USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

TESIS DE DOCTORAMIENTO

APLICACIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS EN LA CONSERVACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*): EFECTO SOBRE LA CALIDAD Y EL VALOR AGREGADO

Alicia Rodríguez Melis

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA PROGRAMA DE DOCTORAMIENTO

ALIMENTOS: VALOR NUTRITIVO, TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

FACULTAD DE FARMACIA

SANTIAGO DE COMPOSTELA
2015

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

TESIS DE DOCTORAMIENTO

APLICACIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS EN LA CONSERVACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*): EFECTO SOBRE LA CALIDAD Y EL VALOR AGREGADO

Fdo.
Alicia Rodríguez Melis

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA PROGRAMA DE DOCTORAMIENTO

ALIMENTOS: VALOR NUTRITIVO, TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

FACULTAD DE FARMACIA

SANTIAGO DE COMPOSTELA
2015

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

TESIS DE DOCTORAMIENTO

D. SANTIAGO P. AUBOURG MARTÍNEZ, Profesor de Investigación del Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo (CSIC), D. JOSÉ MANUEL CRUZ FREIRE, Profesor Titular de Universidad, del Área de Ingeniería Química de la Universidad de Vigo y D. PERFECTO PASEIRO LOSADA, Catedrático de Universidad, del Área de Nutrición y Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela,

Como Directores de la Tesis Doctoral titulada «**APLICACIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS EN LA CONSERVACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*): EFECTO SOBRE LA CALIDAD Y VALOR AGREGADO**», presentada por Doña Alicia Rodríguez Melis, alumna del Programa de Doctorado **ALIMENTOS: VALOR NUTRITIVO, TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD ALIMENTARIA,**

Autorizan la presentación de la tesis indicada, considerando que reúne los requisitos exigidos en el artículo 34 del reglamento de Estudios de Doctorado, y como Directores de la misma no incurre en las causas de abstención establecidas en la ley 30/1992.

Santiago de Compostela, 05 de noviembre de 2015,

Fdo. Santiago P. Aubourg Martínez

Fdo. José Manuel Cruz Freire

Fdo. Perfecto Paseiro Losada

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

TESIS DE DOCTORAMIENTO

D. Santiago P. Aubourg Martínez, Profesor de Investigación del Instituto de Investigaciones Marinas de Vigo, CSIC, D. José Manuel Cruz Freire, Profesor Titular de Universidad, del Área de Ingeniería Química de la Universidad de Vigo y D. Perfecto Paseiro Losada, Catedrático de Universidad, del Área de Nutrición y Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela, como Directores de la tesis titulada: **APLICACIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS EN LA CONSERVACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*): EFECTO SOBRE LA CALIDAD Y VALOR AGREGADO**,

Por la presente **DECLARAMOS**:

Que la tesis presentada por Doña Alicia Rodríguez Melis, es idónea para ser presentada, de acuerdo con el artículo 41 del *Reglamento de Estudios de Doctoramiento*, por la modalidad de compendio de ARTÍCULOS, en los que la doctoranda tuvo participación en el peso de la investigación y su contribución fue decisiva para llevar a cabo este trabajo.

Y que está en conocimiento de los coautores, tanto doctores como no doctores, participante en los artículos, que ninguno de los trabajos reunidos es esta tesis serán presentados por ninguno de ellos en otra tesis de Doctorado, lo que firmamos bajo nuestra responsabilidad.

Santiago de Compostela, a 05 de noviembre de 2015.

Fdo: Santiago P. Aubourg Martínez

Fdo: José Manuel Cruz Freire

Fdo: Perfecto Paseiro Losada

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Aplicación de nuevas tecnologías en la conservación y comercialización de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*): Efecto sobre la calidad y valor agregado.

RESUMEN

El salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*), también denominado salmón plateado, ha adquirido recientemente un papel relevante debido a su producción acuícola creciente en países como Chile, Japón y Canadá, en paralelo con importantes capturas en países como Estados Unidos de Norteamérica, Rusia, Canadá y Japón. Este proyecto de tesis se centra en esta especie y en sus productos derivados de tipo refrigerado, congelado, cocido y enlatado, susceptibles de ser empleados en la dieta humana.

En una primera fase se llevó a cabo el estudio de su conservación en refrigeración (hielo tradicional) y en congelación (-20 °C), haciéndose hincapié en su tiempo de vida útil, así como en el desarrollo relativo de las distintas vías de alteración. En una segunda fase, se estudió la aplicación de distintas tecnologías avanzadas de conservación al objeto de inhibir los distintos mecanismos de degradación y por tanto de prolongar el tiempo de vida útil. Entre estas tecnologías ensayadas se encuentran el hielo líquido, envases activos incluyendo antioxidantes naturales, altas presiones hidrostáticas y alimentación con dietas enriquecidas en antioxidantes naturales durante el periodo de crecimiento.

Los análisis de calidad llevados a cabo a lo largo del desarrollo de los distintos experimentos incluyeron los químicos y microbiológicos, pero de un modo especial los de tipo sensorial y físico.

PALABRAS CLAVES:

Salmón Coho, acuicultura, conservación, productos comerciales, calidad.

Application of new technologies in the preservation and commercialization of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Effect on quality and added value.

ABSTRACT

Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), also known as silver salmon, has recently acquired an important role because of its growing aquaculture production in countries such as Chile, Japan and Canada, in parallel with significant catches in countries like the United States, Russia, Canada and Japan. This thesis project focuses on this species and its derivatives products such as refrigerated, frozen, cooked and canned, susceptible of being used in the human diet.

In a first phase, storage under chilled (traditional ice) and frozen (-20 °C) conditions was studied, with emphasis on the shelf life time as well as on the relative development of the various damage pathways. In a second phase, the application of different advanced technologies in order to inhibit the different mechanisms of degradation and thereby, prolong the shelf life was studied. These technologies include slurry ice, active packaging including natural antioxidants, hydrostatic high-pressure, and feeding diets enriched with natural antioxidants during the growth period.

Quality indices employed throughout the development of the different experiments included chemicals and microbiological analyses, but in a special way the sensory and physical ones.

KEYWORDS:

Coho salmon, aquaculture, preservation, commercial products, quality.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todos y cada uno de los que me han acompañado en este proceso. Este trabajo no hubiese sido posible sin el apoyo incondicional de mis directores de tesis, Santiago P. Aubourg, José Manuel Cruz y Perfecto Paseiro. Para cada uno de ellos un agradecimiento especial por haberme dado la oportunidad de compartir sus conocimientos y de colaboración conjunta en proyectos que han permitido llevar a cabo investigaciones y publicaciones en este tema.

Destacar a mis compañeros de labores en especial a los profesores Julia Vinagre, Eduardo Castro, Mario Pérez Won, Liliana Maier, Andrea Bunger, María Angélica Larraín, Vilma Quitral, Lilian Abugoch, Mará Elisa Marín, Gypsi Tabilo, Lilia Masson, Irma Pennacchiotti, Luis López, Nalda Romero, Paz Robert y Jaime Ortiz por compartir en algún momento este camino.

Especial mención a José Manuel Gallardo, Marcos Trigo, Vanesa Losada por haberlos conocidos, compartidos su conocimiento en el laboratorio y asistencia técnica.

Además, agradecer a todos los profesores del Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia por la oportunidad de realizar el doctorado en la Universidad de Santiago de Compostela.

Este trabajo de investigación ha sido realizado gracias a la financiación concedida por Programa Bilateral Universidad de Chile (Chile)-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España). Proyecto 2003CL 0013; Proyecto 2006CL 0034, y soportado por la Secretaría Xeral I+D (Xunta de PGIDIT05TAL00701CT): Universidad de Chile – CSIC España. Proyecto colaborativo de investigación. CSIC Nº22/05-06. Universidad de Chile–Vicerrectoría de Investigación. Concurso de Proyectos Multidisciplinarios de Investigación en temas de Interés Nacional. MULT 05/13-2. DI-2005. 2006-2007.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

A mi gran familia.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

A B R E V I A T U R A S

ADP: Difosfato de adenosina

AGL: Ácidos grasos libres

AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados

AGPICL n-3: Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3

AMP: Monofosfato de andenosina

ATP: Trifosfato de adenosina

BVT-N: Nitrógeno en bases volátiles totales

C.R.A.: Capacidad de retención de agua

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FFA: Ácidos grasos libres

FR: Relación de fluorescencia

GMP: Guanosina-5 monofosfato

HE: Humedad exprimible

H&G: Fresco, eviscerado, descabezado y sin espinas

HL: Hielo líquido

HT: Hielo tradicional en escamas

Hx: Hipoxantina

IMP: Monofosfato de inosina

INO: Inosina

NNP: Nitrógeno no proteico

OTMA: Óxido de trimetilamina

PI: Índice de Polienos

PV: Índice de peróxidos

TBA-i: Índice del ácido tiobarbitúrico

TMA-N: Nitrógeno en trimetilamina

UFC: Unidades formadoras de colonias

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Í N D I C E

1. INTRODUCCIÓN…… 1
   1.1. COMPOSICIÓN DEL MÚSCULO DEL PESCADO: VALOR NUTRITIVO…… 1
   1.2. VÍAS DE ALTERACIÓN *POST MORTEM* Y EFECTO SOBRE LA PÉRDIDA DE CALIDAD DEL PESCADO…… 4
      1.2.1. Acción enzimática endógena…… 4
      1.2.2. Acción microbiana…… 6
      1.2.3. Oxidación lipídica no enzimática…… 7
      1.2.4. Pardeamiento no enzimático…… 8
      1.2.5. Pardeamiento enzimático…… 9
   1.3. APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE CONSERVACIÓN…… 10
      1.3.1. Tecnologías clásicas…… 10
         1.3.1.1. Refrigeración…… 10
         1.3.1.2. Congelación…… 11
      1.3.2. Tecnologías avanzadas…… 12
         1.3.2.1. Hielo líquido…… 12
            1.3.2.1.1. Hielo líquido como tratamiento previo al proceso de cocción…… 13
            1.3.2.1.2. Hielo como tratamiento previo al proceso de enlatado…… 13
         1.3.2.2. Conservantes de origen natural…… 13
            1.3.2.2.1. Envasado con presencia de antioxidantes y antimicrobiano…… 14
            1.3.2.2.2. Antioxidante en la dieta del pescado y su efecto en la conservación de la calidad del congelado…… 17
         1.3.2.3. Altas presiones hidrostáticas…… 20
   1.4. RECURSOS PESQUEROS…… 22
      1.4.1. Producción mundial de pescado…… 22
      1.4.2. Tecnología de comercialización y elaboración del pescado…… 24
      1.4.3. Comercio y productos pesqueros…… 25
      1.4.4. Prácticas de acuicultura responsable…… 25
      1.4.5. Atributos de calidad (color, apariencia, aroma)…… 25
   1.5. CARACTERÍSTICA DE LA ESPECIE EN ESTUDIO…… 27
      1.5.1. Salmón Coho (*O. kisutch*)…… 27
      1.5.2. Producción de captura total mundial salmón Coho…… 28
      1.5.3. Producción acuícola mundial salmón Coho…… 28
      1.5.4. Ciclo de producción del salmón Coho…… 30
      1.5.5. El Mercado y comercio del salmón…… 30
   1.6. BIBLIOGRAFÍA…… 31
2. PRESENTACIÓN, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO…… 37
   2.1. PRESENTACIÓN…… 37
   2.2. OBJETIVOS…… 38
   2.3. PLAN DE TRABAJO…… 39

2.3.1. PARTE 1. Estudio de las modificaciones de la calidad de salmón Coho durante su conservación comercial en hielo y en congelación (-20 °C)…….…….. 39
2.3.2. PARTE 2. Aplicación de tecnologías avanzadas para la mejora de la calidad de distintos tipos de productos comerciales de salmón Coho…….…..…. 39
3. MATERIALES Y MÉTODOS……..…….…….…….. 41
3.1. APLICACIÓN DE MÉTODOS DE CONSERVACIÓN…….…….. 41
3.1.1. Sistemas de tratamiento previo con hielo líquido…….…… 41
3.1.2. Sistema combinado de envasado al vacío con película adsorbente de polifenoles……... 41
3.1.3. Efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho congelado……. 42
3.1.4. Sistema de tratamiento previo con altas presiones……... 43
3.2. MATERIA PRIMA, APLICACIÓN DEL MÉTODO DE CONSERVACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS…….……... 43
3.2.1. Capítulo 1. Cambios en los parámetros físicos y sensoriales en salmón Coho refrigerado de acuicultura…….……. 43
3.2.2. Capítulo 2. Efecto del almacenamiento congelado sobre las propiedades físicas y vida útil del músculo de salmón Coho…….. 44
3.2.3. Capítulo 3. Cambios en el músculo del salmón Coho cultivado cocido con almacenamiento previo en hielo líquido (-1.5 °C)……. 45
3.2.4. Capítulo 4. Cambios en el músculo del salmón Coho cultivado enlatado con almacenamiento previo en hielo líquido (-1.5 °C)..... 45
3.2.5. Capítulo 5. Efecto del envase polifenol-vacío sobre el deterioro de los lípidos del salmón Coho cultivado en el almacenado congelado durante 18 meses…… 46
3.2.6. Capítulo 6. Efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho congelado…… 47
3.2.7. Capítulo 7. Cambios sensoriales y físicos en salmón Coho refrigerado: Efecto de un tratamiento previo optimizado por altas presiones hidrostáticas……. 48
3.3. ANÁLISIS DE PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA CALIDAD. 48
3.3.1. Toma de muestra para análisis de calidad…… 48
3.3.2. Análisis Microbiológico…….…. 49
3.3.3. Evaluación sensorial…… 50
3.3.4. Análisis físicos…….…… 52
3.3.4.1. *Gaping*……. 52
3.3.4.2. Capacidad de retención de agua (CRA)…… 53
3.3.4.3. Humedad exprimible (HE)……...…… 53
3.3.4.4. *Dripping* crudo……. 53
3.3.4.5. *Dripping* cocido…….…... 54
3.3.4.6. Evaluación instrumental del color……. 54

3.3.4.7. Propiedades texturales…….. 54
3.3.4.8. Ensayo de compresión…… 54
3.3.4.9. Prueba de cizalla……... 55
3.3.4.10. Microscopía electrónica…… 55
3.3.5. Análisis químicos……..…….. 56
3.3.5.1. Preparación de extractos……... 56
3.3.5.1.1. Extracto lipídico……..…… 56
3.3.5.1.2. Extracto de ácido perclórico……..…….. 56
3.3.5.2. Determinación de pH…….…….. 56
3.3.6. Cuantificación de constituyentes……..……... 56
3.3.6.1. Humedad (contenido de agua)……..… 56
3.3.6.2. Lípidos…….…. 56
3.3.6.3. Determinación de NaCl…….…….. 57
3.3.7. Estudio de la alteración lipídica…….…..... 57
3.3.7.1. Ácidos grasos libres…….…. 57
3.3.7.2. Peróxidos (PV)…….… 57
3.3.7.3. Valor *p*-anisidina (AV)……. 57
3.3.7.4. Índice de ácido tiobarbitúrico (TBA-i)……. 58
3.3.7.5. Formación de compuestos fluorescentes (FR)…….. 58
3.3.7.6. Dienos conjugados (CD)……..…. 58
3.3.8. Estudio de la alteración de la fracción de nitrógeno no proteico…. 58
3.3.8.1. Bases volátiles totales (TVB-N)…… 58
3.3.8.2. Formación de trimetilamina (TMA-N)…….…… 59
3.3.8.3 Determinación de la degradación de nucleótidos…..... 59
3.3.9. Análisis complementarios relacionados con la calidad…… 59
3.3.9.1. Determinación de tocoferoles……... 59
3.3.10 Correlación y regresión múltiple……. 60
3.3.11 Optimización de respuesta múltiple…… 60
3.3.11 Análisis estadístico de datos…… 60
3.4. BIBLIOGRAFÍA……... 61
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN……...…….……..…… 65
4.1. PARTE 1. Estudio de las modificaciones de la calidad de salmón Coho durante su conservación comercial en hielo y en congelación.....…….. 67
4.1.1. Capítulo 1. Efecto de la conservación en hielo sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*). (ANEXO 1)……..…… 109
4.1.1.1. Introducción……..... 109
4.1.1.2. Resultados y discusión…….. 109
4.1.2. Capítulo 2. Efecto del almacenamiento congelado sobre las propiedades físicas y vida útil del músculo de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) (ANEXO 2)…….. 119
4.1.2.1. Introducción……..... 119
4.1.2.2. Resultados y discusión…….. 119

4.2. PARTE 2. Aplicación de tecnologías avanzadas para la mejora de la calidad de distintos tipos de productos comerciales de salmón Coho…… 127
4.2.1. Capítulo 3. Cambios relacionados con la calidad en músculo de salmón Coho cocido previamente conservado en hielo líquido (ANEXO 3)…….. 138
4.2.1.1. Introducción……..... 138
4.2.1.2. Resultados y discusión…….. 138
4.2.2. Capítulo 4 Cambios relacionados con la calidad en músculo de salmón Coho cocido previamente conservado en hielo líquido (ANEXO 4)…… 153
4.2.2.1. Introducción……..... 153
4.2.2.2. Resultados y discusión…….. 153
4.2.3. Capítulo 5. Efecto de un sistema de envasado combinando vacío y compuestos polifenólicos sobre la deterioración lipídica en salmón Coho congelado (ANEXO 5)…….. 169
4.2.3.1. Introducción……..... 169
4.2.3.2. Resultados y discusión…….. 169
4.2.4. Capítulo 6. Efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho congelado (ANEXO 6)…… 185
4.2.4.1. Introducción……..... 185
4.2.4.2. Resultados y discusión……. 185
4.2.5. Capítulo 7.Cambios sensoriales y físicos en salmón Coho refrigerado: Efecto de un tratamiento previo optimizado por altas presiones hidrostáticas (ANEXO 7)…….. 202
4.2.5.1. Introducción……..... 202
4.2.5.2. Resultados y discusión…….. 202
4.3. BIBLIOGRAFÍA……... 208
5. CONCLUSIONES……... 214

1.1 COMPOSICIÓN DEL MÚSCULO DEL PESCADO: VALOR NUTRITIVO.

La composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie en función de la edad, sexo, estación del año, comportamiento migratorio, maduración sexual, ciclos alimenticios, cambios sexuales relacionados con el desove, entre otros. Estos factores son observados en peces silvestres, del mar abierto y de aguas continentales (Fennema, 2000; Suzuki, 1987) (Tabla 1 y 2).

Los peces criados en acuicultura también pueden mostrar variaciones en la composición química, pero en este caso varios factores son susceptibles de control y por lo tanto se puede predecir su composición química. Hasta cierto punto, el acuicultor tiene la posibilidad de diseñar la composición del pez, seleccionando las condiciones de cultivo. Se ha reportado que factores como la composición del alimento, ambiente, tamaño del pez y rasgos genéticos, tienen un impacto en la composición y la calidad del pescado de acuicultura (Huss, 1998).

Los principales componentes químicos del músculo de pescado son el agua, las proteínas y los lípidos. Juntos constituyen aproximadamente el 98% del músculo (Tabla 1).

Tabla 1. Variación de la composición química del pescado

Constituyente	Pescado (filete)			Vacuno
	Mínimo	Variación normal	Máximo	(músculo aislado)
Proteínas	6	16-21	28	20
Lípidos	0.1	0.2-25	67	3
Carbohidratos		< 0.5		1
Cenizas	0.4	1.2-1.5	1.5	1
Agua	28	66-81	96	75

FUENTE: Stansby, 1962; Huss, 1998.

Estos componentes son los que tienen mayor impacto sobre el valor nutritivo, las propiedades funcionales, las cualidades sensoriales y la estabilidad en la conservación de estos productos. Los otros constituyentes (carbohidratos, vitaminas y minerales), aunque están presentes en menor cantidad, también juegan un papel importante en los procesos bioquímicos que tienen lugar en el músculo *post-mortem* (Sanjuás, 2012).

El agua en su gran parte está en estado libre. Solo un 10% permanece ligada y aún un porcentaje menor como agua de cristalización. El agua tiene una relación inversa con el contenido graso en los peces, sumando en total el 80% de la composición química.

El valor biológico de las proteínas de los peces es similar al de las proteínas de los animales terrestres. También es posible encontrar aminoácidos libres (Belitz et al., 2009).

Las proteínas del músculo del pescado se pueden dividir en tres grupos:

1. Proteínas estructurales (actina, miosina, tropomiosina y actomiosina), que constituyen el 70-80 por ciento del contenido total de proteínas (comparado con el 40 % en mamíferos). Estas proteínas son solubles en soluciones salinas neutras de alta fuerza iónica (0.5 M).
2. Proteínas sarcoplasmáticas (mioalbúmina, globulina y enzimas), que son solubles en soluciones salinas neutras de baja fuerza iónica (0.15 M). Esta fracción constituye el 25-30 por ciento del total de proteínas.
3. Proteínas del tejido conectivo (colágeno), que constituyen aproximadamente el 3 por ciento del total de las proteínas en teleósteos y cerca del 10% en elasmobranquios (comparado con el 17% en mamíferos).

Tabla 2. Composición química de diferentes pescados

Pescados	Energía	Agua	Proteína	Grasa	GS	GMI	GPI	Colesterol
	Kcal	g	g	g	g	g	g	mg
Merluza[(1)]	74	83.4	16.3	0.5	0.1	0.1	0.2	54
Congrio dorado[(2)]	73	81.0	16.5	0.5	si	si	si	35
Congrio colorado[(2)]	77	80.0	15.5	0.2	si	si	si	si
Corvina[(2)]	97	75.0	20.5	0.5	si	si	si	si
Reineta[(1)]	105	75.0	19.5	2.7	si	si	si	si
Atún rojo[(1)]	144	68.1	23.3	4.9	1.0	1.6	1.4	38.0
Atún blanco enlatado en aceite[(1)]	186	64.0	26.5	8.1	1.3	3.3	3.0	31.0
Trucha salvaje[(1)]	119	71.9	20.5	3.5	1.2	1.1	1.2	59.0
Trucha de cultivo[(1)]	141	73.8	19.9	6.2	1.4	2.0	1.5	59.0
Sardina del Atlántico enlatado en aceite[(1)]	208	59.6	24.6	11.5	1.5	3.9	5.1	142.0
Salmón del Atlántico de cultivo[(1)]	208	64.9	20.4	13.4	3.1	3.8	3.9	55
Salmón del Atlántico salvaje[(1)]	142	68.5	19.8	6.3	1.0	2.1	2.5	55
Vitaminas	B; A y D (pescados grasos)							
Minerales	P, Fe, Zn. Se. Cu, Ca, I.							

[(1)] USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release. [(2)] Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile. GS: Grasa saturada, GMI: Grasa monoinsaturada. GPI: Grasa poliinsaturada.
Fuente: INTA. Porciones de intercambio y Composición Química de los Alimentos de la Pirámide Alimentaria Chilena.

Las proteínas estructurales conforman el aparato contráctil responsable de los movimientos musculares. La composición de aminoácidos es aproximadamente la misma que en las correspondientes proteínas del músculo de mamíferos, a pesar de que las propiedades físicas pueden ser ligeramente diferentes. El punto isoeléctrico está alrededor del pH 4.5-5.5. A estos valores de pH las proteínas presentan su menor solubilidad.

La fracción lipídica es el componente que muestra la mayor variación en contenido. A menudo, dentro de ciertas especies la variación presenta una curva estacional característica con un mínimo cuando se acerca la época de desove. Los lípidos presentes en las especies de peces óseos pueden ser divididos en dos grandes grupos: los fosfolípidos

y los triglicéridos. Los fosfolípidos constituyen la estructura integral de la unidad de membranas en la célula, por lo tanto, a menudo se le denominan lípidos estructurales (Belitz et al., 2009). Los triglicéridos son lípidos empleados para el almacenamiento de energía en depósitos de grasas, generalmente están dentro de células especiales rodeadas por una membrana fosfolipídica y una red de colágeno relativamente débil.

El contenido de materia grasa del pescado varía ampliamente y está influenciado no sólo por el tipo de pez, sino por la madurez, la estación, la alimentación, edad, parte del cuerpo, estado de pre o post desove, de la condición alimentaria, además del método de captura (Suzuki, 1987). El pescado puede clasificarse en tres grupos según su contenido lipídico: magro o blanco (< 1% de lípidos) como por ejemplo la merluza, el róbalo, el bacalao, etc.; semigraso (entre 1 y 6 % de contenido lipídico) como pueden ser: el besugo, la palometa, o el jurel; y finalmente graso o azul (> 6 % de lípidos) como por ejemplo la caballa, el boquerón, la sardina, y otros (Losada, 2006) (Tabla 2). Las especies magras son aquellas que almacenan lípidos sólo en el hígado y especies grasas las que almacenan lípidos en células distribuidas en otros tejidos del cuerpo.

El pescado es una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 (AGPICL ω-3 o n-3) conteniendo los ácido grasos eicosapentaenoico (EPA; C20:5 n-3) y docosahexaenoico (DHA; C22:6 n-3) que son considerados valiosos desde el punto de vista fisiológico y nutricional (ver Tabla 3). Los ácidos grasos EPA y DHA son precursores de un grupo de eicosanoides que tiene actividad antiinflamatoria y antitrombótica, propiedades vasodilatadoras y antiarrítmicas. Los AGPICL son componentes dietarios que participan en múltiples procesos fisiológicos, donde cumplen un rol estructural en los fosfolípidos de las membranas celulares y son sustratos para la síntesis de diversos mediadores fisiológicos. Dentro de los AGPICL se encuentran dos grupos principales; los ácidos grasos ω-3 y los ω-6, de los cuales los ácidos grasos linolénico y linoleico son ácidos grasos esenciales para el ser humano debido a que carecemos de la maquinaria enzimática necesaria para biosintetizarlos. En contraste con el alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, el nivel de antioxidantes y tocoferoles en el pescado es relativamente bajo. De ahí que los lípidos representan un mayor problema en la preservación debido a su fácil peroxidación.

Tabla 3. Contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 (AGPICL n-3) (g/100 filete)

Tipo de pescado	EPA (20:5 n-3)	DHA (22:6 n-3)
Caballa	0.65	1.10
Salmón Atlántico	0.18	1.70
Trucha	0.22	0.62
Atún	0.63	1.70
Bacalao	0.08	0.15

Fuente: Belitz et al., 2009.

El contenido de carbohidratos en el músculo de pescado es muy bajo, generalmente inferior al 0.5%. Esto es típico del músculo estriado, en el cual los carbohidratos se

encuentran en forma de glucógeno y como parte de los constituyentes químicos de los nucleótidos. Estos últimos son la fuente de ribosa liberada como una consecuencia de los cambios autolíticos *post mortem* (Huss, 1998).

Un grupo minoritario en cantidad pero importante por el papel que juega en la calidad del pescado es el de compuestos de nitrógeno no proteico (NPN). Estos compuestos de naturaleza no proteica son solubles en agua, tienen peso molecular bajo y contienen nitrógeno. Los principales componentes de esta fracción son: bases volátiles como el amoniaco, trimetilamina y dimetilamina, creatina, aminoácidos libres, nucleótidos y las bases purínicas y, en el caso de peces cartilaginosos, urea.

