki *et al.*, 2009; Suárez-Mahecha *et al.*, 2009). El empacado al vacío de las rebanadas de lomo de atún fresco y su posterior congelación (V1) protegió aún más de la rancidez oxidativa en los 90 días de almacenamiento congelado, comparado con su control empacado a presión atmosférica (C1).

El contenido de malonaldehído alcanzado a los 30 días de almacenamiento congelado se mantuvo más o menos estable hasta los 60 días. A los 30 días, las muestras del primer tratamiento, empacadas primero y congeladas después (C1 y V1), ya habían acumulado $\approx 50\%$ del malonaldehído encontrado a los 90 días; mientras que las muestras del tratamiento 2, congeladas primero y empacadas después, C2 y V2, representaban \approx la séptima y tercera parte, respectivamente. En parte, esto mismo fue observado por Iriarte-Rota y Romero-González (2006) en filetes de pez volador empacados en PS y envoplast®, congelados a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y almacenados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$; el contenido de malonaldehído alcanzado a los 39 días de almacenamiento congelado (1,5 mg de malonaldehído/kg) representaba el 50 % aproximadamente del malonaldehído acumulado a los 95 días (3,12 mg de malonaldehído/kg), estable hasta los 67 días. Los autores describen que la apariencia y el olor fueron característicos, sin indicios de deterioro incipiente y destacan que a menor pH mayor rancidez. Lo que no se observó en esta experiencia. Los autores no aplicaron vacío al empacar los filetes del pez volador cuyo contenido de lípidos fue de 3,0 %. El lomo de atún se caracterizó por 0,13 % de lípidos y un

Cuadro 4.- Rancidez oxidativa (mg malonaldehído/kg) en las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) empacadas según el tratamiento y almacenadas a -20 °C.

Tratamiento	Almacenamiento (días)				
	0	15	30	60	90
C1	0,13 ± 0,66	0,24 ± 0,02 ^a	0,49 ± 0,01 ^a	0,44 ± 0,11 ^a	0,85 ± 0,03 ^a
V1	0,13 ± 0,66	0,28 ± 1,09 ^a	0,33 ± 0,29 ^b	0,34 ± 0,38 ^b	0,64 ± 0,14 ^b
C2	0,13 ± 0,66	0,34 ± 0,42 ^b	0,39 ± 0,01 ^b	0,49 ± 0,20 ^a	2,60 ± 0,07 ^c
V2	0,13 ± 0,66	0,22 ± 0,31 ^a	0,33 ± 0,29 ^b	0,28 ± 0,59 ^c	1,10 ± 14,4 ^d

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

C1: empacadas a presión atmosférica y congeladas. V1: empacadas al vacío y congeladas.

C2: congeladas y empacadas a presión atmosférica. V2: congeladas y empacadas al vacío.

Letras diferentes en superíndices, hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

pH de 6,02; no era un lomo procedente de un atún recién capturado y además el contenido de mioglobina en el atún es muy superior al del pez volador. La mioglobina representa un factor prooxidante por la presencia del grupo hemo. Por lo cual, el lomo de atún procesado en esta experiencia provino de un atún con una historia de manipulación adecuada desde su captura, y el empacado al vacío aportó protección retardando el proceso oxidativo de los ácidos grasos insaturados aún en presencia de la mioglobina, la cual, probablemente se mantuvo estable durante los 90 días de almacenamiento; al mantenerse estable, no hubo exposición del Fe del grupo hemo, el cual se ubica en un bolsillo hidrofóbico de la molécula de mioglobina (Ueki *et al.*, 2005), lo que limitó, probablemente su actividad prooxidante. El pH se mantuvo aproximadamente igual a 6,0. Molina *et al.* (2001) señalan incrementos en el contenido de malonaldehído en el bagre (*Pseudoplatystoma corruscans*) (12,19 % de lípidos) empacados en película de PE (permeabilidad al O₂ 3500 cm³/m² · d a 25 °C) y en envases flexibles Cryovac (permeabilidad al O₂ 15 cm³/m² · d a 25 °C) a los 14 días de almacenados a -16 °C \pm 2 °C desde 0,16 a 0,38

mg de malonaldehído/kg, manteniéndose más o menos constantes hasta los 83 días de almacenamiento, independientemente de la permeabilidad del empaque al O₂. Los autores citan a Erickson (1998), quien destaca que a las temperaturas de congelación las reacciones enzimáticas y no enzimáticas asociadas a la oxidación de lípidos disminuyen drásticamente, por lo cual a temperaturas inferiores a -10 °C la estabilidad oxidativa no depende de la disponibilidad de O₂, y es por ello que en el almacenamiento congelado no se observan diferencias en el contenido de malonaldehído en las muestras empacadas con películas de permeabilidades diferentes al O₂. Sin embargo, en esta experiencia, se obtuvo mayor contenido de malonaldehído a los 90 días del almacenamiento congelado en las muestras congeladas antes de empacar y aún más si el empacado fue en presencia de O₂.

Bases volátiles totales (BVT)

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de la evaluación de las BVT en las rebanadas de lomo de atún fresco y en las congeladas bajo dos condiciones de empacado.

Cuadro 5.- Bases volátiles totales (BVT) (mg N/100 g) en las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) empacadas según el tratamiento y almacenadas a -20 °C.

Tratamiento	Almacenamiento (días)				
	0	15	30	60	90
C1	21,85 ± 0,01	23,78 ± 0,45 ^a	24,21 ± 0,44 ^a	22,19 ± 0,20 ^a	25,97 ± 0,18 ^a
V1	21,85 ± 0,01	22,24 ± 0,29 ^a	22,66 ± 0,29 ^a	21,01 ± 0,15 ^a	22,36 ± 0,01 ^b
C2	21,85 ± 0,01	24,85 ± 0,03 ^a	25,27 ± 0,03 ^a	27,21 ± 0,19 ^b	23,50 ± 0,24 ^b
V2	21,85 ± 0,01	24,51 ± 0,18 ^a	24,93 ± 0,18 ^a	22,87 ± 0,15 ^a	22,23 ± 0,51 ^b

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

C1: empacadas a presión atmosférica y congeladas. V1: empacadas al vacío y congeladas.

C2: congeladas y empacadas a presión atmosférica. V2: congeladas y empacadas al vacío.

Letras diferentes en superíndices, hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

El contenido promedio de nitrógeno básico volátil (NBV) en las rebanadas de lomo de atún fresco fue de 21,85 mg/100 g, inferior a lo obtenido por Ruiz-Capillas y Moral (2005) en *Thunnus obesus* (25 - 30 mg N/100 g) y Márquez-Figueroa *et al.* (2006) en atún fresco (24,47 mg N/100 g). Huss (1999) señala el intervalo de 30 a 35 mg N/ 100 g para pescados grasos (lípidos > 7) como el atún, el arenque y la caballa. Sin embargo, en esta experiencia los lomos de atún se caracterizaron por un contenido de lípidos < 1 % (0,13 ± 0,05 %). Arashisar *et al.* (2004) indican que 35 mg de N/100 g de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) es aceptable para esta especie, mientras que Landeros-Ampuero y López-Salinas (2005) hallaron 8,3 mg N/100 g en salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), recién capturado.

Al finalizar los 90 días de almacenamiento a -20 °C, el mayor contenido de BVT se obtuvo con las muestras controles, C1 y C2, empacadas en presencia de O₂ independientemente de si se empacaron antes o después de la operación de congelación. Hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el porcentaje de NBV de ambos controles (C1 y C2) siendo mayor el contenido de NBV en las

muestras empacadas primero en presencia del O₂ y congeladas después (C1). Estas muestras fueron las que alcanzaron valores próximos a los 25 mg de N/100 g, límite inferior obtenido por Ruiz-Capillas y Moral (2005) en *Thunnus obesus* (25 - 30 mg N/100g).

No hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos V1 y V2, y ambas muestras fueron las que alcanzaron el menor contenido de BVT a los 90 días de almacenamiento. Tampoco hubo diferencia significativa en el contenido de BVT a lo largo del almacenamiento; sin embargo, el contenido de BVT en V1 siempre fue menor que en V2.

Los valores más altos de BVT lo alcanzaron las muestras C2 a los 60 días (27,21 mg N/100g) y C1 a los 90 días (25,97 mg N/100g).

A los 60 días del almacenamiento congelado se obtuvo menos BVT con V1 (21,01 mg N/100g) y la mayor producción con C2 (27,21 N/100g). La presencia del O₂ del aire en el interior del empaque favoreció la producción de BVT durante los 90 días de almacenamiento congelado.

A los 15 días de almacenamiento se observó un incremento en el contenido de BVT

independientemente del tratamiento y de la presencia o no del O₂; y fue la muestra C2 la que casi alcanzó los 25 mg N/100 g. Por lo cual, los mecanismos bioquímicos y/o microbiológicos que conducen a la producción de BVT, ya se habían iniciado antes de cumplirse los 15 días de almacenamiento, y de hecho comienzan una vez que el pez es capturado. El almacenamiento en congelación disminuyó la velocidad de formación de estos compuestos. La operación de congelar las rebanadas de lomo de atún y luego empacarlas al vacío, protegió el producto congelado de los factores ambientales, como la deshidratación superficial y las reacciones de oxidación.

Durante esta experiencia solo los controles C1 y C2 lograron superar el límite inferior del intervalo obtenido por Ruiz-Capillas y Moral (2005) en *Thunnus obesus* (25 - 30 mg N/100g) y el valor hallado por Márquez-Figueroa *et al.* (2006) en atún fresco (24,47 mg N/100g), y aún así se encontraron dentro de los valores aceptables. La legislación brasilera señala 30 mg/100 g (MdA, 1997; Teodoro *et al.*, 2007).

Proteínas solubles

En el Cuadro 6 se presentan los porcentajes de proteínas solubles en solución salina para cada tratamiento durante el tiempo de almacenamiento congelado. El lomo de atún fresco se caracterizó por un 9,87 % de proteínas solubles, superior al hallado en el músculo de sardina por Barrero *et al.* (2007) (7,79 %). Estas diferencias pueden ser propias de las especies, además de las asociadas a factores intrínsecos (sexo, tamaño, edad y nutrición del individuo), factores extrínsecos (zona y época de captura) y las condiciones de extracción utilizadas en los análisis de proteínas solubles en solución salina.

No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$) a lo largo del almacenamiento. La fracción de proteínas solubles se mantuvo al final de los 90 días de

almacenamiento congelado a -20 °C (independientemente de si se empacó en presencia o no del O₂ del aire o de si la operación de empacado se realizó antes o después de congeladas las rebanadas de lomo de atún) aproximadamente igual a la de lomo de atún fresco. El tratamiento que conservó la fracción de proteínas solubles aproximadamente igual a la del lomo de atún recién adquirido durante los 90 días de almacenamiento congelado fue V1 (empacado al vacío primero y congelado después) seguido de C2 (congelado primero y empacado a presión atmosférica después); por otra parte, congelar primero y empacar al vacío después (V2) se aproximó a la fracción de proteínas solubles alcanzada por C1 (11,28 %) y se mantuvo como la fracción más estable durante los primeros 30 días de almacenamiento, mientras que V1 disminuyó en ese lapso de tiempo.