Muy relacionado con la formación de bases volátiles se encuentra el óxido de trimetilamina (OTMA); esta molécula constituye una parte característica e importante de la fracción NNP en las especies de agua de mar. Este compuesto se encuentra en cantidades del 1 al 5% del tejido muscular (peso seco), pero está virtualmente ausente en especies de agua dulce y en organismos terrestres (Hebard et al., 1982).

La cantidad de vitaminas y minerales ha demostrado tener cierta dependencia de la especie y, además, puede variar con la estación del año. En general, la carne de pescado es una fuente aceptable de vitamina B y en el caso de las especies grasas, también de vitaminas A y D. Respecto a los minerales, la carne de pescado se considera una fuente particularmente valiosa de calcio y fósforo, así como también de hierro y cobre. Los peces de mar tienen un alto contenido de yodo. El contenido de sodio en la carne de pescado es relativamente bajo lo cual le hace apropiado para regímenes alimenticios de tal naturaleza (García, 2015).

1.2. VÍAS DE ALTERACIÓN *POST MORTEM* Y EFECTO SOBRE LA PÉRDIDA DE CALIDAD DEL MÚSCULO DE PESCADO.

El rápido deterioro después de la muerte del pescado es debido a la acción de diferentes vías de alteración, tales como acción enzimática endógena, acción microbiana, oxidación lipídica no enzimática, pardeamiento no enzimático y pardeamiento enzimático (Aubourg et al., 2005).

1.2.1. Acción enzimática endógena

El efecto más inmediato de la detención de la circulación sanguínea y la eliminación de la sangre desde el tejido muscular es el agotamiento del suministro de oxígeno al tejido y la posterior caída en el potencial oxido-reducción. Esto resulta en una incapacidad para resintetizar ATP, y los mecanismos de cadena de transporte de electrones y la fosforilación oxidativa no son más operativos. Este período se puede dividir en tres etapas distintas:

1. **El estado *pre rigor***, se caracteriza sensorialmente cuando el tejido muscular es suave, elástico y flexible. Desde el punto de vista bioquímico ocurre una caída de ATP, de los niveles de fosfato de creatina, así como por la glucólisis activa. La glucólisis *post mortem* resulta en la conversión de glucógeno en ácido láctico, provocando que el pH descienda. La magnitud de los cambios de pH varía de una especie a otra.

2. El pescado se encuentra en ***rigor mortis*** porque el músculo se contrae. Cuando el nivel de ATP alcanza su mínimo, los filamentos de actina y miosina quedan unidos en forma

irreversible (Huss, 1998). Desde el punto de vista sensorial se desarrollan las condiciones duras y rígidas en el músculo conocido como *rigor mortis* que ocurre cuando el pH cae alcanzando valores comprendidos en el intervalo 6,1-6,5 (Huss, 1998) y se asocia con la formación de actomiosina. La pérdida de extensibilidad asociada con la formación de actomiosina avanza lentamente en una primera etapa (fase lenta) y luego muy rápidamente (fase rápida). La duración del *rigor mortis* puede ser de uno o dos días, dependiendo de la temperatura de conservación, la manipulación que sufra, el tamaño o las condiciones físicas de los ejemplares, con muchos factores que afectan a su duración (García, 2015).

La importancia del *rigor mortis* en el pescado es reconocida por la industria de la pesca, ya que además de retardar el deterioro microbiano, ofrece desde el punto de vista sensorial una rigidez del pescado que se reconoce generalmente por el consumidor como un signo de buena calidad. El período de *rigor*, sin embargo, es también una clara desventaja con respecto al fileteado, ya que hace que el pescado esté demasiado rígido para ser procesado. Por lo tanto, el fileteado se lleva a cabo después del *rigor*, o inmediatamente antes del desarrollo del *rigor*. La duración del período de *rigor mortis* está en función de la temperatura, la manipulación, el tamaño y las condiciones físicas del pescado. Las tensiones producidas por el rigor mortis debido a altas temperaturas pueden causar "desgajamiento" (*gaping*), es decir debilitamiento del tejido conjuntivo y posterior ruptura del filete (Huss, 1998).

3. El estado *post rigor*, durante el cual el músculo de la carne se ablanda gradualmente. La resolución del *rigor mortis* hace que el músculo se relaje nuevamente y desde el punto de vista sensorial el músculo recupera flexibilidad, pero no la elasticidad previa del *rigor mortis* (Huss, 1998). Al cesar el suministro de oxígeno, la fase aeróbica de la glucólisis, principal fuente de suministro de ATP a las fibras musculares se pierde tras la muerte de los peces, ya que el glucógeno ya no puede ser oxidado a dióxido de carbono y agua más ATP. En su lugar, el metabolismo anaeróbico se hace cargo, lo que resulta en la conversión de glucógeno en ácido láctico disminuyendo el pH del músculo. El nivel de ATP se mantiene en los músculos después de la muerte por la creatina quinasa activa que cataliza la resíntesis de ATP a partir de ADP y fosfato de creatina (Eskin et al., 2013).

El desarrollo del rigor mortis en pescados también está relacionado con la reducción de ATP. El agotamiento de fosfato de creatina, monofosfato de adenosina (AMP), y las reservas de glucógeno y la consiguiente incapacidad para resintetizar ATP resultando en la formación del complejo actomiosina. Esto va acompañado por cambios en el músculo que se convierte en resistente y no extensible. Así se reduce considerablemente la producción de ATP en comparación a la vía energética aeróbica, ya que depende de la presencia de creatina (en peces teleósteos) o arginina (en cefalópodos), cesando cuando éstas se agotan en anaerobiosis. Esto resulta en la producción de fosfato inorgánico, que estimula la degradación de glucógeno en ácido láctico, de ahí que disminuya el pH en el músculo.

El fosfato inorgánico es esencial para la fosforólisis de glucógeno en glucosa l-fosfato por fosforilasa muscular, lo que es el paso inicial en la degradación de glucógeno. Esto conlleva a que se reduzca la carga neta de las proteínas musculares, desnaturalizándose parcialmente y disminuyendo su capacidad de unirse a moléculas de agua (C.R.A.) (García, 2015).

Cambios de ATP en post *rigor mortis*. Tras el rigor mortis el tejido muscular se reblandece al mismo tiempo que suceden los cambios autolíticos en el músculo. El primero de dichos cambios es la degradación del ATP en ADP, AMP, IMP (inosina monofosfato), INO e Hx (hipoxantina). La degradación de ATP en el músculo de pescado conduce a la formación de IMP, que posteriormente se hidroliza a ácido úrico (Tarr, 1966). Mientras la

inosina carece prácticamente de sabor, su conversión a hipoxantina lleva a una sustancia amarga. El término "valor K" como indicador de la frescura del pescado es definido como la relación de inosina más hipoxantina en relación a la cantidad total de compuestos relacionados con ATP.

Actividad de las calpaínas y catepsinas en el pescado post mortem. La tenderización *post-mortem* es uno de los cambios de calidad más desfavorables en el músculo de pescado. El ablandamiento puede atribuirse en parte a las catepsinas lisosomales y calpaínas citosólicas dependiente de calcio. La principal proteólisis miofibrilar se puede atribuir a la actividad de la proteasa endógena. Actualmente, se conocen dos sistemas proteolíticos para hidrolizar proteínas miofibrilares durante el almacenamiento *post-mortem* de pescado: calpaínas y catepsinas (Jiang, 1987). La mayoría de los estudios coinciden en que está ahí la clave de la acción sinérgica proteolítica de la calpaína y catepsinas en proteínas miofibrilares.

La caída en el valor de pH incrementa la actividad de la proteasa, por lo que la proteólisis se produce conduciendo a la formación de aminoácidos libres. Como consecuencia de la autólisis de las proteínas musculares, se produce un aumento en la concentración de péptidos y de aminoácidos libres, lo que unido a condiciones favorables de temperatura y pH da lugar a un crecimiento bacteriano. La acción enzimática asociada a estas bacterias degrada los aminoácidos, provocando su descarboxilación y originando la acumulación en el músculo del pescado de diferentes tipos de aminas biógenas.

Entre los mecanismos enzimáticos endógenos cabe también mencionar la oxidación enzimática, donde la oxidación de los ácidos grasos se produce por la acción de enzimas de tipo lipoxigenasas, peroxidasas y oxidasas. Estas enzimas tienen un papel de reducida importancia durante la conservación en estado refrigerado, pero en el caso de la conservación en estado congelado su acción puede ser determinante. Las enzimas son inestables al calor, por lo que tratamientos que impliquen temperaturas elevadas destruirán su actividad (García, 2015).

Asociado también a los productos conservados, especialmente en congelación, está el desarrollo de lipólisis por la presencia de un gran número de enzimas, como lipasas o fosfolipasas, susceptibles de hidrolizar lípidos de alto peso molecular, como triglicéridos y fosfolípidos, lo que conduce a la formación de ácidos grasos libres, así como otros productos de hidrólisis como diglicéridos, monoglicéridos, bases aminadas, etc. Dichas moléculas son muy reactivas, pudiendo interaccionar con otros constituyentes del músculo, como por ejemplo proteínas, facilitando su desnaturalización y produciendo incluso un descenso del valor nutricional (García, 2015).

1.2.2. Acción microbiana

Los microorganismos que se encuentran en el pescado y sus productos pueden dividirse en dos grupos dependiendo de su efecto sobre la calidad: en el primero está comprendida la microbiota presente en los productos marinos capaz de causar alteración, éstos pueden describirse como *Pseudomonas, Psychrobacter (Moraxella), Shewanella y Flavobacterium* (Gram, 1992). La mayoría crece entre 0 y 1 °C, pero hay especies de *Pseudomonas* capaces de hacerlo a -3 °C aunque sea de forma lenta y son la principal causa de alteración en alimentos refrigerados.

En el segundo grupo se encuentran las bacterias patógenas que podrían presentarse en el pescado, éstas pueden ser naturales de su medio o no, encontrándose las primeras en el medio acuático como por ejemplo: *Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum,*

mientras que las segundas son pertenecientes al reservorio animal-humano como: *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, cuya presencia se monitorea rutinariamente en el salmón procesado (Laidler, 2001).

La actividad microbiana está considerada como la principal causa de alteración en alimentos refrigerados. Las *Aeromonas spp*., son típicas de los peces de agua dulce, mientras que otras bacterias requieren sodio para su crecimiento y, por lo tanto, son típicas de aguas marinas. Este grupo incluye *Vibrio*, *Photobacterium* y *Shewanella* (Spanggaard et al., 1993).

Hay bacterias que son capaces de llevar a cabo la respiración en anaerobiosis empleando otras moléculas diferentes al oxígeno como aceptoras de electrones, siendo la más común el óxido de trimetilamina (OTMA). La reducción del OTMA está asociada a bacterias típicas del ambiente marino, tales como *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas spp*., *Enterobacteriaceae*, *P. phosphoreum* y *Vibrio spp*, que obtienen energía mediante la reducción del OTMA a TMA, generándose sabor amoniacal (Gram y Dalgaard, 2002; Ólafsdóttir et al., 1997).

El componente reducido, la trimetilamina (TMA), y las proteínas se descomponen a aminoácidos, formando amoniaco, sulfuro de hidrógeno y otros indeseables compuestos característicos del deterioro microbiano. La TMA es uno de los compuestos dominantes del pescado deteriorado y está asociada al olor desagradable que aparece en el pescado y otros organismos marinos (al mismo tiempo que el sabor amargo del músculo cocido), cuando el producto ya no es fresco.

Las aminas biógenas son moléculas relacionadas también con la actividad de los microorganismos. Se forman por catálisis de enzimas presentes en las bacterias, que interaccionan con aminoácidos libres del pescado. Cabe destacar la histamina como amina biógena que produce intoxicación alimentaria, y que a niveles elevados puede producir envenenamiento.

1.2.3. Oxidación lipídica no enzimática

La gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados presente en los lípidos del pescado les hace altamente susceptibles a la oxidación mediante un mecanismo autocatalítico. Los lípidos marinos altamente insaturados, al contacto con el oxígeno, especialmente en presencia de la luz u otros catalizadores, puede conducir a una amplia gama de compuestos de oxidación lipídica (peróxidos, carbonilos, compuestos de interacción) y la pérdida de algunos ácidos grasos esenciales beneficiosos para la dieta humana.

Los compuestos de oxidación de lípidos pueden interactuar con los derivados de proteínas y conducir a pérdidas en el producto alimenticio. Esta vía se puede dañar ya sea por el contenido de grasa del pescado, la temperatura de almacenamiento o el aumento del tiempo de almacenamiento (Aubourg, 2004).

La oxidación de los lípidos origina atributos sensoriales desagradables, que se asocian a la rancidez, durante el procesado y almacenamiento del pescado graso. Estas reacciones han alcanzado una gran atención por tener una gran incidencia sobre la calidad y el valor nutritivo del producto, al originarse sabores y olores desagradables de tipo rancio (Frankel, 1991; Aubourg, 2001).

La rancidez reduce dramáticamente la vida útil y el período comercial del pescado graso y de los productos enriquecidos en lípidos marinos. El carácter electrófilo de la mayoría de los productos de oxidación lipídica les lleva a reaccionar con constituyentes

de los alimentos que son portadores de funciones nucleófilas. Estas interacciones adquieren un papel muy importante en aquellos alimentos como los marinos, con alto contenido proteico y en aminoácidos esenciales como lisina y metionina (Aubourg, 1999).

La oxidación lipídica es un proceso autocatalítico que se produce mediante la adición de oxígeno a los dobles enlaces de lípidos, formando una amplia gama de compuestos, la mayoría con funciones oxigenadas. La oxidación conlleva la formación de radicales libres. Una vez producido el primer ácido graso portador de un radical libre, su reactividad con el oxígeno provoca su rápida conversión en radicales de tipo peróxido.

Estos compuestos se transforman en hidroperóxidos (productos primarios de oxidación) por interacción con moléculas de ácidos grasos insaturados. Estas moléculas son inestables y además de originar radicales libres, pueden sufrir otro tipo de transformaciones dando lugar a una serie de productos de oxidación secundarios (aldehídos, cetonas, alcoholes, etc.). Estos compuestos de reacción secundaria pueden alterar el valor nutritivo y sensorial del pescado, ya que implican pérdida de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y formación de compuestos volátiles con mal olor (Aubourg, 2004).

El proceso de oxidación lipídica actúa de forma conjunta dos vías de alteración. Dado que la oxidación lipídica es un proceso favorable termodinámicamente, pero no cinéticamente, es necesaria la participación de un catalizador.

Este papel puede ser desempeñado por una enzima endógena (lipoxigenasas, peroxidasas y oxidasas), o bien puede ser llevado a cabo por agentes del tipo metales (especialmente de transición), luz, calor, etc. En el primer caso nos encontraríamos con la oxidación de tipo enzimática, mientras que en el segundo se trataría de una oxidación no enzimática. El desarrollo de ambas se superpone durante la alteración de un producto, llevando a productos de oxidación muy similares (Sanjuás-Rey, 2012; Losada-Iglesias, 2006).

La oxidación de lípidos conduce a sabores y olores desagradables. Esto puede ser un problema en pescado muy graso, y probablemente explica también la mayor parte de los cambios de sabor en pescado magro. La velocidad de oxidación puede reducirse si se acorta la exposición al oxígeno.

Esto se puede lograr mediante la introducción de una barrera en la superficie del producto. Así la congelación en bloque mantiene mejor la calidad del producto que la congelación individual. La utilización de material de embalaje para separar las piezas en un mismo bloque, ayuda también a mejorar la conservación (Sanjuás-Rey, 2012; Losada-Iglesias, 2006).

1.2.4. Pardeamiento no enzimático

Bajo la designación de pardeamiento no enzimático se engloba a un conjunto de reacciones complejas que producen en diversos alimentos la formación de pigmentos pardos o negros, así como modificaciones del olor y el sabor, que pueden ser beneficiosas o no para el producto final.

Estas reacciones tienen como sustrato compuestos con funciones de tipo carbonilo, especialmente azúcares reductores o algunas vitaminas (Aubourg, 2004; García, 2015).

Aminoácidos y proteínas participan como catalizadores por medio de grupos amino libres, produciéndose así un descenso de la disponibilidad de aminoácidos como la lisina, una menor solubilidad y digestibilidad de las proteínas, así como una pérdida de valor nutritivo (Cheftel, 1976).

El pardeamiento no enzimático se acelera por calor, siendo mayor durante las operaciones de cocción, pasteurización y deshidratación. Existen otros factores que afectan a las reacciones de pardeamiento (velocidad y naturaleza) como el tipo de azúcar reductor, la actividad del agua y el pH. Las especies marinas poseen un nivel de carbohidratos muy bajo, por lo que son los compuestos formados durante la oxidación de lípidos los que desempeñan el papel de sustrato en las reacciones de pardeamiento no enzimático.

Tanto las moléculas de la oxidación primaria como de la secundaria pueden reaccionar con componentes nitrogenados del producto dando lugar a los productos de oxidación terciaria, con el desarrollo de importantes propiedades fluorescente y desarrollo de pardeamiento. En esta alteración se pierden aminoácidos y ácidos grasos esenciales que llevan a la disminución del valor nutricional de las especies marinas.

Las reacciones entre los lípidos oxidados y las proteínas, afectan al valor nutritivo y sensorial del alimento de dos formas: descenso del valor biológico de las proteínas (cambios en los aminoácidos constituyentes) o cambios de digestibilidad (disminución de la velocidad de lipolisis y/o proteólisis).

Las consecuencias de estas reacciones son cambios sensoriales en el producto en distintas formas. En cuanto al olor, se pueden producir nuevos compuestos aromáticos, principalmente desagradables; el producto puede oscurecer su color o pardearse; y la textura puede cambiar por la desnaturalización y entrecruzamiento proteico, dando lugar a pérdidas en la calidad (Aubourg, 2004).

1.2.5. Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático tiene su origen en enzimas propias de los alimentos. Consiste en la transformación de compuestos fenólicos en polímeros coloreados (normalmente pardos o negros) gracias a la actividad de enzimas del tipo polifenol-oxidasas (García, 2015).

En especies marinas, este mecanismo de alteración solamente tiene interés en el caso de crustáceos, donde las reacciones de melanosis (pardeamiento enzimático) son procesos consecuencia también de la alteración del producto por una conservación excesivamente larga o en condiciones indebidas (Aubourg, 2004).

La melanosis produce el oscurecimiento del producto en zonas externas, por lo que su incidencia es enorme a nivel de valor comercial. Los pigmentos resultantes del pardeamiento enzimático, se designan bajo el término melaninas. Su color final es pardo o negro, pero existe una variedad de colores intermedios (rosa, rojo o azulado).

1.3. APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE CONSERVAC*IÓN*

Con la introducción de la conservación industrial de alimentos en Inglaterra y Francia a principios del siglo XIX (appertización y enlatado) y con el posterior conocimiento de las causas del deterioro de los alimentos (microbiológico y químico) se logra desarrollar la aplicación de la tecnología industrial a la conservación de los alimentos (Welti-Chanes, 2002).

1.3.1. Aplicación de tecnologías clásicas

La velocidad de reacción en alimentos puede ser controlada por una serie de factores, tales como temperatura, presión, contenido de agua, y pH. La temperatura es uno de los factores más importantes que afectan la velocidad reacción en sistemas alimenticios (Bjerkeng y Johnsen, 1995).

1.3.1.1. Aplicación de la refrigeración en la conservación

1.3.1.1.1. Aspectos generales de la refrigeración.

La regla de *van´t Hoff- Arrhenius*, de validez general para todas las reacciones químicas, se aplica también a grandes rasgos para la refrigeración; así, la disminución de la temperatura en 10 °C reduce de dos a tres veces la velocidad del total de las reacciones que llevan a la descomposición (Gruda y Postolski, 1986). La refrigeración es una técnica de conservación basada en el efecto producido por el frío. Esta técnica se basa en la reducción y el mantenimiento de la temperatura de los alimentos por encima de su punto de congelación, normalmente entre -1 °C y 8 °C.

El efecto del frío provoca la ralentización de las reacciones químicas y enzimáticas. La temperatura es un factor importante para frenar la velocidad de degradación del pescado, ya que la velocidad con que se desenvuelven las distintas vías de alteración depende de ella. Así, se acepta que la refrigeración lleva a una extensión de la vida útil de los alimentos, con una mínima consecuencia en sus características nutritivas y organolépticas (Losada-Iglesias, 2006; García, 2015).

A pesar del descenso de temperatura, no es posible detener por completo las acciones bacteriana, química y enzimática, por lo que no se evitan completamente los fenómenos de degradación. De los distintos mecanismos de alteración, el objetivo crucial y más importante es retardar la alteración microbiana hasta que el producto llega al consumidor. Por ello, las medidas más empleadas de seguimiento de la calidad han sido las relacionadas con la formación de bases volátiles (trimetilamina, principalmente) y aminas biógenas (histamina, principalmente). Las demás alteraciones pueden llevar a textura indeseable, cambios de color y desarrollo de rancidez; adquieren importancia en la medida que la alteración microbiana se encuentra paralizada (Aubourg, 1999). En lo que respecta al papel de la fracción lipídica, se ha observado un buen seguimiento de la alteración a través de la medición de la hidrólisis, llegándose incluso a proponer como índice de calidad alternativo a la determinación sensorial en pescado magro (Aubourg, 1999). En el caso de la oxidación, ésta no parece ser un proceso dominante de alteración, aunque en casos de almacenamiento prolongado de especies grasas se pueden llegar a originar aromas y sabores desagradables, proporcionando un buen seguimiento de la alteración siempre y cuando se emplee más de un método de análisis (Olafsdóttir et al., 1997).

1.3.1.1.2. Hielo en escamas.

Es uno de los métodos más empleado en la conservación de pescado fresco (Heen, 1982). Se puede definir como un hielo seco y subenfriado en fragmentos pequeños y planos, con forma de oblea irregular. La temperatura del hielo en escamas oscila entre -5 y -7 °C, la transferencia de calor se produce por contacto directo del pescado al hielo, por conducción entre ejemplares adyacentes y por el agua de fusión que se desliza sobre la superficie del pescado (García, 2015). Las principales ventajas del hielo en escamas son las siguientes:

- Tiene capacidad refrigerante muy grande y es inocuo, portátil y relativamente barato.
- Tiene una superficie de intercambio de calor mayor que casi todos los demás tipos de hielo, y por lo tanto, la transferencia de calor entre el pescado y el hielo se produce con mayor rapidez y eficacia.
- Debido a que está ligeramente subenfriado, puede ceder 83 kcal por kg al fundirse transformándose en agua; por consiguiente puede extraer un poco más de calor que otros tipos de hielo cuya temperatura es de 0 °C (80 kcal por kg).

Sin embargo, presenta ciertas desventajas: debido a su mayor superficie, se funde más rápidamente.

1.3.1.2. Aplicación de la congelación en la conservación.

El principio de la congelación como método de conservación de alimentos se basa en convertir el agua en hielo. Este aislamiento o separación del agua en forma de hielo produce el efecto de deshidratación del alimento, bloqueando la actividad enzimática y desarrollo de microorganismos. Además, durante la congelación no se destruyen sustancias nutritivas (Gruda y Postolski, 1986). La finalidad de congelar el pescado, consiste en obtener un producto que pueda almacenarse durante algunos meses y que después de descongelado apenas haya cambiado como consecuencia del proceso.

Cuando el término calidad se asocia a la carne de pescado, aparecen una serie de parámetros que deben ser considerados para que el producto tenga aceptación por parte del consumidor. Entre ellos se puede mencionar la inocuidad, la composición nutritiva, color, apariencia, características organolépticas como sabor y textura, además de características que tienen relación con la estabilidad del material fresco y su efecto sobre el procesamiento posterior y su preservación (Sigurgisladottir et al., 1997).

La calidad del pescado congelado depende en primer lugar de la materia prima antes de ser congelada, del diseño del proceso de congelación (congelación rápida después de la etapa de *rigor mortis*), de su manipulación pre y post congelación, de las condiciones de elaboración (tipo y temperatura de congelación) y el almacenaje congelado (tipo y temperatura de almacenaje) (Einen, 2002). La calidad del alimento congelado es dependiente del control del proceso de congelado, de la preparación pre-congelación y del posterior almacenamiento congelado (Bjerkeng y Johnsen, 1995).

Durante la etapa de almacenamiento al estado congelado y el posterior descongelamiento las mayores pérdidas de calidad son la deshidratación, pérdida de fluidos por *dripping*, cambios en las propiedades funcionales, como por ejemplo la C.R.A. y liberación de grasa. Las propiedades mecánicas también se ven afectadas y estos cambios negativos se consideran relacionados con el estado de las proteínas miofibrilares, especialmente la miosina, ya que después de algunos procesos estas proteínas se agregan

causando pérdida de agua y una textura más dura del músculo. Por ello en los últimos años se han realizado numerosos esfuerzos para mejorar métodos tradicionales de congelación, así como desarrollar nuevas estrategias que inhiban la alteración de las especies y permitan comercializarlas en la forma de productos sanos y de alta calidad (Gruda y Postolski, 1986).

1.3.2. Aplicación de nuevas tecnologías en la conservación

1.3.2.1. Aplicación de hielo líquido

El hielo líquido conocido en la bibliografía anglosajona como s*lurry ice, fluid ice, slush ice, liquid ice y flow ice* (Chapman, 1990). Consiste en un sistema bifásico compuesto por pequeños cristales de hielo esféricos rodeados por el agua de mar (20-40%) a temperatura bajo cero que puede ser bombeado y transportado de un lugar a otro (Losada et al., 2004) (Figura 1).

La generación de hielo líquido puede ser realizada directamente con agua de mar o de agua dulce con un pequeño porcentaje de sal o azúcares como glicoles y diversos productos, aunque la disolución más común es el cloruro sódico en agua.

Características del hielo líquido. Esta emulsión ofrece una textura suave y sedosa con unas características especiales (Piñeiro et al., 2004; Losada et al., 2004):

- El hielo líquido presenta un relación de transferencia térmica comprendida entre los 7000 y 9000 W/m^2 K que enfrentado con los 200 W/m^2 K del hielo convencional, indica la potencia refrigerante de este medio.
- Presenta una alta capacidad de intercambio térmico (mayor de 60 Kcal/kg), claramente superior a la del agua (1 Kcal/kg).
- Su homogeneidad permite una distribución completa alrededor del producto, dado que la forma líquida que presenta rodea y envuelve el producto en su totalidad.

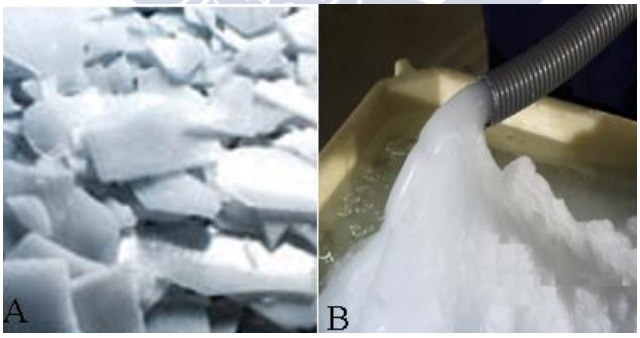

Figura 1. Tipos de hielo: A: escama y B: hielo líquido.

Las ventajas derivadas de la utilización del hielo líquido frente al hielo tradicional en escamas pueden resumirse de la siguiente forma (Losada-Iglesias, 2006):

- Permite mantener temperaturas inferiores a 0 °C para la conservación en refrigeración del pescado, por encima del punto inicial de congelación; esto se traduce en un retardo de las reacciones microbianas, químicas y enzimáticas responsables de la alteración del producto.
- El coeficiente de transferencia superficial de calor del hielo líquido es cuatro veces

superior al del hielo en escamas, así el enfriamiento se produce de un modo más rápido.

- La geometría esférica de los cristales de hielo y su pequeño tamaño limitan considerablemente el daño físico sufrido por las estructuras celulares más externas del pescado. Esto implica un mejor mantenimiento tanto en el aspecto como en la textura del producto.
- La presencia de cloruro sódico en concentraciones similares a las del medio marino permite, además de proporcionar un mayor efecto conservante, un mejor mantenimiento de la capacidad de retención de agua de la fracción de proteínas miofibrilares con respecto al hielo en escamas (Aubourg et al., 2007).

1.3.2.1.1. Hielo líquido como tratamiento previo a la cocción

Los tratamientos térmicos en general, representan el método más empleado para detener la acción microbiana y evitar cambios enzimáticos deteriorativos en muestras biológicas durante su almacenamiento o posterior procesamiento (Aubourg, 1999; Losada et al., 2006a). Las técnicas de almacenamiento eficientes para la refrigeración de material de pescado previo de la cocción se adoptan como nuevas tecnologías de preservación y procesamiento para reducir las pérdidas de calidad post-mortem del pescado.

El hielo líquido en combinación con el tratamiento térmico *antes del proceso de cocción* ha sido estudiada en sardina (*Sardina pilchardus*), siendo los resultados comparados con los del lote de control previamente almacenados en el hielo en escamas. La evaluación de la calidad de los daños de lípidos en pescado cocido mostró una inhibición significativa de peróxidos, compuestos fluorescentes y formación de trimetilamina en sardinas cocinadas como consecuencia del tratamiento preliminar en hielo líquido (Losada-Iglesias, 2006).

1.3.2.1.2. Aplicación de hielo líquido como tratamiento previo al proceso de esterilización

La ventaja de aplicar el hielo líquido en combinación con el tratamiento térmico *antes del proceso de esterilización* ha sido comprobada en sardina (*Sardina pilchardus*). Así, se obtuvo una inhibición del desarrollo de la oxidación de lípidos ($p<0.05$) en conservas de sardinas durante la aplicación de hielo líquido en el sistema de almacenamiento preliminar en frío. Este trabajo abrió el camino para el uso de la suspensión de hielo líquido en vez de hielo en escamas al tratamiento previo del pescado antes del proceso de enlatado (Losada et al., 2006b)

1.3.2.2. Conservantes de origen natural

Los antioxidantes son moléculas orgánicas de origen natural o sintético que pueden evitar o retardar el desarrollo de los procesos de oxidación. Se estima que la vida útil de muchos productos alimentarios aumenta entre un 15 y 200% por el empleo de antioxidantes (Halliwell, 1996). La adición de antioxidantes a los alimentos es uno de los medios más efectivos para retardar la oxidación.

Los antioxidantes sintéticos juegan un papel importante en la manufactura, envasado, almacenamiento y posteriores tratamientos de grasas, aceites y de los alimentos que los contengan. En la actualidad los más usados son el BHA (butil hidroxi anisol), BHT (butil hidroxi tolueno) y TBHQ (ter butil hidroxiquinona). Existe la tendencia a evitar o minimizar los aditivos sintéticos por alternativas naturales, lo cual ha estimulado a evaluar

la efectividad de estos compuestos naturales que poseen propiedades antioxidantes. La oxidación lipídica es una principal causa de deterioro de los alimentos, no sólo mediante la producción de olores y sabores rancios, sino también por la disminución tanto calidad nutricional y la seguridad por la formación de productos secundarios durante el procesamiento (Cruz et al., 1999).

1.3.2.2.1.Envasado con presencia de antioxidantes y antimicrobianos

Una de las tecnologías más prometedoras para extender la vida útil de los productos alimenticios es el empleo de envases activos (inteligentes o no). Los envases activos, a diferencia de los envases tradicionales a los que se exige que sean totalmente inertes, están diseñados para interaccionar de forma activa y continua con su contenido, su finalidad es ampliar el tiempo de conservación o mantener o mejorar el estado de los alimentos envasados (Paseiro Losada et al., 2010).

Esta interacción implica siempre una transferencia de masa, ya sea para incorporar sustancias al contenido del envase (el alimento y su entorno) o absorber componentes del mismo. La finalidad de esta interacción es ampliar el tiempo de conservación o mantener o mejorar el estado de los alimentos.

Los envases activos incluyen sistemas que absorben/eliminan o regulan compuestos como el oxígeno, radicales, etileno, humedad o aquellos que pueden ocasionar olores o sabores desagradables en los alimentos (Paseiro Losada et al., 2010). Otros sistemas liberan sustancias químicas como conservantes, antioxidantes, colorantes, aromas, etc. (Tabla 4).

Tabla 4. Compuestos activos adicionados a materiales de envase

Función	Reactivo	Aplicación
Agente Antimicrobiano	Antibióticos (nisina)	Pescado
	Chitosan	Frutas Frescas
	Derivados del rábano	
	Imazalil	
	Compuestos cerámicos:	
	Silicato de Aluminio	
	Plata	
	Cobre	
	Zeolita sintética	
	Manganeso	
	Níquel	
	Óxido de Zinc	
	Óxido de Magnesio	
Efectos Antioxidativos	BHT	Cereal
	BHA	
Efectos enzimáticos	Reductasa de Colesterol	Leche
	Oxidasa de Glucosa	Todo tipo de Alimentos
Taylor & Francis Inc., www.routledge-ny.com.		

Fuente: Lund, 2002

Desde el punto de vista legal se denominan materiales y objetos activos en contacto con alimentos y se definen como los "materiales y objetos destinados a ampliar el tiempo de conservación, o a mantener o mejorar el estado de los alimentos envasados, y que están diseñados para incorporar deliberadamente componentes que transmitan sustancias a los

alimentos envasados o al entorno de éstos o que absorban sustancias de los alimentos envasados o del entorno de éstos" (UE, 2004).

Por lo general un envase activo está elaborado en base a polímeros biodegradables, biomasa termoplástica, nanobiocompuestos, proteínas, polisacáridos y biopolímeros derivados de microorganismos; todos los materiales anteriores tienen la capacidad de liberar sustancias de manera controlada. Además pueden ser adicionados o incorporados ingredientes activos dentro del material de envase que tienen propiedad antioxidante y/o antimicrobiana, o proveen actividad enzimática (Gómez et al., 2012) (Tabla 5).

Tabla 5. Fuentes de antioxidantes flavonoides

	FLAVONOIDES	
Flavonoles	Quercetina, Kaempferol, Myricetina	Olivas, cebollas, cerezas, lechuga, arándanos, tomate, manzana, té verdes
Flavonas	Apigenina, Luteolina	Apio celary, olivas
	Catequina, Epicatequina	Pera, vino tinto y blanco, manzana
	ÁCIDOS FENÓLICOS	
Hidroxicinámicos	Ácidos caféicos, clorogénico, ferúlico, *p*-cumárico [(1)]	Granos de café, blueberry, cerezas dulces, naranja, átata blanca, uva.
Hodroxilbenzoicos	Ácidos elágico y gálico	Granada, jugo de uva negra, y verde.

Fuente: Gómez et al. (2012) [(1)]

El desarrollo de sistemas de envases activos antioxidantes está atrayendo considerable atención como una de las tecnologías emergentes preferidas para reducir la alta incidencia de peroxidación de lípidos (Pereira de Abreu et al., 2010; 2011). La adición de antioxidante y el diseño de un envase tecnológico adecuado son las dos opciones más común para reducir la oxidación de lípidos.

Los polifenoles son los principales compuestos vegetales con actividad antioxidante, aunque no los únicos. Además, otras propiedades biológicas tales como anti-carcinógenos, anti-mutagénicos, anti-alergénicos y la actividad antienvejecimiento han sido reportados para antioxidantes naturales y sintéticos (Moure, 2001). Los antioxidantes de origen fenólico son capaces de detener la reacción en cadena de los radicales libres gracias a su capacidad de donar hidrógeno a partir de los grupos hidroxilo fenólicos, formando así el producto final estable (Shimada, Fujikawa, y Nakamura, 1992).

Los ácidos hidroxicinámicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas. Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolito para el crecimiento y reproducción de las plantas, y además participan como agentes protectores frente a la acción de patógenos como parte de su mecanismo; asimismo, presentan propiedades benéficas para el humano como anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes.

La distribución de estos compuestos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente situándose en el interior de las células principalmente contenidos en la pared celular (Martínez-Valverde et al., 2000), los cuales están ligados a ella por unión tipo éster, tal es el caso del ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico que han sido encontrados en la pared celular de muchas especies de plantas (Cruz et al., 2001; Moure et al., 2001).

Recientemente, Martins et al. (2011) llevaron a cabo una descripción de los antioxidantes fenólicos más relevantes. La Figura 2 presenta las estructuras químicas de los ácidos hidroxicinámicos.

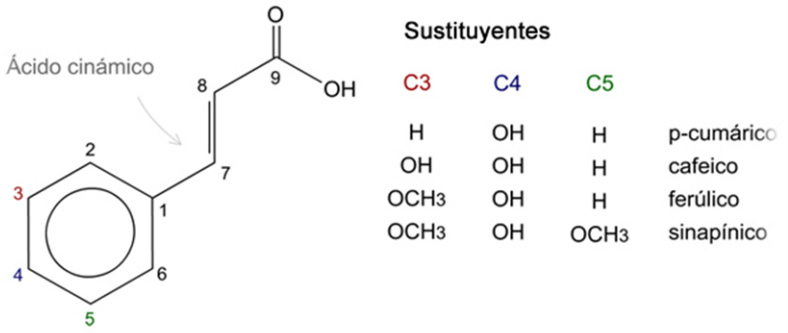

Figura 2. Compuestos fenólicos Hidroxicinámicos

El empleo de antioxidantes ha tenido una gran relevancia desde la sustitución de los antioxidantes sintéticos por los naturales, los esfuerzos actuales se centran en el papel positivo de los antioxidantes presentes en los extractos de plantas y fuentes residuales (Moure et al 2001).

De este modo, se han llevado a cabo aplicaciones exitosas de extractos de plantas en carne picada de pescado congelada, filetes de pescado y pescado entero (Medina et al., 2009; Tironi et al., 2010). Entre los diferentes fitoquímicos probados en alimentos, están los compuestos polifenoles (ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico) que han proporcionado un papel positivo importante en la inhibición desarrollo de rancidez.

Cruz et al. (2001) encontraron compuestos fenólicos en subproductos agroindustriales, principalmente el ácido ferúlico y el ácido *p*-cumárico. Las actividades antioxidantes y antimicrobianas de extractos de acetato etílico obtenidos a partir de hidrolizados ácidos de materiales lignocelulósicos de la madera de eucalipto (*Eucaliptus globulus*) fueron ligeramente superiores a las de mazorcas de maíz y cebada (Cruz et al., 1999; 2007).

Los extractos fenólicos naturales con actividad antioxidantes obtenidos del salvado de cebadas incorporados en las películas del envase del alimento fueron altamente eficaces en la inhibición de los procesos de oxidación en el salmón durante el almacenamiento congelado (Pereira de Abreu et al., 2010).

Los materiales y objetos activos e inteligentes se encuentran autorizados de manera general en el marco del Reglamento (CE) Nº 1935/2004 sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos (UE, 2004), en donde se definen y se establecen los requisitos especiales que deben cumplir; y de una manera específica en el Reglamento (CE) Nº 450/2009 (UE, 2009) (Paseiro Losada et al., 2010).

1.3.2.2.2. Antioxidantes naturales en la dieta del pescado y su efecto en la conservación de la calidad del pescado congelado

De acuerdo a Tacon (1987), cuando se formule una dieta para usarse en sistemas intensivos de acuacultura, se deberá considerar la disponiblidad, la calidad nutricional y costos de los ingredientes individuales (incluyendo fuentes de micronutrientes, tales como: vitaminas, aminoácidos, antioxidantes e inhibidores de hongos). Éstos dictarán el tipo de ración que se puede formular. En la Tabla 6 se presenta la calidad nutricional que se recomienda en la harina de pescado y el aceite de pescado para alimentos de salmónidos (Tacon, 1989).

.

TABLA 6. Calidad recomendada de harina y aceite de pescado para usarse en dietas para salmónidos[1]

	Nivel
Harina de pescado [2]	
Proteína cruda	>68%
Lípidos crudos	<10%
Cenizas	<13%
Sal	< 3%
Nitrógeno amoniacal	<0.2%
Humedad	<10%
Antioxidante (en forma líquida aspersada)	200 ppm
Procesada a vapor, molida finamente más de 0.25 mm	
Aceite de pescado	
Valor de peróxido	<5 meq/kg
Valor de anisidina	<10
Total de pesticidas	<0.4 ppm
Bifenil policlorinados (PCB's)	<0.6 ppm
Nitrógeno	<1%
Humedad	<1%
Antioxidante (líquido)	500 ppm

[1] Tomada de Cho (1980).
[2] El contenido de metales pesados en la harina también se debe evaluar.

En los requerimientos nutricionales de tipo y concentración de antioxidantes es importante considerar el comportamiento de cada especie en particular según etapa de desarrollo, tipo de alimento, los factores de crecimiento entre una misma especie. Los ingredientes alimenticios ricos en AGPI que son particularmente susceptibles de sufrir daño de oxidación lipídica incluye aceite de pescado, harina de pescado, salvado de arroz y pastas de oleaginosas, conteniendo poco o ningún agente antioxidante natural.

La presencia tanto de la composición de lípidos altamente insaturados y compuestos pro-oxidantes pertinentes puede facilitar un importante desarrollo de la oxidación lipídica y enzimática. En ausencia de una adecuada protección por algún agente antioxidante, los lípidos ricos en AGPI, son muy propensos a la autooxidación al quedar expuestos al oxígeno atmosférico. Bajos esas condiciones, el beneficio nutricional de los AGPI, es de hecho perjudicial a la salud de los peces. Durante el proceso de autooxidación lipídica (Figura 3), se forman productos a raíz de la degradación química, incluyendo radicales libres, peróxidos, hidroxiperóxidos, aldehídos y cetonas; los cuales reaccionan con otros ingredientes en la dieta (vitaminas, proteínas y otros lípidos) disminuyendo su valor biológico y disponibilidad durante la digestión. Como resultado, un efecto perjudicial significativo en el pescado y en las propiedades del músculo como el color, el olor, sabor y textura. Para extender la vida útil de las especies de pescados congelados, muchos esfuerzos se han basado en el empleo de antioxidantes (FAO, 2005).

Los antioxidantes son moléculas orgánicas de origen natural o sintético que pueden evitar o retardar el desarrollo de los procesos de oxidación (Halliwell, 1995) (Figura 3).

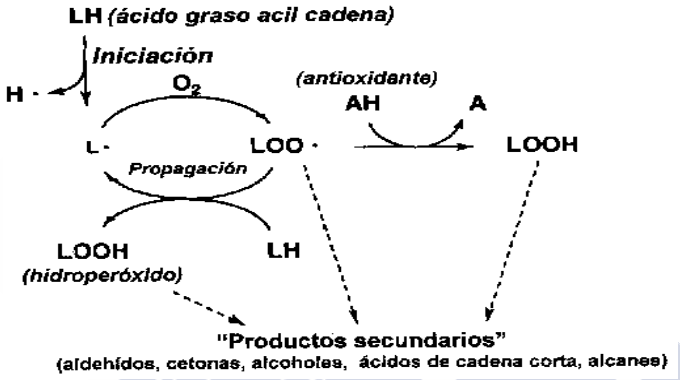

Figura 3. Autooxidación de un lípido poliinsaturado. Fuente: FAO 2005.

Los efectos patológicos de los lípidos oxidados, se ha visto que se previenen mediante la suplementación de la dieta con acetato de D-L-alfa-tocoferol (vitamina E). Los tocoferoles actúan como antioxidantes liposolubles intra y extracelulares, dentro del cuerpo animal. En particular, los tocoferoles protegen los ácidos grasos altamente instaurados presentes en las membranas celulares y subcelulares, así como otros compuestos reactivos (p. ej. las vitaminas A y C) del daño oxidativo que pudiesen sufrir, al actuar como trampas de radicales libres. También se ha sugerido que los tocoferoles juegan un papel importante en la respiración celular y en la biosíntesis del ADN y de la coenzima Q (Figura 4).

En la industria salmonera, se recurre habitualmente a la fortificación del alimento con vitamina E, con la finalidad de mejorar la estabilidad oxidativa y la vida útil del salmón.

Los tocoferoles (vitamina E) son antioxidantes naturales, de estructura fenólica al igual que el BHT, que agrupan a una serie de 8 compuestos: α-, β-, γ-, δ- tocoferol, y α-, β-, γ-, δ-tocotrienol (Johnson, 2001). La actividad antioxidante de los tocoferoles aumenta en la serie α→δ, lo contrario ocurre con la actividad vitamínica y con la velocidad de reacción con radicales peróxido. La actividad del γ-tocoferol comparada con el α-tocoferol es más alta y se debe a la mayor estabilidad del primero y a la aparición de productos distintos, durante la reacción de antioxidante (Belitz y Grosch, 1997).

La suplementación dietaría de vitamina E (α-tocoferol), actúa como un eliminador de radicales libres, protege contra la peroxidación lipídica en los tejidos y eleva el valor nutritivo (Huo et al., 1996). Cuando R_1, R_2, R_3 son grupos CH_3, el isómero del tocoferol es D-alfa-tocoferol (Figura 4).

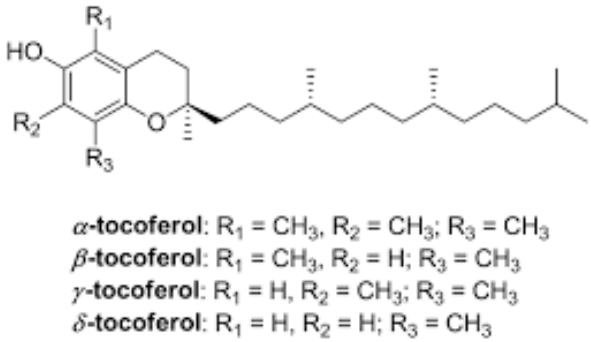

Figura 4. Estructura Química de D-alfa-Tocoferol.

Dada la baja estabilidad térmica de antioxidantes naturales como el α-tocoferol, ampliamente usado como alternativa natural a los antioxidantes sintéticos (Tang et al., 2001), ha despertado el interés por extractos naturales de especias y otros vegetales, que puedan llevar a cabo esta función antioxidante. Los compuestos fenólicos tales como los representantes de la serie de la flavonona y de los flavonoides, que se hallan ampliamente distribuidos en los tejidos vegetales, juegan un papel como antioxidantes naturales (Belitz y Grosch, 1997).

Entre las diferentes especies de vegetales estudiados por sus propiedades antioxidantes, se destaca la familia Labiada, a la cual pertenecen el romero (*Rosmarinus officinalis*) y la salvia (*Salvia officinalis y Salvia fruticosa*), los cuales presentan una marcada actividad antioxidante debido a compuestos fenólicos presentes (Miura et al., 2002). El extracto de romero es uno de los más utilizados y comercializados, en él se ha reportado la presencia de, al menos, seis diterpenos fenólicos con actividad antioxidante: carnosol, ácido carnósico, rosmadial, epirosmanol y metil carnosato, además de ácidos fenólicos como el rosmarínico (Frankel et al., 1996; Ibáñez et al., 2000) (Figura 5).

Al carnasol y al ácido carnosito se les atribuye sobre el 90% de las propiedades antioxidantes del extracto de romero (Aruoma, 1997).

Se cree que la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el extracto de romero, se debe a que poseen una buena actividad de remoción de radicales peroxil e hidroxi, dado que inhiben la formación de radicales hidroxilo y quelante de metales, mientras que solo el ácido carnosito parece remover H_2O_2. En los sistemas lipídicos, los extractos de romero con elevados contenidos de diterpenos fenólicos han resultado ser más efectivos, mientras que en sistemas acuosos, el ácido rosmarínico exhibe la mayor actividad antioxidante.

Estos compuestos pueden actuar sobre la membrana celular, afectando su composición de ácidos grasos, e incluso interactuar con proteínas de la membrana y cambiar su estructura y funcionalidad.

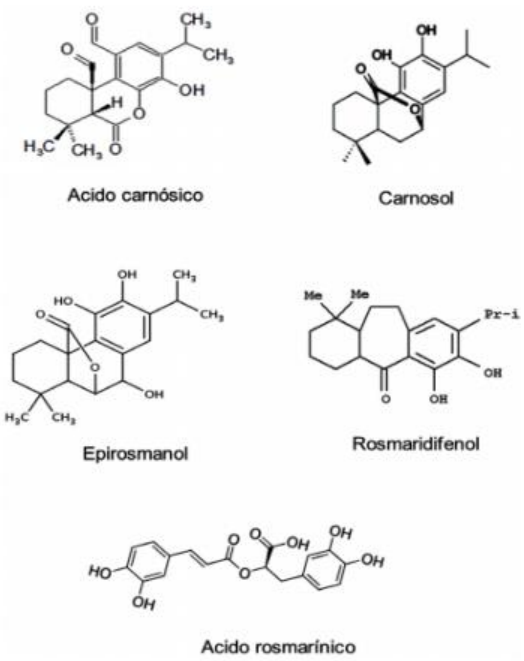

Figura 5. Estructura química de ácido carnósico, carnosol, epirosmanol, rosmaridifenol, ácido rosmarínico, compuestos activos encontrados en la planta de Romero (*Rosmarinus officinalis L.*) Fuente: Shahidi et al. (1992).

En la actualidad el extracto de romero es ampliamente utilizado en la industria alimentaria. Un número de investigadores han informado de la eficacia de los extractos de romero para retardar la oxidación de lípidos en varios alimentos. Esta actividad antioxidante está asociada con la presencia de dipertenos fenólicos, tales como el ácido carnósico, carnosol, rosmanol, rosmariquinona y rosmaridifenol los cuales son capaces de detener la reacción en cadena de los radicales libres gracias a su capacidad de donar hidrógeno.

1.3.2.3. Altas presiones hidrostáticas

Las altas presiones hidrostáticas (APH), también denominada pascalización, presurización o simplemente alta presión, se considera dentro de las tecnologías emergentes de procesamiento de naturaleza no térmica aplicada a la conservación de alimentos, es decir, procesos que no implican la elevación o la reducción significativa de la temperatura del producto. Las presiones de varios miles de atmósferas (100-1000 MPa) se utilizan para destruir a los microorganismos, sin alterar las características sensoriales y nutritivas del alimento (Téllez, 2001).

Una de las características del tratamiento por altas presiones es que éste se transmite de manera uniforme e instantánea (ley isostática). Es decir, los fenómenos acompañados de una disminución de volumen son favorecidos por un aumento de presión y viceversa (ley de Le Châtelier). El Principio de Le Châtelier afecta al comportamiento de los sistemas bajo compresión. El principio establece que "El sistema en equilibrio, cuando se somete a un perturbación, responde en una forma tal que tiende a minimizar el efecto de la perturbación". La presión cambia las propiedades físicas de materiales, y afecta la velocidad de reacción. La presión desvía el equilibrio de un proceso hacia el estado que ocupe menor volumen y acelera aquellos procesos en los que el estado de transición

presenta un volumen menor que el estado inicial. La presión favorece aquellos procesos que van acompañados de cambios de volumen negativos.

El efecto de la alta presión sobre la viabilidad de los microorganismos es una combinación de varias acciones (Farr, 1990):

- Cambios en la morfología de la célula, los cuales son reversibles a bajas presiones (<200 MPa) pero irreversibles a presiones altas (>300 MPa).
- Desnaturalización de proteínas a presiones altas debido al desdoblamiento de las cadenas peptídicas.
- Modificaciones que afectan a la permeabilidad de la membrana celular.

Los mecanismos propuestos para la inactivación microbiana por presión se pueden agrupar en:

- efectos sobre la membrana;
- efectos sobre la bioquímica y la fisiología celular;
- efectos sobre los mecanismos genéticos.

La extensión del efecto de la APH sobre la inactivación microbiana depende de variables de tratamiento, tales como presión, tiempo y temperatura de exposición, además de la composición del alimento y tipo de microorganismos involucrados (Sangronis et al., 1997). La APH produce cambios de tipo morfológico en las células vegetativas: compresión del gas de las vacuolas (a 0.6 MPa puede colapsarse), alargamiento de las células y formación de filamentos (Zobell, 1970), separación de la membrana celular de la pared celular, contracción de la pared celular con la formación de poros, modificaciones del citoesqueleto, modificaciones de los núcleos y de los organelos intracelulares, coagulación de la proteína citoplasmática y liberación de constituyentes intracelulares fuera de la célula (Cheftel, 1995). También provoca modificaciones bioquímicas y genéticas al inactivar las enzimas involucradas en la replicación y transcripción del ADN (Smelt, 1998).

El mayor grado de inactivación sobre los microorganismos se lleva a cabo en la etapa logarítmica de crecimiento. En general, los microorganismos Gram negativos son los más sensibles a las APH; les siguen las levaduras y hongos, los Gram positivos y por último las esporas; los virus son muy resistentes a las altas presiones, aunque depende del tipo de virus (Smelt, 1998). La mayoría de los autores coinciden en que las esporas bacterianas son las formas de vida más resistentes a la presurización.

Presiones de 400 a 600 MPa inactivan las células vegetativas, mientras que para inactivar las esporas se necesitan presiones mayores. (Farkas y Hoover, 2000). La inactivación de los microorganismos por la APH puede ser debida a un incremento en la permeabilidad de la membrana, la inhibición de las reacciones productoras de energía y la desnaturalización de las enzimas esenciales para el desarrollo y reproducción de la célula (Pothakamury et al., 1995). Varios sistemas enzimáticos de los microorganismos son inhibidos o inactivados por la presión. El desarrollo de bacterias depende, entre otros factores, de la temperatura, del pH, de la composición del medio de desarrollo y de la actividad del agua del mismo. La alta presión altera el pH del medio disminuyéndolo.

Ventajas de la APH.

- El tratamiento evita la deformación de los alimentos, debido a que la presión se transmite uniforme e instantáneamente, es decir, no hay gradientes (cumple la denominada regla isostática).
- A diferencia de lo que ocurre con los procesos térmicos, el tratamiento APH es independiente del volumen y de la forma de la muestra, con lo que se reduce el tiempo

requerido para procesar grandes cantidades de alimento (Cheftel, 1995; Téllez et al., 2001).