En general la tendencia de los valores porcentuales fue mantenerse estable entre 9,87 y $\approx 10,00$. C1 incrementó progresivamente a lo largo del almacenamiento, C2 se mantuvo con fluctuaciones, V1 se mantuvo con un descenso hasta los 30 días (8,46 %) y luego se incrementó, mientras V2 durante los primeros 30 días de almacenamiento congelado a -20 °C mantuvo más estable la fracción de proteínas solubles en solución salina y descendió a los 60 días (9,38 %) para luego incrementarse.

Entre los factores que modifican la solubilidad de las proteínas musculares se encuentran la temperatura de congelación y la del almacenamiento congelado (-20 °C), el pH del músculo y el O₂. El pH durante el almacenamiento se mantuvo en $\approx 6,02$; el empaque al vacío excluyó el O₂ y ofreció barrera de protección frente a la deshidratación del tejido por sublimación y al contacto directo con el aire seco y frío del congelador. Por lo cual queda el factor temperatura. En ese sentido, Badii y Howell (2002) encontraron en muestras de filetes de bacalao, que el contenido de proteínas solubles disminuyó con el tiempo del almacenamiento congelado por la

Cuadro 6.- Proteínas solubles en solución salina (%) en las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus sp.*) empacadas según el tratamiento y almacenadas a -20 °C.

Tratamiento	Almacenamiento (días)				
	0	15	30	60	90
C1	9,87 ± 0,84	9,92 ± 0,86 ^a	10,40 ± 0,00 ^a	10,27 ± 0,00 ^a	11,28 ± 0,83 ^a
V1	9,87 ± 0,84	9,44 ± 0,99 ^a	8,46 ± 0,52 ^a	9,54 ± 0,78 ^a	10,03 ± 0,60 ^a
C2	9,87 ± 0,84	8,36 ± 0,85 ^a	9,45 ± 0,82 ^a	8,07 ± 0,82 ^a	10,33 ± 0,03 ^a
V2	9,87 ± 0,84	9,73 ± 0,22 ^a	9,86 ± 0,36 ^a	9,38 ± 0,88 ^a	10,85 ± 1,29 ^a

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

C1: empacadas a presión atmosférica y congeladas. V1: empacadas al vacío y congeladas.

C2: congeladas y empacadas a presión atmosférica. V2: congeladas y empacadas al vacío.

Letras diferentes en superíndices, hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

desnaturalización de las mismas y el descenso fue mayor en muestras almacenadas a -10 °C que en almacenadas a -30 °C. En 90 días de almacenamiento congelado a -20 °C de las rebanadas de lomo de atún no hubo pérdida de la solubilidad de la fracción de proteínas solubles en solución salina. Las condiciones de almacenamiento congelado son adecuadas, no favorecen la desnaturalización de las proteínas, y en el caso de la mioglobina, el Fe del grupo hemo, no quedaría expuesto, limitando su acción prooxidante de los ácidos grasos de la fracción lipídica.

Análisis físicos

Coordenadas colorimétricas

En el Cuadro 7 se presentan los resultados de la evaluación del color en las rebanadas de lomo de atún fresco y en las congeladas a -20 °C, empacadas o no al vacío, durante 90 días de almacenamiento a -20 °C. A los 15 días de almacenamiento se observó que la luminosidad (L) disminuyó, mientras el color rojo (a) y el amarillo (b) aumentaron. Esto mismo fue observado a los 90 días de

almacenamiento a -20 °C; salvo la coordenada L que se mantuvo numéricamente similar a lo obtenido a los 15 días en los tratamientos C1 y V1 ($p > 0,05$). C2 tuvo el valor más bajo de L, seguido de V2 a los 15 días de almacenamiento; ambos aumentaron significativamente ($p < 0,05$) a los 90 días. La coordenada b aumentó para todos los tratamientos durante el almacenamiento y no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$). En este sentido, Thiansilakul *et al.* (2011) determinaron las coordenadas de color de soluciones de OxiMb y MetaMb, cada una de 0,2 mg de proteína/mL, extraídas del pequeño atún oriental (*Euthynnus affinis*): L* (79,12), a* (11,11) y b* (33,30); y L* (82,72), a* (4,22) y b* (38,85), respectivamente; las compararon y encontraron que un mayor valor de a* y un menor valor de b* en la solución OxiMb indicó que era más roja que la MetaMb, significativamente ($p < 0,05$). Chen y Chow (2001) mencionan que la causa del aumento en el valor L y del descenso en el valor de a es la autooxidación de la mioglobina. Por lo cual, el mayor valor de L* coincidiendo con un menor valor a* en la solución MetaMb sugirió autooxidación de la mioglobina. En esta experiencia se observó lo

Cuadro 7.- Coordenadas colorimétricas rectangulares L, a y b en las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) empacadas según el tratamiento y almacenadas a -20 °C.