- Además, no se altera el sabor natural, ni la coloración del alimento, pues las altas presiones no favorecen la reacción de Maillard o de pardeamiento no enzimático
- Mejora o provoca la aparición de propiedades funcionales en los alimentos.
- Tiene poco gasto energético; por ejemplo, para calentar 1 litro de agua a 30 °C se necesita la misma energía que para presurizar a 400 MPa ese mismo volumen de agua.

La APH ha demostrado extender el tiempo de vida útil de los productos marinos debido a la inactivación de enzimas microbianas del sistema endógeno (Norton y Sun, 2008). Sin embargo, se ha reportado producir diferentes tipos de efectos perjudiciales en los alimentos de pescados tales como el daño de la membrana celular, desnaturalización de las proteínas, oxidación de la fracción lipídica, el desarrollo de pardeamiento y la descomposición de constituyentes y agregación. Los resultados, han mostrado marcadas pérdidas de calidad relacionadas con la apariencia general del producto que ha llevado a la reducción de la aceptación del consumidor (Ashie y Simpson 1996; Ashie et al., 1996, 1997; Angsupanich y Ledward, 1998; Chéret et al., 2005; Chevalier, et al., 2001).

1.4. PRODUCCIÓN DE LOS RECURSOS PESQUEROS

1.4.1 Producción mundial de pescado

Según las estadísticas de la FAO (2015a), la producción total de pescado mundial en el año 2012 fue de 158 millones de ton (equivalente en peso vivo) correspondiendo 91.3 millones de ton a la captura por pesca y 66.6 millones de ton a la producción acuícola.

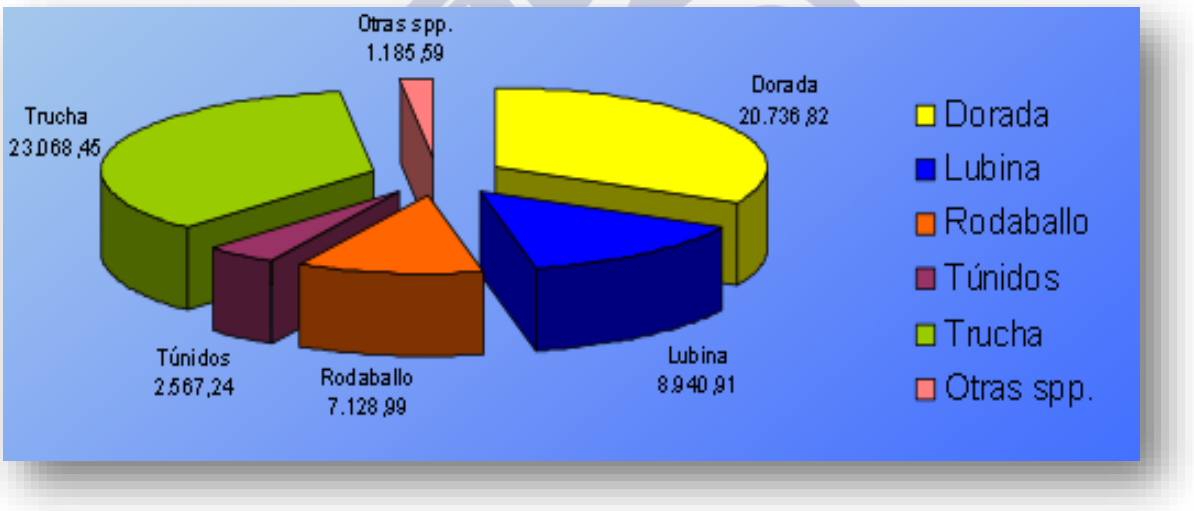

Figura 6. Producción acuícola en España el periodo 2004-2008.
Fuente: Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR)

España se encuentra entre los 25 países con mayor producción por pesca a nivel mundial, siendo el único de la Unión Europea que forma parte de dicho ranking (FAO, 2012).

La producción acuícola en España se situó en el año 2013 en 249.240,05 ton, de las que 234.367,73 ton correspondieron al cultivo de especies marinas (94.07% del total de la producción) y el resto a la acuicultura continental 14.872,32 toneladas (6.30% de la

producción total). El valor estimado de la producción acuícola en España en el año 2013 fue de 379.381.947 €. (FAO, 2015b).

El gran desarrollo de la acuicultura continental, se ha basado en la producción de trucha debido a la alta calidad de los recursos acuáticos existentes en España (Figura 6).

A nivel mundial, 15 países produjeron el 92.7% de todos los peces comestibles cultivados en 2012. Entre ellos, Chile llegó a convertirse en el octavo productor después de Tailandia con 1.071.421 millones de toneladas en 2012. Chile es uno de los principales productores mundiales de salmones de cultivo. La industria salmonera basa su desarrollo en la producción de especies de salmónidos de importancia comercial (Tabla 7).

Figura 7 Salmón Atlántico, trucha Arcoíris y salmón Coho.
Fuente: SalmonChile AG, 2015.

El salmón Atlántico, truca Arcoíris y salmón Coho son las tres especies que se exportan a más de 70 países (Figura 7), liderando mercados como Japón, Estados Unidos y Brasil que superan los US$ 4.000 millones (Figura 8).

Tabla 7. Evolución de producción por especies salmónidas en Chile

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Salar	385.779	376.476	331.042	388.847	203.067	122.744	264.354	398.316	490.300
Salmón coho	102.494	118.221	105.477	92.317	133.308	114.338	159.585	159.745	148.100
Trucha arcoíris	122.962	150.608	162.406	149.411	149.741	215.367	224.569	262.674	153.800
Salmón Rey	2.904	1.958	1.910	72	596				
Total (TONS)	**614.139**	**647.263**	**600.835**	**630.647**	**486.712**	**452.449**	**648.508**	**820.735**	**792.200**

Fuente: Sernapesca, 2014.

El 24% de los retornos provienen del mercados japonés, principal destino del salmón del Pacífico o Coho, al que se le envía principalmente salmón (H&G) congelado. Estados Unidos representa el 32% del total de las exportaciones, al constituir el principal destino del salmón Atlántico o salar, recibido como filetes frescos vía aérea y Brasil, es el tercer principal país de destino con el 13% del total nacional exportado, prioritariamente salmón entero fresco, por vía terrestre.

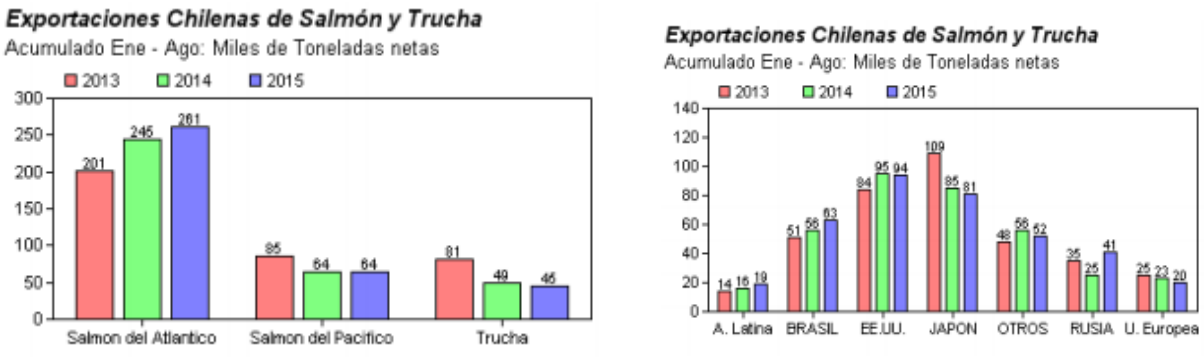

Figura 8. Exportaciones chilenas de salmón. Fuente: FAO, 2015.

1.4.2. Tecnología de comercialización y elaboración del pescado.

En 2012, más del 86% (136 millones de ton) de la producción pesquera mundial se destinó al consumo humano directo. El 14% restante (21.7 millones de ton) se destinó a fines no alimentarios y el 75% de esta cantidad (16.3 millones de ton) se redujo a harina y aceite de pescado. En 2012, el 46% (63 millones de ton) del pescado comercializado para fines alimentarios se encontraba vivo, fresco o refrigerado, formas que en algunos mercados a menudo son los preferidos y tienen un precio elevado. Además, el 12% (16 millones de ton) se utilizó seco, salado, ahumado o curado de otra forma, el 13% (17 millones de ton), elaborado o en conserva y el 29% (40 millones de ton), congelado.

La congelación es el principal método de elaboración de pescado para consumo humano y en 2012 representó el 54% de todo el pescado elaborado para el consumo humano y el 25% de la producción total de pescado (Figura 9A).

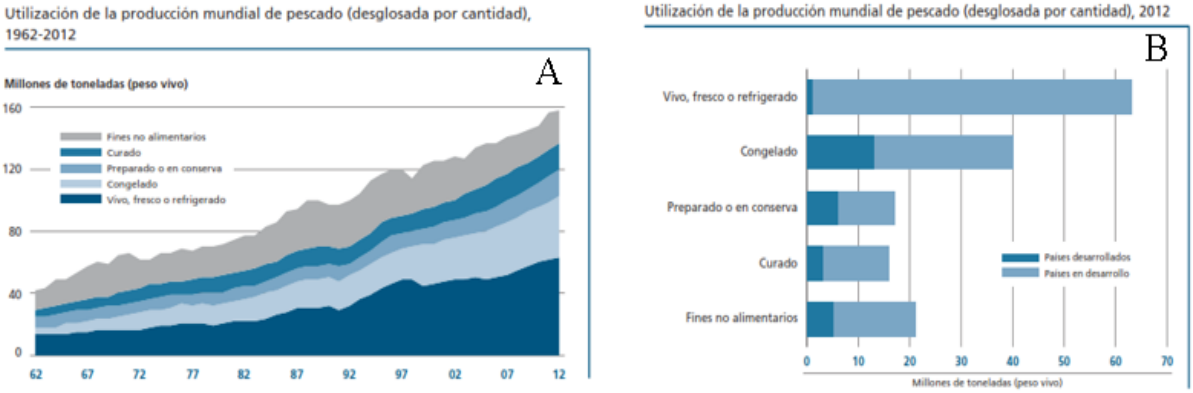

Figura 9. A. Tecnología actual de la utilización del pescado. B. **Diferencias de tecnología en la producción de pescado.** Fuente: FAO, 2015.

La utilización y los métodos de elaboración presentan marcadas diferencias continentales, regionales y nacionales. En las últimas décadas, las principales innovaciones producidas en materia de refrigeración, producción de hielo, envasado y transporte encaminado a garantizar la integridad del producto han permitido también aumentar la cantidad de pescado que se distribuye fresco, refrigerado y congelado (Figura 9B).

1.4.3. Comercio y productos pesqueros

El pescado es uno de los productos alimenticios más comercializados del mundo. El comercio pesquero se ha ampliado considerablemente en los últimos decenios a medida que el sector pesquero operaba en un entorno cada vez más globalizado. El modo en que los productos pesqueros se preparan, comercializan y distribuyen a los consumidores se ha modificado considerablemente y muchos de ellos llegan a cruzar las fronteras nacionales varias veces antes de llegar al consumidor final.

El pescado puede producirse en un país, elaborarse en otro y consumirse en un tercero. Algunos de los motores de esta cadena de valor globalizada de la pesca y la acuicultura son la mayor eficiencia en la distribución y la comercialización y las innovaciones tecnológicas continuadas, incluidas las mejoras en la elaboración, el envasado y el transporte.

1.4.4. Práctica de acuicultura responsable

El Código de Conducta de la Pesca Responsable de la FAO y sus documentos complementarios se orientan a la seguridad y alta calidad de los productos pesqueros y apelan a la industria acuícola mundial para que utilice de manera segura y efectiva los alimentos, los aditivos para alimentos balanceados y tratamientos químicos y otros productos químicos, así como para promover el uso de prácticas y métodos acuícolas que reduzcan los riesgos. Los países productores de salmón también se rigen por las regulaciones relativas a la protección del ambiente y del consumidor.

Sistema de Barrios de la producción acuícola chilena. La implementación eficaz de las áreas de manejo sanitario, más conocido como el sistema de barrios establecen un orden territorial que permite coordinar manejos sanitarios indispensables en todo el sistema de producción animal, como son la desinfección de los implementos utilizados en el cultivo, seguido del descanso sanitario simultaneo en el sector. De esta forma, al comenzar una nueva siembra, el barrio recibe una nueva generación de peces para un nuevo ciclo productivo libre de ISA y otros patógenos, dado que el virus no sobrevive sin ser huésped más allá de algunos días. Por lo tanto, luego de los descansos sanitarios, no existe posibilidad que la carga viral continúe en el ambiente.

Desde el punto de vista logístico, se reducen las probabilidades de contagio, lo que traerá un efecto positivo en toda la zona, ya que combatirá otros posibles focos de enfermedades. El sector acuícola está regulado por el Servicio Nacional de Pesca, (SERNAPESCA) dependiente del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo a través de la “Ley General de Pesca y Acuicultura en materias de Acuicultura” Ley 20567/2013 Resolución Ex. N°1468-28.06.2012, Normativas sobre Anemia Infeciosa del Salmón y Guía de implementación.Res. 1468 PSGM.

1.4.5 Atributos de calidad (color, apariencia, aroma).

La aceptación por parte del consumidor de los productos de pescadería depende de varios atributos de calidad de un alimento. Los principales atributos son la apariencia, sabor, aroma, color y la textura. Los consumidores también esperan que estos atributos sean extensivos a los productos de la acuicultura.

Color y apariencia. En la acuicultura del salmón, dos pigmentos oxycarotenoides, astaxantina (3,3´-dihydroxy-β, β-caroteno-4-4’-diona) y cantaxantina (β, β´-caroteno-4-4´ diona) son los responsables de lograr la pigmentación de la carne de un color rosa uniforme, que es considerado tradicionalmente como indicativo de un producto de alta calidad

(Anderson et al., 1990). La astaxantina es más eficientemente utilizada representando más del 90% de los caretonoides en el músculo (Torrissen et al., 1989).

La astaxantina comercial (Carophyll Pink ®, Hoffmann- La Roche, Basel, Switzerland) es suplementada en dietas entre 35 a 75 mg/Kg. La retención en el tejido del pez depende de la absorción, transporte, metabolismo y excreción. El tiempo que demora en alcanzar los 6mg/Kg en el tejido del pez está en función de su tamaño, velocidad de crecimiento y la fuente del pigmento. Para evaluar el grado de pigmentación del color en el músculo existen además de los métodos químicos, los métodos mediante la evaluación sensorial a través de la carta de color ROCHE para salmónidos (Roche vitaminas, División Química–Hoffmann La Roche Inc., Basel, Switzerland) (Roche, 1998) como también por análisis descriptivo cuantitativo (QDA) la evaluación del descriptor color rojo mediante paneles entrenados. Además existe, la evaluación instrumental de la pigmentación de color, sin la percepción subjetiva del hombre, desarrollada por códigos numéricos para valores *L**, *a**, *b** usado en el sistema de espacio de color CIE*Lab*. Existen factores que incrementan la pérdida de color en los filetes, como son la luz, la temperatura de almacenamiento y el oxígeno (Bjerkeng y Johansen, 1995). La luz inicia la degradación de los carotenoides, la cual es incrementada por la presencia de oxígeno, debido a que los carotenoides en presencia de éste se deterioran más rápidamente.

Aroma y sabor. Los compuestos con aroma característicos en el pescado fresco se derivan de ácidos grasos poliinsaturados. Sin embargo, lo que desde un punto de vista nutritivo puede ser una ventaja, no lo es desde un punto de vista tecnológico. Los productos marinos son altamente perecederos, entre otros motivos por su composición lipídica altamente insaturada (Aubourg, 1999). El deterioro oxidativo se relaciona con cambios negativos en aroma, sabor, apariencia, valor nutritivo y funcionalidad de las proteínas (Erickson, 1997). Las variaciones de los lípidos en especies grasas como los salmónidos ocurren por mecanismos de hidrólisis-oxidación y generalmente son el factor limitante de su vida útil por cambios sensoriales desagradables que se manifiestan en especial a través de un sabor y aroma rancio (Goodiksen y Jessen, 2001)

La **textura** es uno de los atributos de calidad más importante del pescado. Ésta determina la aceptación del consumidor y la comercialización de productos pesqueros. En productos cárnicos, sin embargo, la terneza es importante para el consumidor, mientras que la firmeza es la clave para la calidad y comercialización de la carne de pescado (Chéret et al., 2007). La textura del músculo de salmónidos se ve afectada por la especie, edad, tamaño, estado nutricional (Hatae et al., 1986). El tratamiento después del sacrifico también tienen impacto sobre la textura y la aceptabilidad del consumidor (Montero y Borderías, 1990).

La textura en la carne de pescado también está influenciada por factores tales como la extensión del rigor mortis, la proporción y extensión de la declinación del pH *post mortem*, y la proporción y extensión de la proteólisis causando ruptura miofibrilar (Barroso et al., 1998; Aruoma et al., 1998). El músculo de pescado generalmente contiene sólo una décima parte del colágeno que se encuentra en las carnes rojas, la integridad del músculo del pescado se mantiene por el tejido conectivo de la miocomatas y fibras de colágeno. Si los miotomas (miómero) no están conectados a la miocomatas, se forman rendijas y agujeros en la carne, los cuales son característicos del *gaping* (Eskin et al., 2013). Esto se traduce en el deterioro de la calidad del pescado donde los filetes de pescados se deforman y se vuelven totalmente inaceptable. El desarrollo de *gaping*, acompañado por reblandecimiento del tejido, es una consecuencia de deterioro durante el almacenamiento y se ve reforzada por contracciones musculares rápidas y fuertes durante rigor (Lavéty et al., 1988). Otros parámetros como el contenido de grasa, ácidos grasos y distribución de la grasa en el músculo influyen en la firmeza de la carne (Sigurgisladottir et al., 1999).

1.5 CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE DE ESTUDIO

1.5.1. Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) (Walbaum, 1792)

Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*). Este pez pertenece al orden Salmoniformes, la familia Salmonidae, género *Oncorhynch*us, especie *O. kisutch*. Se conoce comúnmente como salmón del Pacífico o plateado, este último a menudo se utiliza en California, pero salmón Coho (Español) es de amplio uso y es el nombre adoptado por la Sociedad Americana de Pesca (Moyle, 2002), salmón Coho (o Silver) (Inglés), Saumon Coho (Francés), Coho laks (Noruego). Pez carnívoro de agua fría, con cuerpo elongado de 50 cm de promedio, volviéndose más profundo conforme avanza su edad. Los sementales machos maduros presentan una pequeña joroba. La punta de la quijada superior se extiende más atrás del ojo; en los sementales machos el hocico y la quijada inferior se manifiestan en forma de gancho con dientes agrandados (Figura 10). Asimismo, es de destacar la presencia de 18-25 filamentos branquiales, 45-81 ciegos pilóricos, escamas moderadas, de las cuales 120-140 sobre línea lateral y 61-69 vértebras. A nivel externo es de destacar un color plateado, con manchas negras en los flancos superiores, en la base de la aleta dorsal y en el lóbulo superior de la aleta caudal (FAO, 2015a).

Figura 10. Especie salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) (FAO, 2015).

Distribución. Las poblaciones endémicas de salmón plateado viven en toda la cuenca del Pacífico Norte tan al sur como en la Bahía de Monterey (Figura 11) (FAO, 2015b).

Se les encuentra desde el norte de Japón hasta Kamchatka, atravesando el Mar de Behring hasta Alaska y hacia el sur hasta California. Se han reportado migraciones ocasionales de salmón plateado asiático a sitios tan meridionales como Chongjin en la costa oriental de Corea del Norte, y pueden habitar sitios tan australes como el Río Anady (latitud 65 N). En Alaska, la población de salmón plateado más al norte se encontró por arriba de la latitud 68 N, en el río Kukpuk y se les captura regularmente

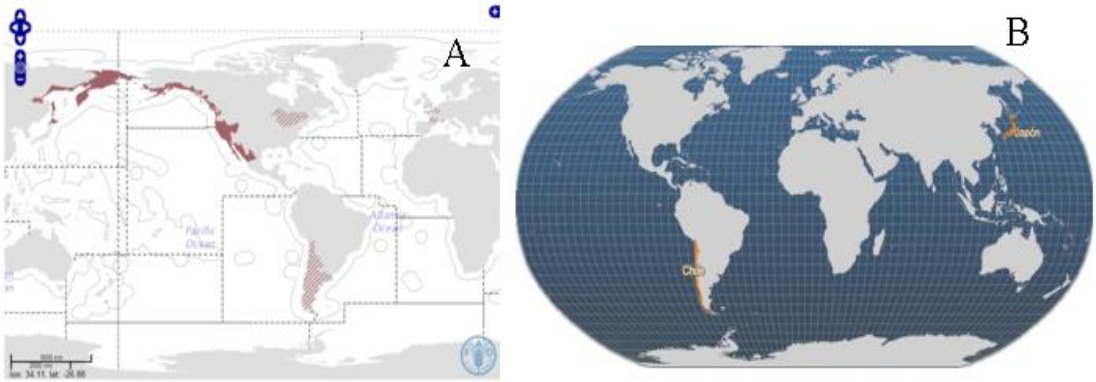

Figura 11. A: Mapa de distribución población endémica de la especie salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) (FAO, 2015b). B: Mapa de distribución de la especie cultivada (*Oncorhynchus kisutch).*

1.5.2. Producción de captura total mundial *O. kisutch*

El salmón plateado ha sido cultivado en el mar desde hace más de 40 años. La producción japonesa y chilena se incrementó rápidamente hasta 1994 cuando la producción total de ambos países alcanzó las 57 300 toneladas (equivalentes al 98 por ciento de la producción mundial) (Figura 12).

En 2001 La producción japonesa se estabilizó en 8 000 a 13 000 ton/año, mientras que la producción chilena aumentó hasta alcanzar 137 000 ton (peso entero) (Figura 12). A partir de entonces la producción de salmón plateado ha decrecido a favor de la trucha arcoiris y del salmón del Atlántico.

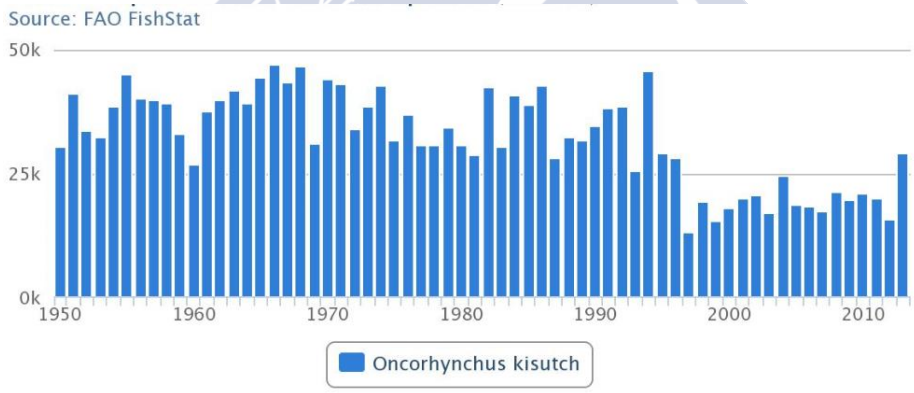

Figura 12. Producción de captura total mundial (*O. kisutch*).FAO, 2015.

A pesar de ello, Chile permanece como el principal productor de salmón plateado con cerca del 89 por ciento de la producción mundial alcanzando las 101 000 ton en 2004. Los otros dos países productores de esta especie en 2004 fueron Japón y Canadá.

1.5.3. Producción acuícola (*O. kisutch*) y característica.

El salmón plateado, originario de las áreas costeras de la cuenca del Pacífico Norte, se ha introducido a diversas áreas de Norteamérica, Asia, Europa y América Latina, aunque la mayor parte de los intentos para radicar poblaciones naturalizadas no han tenido éxito. Se tienen reportes de poblaciones autosustentables en los Grandes Lagos de Norte América y en Chile, en donde constituyen la principal especie en la industria acuícola en rápida expansión (FAO, 2015a).

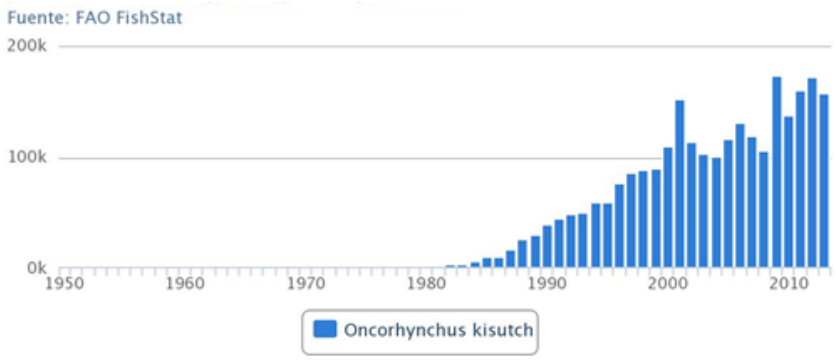

Figura 13. Producción acuícola mundial (*O. kisutch*). Fuente: FAO, 2015.

La producción acuícola en Chile se realiza en la zona sur del país, entre las regiones IX y XII. Se encuentran inscritos en el Registro Nacional de Acuicultura 1020 centros de cultivo en el mar, con un promedio de 9 há., y 221 centros de cultivo en tierra. Chile es uno de los principales productores mundiales de salmones de cultivo. Las principales líneas de elaboración/presentación son: fresco y congelado, entero eviscerado, sin cabeza eviscerado (H&G), filete con y sin piel, porciones, ahumado y conserva.

Los principales constituyentes del salmón Coho se observa en la Tabla 8. El valor nutricional asociado a esta especie grasa detalla un porcentaje de grasa entre 5-10%, destacando la presencia de ácidos grasos poliinsaturados omega n-3 (AGPICL n-3). Presenta alto contenido en proteínas de alto valor biológico. Es fuente de minerales como el selenio y el fósforo, así como de hierro, potasio y magnesio, aunque en menor medida. La vitamina B12 es la más destacable, junto a la niacina, la vitamina B6 y la tiamina.

El contenido de grasa es relativamente alto y presenta excelente retención del color rojizo-anaranjado que hace que sea un pez deseable. Coho tiene un sabor delicado. El color del músculo es generalmente más rosado que el de *chum* pero más pálido que *chinook* o salmón rojo (Peterson, 2009). La carne de Coho salvaje es suave, pero se convierte en firme cuando se somete a cocción.

Tabla 8. Composición porcentual (%) salmón Coho congelado a -20ºC.

Tiempo (Meses)	**0**	**4**	**12**
Humedad	71.82	70.28	67.67
Proteínas	20.32	19.58	20.94
Lípidos	6.1	7.86	9.57
Cenizas	1.0	1.30	1.33
NNP	0.76	0.98	0.49

Fuente: Landeros y López, 2005.