T	Almacenamiento (días)														
	0			15			30			60			90		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
C1	30,3 (2,7)	7,6 (1,0)	11,8 (1,0)	18,4 ^a (2,1)	16,2 ^a (1,4)	16,6 ^a (1,2)	17,5 ^a (3,2)	16,6 ^a (1,5)	19,6 ^a (2,1)	16,6 ^a (2,5)	22,2 ^a (2,5)	18,5 ^a (0,8)	18,2 ^a (2,4)	22,6 ^a (2,9)	23,2 ^a (1,2)
V1	30,3 (2,7)	7,6 (1,0)	11,8 (1,0)	15,6 ^b (2,6)	19,1 ^b (2,2)	15,6 ^a (1,3)	17,4 ^a (4,0)	19,3 ^b (1,9)	17,5 ^a (2,1)	15,9 ^a (2,6)	21,0 ^a (1,3)	18,0 ^a (1,5)	15,9 ^b (2,4)	23,8 ^a (1,6)	21,6 ^a (1,6)
C2	30,3 (2,7)	7,6 (1,0)	11,8 (1,0)	13,9 ^c (3,6)	16,0 ^a (1,1)	14,6 ^a (2,0)	16,3 ^a (1,9)	18,3 ^b (1,2)	19,5 ^a (1,4)	15,5 ^a (2,8)	21,2 ^a (1,2)	18,1 ^a (2,0)	16,4 ^b (1,6)	22,5 ^a (2,0)	22,0 ^a (1,2)
V2	30,3 (2,7)	7,6 (1,0)	11,8 (1,0)	14,4 ^c (2,5)	17,8 ^b (1,9)	14,4 ^a (1,7)	16,5 ^a (2,6)	17,9 ^b (2,1)	18,6 ^a (1,5)	16,9 ^a (2,4)	21,1 ^a (1,6)	18,4 ^a (1,2)	18,1 ^a (2,8)	22,2 ^a (1,9)	22,7 ^a (1,5)

$n = 10$, se muestra la media (desviación estándar). T = tratamiento.

C1: empacadas a presión atmosférica y congeladas. V1: empacadas al vacío y congeladas.

C2: congeladas y empacadas a presión atmosférica. V2: congeladas y empacadas al vacío.

Letras diferentes en superíndices, hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

contrario, disminución de la luminosidad (L) y aumento del color rojo (a), por lo cual, los tratamientos evaluados protegieron a la mioglobina del lomo de atún de la autooxidación. Kropf *et al.* (1985 cp Sarantópoulos y Soler, 1988) señalan que la presencia del O₂ favorece la formación de O₂Mb (rojo brillante) y la misma es estable a altas presiones parciales de O₂ (> 25 mm de Hg); sin embargo, las muestras C1 y C2 experimentaron incrementos en el color rojo y disminución de la luminosidad. Los autores mencionan que a presiones más bajas, se recupera la Mb (rojo oscuro), la cual es estable a presiones muy reducidas de 1,4 mm de Hg o menos; este sería el caso de las muestras empacadas al vacío, V1 y V2. En general, el comportamiento de las coordenadas colorimétricas en las rebanadas de lomo de atún para todos los tratamientos fue el mismo, disminución de L, aumento de a y b. El proceso de congelación a -20 °C y el almacenamiento congelado a la misma temperatura protegió durante los 90 días a la mioglobina de la

autooxidación, independientemente de la presencia o no del O₂, e independientemente de si la operación de vacío se realizó antes o después de congelar. No obstante, las muestras V1 (empacadas al vacío y congeladas después) tuvieron cuantitativamente el mayor valor de a, el menor valor de b y de L a los 90 días de almacenamiento.

La presencia del O₂ favorece la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en la fracción lipídica del lomo de atún (tratamientos C1 y C2). Esta sería la causa del incremento en el color amarillo (b) durante el almacenamiento congelado (Huss, 1997); sin embargo, el parámetro b aumentó para todos los tratamientos durante el almacenamiento y no hubo diferencia significativa entre ellos ($p > 0,05$), además el contenido de lípidos en el lomo de atún fue bajo (0,13 %), la velocidad de difusión del O₂ disminuye a -20 °C y el contenido de malonaldehído fue muy bajo para todos los tratamientos. A los 90 días las muestras más rojas y oscuras fueron las

empacadas al vacío y congeladas después (V1). Esta diferencia fue percibida por 2 de los 16 panelistas quienes mencionaron que las muestras V1 a los 90 días fueron las más rojas. Las muestras C1 fueron las más amarillas y brillantes.

Análisis microbiológicos

En el Cuadro 8 se presenta el recuento de los indicadores aerobios mesófilos y psicrófilos, y coliformes totales, en el lomo de atún fresco (día 0) y en las rebanadas congeladas al final de los 90 días de almacenamiento congelado. Lo mesófilos y psicrófilos se encontraron en el mismo orden. El recuento de aerobios mesófilos para el día 0 ($13,85 \times 10^3$ UFC/g) en el lomo de atún fresco, coincidió con lo hallado por Delgado-Bottini *et al.* (2000) ($10^2 - 10^3$ UFC/g) en sardinas frescas (*Sardinella aurita*), por Márquez-Figueroa *et al.* (2006) ($2,2 \times 10^3$ UFC/g) en atún, por Stamatis y Arkoudelos (2007) (2,8 log UFC/g) en caballa (*Scomber colias japonicus*) y por Pons-Sánchez-Cascado *et al.* (2006) ($10^3 - 10^4$ UFC/g) en anchoas (*Engraulis encrasicolus*). Fue inferior a lo hallado por de Souza (2004) (3,5 log UFC/g) en lomo de atún (*Thunnus albacares*) y por Silva (2010) en sardinas, *S. brasiliensis* (4,61 log UFC/g) y *Cetengraulis edentulus* (4,09 log UFC/g). Al contrastar el recuento de aerobios mesófilos con el valor 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 ('International Commission on Microbiological Specifications for Foods', ICMSF), éste fue inferior (ICMSF, 1986). Los aerobios mesófilos son indicadores de sanidad, y su ausencia indica que la manipulación y las condiciones de conservación fueron adecuadas (MdA, 1981; Teodoro *et al.*, 2007). Sin embargo, Huss (1997) analiza que el recuento total de viables es de valor dudoso en el análisis de productos pesqueros congelados porque durante la

congelación y almacenamiento frigorífico la población bacteriana puede sufrir daño celular desconocido e incontrolado, y por tanto, un recuento muy bajo puede llevar a conclusiones falsas sobre la higiene del producto procesado. Según el autor, el recuento total de viables es de utilidad para medir las condiciones de la materia prima; en este caso, el lomo de atún que será rebanado, empacado, congelado y almacenado a -20 °C por 90 días. Y para que sea útil y se haga una correcta interpretación de los resultados es esencial poseer un conocimiento profundo de las condiciones de manipulación y elaboración antes del muestreo.

El recuento de aerobios psicrófilos (10^3 UFC/g) para el día 0 fue superior a lo hallado por Delgado-Bottini *et al.* (2000) en sardinas frescas (*Sardinella aurita*) (< 10 UFC/g) e inferior a lo encontrado por Silva (2010) en sardinas, *S. brasiliensis* (4,25 log UFC/g) y *Cetengraulis edentulus* (4,26 log UFC/g).

El recuento de coliformes totales el día 0 (93 NMP/g), fue inferior al requisito establecido por la ICMSF (1978) (400 NMP/g) para pescado fresco y congelado, y a lo hallado por Márquez-Figueroa *et al.* (2006) en atún fresco ($3,8 \times 10^2$ NMP/g). No se detectaron coliformes fecales (< 3 NMP/g) en el producto recién adquirido, que es lo esperado en productos pesqueros capturados en alta mar, ni después de los 90 días de almacenamiento. Iriarte-Rota y Romero-González (2006) encontraron fluctuaciones en el recuento de coliformes fecales de 6, 101, 4 y 14 NMP/g para los días 6, 39, 67 y 95 de almacenamiento, respectivamente, a -18 °C en los filetes de pez volador empacados en PS y envoplast® y congelados, previamente a -40 °C. Esta especie se distribuye en las aguas costeras de Venezuela (Cervigón, 1991), lo que explicaría la presencia de coliformes fecales.

Los coliformes no son comunes en pescados y mariscos recién capturados en alta mar y su presencia indica prácticas de higiene deficientes en los barcos de pescas y en los distribuidores de pescado fresco (Metin *et al.*,

Cuadro 8.- Recuento microbiológico en las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) empacadas según el tratamiento y almacenadas a -20 °C

Indicadores	Almacenamiento (días)				
	0	90			
		C1	V1	C2	V2
Aerobios mesófilos (UFC/g)	13,85x10 ³ ^b (212,13)	53,00x10 ³ ^a (5656,85)	10,35x10 ³ ^b (777,82)	38,93x10 ³ ^d (5409,27)	5,00x10 ³ ^c (424,26)
Aerobios psicrófilos (UFC/g)	70,98x10 ³ ^a (144,96)	43,18x10 ³ ^b (3005,20)	9,30x10 ³ ^c (424,26)	35,03x10 ³ ^b (5762,92)	3,90x10 ³ ^c (989,95)
Coliformes totales (NMP/g)	93,00 ^a (0,00)	2400,00 ^b (0,00)	23,00 ^c (0,00)	240,00 ^d (0,00)	240,00 ^d (0,00)

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

UFC: unidades formadoras de colonias. NMP: número más probable.

C1: empacadas a presión atmosférica y congeladas. V1: empacadas al vacío y congeladas.

C2: congeladas y empacadas a presión atmosférica. V2: congeladas y empacadas al vacío.

Letras diferentes en superíndices de una misma fila, hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

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 empacado, al vacío o no, de congelación y almacenamiento congelado fueran eficientes. La vida útil del pescado empacado al vacío dependerá además de la especie, del recuento microbiano inicial (manipulación) y de la temperatura de almacenamiento del producto empacado (Suárez-Mahecha *et al.*, 2009).

Durante los 90 días de almacenamiento congelado a -20 °C los recuentos de aerobios mesófilos y psicrófilos permanecieron estables (10^3), independientemente del momento del empacado. La tendencia en ambos recuentos fue a disminuir con el empacado al vacío. No hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los recuentos de aerobios mesófilos de la muestra fresca de atún y los de las muestras con el tratamiento V1 (empacado al vacío primero y congelado después), y sí hubo ($p < 0,05$) con

las muestras del tratamiento V2 (congelado primero y empacado al vacío después) de recuento más bajo. Si hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los de aerobios psicrófilos del atún fresco y los tratamientos V1 y V2.