Aubourg et al. (2005) obtuvieron la siguiente composición de ácidos grasos del salmón Coho cultivado expresado en porcentaje de ésteres metílicos: 5.9 (C14:0), 20.7 (C16:0), 7.7 (C16:1 ω7), 4.3 (C18:0), 19.3 (C18:1 ω9), 3.6 (C18:1 ω7), 6.1 (C18:2 ω6), 1.4 (C18:4 ω3), 2.4 (C20:1 ω9), 1.2 (C20:4 ω6), 1.4 (C20:4 ω3), 7.1 (C20:5 ω3), 4.1 (C22:5 ω6), 14.8 (C22:6 ω3). Los resultados fueron similares a los observados por Romero et al. (1997) donde en la composición de ésteres metílicos de ácidos grasos de aceites extraídos de conservas de salmón Coho al natural predominaron los ácidos C18:1 ω9, C16:0, seguidos de C22:6 ω3, C16:1 ω7 y C20:5 ω3.

1.5.4. Ciclo de producción del salmón Coho

En el medio silvestre, el salmón plateado generalmente madura durante su tercer año de vida, incluyendo un período de incubación de 4 a 6 meses, 15 meses de cría en agua dulce y 18 meses de residencia oceánica. Los peces maduros regresan a sus ríos de origen al final del verano y el otoño. El desove ocurre entre noviembre y enero. En la Figura 14 se observa el ciclo de producción de *Oncorhynchus kisutch* de acuicultura (FAO, 2015). En la acuicultura, en una primera etapa desarrolla su ciclo de vida en agua dulce, luego es transportado al mar para su cultivo. El cultivo se realiza en la zona sur del país chileno, entre las regiones IX y XII. Periodo extractivo se realiza de octubre a marzo. Se encuentran inscritos en el Registro Nacional de Acuicultura 1020 centros de cultivo en el mar, con un promedio de 9 há., y 221 centros de cultivo en tierra.

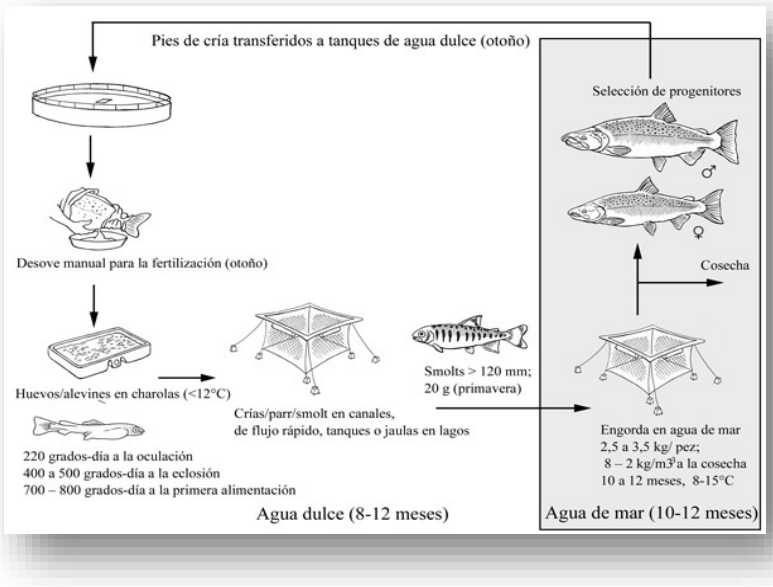

Figura 14. Ciclo de producción de *Oncorhynchus kisutch.* Fuente: FAO, 2015.

1.5.5. Mercado y comercio del salmón

Los principales mercados de salmón plateado cultivado son Japón y Estados Unidos de América. El salmón plateado representa más de la mitad del salmón congelado H&G que Japón importa, pero otras presentaciones son cada vez más frecuentes en el mercado de productos de valor agregado. Los procesadores ofrecen diversos productos, incluyendo: fresco (descabezado y eviscerado) (H&G), con o sin piel, filetes sin espinas, congelado (H&G; con o sin piel; filetes sin espinas y porciones; tronchas) y ahumado. Las porciones y filetes pueden empacarse al vacío, lo que incrementa su vida de anaquel. En Estados Unidos de América y otros países, estos productos compiten directamente con productos derivados del salmón del Atlántico cultivado. La investigación se concentra en la mejora de las poblaciones, calidad de la alimentación y la prevención y control de enfermedades todos los factores que directamente impactan los costos de producción y margen de utilidad.

1.6 BIBLIOGRAFÍA

Andersen, U.B., Strømsnes, A.N., Steinsholt, K., and Thomassen, M.S. 1994. Fillet gaping in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Norwegian Journal of Agricultural Science*, **8**, 165-179.

Anderson, A.J., Arthington, A.H., Anderson, S. 1990. Lipid classes and fatty-acid composition of the eggs of some Australian fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **96**, 267-270.

Angsupanich, K., and Ledward, D. 1998. High pressure treatment effects on cod (*Gadus morhua*) muscle. *Food Chemistry*, **63**, 39–50.

Ashie, I., and Simpson, B. 1996.Application of high hydrostatic pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration. *Food Research International*, **29**, 569–575.

Ashie, I., Simpson, B., and Ramaswamy, H. 1997.Changes in texture and microstructure of pressure-treated fish muscle tissue during chilled storage. *Journal of Muscle Foods*, 8, 13–32.

Ashie, I., Smith, J., and Simpson, B. 1996.Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **36**, 87–121.

Aubourg, S.P., 1999. Efecto de las alteraciones lipídicas sobre la calidad del pescado procesado *Grasas y Aceites*. **50**, 218-224.

Aubourg, S. P. 2001.Review: Loss of quality during the manufacture of canned fish products. *Food Science Technology*, **7**, 199-215.

Aubourg, S.P., Losada, V., Prado, M., Miranda, J.M., and Barros-Velázquez, J.M. 2007. Improvement of the commercial quality of chilled Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in slurry ice: Effects of a preliminary treatment with an antimelanosic agent on enzymatic browning. *Food Chemistry*. **103**, 741-748.

Aubourg, S. 2004.Fracción lipídica marina. Revista Industrias de Alimentos. Edición bimestral. Marzo/abril y Mayo/junio. **7**, Nº 29 y Nº30.

Aubourg, S., Pérez-Alonso, F. and Gallardo, J. 2004. Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by citric and ascorbic acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **106**, 232–240.

Aubourg, S.P., Vinagre, J., Rodríguez, A., Losada, V., Larraín, M.A., Quitral, V., Gómez, J., Maier, L., and Wittig, E. 2005. Rancidity development during the chilled storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *European Journal of Lipid Science and Technology***107**, 411-417.

Aruoma, O.I., Spencer, J.P., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., Muñoz, A. Barroso, M., Careche, M., Barrios, L., and Borderías, A.J. 1998. Frozen hake fillets quality as related to texture and viscosity by mechanical methods. *J. Food Sci.*, **63**, 793-796.

Barroso, M., Careche, M., Barrios, L., and Borderías, A.J. 1998.Quality control of frozen fish using rheological techniques. *Trends in Food Science Technology*, **9,** 223-229.

Belitz, H.D., Grosch, W., and Schieberle, P. Food Chemistry ISBN 978-3-540-69933-0 e-ISBN 978-3-540-69934-7. DOI 10.1007/978-3-540-69934-7. Ed. Springer. 2009.

Bjerkeng, B. and Johnsen, G. 1995. Frozen storage quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as affected by oxygen, Illumination, and fillet pigment. *J. Food Science*, **60,** 284-287.

Bremner, H.A., 1999. Gaping in fish flesh. In: Satp, K., Sakaguchi, M., Bremner, H.A. (Eds.), Extracellular Matrix of Fish and Shellfish. Rese rch Signpost, Trivandrum, India, pp. 81-94.

Chapman, L. 1990. Making the grade. Ice slurries get top marks for quality products. *Australian Fisheries*, **7**, 16–19.

Cheftel, J. C. 1995. Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci Technol. Int*. **1**, 75-90.
Cheftel, J. C., and Cheftel, H. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Volumen I (ISBN: 84-200-044-8 1976) y II (ISBN: 84-200-0512-6). Ed. Acribia. 1976.
Chéret, R., Chapleau, N., Delbarre-Ladrat, C., Vérrez-Bagnis, V., and De Lamballerie, M. 2005. Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fillets. *Journal of Food Science*, **70**, E477–E483.
Cheret, R., Delbarre-Ladrat, C., de Lamballerie-Anton, M., Verrez-Bagnis, V.V., 2007. Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chem*. **101**, 1474-1479.
Chevalier, D., Le Bail, A., and Ghoul, M. 2001.Effects of high pressure treatment (100-200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. *Food Research International*, **34**, 425–429.
Cho, C.Y., and Kaushik, S. J. 1990. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout. *World Review of Nutrition and Dietetics*. **61**: 132-172.
Cruz, J. M., Domínguez, J.M., Domínguez, H., and Parajó, J. C. 2001. Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 2459-2464.
Cruz, J. M., Domínguez, J.M., Domínguez, H. and Parajó, J. C. 1999. Solvent extraction of hemicellulosic wood hydrolysates: a procedure useful for obtaining both detoxified fermentation media and polyphenols with antioxidant activity. *Journal Food Chemistry*, **67**, 147-153.
Cruz, J.M., Moldes, A., Bustos, G., Torrado, A. and Domínguez, J.M. 2007. Integral utilisation of barley husk for the production of food additives. *J Sci Food Agric.*, **87**, 1000–1008.
Einen, O., Guerin, T. and Skjervold, P.O. 2002. Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture*, **212,** 129-140.
Erickson, M. 1997. Lipid oxidation: Flavour and nutritional quality deterioration jn frozen foods. In M. Erickson & Y. Hung (Eds), *Quality in frozen food* (pp. 141-173). New York: Chapman and Hall.
Eskin, N.A., Aliani, M., and Shahidi, F. Chapter 3- Meat and Fish. *Biochemistry of Foods* (Third Edition), 127–185, 2013.
Farkas, D. F., and Hoover, D. G. 2000. High Pressure Processing. *Journal Food Science*, Supplement. 47-64.
Farr, D. High pressure technology in the food industry. *Trends Food Sci*. Technol. 1990, **1**, 14-16.
Fennema, O.R. Química de los alimentos. Ed.Acribia S.A., Zaragoza, España. 2000. pp. 1258.
Frankel, E. 1991. Review: Recent advances in lipid oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* **54**, 495-511.
GARCÍA, B. Evaluación de metodologías avanzadas de conservación de especies marinas capturadas por la flota de gallega de caladeros comunitarios. Tesis de doctoramiento. Universidad de Santiago de Compostela. 2015.
Gómez, R., Martínez, G., Rodríguez, R., and Aguilar, C. 2012. Fuentes y beneficios de los antioxidantes fenólicos Ciencia Cierta.31, México.
<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierta/CC31/5.html> [Consulta: 14 de septiembre de 2015].
Goodiksen, H. and Jessen, F. 2001. Cytochrome oxidase as an indicator of ice storage and frozen storage. *J. Agric. Food Chem*. **49,** 4488- 4493.

Gram, L. 1992.Evaluation of the bacteriological quality of seafood. *J. Food Microbiol.* **16,** 25-39.
Gram, L., and Dalgaard, P. 2002. Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Curr Opin Biotechnology*. **13,** 262-266.
Gruda, Z. and Postolski, J. Tecnología de la congelación de los alimentos. Ed Acribia. España, pp.631. 1986.
Hardy, R. & Keay, J. 1972. Seasonal variation in the chemical composition of Cornish Mackerel, *Scomber scombrus* (L), with detailed reference to lipids, Journal of Food Technology, **7,** 125-137.
Halliwell, B. 1996. Antioxidant characterization and natural antioxidant: Food quality protectors. *Grasas y Aceites*, **47**, 186-196.
Hatae, K, Tobimatsu A, Takeyama M, Matsumoto J. 1986. Contribution of Connective Tissues on the Texture Difference of Varies Fish Species. *Bull Japan Soci Sci Fish*., **52**, 2001-2007.
Hebard, C.E., Flick, G.J. and Martin, R.E. Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. In: R.E. Martin, G.J. Flick and C.E. Hebard (eds.), *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*, AVI, Westport, CT, USA, 149-304. 1982
Heen, E. 1982.Developments in chilling and freezing of fish. *International Journal of Refrigeration*. **5**, 45-49.
Huss, H.H. 1998. El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. FAO Documento Técnico de Pesca 348. FAO. Roma. Italia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
<http://www.fao.org/docrep/V7180S/V7180S00.HTM> [Consulta: 14 de septiembre de 2015].
Ibañez, E.; Cifuentes, A.; Crego, A. L.; Senoráns, F. J.; Cavero, S. and Reglero, G. 2000.Combined Use of Supercritical Fluid Extraction Micellar Electrokinetic Chromatography, and Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography for the Analysis of Antioxidants from Rosemary (*Rosmarinus offininalis* L.). *J. Agric. Food. Chem*. **48**, 4060-4065.
Jiang, S.T., Hwang, B.S., and Tsao, C.T., 1987. Protein denaturation and changes in nucleotides of fish muscle during frozen storage. *J. Agric.Food Chem*. **35**, 22-27.
Johnson, I. T, Antioxidant and Antitumour Properties**.** En: Pokorny, J.; Yanishlieva, N. y Gordon, M. Antioxidants in Foods: Practical Applications. CRC Press. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. 288p. 2001.
Lavéty, J., Afolabi, A., and Love, R., 1988. The connective tissue of fish. IX. Gaping in farmed species. *In. J. Food Sci. Technol*. **23**, 23-30.
Laidler, L.A. Microbiological problems in the salmon processing industry. In: Farmed Fish Quality. Eds. Kestin, S; Warris, P.D. Printed by Fishing News Books Blackwell Science, Inc. USA. 2001.
López, A. 1996, Modificación de la LDL Humana por el Ion Cúprico: Efecto de Algunos Antioxidantes. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*. **2**, 5-24.
Losada, V., Barros-Velázquez, J., Piñeiro, C., and Aubourg, S. 2004. Effect of slurry ice on chemical changes related to quality loss during European Hake (*Merluccius merluccius*) chilled storage. *Eur Res Technol*, **219**, 27-31.
Losada, V., Barros-Velázquez, J., Gallardo, J.M., and Aubourg, S.P. 2006a. Effect of previous slurry ice treatment on the quality of cooked sardine (*Sardina pilchardus*), *European Food Research and Technology*. **224**, 193-198.
LOSADA-IGLESIAS, V. Aplicación de técnicas basadas en hielo líquido en la comercialización de productos marinos: Efectos sobre los cambios químicos relacionados

con la pérdida de calidad. Tesis Doctoral. Universidad de Vigo: Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, 2006.
Losada, V., Rodríguez, A., Ortiz, J., and Aubourg, S.P. 2006b. Quality enhancement of canned sardine (*Sardina pilchardus*) by a preliminary slurry ice chilling treatment. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**, 598–605.
Ludwig, H., Bieler, C., Hallbauer, K., and Scigalla, W. High Pressure and Biotechnology. La Grande Motte, France. London: John Libbey Eurotext, 1992, pp 25–32.
Lund, D. B. (2002). Food engineering for the 21st century. In J. Welti-Chanes, G. V. Barbosa-Canovas, and J. M. Aguilera (Eds.), Engineering and food for the 21st century. Food Preservation Technology Series, Chapter 44 (pp. 3–14). Boca Raton, FL, USA: CRC Press LLC.
Martínez-Valverde, I., Periago, M.J., and Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, **50,** 5-18.
Martins, S. Solange, I., Mussatto, S.I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., José A. and Teixeira, J.A. 2011. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, **29**, 365–373.
Medina, I., Gallardo, J., and Aubourg, S.P. 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**, 1467-1479.
Ministerio de Economía, Fomento y Turismo: "Ley General de Pesca y Acuicultura en materias de Acuicultura" Ley 20567/2013 Resolución Ex. N°1468-28.06.2012, Normativas Anemia Infecciosa del Salmón y Guía de implementación Res. 1468. PSGM. Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA).
<https://prezi.com/ibhdtxqsvpit/modificaciones-en-materia-acuicola-a-ley-general-de-pesca-y-acuicultura/?utm_campaign=share&utm_medium=copy>
Miura, K., Kilusaki, H., and Nakatani, N. 2002. Antioxidant Activity of Chemical Components from Sage (*Salvia officinalis* L.) and Thyme (*Thymus vul*garis) Measured by the Oil Stability Index Method. *J. Agric. Food Chem*., **50**: 1819-1822.
Montero P. y Borderías J. 1990. Effect of rigor mortis and ageing on collagen in trout (*Salmo irideus*) muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **5**2: 141-146.
Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Domínguez, J.M., Sineiro, J., Núñez, M.J., and Parajó, J.C. 2001. Food Chemistry. Review. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, **72**, 145-171
Norton, T., and Sun, D.W. 2008. Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry. *Food Bioprocess Technol.*, **1**, 2–34.
Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschäger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., and Undeland, I. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science* and Technology, **8**, 258-265.
Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1998. *El pescado fresco: su calidad y cambios en su calidad*. FAO DOCUMENTO TÉCNICO DE PESCA 348. Editado por H.H. Huss. Laboratorio Tecnológico. Ministerio de Pesca. Dinamarca. [Consulta: 01 septiembre de 2015].
<http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s00.htm#Contents>
Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).). Fisheries and Aquaculture Department [En línea]
<http://www.fao.org/fishery/species/2118/> [Consulta: 14 de septiembre de 2015a].
Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Species Fact Sheets; *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792).
<http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_kisutch/es>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). <http://www.fao.org/fishery/naso/maps/search/jsp/fact_sheet/browse.jsp?country=CL&dataType=A&size=L> [Consulta: 14 de septiembre de 2015b].

Paseiro Losada, P., Cacho, J.C., Juárez, M., Ortega, T., Nerín, N., and López, R. Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los envases activos e inteligentes Número de referencia: AESAN-2010-011 Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 28 de septiembre de 2010. *Revista del Comité Científico*. N °13. 2010, 89-105. <http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/docs/docs/evaluacion_riesgos/comite_cientifico/ENVASES_ACTIVOS_INTELIGENTES.pdf> [Consulta: 01 septiembre de 2015].

Pereira de Abreu, D.A. Paseiro Losada, P., Maroto, J., and Cruz, J.M. 2010. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard Lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Food Research International*. **43**, 1277-1282.

Pereira de Abreu, D.A. Paseiro Losada, P., Maroto, J., and Cruz, J.M. 2011. Lipid damage during frozen storage of Atlantic habilut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film contained antioxidants. *Food Chemistry*, **126**, 315-320.

Piñeiro, C. Barros- Velázquez, J., and Aubourg, S.P. 2004. Effects of newer slurry ice systems on the quality of aquatic food products: a comparative review versus flake-ice chilling methods. *Trend in Food Science and Technology*. **15**, 575-582.

Pothakamury, U.R., Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G., 1995, Inactivation of E. coli and S. aureus in model foods. *Food Research International*, **28**, 167-171.

Roche. 1998. Animal nutrition and health. Salmon Buyer´s guide. A handy manual for purveyors and sellers of seafood, Hoffman La-Roche Ltd., pp. 43. Roche vitaminas, División Química–Hoffmann La Roche Inc., Basel, Switzerland.

SalmonChile 2015. Asociación de la Industria del Salmón de Chile A.G. < http://www.salmonchile.cl/es/quienes-somos.php> [Consulta: 14 de septiembre de 2015].

SANJUÁS- REY, Minia. 2012. Aplicación de sistemas avanzados para la mejora de la calidad de productos marinos refrigerados de interés comercial. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago: Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología.

Sangronis, E.; Pothakamury, U.; Ramos, A. M.; Ibarz, A., Barbosa, G. V. 1997. La alta presión hidróstatica: Una alternativa en el procesamiento no térmico de los alimentos. *Alimentaria*, **33**, 32-43.

Shahidi, F., Janitha, P.K., and Wanasundara, P. D. 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews in *Food Science and Nutrition*, **32**, 67-103.

Shimada, K., **Fujikawa**, K., Y., **Nakamura**, T. 1992. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 945–948.

Sigurgisladóttir, S., Torrissen, O., Lie, O., Thomassen, M., and Hafsteinsson, H. 1997.Salmon quality: Methods to determine the quality parameters. *Rev. Fish Sci.*, **5**, 1-30.

Sigurgisladóttir, S., Hafsteinsson, H., Jonsson, A., Nortvedt, R., Thomasses, M. and Torrisen, O. 1999. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *Journal of Food Science*, **64**, 99-104.

Skjervold, P.O., Røra, A.M.B., Fjaera, S.O., Vegusdal, A., Vorre, A. and Einen, O. 2001. Effects of pre- in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. *Aquaculture*, **194**, 315-326.

Smelt, J. P. P. M. 1998. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *T. Food Sci and Technol.* **9**, 152-158.

Spanggaard, B., Jørgensen, F., Gram, l. and Huss, H.H. 1993. Antibiotic resistance in bacteria isolated from three freshwater fish farms and an unpolluted stream in Denmark. *Aquaculture.* **115,** 195-207.

Suzuki, T. 1987.Tecnología de las proteínas del pescado y krill. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza.
Tacon, A.G.J. 1989. Nutrición y Alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de Capacitación. Documento preparado para el Proyecto GCP/RLA/102/ITA Apoyo a las actividades regionales de acuicultura para América Latina y El Caribe PROYECTO AQUILA II. Documento de campo No FAO-ITALIA. http://www.fao.org/3/contents/60051bb9-bd0e-5631-b5e1- b5ec8e51998/AB492S00.htm
Tang, S. T., Sheehan, D., Buckley, D. J. Morrissey, P.A. and Kerry, J.P. 2001. Antioxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. *International Journal of Food Sci. and Techno.*. **36**, 685-692.
Tarr, H.L. A., 1966. Post-mortem changes in glycogen, nucleotides, sugar phosphates and sugars in fish muscles. A review. *J. Food Sci*. **31**, 846-854.
Téllez-Luis, S. J., Ramírez, J. A.; Pérez-Lamela, C., Vázquez, M., and Simal-Gándara, A. 2003. Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos Ciencia y Tecnología Alimentaria. Journal homepage: > http://www.tandfonline.com/loi/tcyt19. 3:2, 66-80, DOI: 10.1080/11358120109487649> [Consulta: 14 de septiembre de 2015].
Tironi, V., Tomás, M., and Añon, M. C. 2010. Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract. Food Science and Technology, **43**, 263-272.
Torrissen, O. 1999. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *J. Food Sci.*, **64**, 99-104.
Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K. D. 1989. Pigmentation of salmonids - carotenoid deposition and metabolism. *Rev. Aquatic Sci.,* **1**, 209-225
UE 2004. Reglamento (CE) Nº 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y por el que se derogan las Directivas 80/590/CEE y 89/109/CEE. DO L 338 de 13 de noviembre de 2004, pp: 4-17. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=URISERV:l21082a> [Consulta: 01 septiembre de 2015].
Welti- Chanes, J., Barvosa-Cánovas, G., and Aguilera, J.M. Engineering and Food for the 21st Century. Food preservation technology series. CRS PRESS. ISBN I-56676-963-9. New York, USA, 2002.
Zobell, C. E., and Cobet, A. B. 1962.Growth, reproduction, and death rates of *Escherichia coli* at increased hydrostatic pressures. *J. Bacteriol.* **84**, 1228-1236.

2. PRESENTACIÓN, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1. PRESENTACIÓN

Las nuevas tendencias del comercio pesquero internacional se orientan al empleo de especies cultivadas y dentro de ellas los salmónidos tienen un importante papel. Entre dichas especies, el salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) ocupa un lugar importante, destacándose Chile por ser el principal productor mundial.

En Chile y durante el último tiempo, se ha incrementado ampliamente el cultivo de salmón Coho debido a la creciente demanda del mercado externo, motivo que ha repercutido directamente en el interés por estudiar nuevas tecnologías de conservación para esta especie que inhiban su fácil y rápida alteración en la comercialización. La calidad que se exige a los alimentos que se comercializan a nivel internacional es propia del mercado de destino. Esta situación obliga a estudiar y mejorar continuamente las estrategias que se relacionen con la obtención del producto y su mantenimiento hasta el momento de su comercialización.

La comercialización de esta especie se enfrenta con las distintas vías de alteración típicas de una especie marina grasa. Por ello, se hace necesario realizar un estudio que aplique distintas estrategias recientes al objeto de optimizar la inhibición de su alteración y garantizar así la alta calidad y seguridad alimentaria del producto resultante.

El presente trabajo de tesis doctoral se planteó dentro de esta problemática. Su desarrollo se llevó a cabo a través de diversos proyectos realizados al amparo del programa Chileno-Español de colaboración conjunta financiado por el Programa Universidad de Chile-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) ("Calidad nutritiva y vida útil del Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) conservado en estados refrigerado y congelado" (2003 CL 0013 CSIC 03/04-08); "Adición de antioxidantes naturales a la dieta del Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*): efecto sobre la calidad durante su posterior conservación como producto congelado" (CSIC Nº22/05-06); "Aplicación de procesado mínimo a partir de una técnica avanzada de envasado al vacío en la elaboración de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) como producto refrigerado y congelado" (2006 CL24 0034 CSIC 18/07-08-2007)).

El objetivo global de este trabajo fue la mejora de la calidad y vida útil de salmón Coho procesado y conservado en distintas formas comerciales. En una primera parte se llevó a cabo el estudio de su conservación en refrigeración (hielo tradicional) y en congelación (-20 °C), haciéndose hincapié en su tiempo de vida útil, así como en el desarrollo relativo de las distintas vías de alteración. En una segunda parte, se estudió la aplicación de distintas tecnologías avanzadas de conservación al objeto de inhibir los distintos mecanismos de degradación y por tanto de prolongar el tiempo de vida útil. Entre estas tecnologías ensayadas se encuentran el hielo líquido, envases activos incluyendo antioxidantes naturales, altas presiones hidrostáticas y alimentación con dietas enriquecidas en antioxidantes naturales durante el periodo de crecimiento. Los análisis de calidad llevados a cabo a lo largo del desarrollo de los distintos experimentos incluyeron los químicos y microbiológicos, pero de un modo especial los de tipo sensorial y físico.

2.2. OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo de investigación es el estudio de la pérdida de calidad de salmón Coho durante su procesamiento y/o conservación, así como la aplicación de tecnologías avanzadas susceptibles de inhibir, al menos parcialmente, esta alteración. Dentro de este objetivo básico se pueden definir una serie de objetivos específicos:

1. Estudio de la pérdida de calidad de salmón Coho durante su conservación comercial en hielo y en congelación (-20 °C)
2. Mejora de la calidad de salmón Coho cocido y enlatado mediante aplicación de hielo líquido como método de conservación previa en refrigeración
3. Mejora de la calidad de salmón Coho congelado mediante empleo de envases activos incluyendo componentes antioxidantes naturales
4. Mejora de la calidad de salmón Coho congelado mediante empleo de dietas enriquecidas en antioxidantes naturales durante la fase de crecimiento
5. Mejora de la calidad de salmón Coho refrigerado mediante aplicación de la tecnología de altas presiones hidrostáticas como tratamiento previo
6. Estudio de la evolución de las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho durante su procesamiento por métodos tradicionales y avanzados
7. Estudio de la evolución de las propiedades químicas y bioquímicas de salmón Coho durante su procesamiento por métodos tradicionales y avanzados

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.3. PLAN DE TRABAJO

Con el fin de llevar a cabo los objetivos previamente señalados, se definió el plan de trabajo en dos partes distintas:

2.3.1. PARTE 1. Estudio de las modificaciones de la calidad de salmón Coho durante su conservación comercial en hielo y en congelación (-20 °C)

Su objetivo básico fue el de evaluar los efectos derivados de aplicar las tecnologías de refrigeración y congelación en sus formas tradicionales sobre las calidades sensorial y física y establecer su correlación con los parámetros bioquímicos. Esta parte se corresponde con los Capítulos 1 y 2 de la sección de resultados y discusión.