El empacado al vacío y posterior congelación (V1) mantuvo estable el recuento de aerobios mesófilos y disminuyó el de psicrófilos, mientras que congelando primero y empacando al vacío después (V2) se obtuvo el menor recuento de ambos indicadores microbiológicos. La ausencia del O₂ durante el almacenamiento a -20 °C de las rebanadas de atún congeladas favoreció la inhibición del crecimiento de los aerobios mesófilos y psicrófilos, y aún más en las muestras congeladas primero y empacadas al vacío después (V2). Por otra parte, hubo tendencia al incremento de los aerobios mesófilos y decremento de los psicrófilos estando el O₂ presente durante el almacenamiento a -20 °C de

las rebanadas de lomo de atún congeladas, independientemente del momento del empacado. Estos resultados coinciden con los de Iriarte-Rota y Romero-González (2006) quienes encontraron en los filetes del pez volador (*Dactylopterus volitans* L., 1758) empacados en bandejas de poliestireno (PS) y cubiertos con envoplast® y congelados a -40 °C, que el recuento de mesófilos del orden de 10^4 entre los 6 y 39 días de almacenamiento a -18 °C se redujo en una unidad logarítmica a los 65 días y se mantuvo hasta los 95 días de almacenamiento. Si bien no empacaron al vacío, la velocidad de difusión del O₂ disminuye a temperaturas de congelación limitando primero y disminuyendo después la población de mesófilos.

La tendencia de los coliformes totales fue aumentar durante el almacenamiento congelado salvo en V1. Hubo un ligero incremento significativo ($p < 0,05$) en las rebanadas congeladas primero y empacadas después (C2 y V2), independientemente de si estaba o no presente el O₂ del aire. El menor recuento se obtuvo con el empacado al vacío primero y congelado después (V1). Aparentemente, la manipulación de las rebanadas de lomo de atún congelado para su posterior empacado (C2 y V2) favoreció el incremento en los coliformes, pero aún más en las empacadas a presión atmosférica y congeladas después (C1). No hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el tratamiento V2 y su control C2, es decir, al congelar primero y empacar después, la presencia o no del O₂ en el interior del empaque, no ejerció un efecto sobre la multiplicación de los coliformes totales, pero sí, si el O₂ estuvo presente antes de congelar el lomo de atún (C1). Se debe cuidar la manipulación del producto durante las operaciones de rebanado, congelado y empacado.

Evaluación sensorial

En el Cuadro 9 se presenta la evaluación sensorial realizada a las rebanadas de lomo de

atún según el tratamiento y almacenadas durante 60 y 90 días a -20 °C. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, ni a los 60 ni a los 90 días de almacenamiento ($p > 0,05$). Sin embargo, hubo dos observaciones: 3 panelistas de 16, a los 90 días de almacenamiento rechazaron la muestra C1 por presentar un fuerte olor a “amoniacado” o “a pescado”. Contrastando esta observación con los análisis químicos (Cuadros 3, 5, 6, 7 y 8), independientemente del tratamiento, a los 90 días, todas las muestras tenían el pH ≈ 6 , pero el valor más alto de BVT lo tuvo C1 con 25,97 mg N/100 g < 30 mg N/100 g permitidos, seguido por C2 con 23,50 mg N/100 g; así como también, C1 tuvo el mayor contenido de proteínas solubles (11,28 %), el mayor valor de b (amarillo) y los valores más altos de aerobios mesófilos y psicrófilos. Los panelistas no indicaron ninguna observación con respecto a C2.

Dos panelistas de 16, comentaron que la muestra del tratamiento V1, a los 90 días, fue la más roja. Esto coincide con la determinación física de la coordenada a en V1 (Cuadro 7). Cuantitativamente V1 fue la más roja, menos amarilla y más oscura a los 90 días. Por otra parte, fue la que mantuvo más estable la fracción de proteínas solubles (10,03 %) y de malonaldehído (0,64 mg/100g) entre todas las muestras.

En general, la evaluación sensorial a los 90 días indicó un grado global de aceptación para todas las muestras. Los panelistas revelaron una percepción de frescura para todos los tratamientos con una apariencia aceptable. No obstante, se deben tomar en cuenta los comentarios señalados por los panelistas, quienes podrían ser más sensibles a ciertos niveles de NBV que el resto y otros al color. La evaluación sensorial es muy importante porque en definitiva es el consumidor el que define la calidad del producto.

Cuadro 9.- Evaluación sensorial de las rebanadas de lomo de atún (*Thunnus* sp.) empacadas según el tratamiento y almacenadas a -20 °C.

Tratamiento	Almacenamiento (días)						Media (ANOVA)		
	60			90			Color	Olor	Apariencia
	Color	Olor	Apariencia	Color	Olor	Apariencia			
C1	6,44 (1,79)	5,75 (1,69)	6,75 (2,14)	6,83 (1,90)	5,75 (1,96)	7,00 (1,58)	6,64 ^a (1,76)	5,75 ^a (1,67)	6,88 ^a (1,71)
V1	5,38 (2,16)	4,94 (1,95)	5,44 (2,28)	6,83 (1,59)	6,08 (1,31)	7,17 (1,57)	6,11 ^a (1,76)	5,51 ^a (1,67)	6,31 ^a (1,71)
C2	5,31 (2,06)	5,56 (1,55)	4,88 (2,09)	6,67 (1,56)	6,33 (1,50)	6,92 (1,32)	5,99 ^a (1,76)	5,95 ^a (1,67)	5,90 ^a (1,71)
V2	6,25 (1,57)	5,94 (1,39)	6,06 (1,65)	7,25 (1,42)	6,67 (1,97)	7,33 (1,03)	6,75 ^a (1,76)	6,31 ^a (1,67)	6,70 ^a (1,71)

$n = 16$, se muestra la media (desviación estándar).

C1: empacadas a presión atmosférica y congeladas. V1: empacadas al vacío y congeladas.

C2: congeladas y empacadas a presión atmosférica. V2: congeladas y empacadas al vacío.

Letras iguales en superíndices de una misma columna, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$).

CONCLUSIONES

- El lomo de atún fresco se caracterizó por un 0,13 % de lípidos y microbiológicamente reflejó condiciones higiénicas aptas para la operación de empacado, el proceso de congelación a -20 °C y almacenamiento a la misma temperatura.
- La operación de empacado de las rebanadas de lomo de atún con o sin vacío e independientemente del momento del empacado (antes o después del proceso de congelación) mantuvo el pH en ≈ 6 durante los 90 días de almacenamiento.
- La operación de empacado al vacío primero y posterior congelación a -20 °C (V1) permitió a los 90 días de almacenamiento a -20 °C, obtener rebanadas de lomo de atún con menor producción de malonaldehído (indicador de estabilidad química) y mayor estabilidad de la fracción de proteínas solubles.
- El comportamiento en general de las coordenadas de color en las rebanadas de lomo de atún para todos los tratamientos fue disminución de L, aumento de a y b. A los 90 días de almacenamiento a -20 °C, las muestras más rojas, menos amarillas y más oscuras fueron las empacadas al vacío y congeladas después (V1).
- Los recuentos de los indicadores microbiológicos, aerobios mesófilos y psicrófilos se mantuvieron estables; no así los de coliformes totales. No se detectaron coliformes fecales.
- La estabilidad química, microbiológica y sensorial de las rebanadas de lomo de

atún empacadas al vacío en bolsas multilaminadas, coextruidas de PEBD/PA(nailon)/PEBD y congeladas a -20 °C (V1), se mantuvo en el almacenamiento congelado a -20 °C por 90 días.

AGRADECIMIENTO

Las autoras agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV) el financiamiento del proyecto 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

- Abbas, K.A.; Mohamed, A.; Jamilah, B. and Ebrahimian, M. 2008. A review on correlations between fish freshness and pH during cold storage. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 4(4):416-421.
- 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).
- Anderson, Collin R. and Wu, Wen Hsin. 2005. Analysis of carbon monoxide in commercially treated tuna (*Thunnus* spp.) and mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(18):7019-7023.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. (18va. ed.). Washington, USA.
- Aojula, Harmesh S.; Wilson, Michael T. and Morrison, Ian E.G. 1987. Functional consequences of haem orientational disorder in sperm-whale and yellow-fin-tuna myoglobins. *Biochemical Journal*. 243(1):205-210.
- APHA. 2001. American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D. C., USA. 1115 p.
- Arashisar, Şükriye; Hisar, Olkay; Kaya, Mükerrrem 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.
- Badii, Farah and Howell, Nazlin K. 2002. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillets during frozen storage. *Food Hydrocolloids*. 16(4):313-319.
- 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.
- Barrero, Marinela; Castillo, Ynes y Kodaira, Makie. 2007. Influence of washing and frozen storage on the myofibrillar protein fraction in sardine minces flesh. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XVII(4):405-411.
- Bito, M. 1976. Studies on the retention of meat color of frozen tuna. *Tokai-ku Suisan Kenkyusho Kenkyu Hokoku - Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*. 84:51-113.
- Brennan, J.G.; Butters, J.R.; Cowell, N.D. y Lilley, A.E.V. 1998. *Las operaciones de la ingeniería de los alimentos*. (3era. ed.). Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A. 629 p.
- Brown, W. Duane. 1962. The concentration of myoglobin and hemoglobin in tuna flesh. *Journal of Food Science*. 27(1):26-28.