2.3.2. PARTE 2. Aplicación de tecnologías avanzadas para la mejora de la calidad de distintos tipos de productos comerciales de salmón Coho.

Su objetivo básico es el de aplicar tecnologías avanzadas con el fin de mejorar la calidad de salmón Coho en distintos tipos de productos comerciales. Las modificaciones de la calidad se estudian nuevamente sobre la base de las propiedades sensoriales, físicas, químicas y bioquímicas. Esta parte se corresponde con los Capítulos 3, 4, 5, 6 y 7 de la sección de Resultados y Discusión. Estos capítulos se diferencian en el tipo de estrategia aplicada o bien en el tipo de producto al que se aplica.

En los Capítulos 3 y 4 se estudia el empleo de hielo líquido como estrategia de conservación previa a productos de salmón Coho comercializados en la forma cocida y enlatada, respectivamente.

En el Capítulo 5 se estudia el empleo de un envase al que se le han añadido componentes antioxidantes (polifenoles) de origen natural al objeto de mejorar la calidad de un producto congelado de salmón Coho.

En el Capítulo 6 se estudia el efecto que puede tener sobre la calidad de un producto congelado de salmón Coho la sustitución de antioxidantes sintéticos (etoxiquina y BHT) por naturales (tocoferoles y polifenoles) en la dieta suministrada durante la fase de crecimiento previa.

En el Capítulo 7 se estudia el empleo de la tecnología de altas presiones hidrostáticas (100-200 MPa durante 30s) al objeto de mejorar la calidad de un producto refrigerado de salmón Coho.

.

3.1 PLICACIÓN DE MÉTODOS DE CONSERVACIÓN

De acuerdo con las dos partes establecidas en el Plan de Trabajo, se han aplicado los siguientes métodos de conservación innovadores:

3.1.1. Sistemas de tratamiento previo con hielo líquido.

Para el estudio de la tecnología de tratamiento de hielo líquido previo a la cocción y hielo líquido previo al tratamiento térmico de envasado de salmón se empleó un sistema de hielo líquido bifásico compuesto por pequeños cristales de hielo esféricos rodeados por agua de mar a temperatura bajo cero (FLO-ICE, Kinarca, Vigo, España).

La composición de una mezcla binaria fue de 40% hielo/ 60% agua de mar filtrada (salinidad: 3.3%). La temperatura de la mezcla de hielo líquido fue de -1.5 °C y el contenido de sal fue de 2.0%. La temperatura promedio del agua de los especímenes fue de -1.0 a -1.5 °C.

Las tecnologías de hielo líquido fueron contrastadas con la tecnología de hielo en escamas la que fue preparada con agua fresca por la máquina Icematic F100 (Castelmac Spa, Castelfranco, Italia). La temperatura del hielo en escamas fue de -0.5 °C siendo la temperatura de refrigeración de los salmones en el rango de 0 a 0.5 °C. Esta fórmula comercial fue empleada en los estudios correspondientes a los capítulos 3 y 4.

3.1.2. Sistema combinado de envasado al vacío con película adsorbente de polifenoles.

Se aplicó un sistema de envasado que consiste en un envase de polietileno que combina una película adsorbida de antioxidantes (Proyecto Actiplast PGIDITAL 0079, España) con un proceso al vacío que se puso a prueba en el producto músculo de salmón Coho.

Para ello, se adicionaron al envase compuestos fenólicos (extractos conteniendo principalmente *p*-cumárico y ácido ferúlico) que se extrajeron desde la fracción de lignina desde cascarilla de cebada y cuantificados de acuerdo a investigaciones previas por Cruz et al. (2007). La cascarilla de cebada se sometió a hidrólisis con una solución de 3% de H_2SO_4 por 15 min a 130 °C en una relación líquido/sólido de 8:1 g/g. El residuo sólido entonces se deslignificó con una solución 6.5% de NaOH durante 60 min a 130 °C en una relación líquido/sólido de 10:1 g/g. Los compuestos fenólicos se extrajeron a partir de la fase líquida obtenida en la etapa de deslignificación con acetato de etilo (relación fase de agua /fase orgánica, 1:3). La fase orgánica se separó en un evaporador vertical y se eliminó. El extracto seco se disolvió en metanol para obtener soluciones de 50 y 100 g de extracto por litro (Cruz et al., 2007).

La película de polietileno de baja densidad utilizada para elaborar los envases (15 × 18 cm; 0.140 mm de espesor) presentaron una tasa de transmisión de vapor de agua de 3.62 g/ m^2 /24 h cuando se midió a 38 °C y una humedad relativa del 90%.

Ambas soluciones de extracto mencionadas (50 y 100 g/L) se utilizaron para preparar el envase activo por un proceso de recubrimiento. Como resultado, se obtuvieron las películas de polietileno recubiertas con los dos antioxidantes (29 µg de ácido *p*-cumárico

y 19 µg ácido ferúlico dm^{-2} de película; 88 µg de ácido *p*-cumárico y 40 µg ácido ferúlico dm^{-2} de película) y combinado envasado al vacío (P1 y P2 condiciones, respectivamente). Una vez que se terminó el proceso de revestimiento, la película se secó a temperatura ambiente hasta que el metanol se evapora completamente.

Ambas concentraciones de antioxidantes P1 y P2 se eligieron de acuerdo a los resultados obtenidos en investigaciones previas relacionadas con la aplicación de pescado congelado (Pereira de Abreu et al., 2010). P1 y P2 se elaboraron en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, España (Proyecto Actiplast PGIDITAL 0079).

Tanto P1 y P2 se combinaron con tratamiento de envasado al vacío con el objeto de prolongar la vida útil y mejorar la calidad del salmón. Se llevó a cabo la comparación de envasado al vacío sin la presencia de extracto de polifenoles (control de vacío, condición (VP)) y sin los tratamientos de envasado al vacío en ausencia de extracto y de polifenoles (control; condición (CP)). Este tratamiento se empleó en el estudio correspondiente al capítulo 5.

3.1.3. Efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho congelado.

El salmón Coho fue cultivado en tres diferentes jaulas por Ewos Innovation Research (Colaco, Puerto Montt, Chile) suministrando agua de mar filtrada (rango de salinidad: 3.13-3.31 g/100g) a un rango de temperatura de 11.2 a 12.8 °C con un peso inicial aproximado de 1.500 g. En cada una de ellas se aplicó un determinado tipo de dieta durante la etapa de engorde: Dieta I (dieta control), Dieta II o Ensayo 1 (exceso de α-tocoferol) y Dieta III o Ensayo 2 (α-tocoferol y extracto de romero) (Tabla 9).

Tabla 9: Composición de las distintas dietas con antioxidante para salmón Coho.

		DIETA I	DIETA II	DIETA III
		O/F#1661531	O/F#1661055	O/F#1661056
		DIETA 0401-0103	DIETA 0403-0115	DIETA 0403-0116
Harina Pescado	Principio Activo	Etoxiquina	Tocoferoles libres	Tocoferoles libres
	Nombre Comercial	Santoquin	Vitalox	Vitalox
Aceite Pescado	Principio Activo	BHT	Tocoferoles libres	Extracto Romero
	Nombre Comercial	lonol CPA	GRINDOX™ TOCO 50	GUARDIAN® Rosemary Extract
Alimento	Calibre	1500	1500	1500
	Dieta	Dieta Base	Dieta Base	Dieta Base
Composición Centesimal	Proteína Cruda (%)	43.0	43.0	43.0
	Grasa Total (%)	29.0	29.0	29.0
	Humedad (%)	7.0	7.0	7.0
	Cenizas (%)	6.5	6.5	6.5
	Fibra Cruda (%)	1.3	1.3	1.3
	Ext. No Nitrog. (%)	13.2	13.2	13.2

Fuente: Ewos Innovation Innovation Research

La alimentación se realizó hasta saciedad durante el periodo de engorda (fotoperiodo: 5.8-7.8h) mediante el empleo de una dieta comercial de EWOS Innovation Research. La alimentación empleada consistía en 43.0% de proteína, 29.0% de grasa, 13.2% carbohidratos, 1.3% fibra cruda, 7.0% de humedad y 6.5% de cenizas. La distribución de

la grasa fue de: 32.5% de ácidos grasos saturados, 26.96% de monoinsaturados y 40.2% de poliinsaturados.

De acuerdo a los objetivos del trabajo, cada una de las tres jaulas fue alimentada con diferente composición de antioxidantes. Así la primera jaula fue alimentada de una mezcla de antioxidantes incluyendo 19.3, 3.0 y 22.4 mg/Kg etoxiquina (EQ), BHT y tocoferoles totales, respectivamente (Dieta I); la mezcla de antioxidantes suministrada al segundo tanque fue incluyó 2.9, 0.0 y 101 m/Kg de EQ, BHT y tocoferoles totales, respectivamente (Dieta II); y la tercera jaula fue alimentada de una mezcla de antioxidantes incluyendo 2.3, 0.0, 45.0, 18.8 y 13.0 mg/Kg de EQ. BHT, tocoferoles totales, ácido carnósico y carnosol respectivamente (Dieta III). Las dietas consistieron en: Dieta I (dieta control), Dieta II o Ensayo 1 (exceso de α-tocoferol) y Dieta III o Ensayo 2 (α-tocoferol y extracto de romero) (Tabla 9). Este tratamiento se empleó en el estudio correspondiente a capítulo 6.

3.1.4 Sistema de tratamiento previo con Altas Presiones Hidrostáticas (APH).

El tratamiento de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) se realizó en un equipo de carga cilíndrica a temperatura ambiente (15 ± 2 °C) en una unidad de alta presión de 2 L (Avure Technologies Incorporated, Kent, WA, USA) utilizando agua como medio de presurización trabajando a una velocidad de 17 MPa/s.

Tres condiciones diferentes HHP (135 MPa durante 30 s, 170 MPa durante 30 s, y 200 MPa durante 30 s: tratamientos T-1, T-2 y T-3, respectivamente) fueron aplicados a los salmones y se compararon con los no tratados (control del tratamiento C). Este tratamiento se empleó en el estudio correspondiente a capítulo 7.

3.2. MATERIA PRIMA, APLICACIÓN DEL MÉTODO DE CONSERVACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.

Se describe a continuación el origen de la materia prima empleada, forma de aplicación del método de conservación y el proceso de toma de muestra en los distintos experimentos, que han dado lugar a los consiguientes capítulos de la presente memoria:

3.2.1. Capítulo 1. Cambios en los parámetros físicos y sensoriales en salmón Coho refrigerado de acuicultura (*Oncorhynchus kisutch*).

El estudio se realizó en salmones Coho (*Oncorhynchus kisutch*) cultivados por EWOS Innovation Research (Colaco, Puerto Montt, Chile). La dieta empleada consistía en 40.0% de proteína, 28.4% de grasa, 16.5% carbohidratos, 1.6% fibra cruda, 7.5% de humedad y 6.0% de cenizas. La composición de ácidos grasos de la dieta (%) fue de: 32.5% de ácidos grasos saturados, 27% de monoinsaturados y 40.2% de poliinsaturados.

40 salmones con un rango de peso entre 3.0-3.4 Kg fueron sacrificados por un fuerte golpe en la cabeza y se procesaron en la planta Mainstream (Calbuco), los cuales fueron seleccionados según: calidad, peso y longitud similar. En la planta procesadora se eliminaron las agallas y cabezas, se desangraron, evisceraron (tipo HG); luego se envasaron en bolsas de polietileno, y embalados en cajas de poliestireno expandido fueron trasladados al laboratorio en transporte frigorífico de manera de mantener la cadena de frío hasta el momento de llegar al laboratorio en que se almacenaron en una cámara isoterma a 2 °C, durante todo el período de estudio.

En el estudio de salmón refrigerado se analizaron(N=40) individuos, conformando grupos de cinco ejemplares que fueron extraídos de la cámara refrigerada y evaluados a los días 0 (inicio del almacenamiento refrigerado), 3, 6, 10, 12, 17, 19, y 24, realizándose un total de 8 puntos de control en el tiempo total que duró la experiencia. Cada uno de los cinco salmones (n=5) seleccionados en cada punto fue sometido a los distintos tipos de análisis (propiedades físicas, texturales y sensoriales) de forma independiente al objeto de llevar a cabo el análisis estadístico. En cada tiempo de muestreo de almacenamiento refrigerado y para cada lote, se tomaron individuos en 5 grupos (5 piezas por grupo) que fueron estudiados de forma independiente (n=5). Los análisis físicos y de textura y sensoriales se llevaron a cabo en el músculo blanco. La toma de muestra fue llevada a cabo de acuerdo a la metodología de extracción previamente propuesta Einen and Thomassen, 1998; Sveinsdóttir et al., 2002). Así, las diferentes zonas del músculo se emplearon para cada clase de análisis de calidad como se indica en la Figura 15 del punto 3.3.1. Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 1 de la parte 1.

3.2.2. Capítulo 2. Efecto del almacenamiento congelado sobre las propiedades físicas y vida útil del músculo de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*).

El estudio se realizó en salmones Coho (*Oncorhynchus kisutch*) cultivados por EWOS Innovation Research (Colaco, Puerto Montt, Chile) en un tanque o jaula suministrando agua de mar filtrada (rango de salinidad: 3.13-3.31 g/100g) a un rango de temperatura de 11.2 a 12.8 °C. La alimentación se realizó hasta saciedad durante el periodo de engorda (fotoperiodo: 5.8-7.8h) mediante el empleo de una dieta comercial de EWOS Innovation Research. La alimentación empleada consistía en 40.0% de proteína, 28.4% de grasa, 16.5% carbohidratos, 1.6% fibra cruda, 7.5% de humedad y 6.0% de cenizas. La composición de ácidos grasos de la dieta (ésteres metílicos de ácidos grasos) fue de: 32.5% de ácidos grasos saturados, 26.96% de monoinsaturados y 40.2% de poliinsaturados.

Treinta y cinco salmones con un rango de peso entre 3.0-3.4 Kg fueron sacrificados por un fuerte golpe en la cabeza y se procesaron en la planta Mainstream (Calbuco), los cuales fueron seleccionados según: calidad, peso y longitud similar. En la planta procesadora a cada salmón, macho o hembra, se le eliminó las agallas y cabeza, se desangró y evisceró realizando de este modo el proceso habitual de la planta para exportar salmones tipo HG (descabezado y eviscerado) luego fueron sometidos a un golpe de frío a -40 °C ± 1 °C y glaseados; luego se envasaron en bolsas de polietileno, y embalados en cajas de poliestireno expandido fueron trasladados al laboratorio en transporte frigorífico de manera de mantener la cadena de frío hasta el momento de llegar al laboratorio en que se almacenaron a -20 °C ± 1 °C, durante todo el período de estudio.

El estudio se extendió durante un año de almacenamiento congelado efectuándose seis controles en los meses 0, 4, 6, 8, 10, y 12. Para cada punto de control se extrajeron al azar cinco ejemplares (n=5). Cada uno de los cinco salmones (n=5) seleccionados en cada punto fue sometido a los distintos tipos de análisis (propiedades físicas, texturales y sensoriales) de forma independiente al objeto de llevar a cabo el análisis estadístico.

En cada tiempo de muestreo de almacenamiento congelado y para cada lote, se tomaron individuos en 5 grupos (5 piezas por grupo) que fueron estudiados de forma independiente (n=5). Los análisis físicos y de textura y sensoriales se llevaron a cabo en el músculo blanco. La toma de muestra fue llevada a cabo de acuerdo a la metodología de extracción previamente propuesta Einen and Thomassen, 1998; Sveinsdóttir et al., 2002). Así, las diferentes zonas del músculo se emplearon para cada clase de análisis de calidad

como se indica en la Figura 15 del punto 3.3.1. Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 2 de la parte 1.

3.2.3. Capítulo 3. Cambios en el músculo del salmón Coho cultivado (*Oncorhynchus kisutch)* cocido con almacenamiento previo en hielo líquido (-1.5 °C).

Los especímenes de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) (rango de peso: 2.8-3.2) fueron obtenidos de la acuicultura *Comercial Xanquéi* (Lousame, La Coruña, España). Los pescados fueron sacrificados en la planta de cultivo por inmersión de hielo líquido. Los individuos fueron mantenidos bajo estas condiciones durante el transporte al laboratorio. A la llegada a la planta piloto del Instituto de investigaciones de Vigo, los salmones fueron procesados tipo HG y puestos directamente en una sala isotérmica a 2 °C rodeados con hielo líquido en una proporción 1:1 (pescado: hielo líquido). La mezcla de hielo líquido fue renovada cada 3 días de almacenamiento. Durante el almacenamiento en frío, una vez en al día se empleó el registrador de temperatura a diferentes partes del pescado para supervisar su temperatura.

Veinte y cuatro horas después del sacrificio, cuatro individuos fueron separados y no fueron tratados térmicamente con el fin de ser estudiados como materia prima inicial a día 0. Los pescados restantes (12 especímenes) fueron sometidos a proceso de cocción en los días 0, 5 y 9 de almacenamiento refrigerado. Los salmones enteros y eviscerados fueron cocidos a vapor durante 25 min en la planta piloto (102-103 °C) hasta una temperatura interna del centro músculo de 65 °C. Posteriormente se enfriaron a temperatura ambiente (15-18 °C) durante aproximadamente 2 h. Para cada pez se recogió el músculo blanco y luego una división en tres partes diferentes. Dos de ellos empleados directamente para los análisis sensoriales y físicas, respectivamente: el tercero fue homogeneizado y utilizados para el Análisis Químico. Para llevar a cabo el estudio estadístico los análisis texturales, químicos y sensoriales se estudiaron por separado con (n=4). Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 3 de la parte 2.

3.2.4. Capítulo 4. Cambios en el músculo del salmón Coho cultivado (*Oncorhynchus kisutch)* enlatado con almacenamiento previo en hielo líquido (-1.5 °C).

Treinta y dos especímenes de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) (rango de peso: 2.8-3.2) fueron obtenidos de la acuicultura *Comercial Xanquéi* (Lousame, La Coruña, España) (día 0). Los pescados fueron sacrificados en la planta de cultivo por inmersión de hielo líquido (HL) (16 pescados) y hielo en escamas (HE) (16 salmones). Los pescados fueron mantenidos bajo estas condiciones durante 24 h hasta la llegada a la planta piloto del Instituto de investigaciones de Vigo. En este momento (día 1), cuatro pescados de cada condición hielo (HL o HE) se separaron y estudiaron como materia prima cruda. El mismo día (día 1), otros cuatro pescados de cada tratamiento HL o HE fueron envasados en conservas de acuerdo con las condiciones que se describen a continuación. El pescado restante (ocho pescados cada una de las condiciones de formación de hielo, HL o HE) se colocaron en una sala isotérmica a 2 °C y se mantuvieron en esas condiciones. En los días 5 y 9 de tratamiento de la formación de hielo, cuatro pescados refrigerados de cada condición se procesaron en conserva. A lo largo del experimento, tanto el HL o HE fueron renovados cuando fue necesario con el fin de mantener la proporción (1:1) de pescado: hielo.

Sistema de envasado en conserva con almacenamiento previo en hielo líquido (-1.5 °C). Los salmones con tratamiento previo de hielo líquido fueron cocidos en la planta piloto del Instituto de Investigaciones Marinas (Vigo, España) mediante un tratamiento térmico durante 45 min en una autoclave horizontal a 102-103 °C hasta una temperatura en el centro térmico del pescado de 65 °C el cual fue medido con termopares (cobre-constatan) de acuerdo a Pérez. Martín et al. (1989). El pescado fue entonces enfriado a temperatura de la sala (15-18 °C) por cerca de 2 h, posteriormente se eliminaron cabezas, vísceras y espinas.

Porciones de músculo (90 g) a partir de especímenes de salmón fueron colocados en envases de hojalata rectangulares de (105 mm × 25 mm × 150 mL). Dos gramos de NaCl fueron pesados y adicionados a cada envase y fue entonces adicionado de aceite de girasol como medio de empaque. Los envases fueron sellados y esterilizados en la planta en una retorta horizontal calentada por medio de vapor (115 °C, 45 min-; F_0 =7 min); la letalidad escogida fue de acuerdo a investigaciones previas (Banga et al., 1993).

Una vez finalizado el tiempo de calentamiento, el vapor se cortó y el aire se utilizó para eliminar el remanente de vapor. Los envases se enfriaron rápidamente para reducir la presión y evitar proliferación de microorganismos termófilos.

Después de tres meses de almacenamiento a temperatura de la sala (15-18 °C), los envases se abrieron y parte del líquido fue cuidadosamente drenado gravimétricamente y colectado por medo por medio de filtrado con papel filtro. Entonces la fase líquida resultante fue centrifugada, la fase de aceite separada y secada con sulfato anhidro Na_2SO_4. El músculo de salmón blanco fue separado de músculo oscuro y entonces envuelto en papel filtro. El músculo blanco y el aceite como medio de relleno fue usado para análisis. Además, se analizó el aceite inicial y el aceite que fue puesto en los envases y fue esterilizado en ausencia de músculo salmón (aceite calentado).

Tanto en muestras crudas y en conservas, y el aceite de cobertura se estudió por separado de los demás con (n=4) para llevar a cabo el estudio estadístico.

Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 4 de la parte 2.

3.2.5. Capítulo 5. Efecto del envase polifenol-vacío sobre el deterioro de los lípidos del salmón Coho cultivado en el almacenado congelado durante 18 meses.

Especímenes de salmón Coho (51 individuos; 50-52 cm de largo; 2.8-3.0 Kg. de peso) cosechados a las 30 semanas se obtuvieron desde las instalaciones de acuicultura (AquaChile, S. A., Puerto Montt, X Región, Chile). Los salmones fueron sacrificados en la planta, en donde se cortaron las agallas, descabezaron, evisceraron y desangraron tipo (HG) y se transportaron al laboratorio durante 24 h mantenidos en hielo liquido (40% hielo y 60% agua; –1.0 °C) en una razón hielo liquido/pescado 1:1. Posteriormente, se congelaron a -40 °C y se procedió a depositar cada filete de salmón en una bolsa de polietileno para luego ser embalados en cajas isotérmicas que se enviaron vía terrestre al laboratorio de Procesos de Alimentos perteneciente al Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, manteniendo en todo momento la cadena de frío inalterada.

La película de polietileno de baja densidad usada para elaborar los envases se cubrió con dos concentraciones diferentes de antioxidantes, estudiándose dos tipos de envases activos con diferentes cantidad de antioxidantes (P1, incluye 29 μg de ácido *p*-coumárico y 19 μg de ácido ferúlico / dm2 film; y P2, incluye 88 μg de ácido *p*-coumárico y 40 µg de

ácido ferúlico / dm2 film). Tanto P1 y P2 respectivamente se prepararon y combinaron con tratamiento de envasado al vacío. Ambas concentraciones de antioxidantes se elaboraron en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia, Universidad de Compostela, España. Una vez recepcionado el salmón en el laboratorio, se fileteó y se le quitó la piel. Cada especímen se procesó y analizó independientemente a través de todo el experimento. De este modo, cada pescado se fileteó y cortó en piezas (rango de peso: 100-125 g), siendo cada pieza identificada con el pescado de origen. Las piezas de pescado correspondientes a un total de 48 individuos se distribuyeron en triplicado en cuatro tratamientos en las condiciones de envasado P1 y P2 anteriormente mencionadas y comparados con CP (sin vacío, sin adición de extractos polifenólicos), VP (con vacío, sin adición de extractos polifenólicos). Posteriormente, los salmones envasados se congelaron a -40 °C. Después de 24 h, todas las muestras de pescados congeladas se colocaron en un congelador monitoreado a -18 °C. Las muestras de pescado crudo correspondientes a 3 individuos se analizaron en el tiempo 0, y tras un periodo de 3, 9, 15 y 18 meses bajo almacenamiento a congelación a –18 °C. Los análisis fueron realizados en el músculo blanco del salmón. Para todos los tipos de muestra (pescado inicial, pescado congelado relacionado a cada condición de proceso), se consideraron piezas de pescado correspondiente a 3 individuos (n=3) y se analizaron por separado y en cada punto de muestreo para cada condición.

Una vez extraídas las muestras en cada punto de control, se procedió inmediatamente a realizar los análisis químicos, y sensoriales. En orden a alcanzar lo análisis físicos y químicos la toma de muestra fue llevada a cabo de acuerdo a la metodología de extracción previamente propuesta Einen and Thomassen, 1998; Sveinsdóttir et al., 2002) en el punto 3.3. Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 5 de la parte 2.

3.2.6. Capítulo 6. Efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho congelado.

El estudio consideró la utilización de 3 jaulas con salmones Coho cultivado que fueron cultivados por EWOS Innovation Research (Colaco, Puerto Montt, Chile), con un peso inicial aproximado de 1.500 g. En cada una de ellas se aplicó un determinado tipo de dieta durante la etapa de engorde: Dieta I (dieta control), Dieta II o Ensayo 1 (exceso de α-tocoferol) y Dieta III o Ensayo 2 (α-tocoferol y extracto de romero),

Treinta salmones de cada jaula fueron sacrificados por un fuerte golpe en la cabeza una vez que alcanzaron un peso promedio de 2500 g en cada jaula, los que fueron enviados a la planta procesadora de salmones (Fritz Roy) en Calbuco (Puerto Montt, Chile) para su procesado. En planta se cortaron las agallas, descabezaron, evisceraron y desangraron tipo (HG), se mantuvieron en hielo en cajas de poliuretano hasta la llegada vía terrestre al laboratorio de Procesos de Alimentos perteneciente al Departamento de Ciencia delos Alimentos y Tecnología Química de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, manteniendo en todo momento la cadena de frío inalterada. En laboratorio se congelaron a -40 °C, estas incluían un sellado al vacío a 400 mimbar, para luego ser embalados en cajas isotérmicas que se enviaron donde se almacenaron al estado congelado (-18 °C) durante 18 meses, simulando las condiciones comerciales de mantención habitual. Se extrajeron cada tres meses 5 unidades de salmón congelado de cada una de las dietas y fueron debidamente rotulados con letras de la A a la E. En cada fecha de control (0, 3, 6, 9, Y 12 meses) se dejaron los pescados descongelando aproximadamente 24 h en refrigeración (4 °C), para proceder luego con los análisis físicos, sensoriales y microbiológicos. En orden a llevar realizar los análisis la toma de muestra fue

llevada a cabo de acuerdo a la metodología de extracción previamente propuesta Einen and Thomassen, 1998; Sveinsdóttir et al., 2002) en el punto 3.3.1. Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 6 de la parte 2.

3.2.7. Capítulo 7. Cambios sensoriales y físicos en salmón Coho refrigerado: Efecto de un tratamiento previo optimizado por altas presiones hidrostáticas.

Especímenes de salmón Coho (30 especímenes; 50-52 cm de largo; 2.8-3.0 Kg. de peso) se obtuvieron desde las instalaciones de acuicultura (AquaChile, S. A., Puerto Montt, X Región, Chile) siendo cosechados a las 30 semanas. Los individuos se sacrificaron en la planta, en donde se cortaron las agallas, descabezaron, evisceraron y desangraron tipo (HG) y durante 24 h mantenidos en hielo liquido (40% hielo y 60% agua; –1.0 °C) en una razón hielo líquido/pescado 1:1 para luego ser embalados en cajas isotérmicas que se enviaron vía aérea al laboratorio de Procesos de Alimentos perteneciente al Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Universidad de La Serena, Chile, manteniendo en todo momento la cadena de frío inalterada. A la llegada al laboratorio se procedió a filetear en piezas pequeñas (rango de peso: 125-150 g) y puesto en bolsas individuales flexibles. En un primer estado, se realizó un estudio preliminar para obtener las condiciones de APH a ser empleadas como tratamiento previo a la refrigeración.

Para esto se realizó un diseño factorial 2^2 de dos factores y cuatro tandas experimentales más un punto central usando metodología superficie de respuesta con el objeto de identificar las variables significativas que influyen en el proceso. Se consideraron dos variables independientes: altas presiones hidrostáticas (megapascales) y tiempo de mantenimiento (minutos), siendo su valor, respectivamente, en las diferentes tandas experimentales como sigue: 100 y 0.5 (ensayo 1), 200 y 0.5 (ensayo 2), 100 y 0.5 (ensayo 3), 200 y 5.0 (ensayo 4) y 150 y 2.75 (ensayo 5). En cada ensayo las respuestas de los descriptores sensoriales fueron expresadas como análisis sensoriales. De acuerdo a los resultados de optimización del estudio preliminar, tres diferentes condiciones de APH (135 MPa por 30s, 170 MPa por 30s y 200 MPa por 30s, tratamiento T1, T2 y T3, respectivamente) fueron seleccionados y aplicados al salmón en comparación con un pescado sin tratar (Control: tratamiento C). Después del APH las piezas fueron mantenidas bajo condiciones de refrigeración a 0 °C (hielo en escamas) en una sala refrigerada a 4 °C. El análisis se llevó a cabo en el músculo blanco los días 0, 6, 10, 15 y 20 de almacenamiento refrigerado. Después de la refrigeración, se extrajeron muestras correspondientes a tres diferentes salmones (n=3). En orden a realizar los análisis la toma de muestra se llevó a cabo de acuerdo a la metodología de extracción previamente propuesta Einen and Thomassen, 1998; Sveinsdóttir et al., 2002) según el punto 3.3.1. Estos análisis corresponden a los resultados y discusiones del capítulo 7 de la parte 2.

3.3. ANÁLISIS DE PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA CALIDAD

3.3.1. Toma de muestra para análisis de calidad.

Para los análisis sensoriales, físicos, químicos y microbiológicos la disección o troceado de piezas se siguió de acuerdo a la metodología de extracción propuesta por Einen y Thomassen (1998), Sveinsdóttir et al. (2002) con algunas modificaciones (Rodríguez et al., 2015) (Figura 15). Así, en la Figura 15 se indica las diferentes zonas del músculo empleadas para cada tipo de análisis de calidad. El primer trozo tomado de cada salmón

correspondió al filete completo del lado derecho (lado B) y se destinó a la evaluación del *gaping*.

Para la evaluación sensorial y *dripping* cocido tanto de salmón refrigerado como congelado, se extrajeron 10 muestras ubicadas a aproximadamente 1 cm por debajo de la línea media, correspondiente a la zona de mayor depósito de grasa en esta especie (Fletcher, 2002). A continuación otras muestras independientes se extrajeron para la determinación de las propiedades físicas (humedad exprimible, capacidad de retención de agua, cizalla en músculo crudo y cocido) que fueron extraídas en la zona ubicada entre el término de la aleta dorsal y la ventral (Sveinsdóttir et al., 2002).

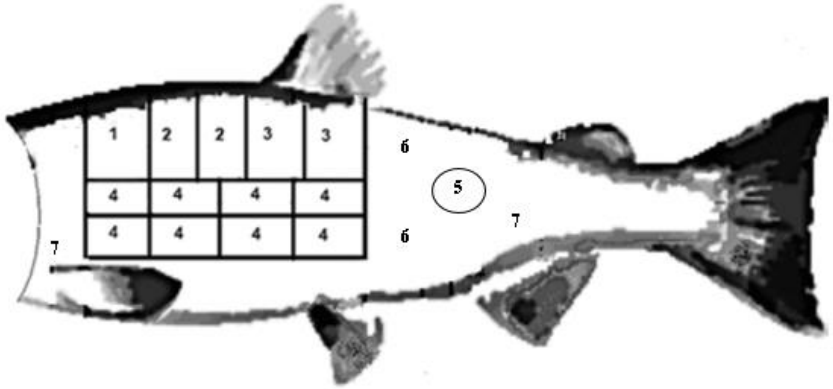

Figura 15. Diferentes zonas del músculo de salmón Coho empleadas para cada tipo de análisis de calidad. *Filete del lado izquierdo***:** 1 (capacidad de retención de agua), 2 (prueba de comprensión a velocidad constante y humedad exprimible), 3 (prueba de cizalla del músculo de salmón al estado crudo), 4 (evaluación sensorial y *dripping* de salmón cocido). *Filete del lado derecho***:** 1-4 (*gaping*), 1 (humedad exprimible), 2 (prueba de compresión a velocidad constante), 3 (prueba de cizalla del músculo de salmón al estado cocido), 4 (análisis sensorial y *dripping* cocido), 5 (color Roche y Hunter *L*, a,*b**), 6 (análisis químico), 7 (análisis microbiológico). Einen y Thomassen, 1998; Sveinsdóttir et al., 2002 con modificaciones (Rodríguez et al., 2015).

3.3.2. Análisis Microbiológico.

La primera muestra extraída desde cada especímen fue destinada a los análisis microbiológicos. Los análisis microbiológicos realizados en este estudio fueron: Recuento de aerobios mesófilos (RAM a 35 °C), coliformes fecales y *Staphylococcus aureus*. Además de la determinación de *Salmonella* spp. Se analizaron cinco muestras provenientes de cinco salmones para cada uno de los puntos de control.

Cada muestra se obtuvo en forma estéril a partir de un homogeneizado que incluía la carne de salmón desprovista de piel, procedente de la zona ubicada detrás de las branquias y de la zona caudal del pescado. Dentro de una cámara de flujo laminar y en condiciones de máxima esterilidad se pesaron aproximadamente 80 g de carne de salmón desprovista de piel. Las muestras procedentes de cada especímen fueron distribuidas y mantenidas en bolsas estériles debidamente rotuladas hasta su siembra. Los métodos utilizados para la determinación de los parámetros microbiológicos fueron los especificados en el BAM online (2005). Los valores obtenidos fueron comparados con los establecidos por la legislación Nacional: Minsal (1997) y Sernapesca (2006).

3.3.2.1. Recuento de aerobios mesófilos.

Se realizó según metodología descrita en BAM-FDA (2001); cap. III. Los resultados se expresaron en UFC/g.

3.3.2.2. Coliformes fecales.

Se realizó de acuerdo a metodología señalada en BAM-FDA (2002); cap. IV. Los resultados se expresaron en términos de NMP/g.

3.3.2.3. Patógenos Específicos

A.- Recuento e identificación de *Staphylococcus aureus*

Se realizó de acuerdo a metodología descrita en BAM-FDA (2001); cap. XII. Expresando los resultados en UFC/g.

3.3.2.4. Detección de Salmonella.

3.3.3. Evaluación sensorial.

Se realizó el método de Análisis Descriptivo y Cuantitativo (QDA) en salmón Coho refrigerado y congelado con el fin de evaluar los cambios en las propiedades sensoriales de salmón Coho, la evolución de su calidad y determinar el tiempo máximo de almacenamiento de salmón (Refsgaard et al., 1998; Sveinsdóttir et al., 2002; Rodríguez et al., 2010). Diez panelistas (cinco mujeres y cinco hombres) con experiencia en análisis sensorial fueron entrenados y seleccionados de acuerdo a la norma CAC/GL 31-1999 y para QDA en salmón crudo y cocido previamente refrigerado o congelado (Howgate, 1992; ISO 3972, 1991; Codex Alimentarius, 1999).

Durante las sesiones de entrenamiento, los panelistas analizaron los descriptores sensoriales para el músculo del salmón en estado crudo y cocido en muestras de diferentes condiciones de calidad. Una escala lineal no estructurada 0-10 cm se utilizó para evaluar los descriptores: una puntuación de 0 correspondió a un valor no detectado del descriptor, mientras que una puntuación de 10 correspondió al valor más alto detectable para el descriptor. Las muestras fueron enumeradas con 3 dígitos en forma totalmente aleatoria.

El panel sensorial fue familiarizado con la cartilla de evaluación sensorial para QDA y evaluó en el tiempo la calidad del salmón en estado crudo y cocido en los descriptores de los atributos: aspecto, color, olor y sabor siendo éstos olor extraño y modificado, textura modificada, y además, sabor modificado en salmón cocido. Los panelistas evaluaron el salmón en estado refrigerado, refrigerado-crudo y refrigerado-cocido. Se procedió de igual forma para salmón congelado, congelado-crudo y congelado-cocido. Los análisis se realizaron de acuerdo a las siguientes características:

a) **Evaluación sensorial de salmón entero congelado.** Se examinaron 5 piezas de salmones HG antes de descongelar, evaluándose el salmón en estado congelado (Norma CAC/GL 31-1999).

b) **Evaluación sensorial de salmón refrigerado o congelado-crudo.** Filetes individuales de 4 cm x 4 cm x 2 cm se extrajeron de la región cercana a la mitad inferior de cada uno de los 5 salmones (Figura 15) se codificaron con números aleatorios de 3 dígitos y utilizaron para el análisis de músculo crudo refrigerado o congelado. A cada panelista se le dio un solo trozo de carne cruda y un solo trozo de carne cocida de cada pez individual.
Los 5 trozos correspondientes a cada uno de los salmones tanto refrigerados como congelados fueron depositados en platos rotulados con las letras de la A–E donde el panel de jueces evaluó los descriptores de aspecto, color, olor y textura (Norma CAC/GL 31-1999).

c) **Evaluación sensorial de salmón refrigerado o congelado-cocido.** Filetes individuales de 4 cm x 4 cm x 2 cm se extrajeron de la región cercana a la mitad inferior de cada uno de los 5 salmones por cada punto del ensayo (Figura 15). Los

trozos se depositaron en forma individual en bolsas de polietileno dobles y se sometieron a cocción por inmersión en un baño de agua termorregulado a 100 °C ± 2 °C hasta alcanzar una temperatura en el centro térmico del músculo de 67 °C ± 2 °C durante 15 min (Fletcher et al., 2002). El pescado cocido fue presentado tibio al panel de jueces que procedió a evaluar los descriptores de aspecto, color, textura, sabor y olor del salmón (Norma CAC/GL 31-1999).

En cada tiempo de muestreo, la evaluación sensorial se inició con el análisis del músculo del salmón en el estado crudo y fue seguido por el análisis del músculo en el estado cocido. Ambos tipos de muestras se analizaron en una sola sesión, de acuerdo con el entrenamiento previo recibido por los panelistas. En cada sesión, las muestras se presentaron de forma independiente y en un orden aleatorio a los panelistas; una vez que cada hoja de puntuación se llenó, se recibió la siguiente muestra a analizar. Se sirvió té diluido y sin azúcar a los panelistas para neutralizar el sabor.

En relación a la evaluación de la apariencia, los descriptores utilizados para las muestras en estado crudo fueron translúcido, opaco, deshidratado, cristalino, y húmedo. Los descriptores para muestras de pescado cocidos fueron típico, homogéneo y apariencia compacta. En cuanto a la determinación de color para muestras crudas y cocidas, el descriptor fue color original (color evaluado en el comienzo del pescado empleado en el almacenamiento en frio). Además, el atributo color fue evaluado por comparación del trozo crudo de músculo de salmón con el sistema de cartas de color SalmoFan Lineal ™ de Roche con un puntaje entre 21 a 34 (Figura 15, zona 5; Figura 16). Este sistema fue desarrollado para ayudar a caracterizar y clasificar la pigmentación del salmón crudo con astaxantina. En esta carta el puntaje 21 y el puntaje 34 representan el color más claro y el color más intenso del salmón, respectivamente.

Figura 16. Escala SalmoFun™ lineal de Roche.

Para el análisis del atributo de la textura, los descriptores aplicados para el músculo de salmón en estado crudo fueron firmeza, dureza, elasticidad y cohesividad. La dureza es la resistencia de las fibras musculares contra la compresión cuando una fuerza externa es aplicada; la elasticidad corresponde a la capacidad de recuperación después de la aplicación de presión; la firmeza es la resistencia máxima de las fibras musculares contra el cizallamiento; y la cohesividad corresponde al grado de unión de miotomas en el músculo del salmón. Por otra parte, los descriptores aplicados para el análisis de salmón cocido fueron suaves, firme, pastoso, gelatinoso, y seco.

En relación con el olor, los descriptores empleados para el salmón en estado crudo y cocido fueron olor marino típico, agrio (olor generalmente debido a la presencia de ácidos orgánicos), oxidado (asociado con aceite rancio), pútrido (presencia de malos olores relacionados con formación de amina y deterioro de la carne). En cuanto al sabor, los descriptores de salmón cocido fueron dulce, cremoso, aceite fresco, neutral, agrio, pútrido, oxidado, y amargo. Para los descriptores de olor y sabor, un puntaje de 5.0 se consideró el límite de aceptabilidad; puntuaciones de los descriptores restantes se discuten sin tener en

cuenta un límite de aceptabilidad. Los descriptores que mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los panelistas no se tomaron en cuenta por no existir homogeneidad en la respuestas.

3.3.4. Análisis físicos.

3.3.4.1. *Gaping* (incisiones en el músculo de pescado).

El *gaping* en el músculo de salmón en estado crudo refrigerado y congelado se evaluó dentro de los primeros cinco minutos post fileteado de salmón sobre el filete del lado derecho de cada espécimen (Figura 15). El número de incisiones o cortes a lo largo de los miotomas del músculo de salmón fue registrado para obtener el puntaje de *gaping*. La evaluación de la evolución de *gaping* en salmón Coho refrigerado y congelado fue realizada de acuerdo a investigaciones previas (Andersen et al., 1994; Einen y Thomassen, 1998).

Así, el puntaje fue establecido de acuerdo a una escala de 0 a 5 donde un puntaje de 0 representa *ausencia de gaping y* un puntaje de 5 representa *gaping extremo.* Así, el puntaje se estableció como sigue: 0 (no *gaping*, 0 grietas), 1 (*gaping* menor, 1-5 grietas), 2 (*gaping* moderado, 6-10 grietas), 3 (*gaping* intenso, 11-15 grietas), 4 (*gaping* severo, 16-20 grietas), and 5 (*gaping* extremo > 20 grietas) (Andersen et al., 1994) (Tabla 10).

Tabla 10. Escala de evaluación de *gaping* (escala de Andersen et al., 1994).

Puntaje	Severidad del *gaping*	Número de Aberturas o Cortes (n)
0	No hay *gaping*	Ausencia de grietas en el músculo.
1	*Gaping* leve	De 1 a 5 grietas.
2	*Gaping* moderado.	Mayor a 5 grietas y menor que 10 grietas.
3	*Gaping* intenso	Mayor a 10 grietas.
4	*Gaping* severo	Número considerable de aberturas.
5	*Gaping* extremo	Los filetes se encuentran totalmente separados.

Fuente: Andersen et al., 1994.

Según la Cartilla de Referencia de gaping de Ewos (Ewos Innovation, 2004), el gaping puede clasificarse en 9 grados (Figura 17).

Hasta el grado 4 (grados 0-4) se denominaría calidad Premium; luego bajaría a calidad 1 (grados 5-6) y calidad industrial (grados 7-8). La calidad Premium en la escala de Andersen et al. (1994) se corresponde con el Puntaje 2 como límite.

Figura 17. Cartilla de Referencia de Gaping. Calidad Premium hasta grado 4. Fuente: Ewos Research Innovation, 2004.

3.3.4.2. Capacidad de retención de agua (CRA)

Dos gramos de músculo de salmón (zona 1 del lado izquierdo del filete, Figura 15) se colocaron en una membrana de poliéster cilíndrica y se centrifugaron a 3600 rpm durante 5 min a 10 °C. El líquido removido drenó a través de la membrana y se colectó en el fondo del tubo de centrífuga. Con el peso de la muestra antes y después de la centrifugación se determinó la pérdida de peso de la muestra. La capacidad de retención de agua relativa se expresó como g de agua/g de materia seca y libre de grasa (Eide et al., 1982). Cada análisis se realizó en duplicado para cada salmón individual.

3.3.4.3. Humedad exprimible (HE).

El contenido de Humedad Exprimible se midió como la cantidad de fluido extraído a partir de filetes sujetos a compresión (Jonsson et al., 2000). Se utilizó una máquina de ensayo de materiales Universal Lloyd Instrument Limited LR- 5K (Hampshire, England, UK) con celda de carga 100 N conectado a un computador con software Dapmat 40-0465 para análisis de información (versión 3.05, Lloyd Instruments Limited, Hampshire, England, UK). Muestras cilíndricas (diámetro= 20 mm, longitud= 20 mm) se extrajeron de acuerdo a Figura 15 (zona 2 en el filete lado izquierdo) y se atemperaron a 4 °C ± 1 °C por 4 h previo al análisis.

Las muestras sobre un papel filtro Whatman Nº4, previamente puesto en desecador, se sometieron a compresión (80% de deformación) con un sensor cilíndrico de diámetro 20 mm a una velocidad constante de 12.7 mm min^{-1}. Se midió la diferencia de peso del papel filtro antes y después de la compresión. La humedad exprimible se expresó como porcentaje de exudado en relación al peso inicial de la muestra. Cada análisis se llevó a cabo por cuadruplicado para cada especímen individual.

3.3.4.4. *Dripping* crudo

El salmón entero congelado se pesó y luego se descongeló durante toda la noche a temperatura de refrigeración, y fue nuevamente pesado previo secado con papel secante de manera que el líquido exudado fuera retirado de la superficie del salmón y la diferencia de peso correspondió al *dripping* crudo. La pérdida de líquido por goteo fue expresada como

porcentaje de líquido exudado durante la descongelación de salmón. Cada análisis se llevó a cabo por cuadruplicado para cada especímen individual.

3.3.4.5. *Dripping* cocido.

La pérdida de goteo por cocción en el músculo de salmón se determinó de acuerdo a Fletcher et al. (2003). En cada tiempo de muestro filetes de salmón de 4 cm x 2 cm x2 cm se removieron de acuerdo a la distribución de extracción de la zona 5 Lado A y B de la Figura 3.1. Filetes individuales se colocaron en trozos en bolsas dobles de polietileno, de manera que la bolsa interior contenía la muestra; dicha bolsa interior debió ser perforada para permitir que los jugos de cocción del pescado drenasen durante la cocción.

La cocción se efectuó en un baño termorregulado a 76 °C ± 2 °C. Cuando las muestras alcanzaron una temperatura de 70 °C ± 2 °C en el centro térmico, fueron mantenidas durante 15 minutos a esa temperatura (Barnett et al., 1991). Las muestras fueron pesadas antes y después de la cocción, siendo la diferencia de peso la pérdida del dripping por cocción. Los resultados se expresaron como porcentaje de líquido exudado durante la cocción de salmón (Barnett et al., 1991). Cada análisis se llevó a cabo por cuadruplicado para cada especímen individual.

3.3.4.6. Evaluación instrumental del color

La medida del color se efectuó cuantitativamente usando un espectrocolorímetro triestímulo Hunter Labscan 2.0 /45 fuente de iluminación luz-día D_{65}, 10 grados. Los resultados se expresaron en valores del sistema *L**, *a** y *b** (luminosidad, cuantía de rojo y cuantía de amarillo, respectivamente). A partir de estos valores se obtuvo el Hue (H^0) que indica el tono y expresa la relación entre el amarillo y el rojo de la carne, y se calcula como arcotangente b*/a*. Con estas mismas variables se obtuvo el Croma (C^*) que representa la saturación o intensidad y claridad del color, el cual se calcula como $C^* = (a^{*2} + b^{*2})$ (Skjervold et al., 2001). El análisis de color se realizó al final de la línea dorsal del filete lado derecho según Figura 15. Para utilizar el instrumento se cortó en forma cilíndrica una muestra desprovista del músculo oscuro y se efectuaron dos lecturas, las cuales fueron promediadas para obtener el resultado final.

3.3.4.7. Propiedades texturales

El método incorpora información sobre la compresión de las fibras del músculo, la tensión en las fibras adyacentes y el cizallamiento de las fibras de salmón refrigerado y congelado, tanto crudo como cocido (Jonsson et al., 2000). La metodología de extracción de muestras se siguió de acuerdo a lo descrito por Einen y Tomassen (1988).

3.3.4. 8. Ensayo de compresión

El ensayo de compresión a velocidad constante fue usado para evaluar la textura del músculo de salmón Coho almacenado crudo o cocido, refrigerado o congelado (Sigurgisladóttir et al., 1999; Jonsson et al., 2001). La dureza (N) y la cohesividad (mm) se obtuvieron de una curva de fuerza (N) versus deformación (mm) a partir de una máquina de prueba universal (LR-5K; Lloyd Instruments Limited, Hampshire, Inglaterra, Reino Unido) con una celda de carga de 100 N conectado a un ordenador, esto incluye análisis de datos de software Dapmat 40-0465 (versión 3.05, Lloyd Instruments Limited, Hampshire, Inglaterra, Reino Unido).

Un sensor cilindro de extremo plano de 20 mm de diámetro fue seleccionado para simular la fuerza aplicada con el dedo índice. Se extrajeron muestras cilíndricas (d= 2 cm;

l= 2 cm) de la zona dorsal del ambos lados A y B del filete (Figura 15) y mantenidos a 4 °C ± 1 °C durante 4 h previo al análisis. Posteriormente, las muestras se sometieron a una compresión de 14 mm a una velocidad constante de 12.7 mm/min (Sigurgisladóttir et al., 1999). La dureza (fuerza máxima de compresión) fue considerada como la resistencia que oponen las fibras del músculo de salmón contra la compresión y correspondió al pico de mayor altura y la cohesividad se midió durante el movimiento descendente del sensor y fue calculado como la deformación (mm) a la fuerza máxima de compresión. La fuerza de ruptura (N/cm^2) fue calculada dividiendo la máxima fuerza de compresión (pick máximo) por el área de la superficie de la muestra (de Man et al., 1991). El ensayo se realizó en cuadruplicado para los 5 especímenes de cada punto.

3.3.4.9. Prueba de cizalla

Se utilizó la prueba de cizalla para evaluar la firmeza y la deformación, respectivamente, en el músculo de salmón crudo (Sigurgisladóttir et al., 1999; Jonsson et al., 2001). La curva de fuerza-deformación se obtuvo a partir de una máquina de prueba universal (LR-5K; Lloyd Instruments Limited, Hampshire, Inglaterra, Reino Unido) con una celda de carga de 100 N conectado a un ordenador, esto incluye análisis de datos de software Dapmat 40-0465 (versión 3.05, Lloyd Instruments Limited, Hampshire, Inglaterra, Reino Unido).

Cuatro muestras de 4 cm x 4 cm x 2 cm se extrajeron de las zonas dorsales 3 y 4 de ambos filetes A y B (Figura 15) y se cizallaron utilizando una hoja Wagner- Bretzler. La hoja de 1.2 mm de espesor, 155 mm alto, 150 mm de ancho y con ángulo de apertura de 60° se conectó al equipo de ensayo de materiales Lloyd y las muestras, previo almacenamiento a 2 ± 1 °C por 4 h, se cizallaron a una velocidad de 1 mms^{-1} (60 mm/min) (Sigurgisladottir et al., 1999). En una curva fuerza (N) versus deformación (mm), el pico de fuerza máxima (N) necesaria para cizallar la muestra se registró como la fuerza de corte y representa la resistencia máxima de la muestra a la cizalla (N). Deformación (mm) se midió durante el movimiento hacia abajo de la hoja y se calculó como la deformación (mm) a la máxima fuerza de pico. Cada análisis se llevó a cabo por cuadruplicado para cada individuo salmón. El ensayo se realizó en cuadruplicado para los 5 especímenes de cada punto.

3.3.4.10. Microscopía electrónica

Preparación de la muestra. Cortes de músculo de 0,5 mm de espesor, fueron fijados con glutaraldehído al 3% en buffer cacodilato de sodio 0,1 M, pH 7,2 durante 18 horas a temperatura ambiente. Luego estos trozos se lavaron con buffer cacodilato 0,1 M por 1 hora (3 cambios de 20 min c/u) y se procedió a fijar nuevamente la muestra con tetróxido de osmio al 1% acuoso durante 90 min. Posterior a ésto se lavó la muestra con agua destilada, para luego teñir en bloque con acetato de uranilo al 1% acuoso por 1 hora. Se deshidrató con concentraciones crecientes de acetona (50%, 70%, 95%, 100%, durante 20 min c/u) y se preincluyó con epon/acetona 1/1 durante toda la noche. Luego, se incluyó en resina epóxica, dejando el tejido muscular en orientación longitudinal y transversal. La polimerización de la resina se llevó a cabo a 60º C durante 24 horas. Se obtuvieron cortes de 1 micra en ultramicrótomo Sorvall MT-IIB los que fueron teñidos con azul de toluidina. De las zonas seleccionadas se obtuvieron cortes ultrafinos los que fueron teñidos con acetato de uranilo al 4% en metanol y citrato de plomo según Reynolds (Morzel et al., 2000). Los cortes fueron observados en microscopio electrónico de transmisión Philips Tecnai 12 a 80 kV.

3.3.5. Análisis químicos.

3.3.5.1. Preparación de extractos.

3.3.5.1.1. Extracto lipídico:

La extracción lipídica se realizó de acuerdo al método de Bligh and Dyer (1959). Para ello se pesaron 5g de músculo blanco y se le añadieron 8ml de metanol y 4ml de diclorometano. Se homogeneizó dicha mezcla con un ultraturrax durante 60 segundos en frío. A continuación se le añadieron 4ml de agua miliQ fría y 4ml de diclorometano y se volvió a homogeneizar 60 segundos en frío. Después se centrifugó la mezcla durante 10 minutos a 3000rpm. Una vez centrifugada la mezcla, se observan 2 fases.
La fase superior acuosa se separa y se reserva para realizar las medidas de fluorescencia. La fase orgánica se guarda y el músculo resultante es nuevamente extraído con 3ml de metanol, 3ml de diclorometano y 1.5ml de agua miliQ. Se agita en vórtex y se centrifuga durante 10 minutos a 3000rpm. Una vez centrifugada la mezcla, se observan las dos fases de nuevo. Se desecha la fase acuosa y se recoge la orgánica que se adiciona a la recogida anteriormente. A continuación, el total de fase orgánica se lava con NaCl al 0.5% en proporción 2:1, respectivamente. A la fase orgánica resultante se le añade una pequeña cantidad de sulfato sódico anhidro para secar los restos de fase acuosa que pudieran quedar. El extracto orgánico seco se recoge en un tubo graduado y se conserva a -40 °C en atmósfera de nitrógeno hasta su utilización.