- Castro-González, M.I.; Ojeda, V.A.; Montañó, B.S.; Ledesma, C.E. y Pérez-Gil, R.F. 2007. Evaluación de los ácidos grasos n-3 de 18 especies de pescados marinos mexicanos como alimentos funcionales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 57(1):85-93.
- Catarci, Camillo. 2003. El mercado mundial del atún. Sinopsis y actualidad. INFOPECA Internacional. N° 15:1-9.
- Cervigón, F. 1991. Los peces marinos de Venezuela. Vol. 1. (2da. ed.). Caracas, Venezuela: Fundación Científica Los Roques.
- Cheftel, Jean Claude y Cheftel, Henri. 1980. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Volumen I. Capítulo II. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A. pp. 88.
- Chen, Wen Lee and Chow, Chau Jen. 2001. Studies on the physicochemical properties of milkfish myoglobin. *Journal of Food Biochemistry*. 25(2):157-174.
- COVENIN. 1979. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Alimentos. Determinación del pH. (acidez iónica). Norma Venezolana COVENIN 1315:79. Caracas, Venezuela.
- CPT. 2001. Coextruded Plastic Technologies, Inc. Plastobarr XTRA. Product specifications. <http://www.cptplastics.com/Datasheets/Plastobarr-XTRA.pdf>
- 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-Boshian, 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.
- FAO. 2005. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Departamento de Pesca y Acuicultura. Perfiles sobre la pesca y la acuicultura por países. Venezuela. http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_VE/es
- Giménez, C. 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).
- 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 su calidad. FAO Documento Técnico de Pesca. N° 348. pp. 15-98. ISBN 92-5-303507-2.
- ICMSF. 1978. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganismos de los alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: principios y aplicaciones específicas. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- 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.
- INN. 2001. Instituto Nacional de Nutrición. Tabla de composición de alimentos para uso práctico. Serie Cuadernos Azules. Publicación N° 54. (1era. reimpresión). Caracas, Venezuela.
- 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.
- Izquierdo, Pedro; Torres, Gabriel; Allara, María; Barros, Joyce; Delgado, Patricia y Añez, Judith. 2001. Efecto de tres métodos de cocción en la composición proximal y el perfil de ácidos grasos del atún (*Thunnus thynnus*). Revista Científica (FCV-LUZ). XI(4):367-372.
- Izquierdo-Córser, Pedro; Torres-Ferrari, Gabriel; Barboza de Martínez, Yasmina; Márquez-Salas, Enrique y Allara-Cagnaso, María. 2000. Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 50(2):187-194.
- Kitahara. Yoshiro; Matsuoka, Ariki; Kobayashi, Nagao and Shikama, Keiji. 1990. Autoxidation of myoglobin from bigeye tuna fish (*Thunnus obesus*). Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology. 1038(1):23-28.
- Kropf, D.H. 1980. Effects of retail display conditions on meat color. In Proceedings of the 33rd Annual Reciprocal Meat Conference of the American Meat Science Association. June 22-25. (pp. 15-32). Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA.
- Landeros-Ampuero, Jenny Orieller y López-Salinas, Ximena Andrea. 2005. Estudio de la estabilidad del color, propiedades químicas y físicas del músculo de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) almacenado congelado a -20 °C durante un año. Memoria para optar al título de Ingeniero de Alimentos. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Lindahl, Gunilla; Lundström, Kerstin and Tornberg, Eva. 2001. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. Meat Science. 59(2):141-151.
- Liu, Yuan; Wang, Xi chang and Luo, Yin. 2010. Edible quality of ice-stored yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) dorsal sashimi. Food Science. 31(2):273-276.
- Livingston, D.J. and Brown, W.D. 1981. The chemistry of myoglobin and its reactions. Food Technology. 35(5):244-252.
- 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.
- Matsuura, Fumio and Hashimoto, Kanehisa. 1954. Chemical studies on the red muscle ("chiai") of fishes-II. Determinations of the content of hemoglobin, myoglobin and cytochrome c in the muscles of fishes. Nippon Suisan Gakkaishi - Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 20(4):308-312.
- Matsuura, Fumio and Hashimoto, Kanehisa. 1959. Chemical studies on the red muscle ("chiai") of fishes-X. A new method for determination of myoglobin. Nippon Suisan Gakkaishi - Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 24(10):809-815.
- 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. 1997. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Brasília, Brasil.

- 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.
- Melton, Sharon L. 1999. Vitamin E. Effect on meat color and flavor. In Quality attributes of muscle foods. (pp. 31-44). New York, NY: Kluwer Academic/ Plenum Publishers.
- Metin, Suhendan; Erkan, Nuray; Baygar, Tacnur and Ozden, Ozkan. 2002. Modified atmosphere packaging of fish salad. *Fisheries Science*. 68(1):204-209.
- Molina, M.R.; Garro, O.A. y Judis, M.A. 2001. Calidad alimenticia y estabilidad oxidativa de *Pseudoplatystoma corruscans*. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 3(2):89-95.
- 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.
- Morillo-Montiel, Nancy J.; Finol-Romero, Mónica D.; Valero-Leal, Kutchynskaya J. y Soto-Colina, Ana E. (2004-2005). Evaluación bacteriológica y organoléptica en dos especies de pescado del Lago de Maracaibo, Venezuela. *Veterinaria Tropical*. 29-30(1 y 2):61-82.
- Pascual-Anderson, M.^a del Rosario y Calderón y Pascual, Vicente. 2000. Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. (2da. ed.). Madrid, España: Díaz de Santos, S. A. pp. 247.
- Pearson, D. 1976. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. España: Editorial Acribia. pp. 180-183.
- 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-Nogués, M.T. 2006. Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. *Food Control* 17(7):564-569.
- 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.
- 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.
- Sarantopóulos, C.I.G. de L. e Soler, R.M. 1988. Embalagens com atmosfera modificada/controlada. In Novas tecnologias de acondicionamento de alimentos: Embalagens flexíveis e semi-rígidas. Campinas, Brasil: Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Embalagens (Centro de Tecnologia de Embalagem, CETEA), Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). 162 p.
- 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.
- Smith, G.C.; Morgan, J.B.; Sofos, J.N. and Tatum, J.D. 1996. Supplemental vitamin E in beef cattle diets to improve shelf-life of beef. *Animal Feed Science and Technology*. 59(1-3):207-214.
- 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.
- Susanto, Eko; Agustini, Tri Winardi; Ritanto, Eko Prasetyo; Dewi, Eko Nurcahya and Swastawati, Fronthea. 2011. Changes in oxidation and reduction potential (Eh) and pH of tropical fish during storage. Journal of Coastal Development. 4(3):223-234.
- Suzuki, Nobuoki; Hashimoto, Kanehisa and Matsuura, Fumio. 1973. Studies on the color of skipjack meat. Nippon Suisan Gakkaishi - Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 39(1):35-41.
- 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.
- 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 (Brazil). 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.
- 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.
- Valls, Jaime; Paredes, Ana; González, Deokie y González, Aníbal. 2004. Evaluación física, química, microbiológica y sensorial de filetes de sardina (*Sardinella aurita* V.) empacados al vacío y congelados a -18 °C. Revista Científica (FCV-LUZ). XIV(2):115-123.
- Varona, Javier; Moreiras-Varela, O.; Ruiz-Roso, B. y Grande-Covián, F. 1986. Pescado graso, colesterol y enfermedades cardiovasculares. Publicaciones: Serie Divulgación. Nº 6. pp. 3-21. Madrid, España: Fundación Española de la Nutrición.