3.3.5.1.2. Extracto de ácido perclórico.

Para la preparación de este extracto se tomaron 10g de músculo blanco en un vaso de precipitados y se homogeneizaron con 30ml de ácido perclórico al 6% durante 45 segundos. A continuación se mantuvieron las mezclas durante 10 minutos a -30ºC, se pasaron a través de filtros de papel, recogiéndose la fase líquida en matraces aforados de 50ml. El extracto se almacenó en congelador a -10 °C hasta su utilización.

3.3.5.2. Determinación de pH

De acuerdo a la norma (NCh 1370/X – 1978). Se determinó en 5 g de muestra homogeneizada extraída desde ambos filetes diluida en 10 mL de agua destilada a 20 °C. Se observó el valor del pH en un potenciómetro, de acuerdo a SERNAPESCA (2006). Para su calibración se utilizaron soluciones patrón de pH 4 y 7, siguiendo los métodos oficiales de análisis.

3.3.6. Cuantificación de constituyentes.

3.3.6.1. Humedad (contenido de agua).

El contenido en agua fue determinado por diferencia entre el peso del homogeneizado fresco de músculo blanco (alícuota de 1-2g) y el peso de éste después de 24h a 105ºC. Los resultados se expresaron como g agua/100g de músculo.

3.3.6.2. Lípidos.

A partir del extracto lipídico se hace la cuantificación lipídica por el método de Herbes y Allen (1983). Para ello se pesaron previamente cápsulas de papel de aluminio en una balanza analítica operando con 4 decimales. A continuación se añadieron 500µl de extracto lipídico en las cápsulas y se colocaron sobre una placa calefactora hasta la completa evaporación del disolvente. Una vez finalizada la evaporación se retiran las

cápsulas de la placa calefactora y se colocan en un desecador con el fin de enfriarlas en ambiente seco. Una vez a temperatura ambiente, se vuelven a pesar las cápsulas para calcular la variación de peso de las mismas. Los resultados se expresaron en g lípidos /100g de músculo.

3.3.6.3. Determinación de NaCl

La determinación de esta sal se realizó de acuerdo al método volumétrico recomendado por la AOAC para su determinación en productos marinos. El contenido de NaCl fue calculado a partir de la cantidad de cloruro formada al hervir el músculo en HNO_3 en presencia de exceso de $AgNO_3$, y posteriormente valorado con NH_4SCN. Los resultados se expresaron como g NaCl/ 100 g músculo.

3.3.7. Estudio de la alteración lipídica.

3.3.7.1. Ácidos grasos libres (hidrólisis de lípidos – FFA).

El contenido en ácidos grasos libres (AGL), resultado de la acción de enzimas lipolíticas endógenas y microbianas sobre lípidos de alto peso molecular (triglicéridos y fosfolípidos, principalmente) del pescado, fue determinado por el método de Lowry y Tinsley (1976) basado en la formación de un complejo coloreado entre el grupo ácido del ácido graso y el acetato cúprico en presencia de piridina. Para ello se llevó a evaporación con corriente de nitrógeno una alícuota del extracto lipídico y a continuación se le adicionaron 5ml de tolueno y 1ml de acetato cúprico al 5% a pH de 6.1 estabilizado con piridina. Se llevó la mezcla a agitación con vórtex durante 1 minuto y se centrifugó a 3000rpm durante 10 minutos. Una vez centrifugado se mide la absorbancia de la fase orgánica en el espectrofotómetro a 715nm. Se realiza la cuantificación mediante la preparación de una curva patrón con ácido oleico. El resultado se expresó en g ácidos grasos libres/ 100g de lípidos.

3.3.7.2. Peróxidos (oxidación primaria de lípidos - PV).

El índice de peróxidos (PV), medida de la oxidación lipídica primaria, fue determinado por el método de Chapman y McKay (1949) basado en la reacción de los hidroperóxidos presentes en la muestra oxidando iones Fe^{+2} a iones de Fe^{+3} en presencia de iones tiocianato. Como resultado se produce un compuesto que presenta coloración púrpura, cuya absorbancia es susceptible de ser medida a 500nm. Para ello se toma una alícuota del extracto lipídico que variará en función del contenido en grasa que presente la muestra. Se evapora el diclorometano presente en la alícuota con corriente de nitrógeno y se le añaden 200µl de hexano, 5ml de etanol al 96% y 100µl de una disolución ferrosa. Se agita la mezcla con un vórtex y finalmente, se mide la absorbancia a 500nm. Se realiza la cuantificación mediante la preparación de una curva patrón con 200µl de hexano, 5ml de etanol al 96% y 100µl de disolución acuosa de tiocianato amónico al 30%. Posteriormente se añaden cantidades crecientes de disolución férrica (10, 20, 40, 60, 80 y 100µl) y se lleva a un volumen final de 100µl con ácido clorhídrico al 35%. Se mide la absorbancia a 500nm tras añadir el cloruro férrico. Se realiza previamente un blanco con etanol al 96%. Los resultados se expresan como miliequivalentes (meq) de oxígeno activo/Kg de lípido.

3.3.7.3 Valor *p*-anisidina (AV)

Se realizó según el método oficial AOCS Cd 18-90 (1993) basado en la reacción entre aldehídos α- y β- insaturados (2-alquenales primarios) y reactivos de *p*-anisidina. Las lecturas se realizaron en el espectrofotómetro Perkin Elmer (UV/VIS Lambda 11,

Alemania). AV es expresado como 100 veces la absorbancia medida a 350 nm en una cubeta 1-cm longitud a partir de una solución que contiene 1 g lípido/100mlmedio de reacción.

3.3.7.4.Índice de ácido tiobarbitúrico (oxidación secundaria lípidos-TBA-i).

Este análisis fue realizado de acuerdo al método de Vyncke (1970) para la determinación de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBA-i). Para ello se toma una alícuota del extracto de tricloroacético (TCA) y se le añade 5ml de una disolución de ácido tiobarbitúrico 0.02M. Se hace una agitación suave y la mezcla se mantiene 40 minutos en un baño de agua a 97ºC. A continuación, la muestra se agita, enfría y centrifuga durante 15 minutos a 2700rpm. Finalmente se mide la absorbancia a 532nm. Se realiza la cuantificación mediante la preparación de una curva patrón con tetraetoxipropano. Se calcula el índice de TBA como mg malondialdehído/Kg de músculo.

3.3.7.5. Formación de compuestos fluorescentes (oxididación terciaria de lípidos- FR)

La formación de compuestos fluorescentes, medida de la oxidación lipídica terciaria, fue determinada con el fluorímetro Perkin Elmer LS 3B mediante medidas a 393/463nm y 327/415nm descrito por Aubourg S, Sotelo C, Gallardo J. (1997) y Aubourg S, Rey-Mansilla M, Sotelo C (1999). La fluorescencia relativa (RF) fue calculada de acuerdo con la fórmula: $RF = F/F_{st}$, donde F es la fluorescencia medida en un par excitación/emisión, y F_{st} es la intensidad de fluorescencia de una disolución de sulfato de quinina (1µg/ml en H_2SO_4 0.05 M) en el mismo par. La relación de fluorescencia (FR) fue calculada como la relación entre los dos valores relativos: $FR = RF_{393/463\ nm} / RF_{327/415\ nm}$. El valor de FR fue determinado en las fases acuosa y orgánica resultantes de la extracción lipídica.

3.3.7.6. Dienos conjugados (CD)

La formación de dienos conjugados fue medido espectrofotométricamente (Beckman Coulter DU 640, London, UK) en el extracto lipídico a 233 nm (Kim y Labella, 1987). Los resultados son expresados de acuerdo a la siguiente fórmula CD= B× V/w. donde B es la absorbancia leída a 233 nm, volumen (mililitros) y w es la masa (milígramos) del extracto lipídico medido.

3.3.8. Estudio de la alteración de la fracción de nitrógeno no proteico.

3.3.8.1 Bases volátiles totales (TVB-N)

Fueron determinadas de acuerdo al método de Antonacopoulos (1960) con ligeras modificaciones posteriores (Aubourg et al., 1997). Para ello se tomaron entre 5 y 10ml del extracto de ácido perclórico al 6% que se colocan en un matraz de destilación con 6.5 ml de hidróxido sódico al 20%. Se procedió a su destilación mediante arrastre de vapor, recogiéndose el destilado en un vaso de precipitados conteniendo 5ml de indicador Shiro Tashiro diluido (200ml de ácido bórico al 4% + 2ml de Shiro Tashiro concentrado, preparado el mismo día del análisis y en oscuridad). El Shiro Tashiro concentrado se preparó disolviendo 0.125g de rojo de metileno en 10ml de una disolución de NaOH al 20% y se le adicionó 0.02g de azul de metileno en 90ml de agua destilada. Transcurridos 10 minutos de destilación, el destilado se valora con ácido clorhídrico al 0.01N. El resultado final se expresa en mg de nitrógeno incluido en las bases volátiles totales TVB-N/ 100g de músculo.

3.3.8.2 Formación de trimetilamina (TMA-N).

Se determina por el método denominado del "picrato" descrito por Tozawa et al. (1971). A partir del extracto de TCA al 5% se toma una alícuota y se le adicionan 0.5ml de formol al 10%, 5ml de tolueno y 1.5ml de hidróxido potásico al 25%. Se incuba la mezcla en un baño de agua a 30ºC durante 5 minutos. Terminado este tiempo, la mezcla se extrae del baño, se agita enérgicamente durante 1 minuto y se deja reposar 15 minutos a temperatura ambiente hasta que las dos fases estén completamente separadas. A continuación se transfiere la fase orgánica a un tubo conteniendo una pequeña cantidad de sulfato sódico anhidro para eliminar restos acuosos y se añade a 2.5ml de ácido pícrico estándar (2g/100ml de tolueno). Se transfiere a una cubeta de espectrofotómetro y se mide la absorbancia frente a tolueno a 410nm. Se realiza la cuantificación mediante la preparación de una curva patrón con trimetilamina. El resultado final se expresa en mg de nitrógeno de trimetilamina N-TMA/100g de músculo.

3.3.8.3 Determinación de la degradación de nucleótidos.

Para la separación e identificación de nucleótidos se partió del extracto de PCA*, cuya técnica se describe en el punto 3.3.5.1. La determinación de nucleótidos se realizó por cromatografía líquida de alta eficacia HPLC). Se empleó para la separación de los distintos nucleótidos una columna con una fase estacionaria reversa compuesta de partículas esféricas de sílice y cadenas de 18 carbonos.

Como fase móvil se utilizó un tampón fosfato a pH = 7 y acetonitrilo. Para la identificación de los nucleótidos se utilizó un detector ultravioleta-visible a una longitud de onda de 254nm. Los datos obtenidos por el detector se registraron en un PC y se trataron con el software. System Gold 8.1, mediante el cual se obtuvieron los distintos picos, el tiempo de retención, el área de pico y la altura de pico. Con objeto de realizar diferentes rectas de calibrado de ATP, ADP, AMP, IMP, Inosina e Hipoxantina en el cromatógrafo, se parte de distintas disoluciones estándar 1mM de cada molécula involucrada a partir de las cuales se obtienen las siguientes diluciones: 0.0 mM, 0.1mM, 0.15mM, 0.2mM, 0.25mM y 0.3mM, utilizando para ello agua bidestilada miliQ. Se construyeron curvas estándar en el rango 0-1 mM para adenosina 5´-trifosfato (ATP) y para cada uno de los compuestos involucrados en su ruta de degradación: adenosina 5´-difosfato (ADP), adenosina 5´-monofosfato (AMP), inosina 5´-monofosfato (IMP), inosina (INO) e hipoxantina (Hx). Los resultados obtenidos para cada uno de los compuestos de degradación fueron calculados como mmol/kg músculo. Una vez obtenidos los resultados del análisis de nucleótidos se calculó el índice de frescura K. El concepto del valor K fue introducido por primera vez por Saito et al. (1959) y se define de la siguiente manera:

$$\textbf{Valor K} = [([\text{INO}] + [\text{Hx}])/([\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}] + [\text{IMP}] + [\text{INO}] + [\text{Hx}])] * 100$$

3.3.9. Análisis complementarios relacionados con la calidad.

3.3.9.1. Determinación de tocoferoles

Los tocoferoles fueron analizados de acuerdo a Cabrini et al. (1992). Para ello, antioxidantes lipofílicos se extrajeron a partir del músculo con hexano, y se llevaron a sequedad bajo corriente de nitrógeno se disolvieron en isopropanol e inyectaron en el sistema HPLC. Se empleó una columna de ultraesfera ODS (15 × 0.46 cm i.d.; Waters, Milford, MA, USA), mediante aplicación de un gradiente a partir de 0% a 50% de isopropanol. La velocidad de flujo fue 1.5 ml min^{-1}. La detección se alcanzó a 280 nm. Se

detectaron diferentes clases de isómeros de tocoferol (α.β, y γ) en muestras de salmón cultivado. El contenido se expresó en mg/Kg de músculo

3.3.10. Correlación y regresión múltiple.

Para describir la relación entre las variables sensoriales, físicas y/o químicas durante el periodo de almacenam iento refrigerado o congelado, se obtuvieron modelos ajustados (coeficiente de correlación, intercepto, pendiente, coeficiente de determinación valor-p) mediante análisis multivariado. Las propiedades sensoriales, texturales se correlacionaron mediante el test de Pearson, con un intervalo de confianza del 95%. Se determinó regresión múltiple para aquellos parámetros que correlacionaron significativamente en el tiempo. Todos los test fueron analizados con un nivel de confianza del 95%. Los resultados fueron determinados en todos los casos con el promedio ± desviación estándar. Para los test estadísticos se utilizó el programa computacional Statgraphics Plus versión 5.1 (Manugistics Inc., Statistical Graphics Corporation, 2001, Rockville, MA, USA).

3.3.11. Optimización de respuesta múltiple.

Se realizó mediante metodología superficie de respuesta (MSR) la optimización de respuesta múltiple para evaluar la combinación de niveles de factores experimentales que permiten optimizar simultáneamente varias respuestas del diseño de experimental (punto 3.27; capítulo 7); como resultado, se obtuvo la maximización de la función de deseabilidad, esta función va de 0 a 1 (Derringer y Suich 1980). Los datos se analizaron según el modelo de primer orden, llamado modelo efectos principales. Los modelos ajustados de las ecuaciones se obtuvieron tomando en cuenta las variables independientes que influyeron significativamente en el proceso de Altas Presiones Hidrostáticas (APH (MPa); t (s)) y sus interacciones. La respuesta de cada atributo y descriptor sensorial se obtuvo de acuerdo a la siguiente ecuación (Myers and Montgomery, 1995):

$$\mathbf{Y= \beta_0+ \beta_1X_1+ \beta_2X_2+ \beta_{12}X_1\,X_2}$$

Donde Y es la respuesta estimada para el modelo de primer orden; β_0, β_1, β_2 y β_{12} son los coeficientes de regresión para el intercepto, términos lineales e interacciones, respectivamente; X_1 and X_2 son los efectos principales de las dos variables independientes. Para el análisis de los datos se utilizó el programa computacional Statgraphics Plus versión 5.1 (Manugistics Inc., Statistical Graphics Corporation, 2001, Rockville, MA, USA).

3.3.12. Análisis estadístico de datos.

Resultados sensoriales: Dado que el análisis sensorial descriptivo cuantitativo (QDA) es una variable continua y en el caso de que las observaciones se ajustaran a una distribución normal entonces para cada variable dependiente se realizó ANOVA multifactorial con el fin de determinar el grado de significación estadística en distintos factores: individuos, repetición, muestra, juez y tiempo En el caso de existir diferencias ($p<0.05$) se realizó una comparación de rango múltiple, utilizando la prueba de diferencias significativas (HSD) de Tukey, para determinar donde se encuentran las diferencias. La condición para realizar la ANOVA en el tiempo fue que no existiesen diferencias entre jueces, repeticiones, ni individuos pero sí entre muestras. Los resultados se presentaron

como el promedio de los cinco individuos y las repeticiones de cada análisis respectivo. Para tal propósito se utilizó el programa computacional Statgraphics Plus versión 5.1.

Resultados químicos y físicos: En el caso que las observaciones se ajustaran a una distribución normal los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial al objeto de determinar el grado de significación estadística en distintos factores: especímenes, repetición, muestra, y tiempo, En el caso de existir diferencias ($p<0.05$) se realizó una comparación de rango múltiple, utilizando la prueba de diferencias significativas (HSD) de Tukey, para determinar donde se encuentran las diferencias ($p<0.05$). Se analizó tanto como resultado del proceso/tratamiento, como por resultado del tiempo de conservación. En el caso que las observaciones no se ajustaran a una distribución normal, se efectuó una prueba no paramétrica (Kruskal Wallis). Con estos resultados se obtuvieron los valores promedios que se procedieron a graficar.

3.4. BIBLIOGRAFÍA

Andersen, U.B., Strømsnes, A.N., Steinsholt, K., and Thomassen, M.S. 1994. Fillet gaping in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Norwegian Journal of Agricultural Science*, **8**, 165-179.

Antonacopoulos, N. 1960. Verbesserte apparatus zur quantitativer destillation wasserdampfflügtiger stoffe. *Z. Lebensm. Unter. Forsch*, **13**, 113,160.

AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry (edited by K. Helrich), 15th edn. P. 870.Arlington, VA, USA: Association of Official Chemists, Inc. 1990.

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oils Chemists' Society. 4th ed., 1993.

Aubourg, S., Sotelo, C. and Gallardo, J. M. 1997. Quality assessment of sardines during storage by measurement of fluorescent compounds. *J. Food Sci*. **62**, 295-298, 304.

Aubourg, S., Rey-Mansilla, M. and Sotelo, C. 1999. Differential lipid damage in various muscle zones of frozen hake (*Merluccius merluccius). Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **208**, 189-193.

Banga, J., Alonso, A., Gallardo, J. and Pérez-Martín, R. 1993. Mathematical modelling and simulation of the thermal processing of anisotropic and non-homogeneous conduction-heated canned foods: application to canned tuna. *Journal of Food Engineering*, **18**, 169–387.

Barnett, H., Nelson, R. and Poysky, F. 1991. A comparative study using multiple indices to measure changes in quality of pink and Coho salmon during fresh and frozen storage. Northwest Fisheries Science Center. Publications Seattle. United State, pp. 27.

Bligh, E. and Dyer, W. 1959. A rapid method of total extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**, 911–917.

Chapman, R. and McKay, J. 1949. The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **26**, 360–363.

Cabrini, L., Landi, C., Stefanelli, V., Barzanti, A., Sech. 1992 Extraction of lipid and lipophilic antioxidants from fish tissues: A comparison among different methods. *Comp Biochem Physiol B Biochem Molec Biol*. 1992, **101**, 383-386.

Chapman, R. and McKay, J. 1949. The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. *J. Am. Oil Chem. Soc*. **26**, 360-363.

Codex Alimentarius, 1999. Directrices para la Evaluación Sensorial del Pescado y los Mariscos en Laboratorio. Norma Técnica CAC/GL 31-1999.
http://www.pes.fvet.edu.uy/cursos/mail2.pdf

Cruz, J. M., Moldes, A., Bustos, G., Torrado, A., and Domínguez, J. 2007. Integral utilisation of barley husk for the production of food additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **87**, 1000–1008.

deMan, L., deMan, J.M., and Blackman, B. 1991. Physical and Textural Characteristics of Some North American Shortenings, Beef Tallow, *J. Am. Oil Chem. Soc*..68, 63–69.

Derringer, G., and Suich, R. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Food Quality and Technology*, 12, 214–219.

Eide, O. Börresen, T. and Strom, T. 1982. Minced fish production from Capelin (*Mallotus villlosus*). A new method for gutting, skinning and removal of fat from small fatty fish species. *J. Food Sci.* **47**,347-349.

Einen, O. and Tomassen, M. 1988. Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmón Salar*). II White muscle composition and evaluation of freshness, texture and colour characteristics in raw and cooked fillets". *Aquaculture***, 169**:37-53.

Ewos, 2004. Innovation Research S.A.Industria pesquera.

Fletcher, G.C., Summers, G., Corrigan, V., Cumarasamy, V., and Dufour, J.P. 2002. Spoilage of King salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) fillets stored under different atmospheres. *Journal of Food Science*, **67**, 2363-2373.

Fletcher, G. C., Corrigan, V.K., Summers, G., Leonard, M.J., Jerrett, A.R., and Black, S. E. 2003. Spoilage of rested harvested king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *J. Food Sci.*, **68**, 2810-2816.

Herbes, S. E. y Allen, C. P. 1983. Lipid quantification of fresh water invertebrates: method modification for microquantitation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **40**, 1315-1315.

Howgate, P. 1992. Codex review on inspection procedures for the sensory evaluation of fish and shellfish, CX/FFP, 92/14.

ISO, 3972. 1991. Sensory analysis-methodology-method of investigating sensitivity of taste. International Standardization Organization: Geneva, Switzerland.

Jonsson, A., Sigurgisladóttir, S., Hafsteinsson, H. and Kristbergsson, K. 2000. Textural Properties of Raw Atlantic Salmon (*Salmon Salar*) Fillets Measured by Different Methods in Comparison to Expressible moisture. *Aquaculture Nutrition* **2**: 1-9.

Kim, R. and Labella, F. 1987. Comparison of analytical methods for monitoring autoxidation profiles of authentic lipids. *J Lipid Res.* **28**, 1110-1117.

Kinarca. 2002. (www.Kinarca.com).

Lowry, R. and Tinsley, I. 1976. Rapid colorimetric determination of free fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **53**, 470–472.

Ministerio de Salud Pública e Instituto de Salud Pública de Chile (1998). Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Aguas. Santiago. 95 p.

Morzel, M., Heapes, M.M., Reville, W.J. and Arendt. E.K, 2000. Textural and ultraestructural changes during processing and storage of lightly preserved salmon (*Salmo salar*) products. *Journal Science Food Agricultural*, **80**, 1692-1697.

Pereira de Abreu, D.A. Paseiro Losada, P., Maroto, J., Cruz, J.M. 2010. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard Lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Food Research International*. **43**, 1277-1282.

Pérez-Martín, R., Banga, J., Sotelo, C., Aubourg, S. & Gallardo, J. 1989. Prediction of precooking times for albacore (*Thunnus alalunga*) by computer simulation. *Journal of Food Engineering*, **10**, 83–95.

Refsgaard, H.H.F., Brockhoff, P.B., Jensen, B. Sensory and chemical change in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *J. Agric. Food Chem.* 1998, **46,** 3473-3479.

Roche Animal Nutrition and Health.1998. Salmon Buyer´s guide. A handy manual for purveyors and sellers of seafood. Hoffman La-Roche Ltd., pp. 43.

Rodríguez, A., Carriles, N., and Aubourg, S. 2010. Effect of chill storage under different icing conditions on sensory and physical properties of canned farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Int. J. Food Sci. Technol.* **45**, 295-304.

Rodríguez, A., Maier, L., Paseiro Losada, P. and Aubourg, S.P. 2015.Changes in sensory and physical parameters in chill stored farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) Journal of *Aquatic Food Product Technology*, Accepted author version posted online: 07 Apr 2015. DOI: 10.1080/10498850.2014.913753. Año: 2015.

Saito, J., Arai, K. and Matsuyoshi, M. A. 1959. A new method for estimating the freshness of fish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*. **24**, 749-752.

SERNAPESCA. Programa de Control de Producto final, Norma Técnica. Sección 1, CPF/NT1/Noviembre 2006. Requisitos Generales para la Certificación Sanitaria de los Productos Pesqueros de Exportación. Departamento de Sanidad Pesquera, Valparaíso, Chile. 89p. **2006.**

Sigurgisladóttir, S., Hafsteinsson, H., Jonsson, A., Nortvedt, R., Thomasses, M. and Skjervold, P.O., Røra, A.M.B., Fjaera, S.O., Vegusdal, A., Vorre, A. and Einen, O. 2001. Effects of pre- in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. *Aquaculture*, **194**, 315-326

Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., Hyldig, G., Jørgensen, B., and Kristbergsson, K. 2002. Application of quality index method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, **67**, 1570-1579.

Torrisen, O. 1999. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *Journal of Food Science*, **64**, 99-104.

Tozawa, H., Erokibara, K. y Amano, K. Proposed modification of Dyer's method for trimethylamine determination in cod fish. En: Kreuzer, R. (Ed.), Fish Inspection and Quality Control. London: Fishing News Books. p. 187-190. 1971.

Vyncke, W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **72**,1084–1087.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio los resultados y la discusión se presentan en dos partes, en función de los métodos de conservación usados. Dentro de cada parte se muestran las distintas publicaciones realizadas al respecto. Así tenemos la siguiente división:

PARTE 1. Estudio de las modificaciones de la calidad de salmón Coho durante su conservación comercial en hielo y en congelación.

Capítulo 1. EFECTO DE LA CONSERVACIÓN EN HIELO SOBRE LAS PROPIEDADES SENSORIALES Y FÍSICAS DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*).

Capítulo 2. EFECTO DE LA CONSERVACIÓN EN CONGELACIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES SENSORIALES Y FÍSICAS DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*).

PARTE 2. Aplicación de tecnologías avanzadas para la mejora de la calidad de distintos tipos de productos comerciales de salmón Coho.

Capítulo 3. CAMBIOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD EN MÚSCULO DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*) COCIDO PREVIAMENTE CONSERVADO EN HIELO LÍQUIDO.

Capítulo 4. EFECTO DE DISTINTAS CONDICIONES PREVIAS DE CONSERVACIÓN EN HIELO SOBRE LAS PROPIEDADES SENSORIALES Y FÍSICAS DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*) ENLATADO.

Capítulo 5. EFECTO DE UN SISTEMA DE ENVASADO COMBINANDO VACÍO Y COMPUESTOS POLIFENÓLICOS SOBRE LA DETERIORACIÓN LIPÍDICA EN SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*) CONGELADO.

Capítulo 6. EFECTO DE LA COMPOSICIÓN DE ANTIOXIDANTES EN LA DIETA SOBRE LAS PROPIEDADES SENSORIALES Y FÍSICAS DE SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*) CONGELADO.

Capítulo 7. CAMBIOS SENSORIALES Y FÍSICOS EN SALMÓN COHO (*Oncorhynchus kisutch*) REFRIGERADO: EFECTO DE UN TRATAMIENTO PREVIO OPTIMIZADO POR ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.1 PARTE 1. Estudio de las modificaciones de la calidad de salmón Coho durante su conservación comercial en hielo y en congelación.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO I. CAPÍTULO 1.

Título: Changes in sensory and physical parameters in chilled stored farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)

Autores: Alicia Rodríguez, Liliana Maier, Perfecto Paseiro-Losada, Santiago P. Aubourg

Revista: Journal of Aquatic Food Product Technology; Índice de impacto: 0.688; Cuartil Tercero. Editorial: Taylor & Francis

DOI: 10.1080/10498850.2014.913753.

Año: 2015 Accepted author version posted online: 07 Apr 2015

http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10498850.2014.913753

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.1.1. Capítulo 1. Efecto de la conservación en hielo sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho (*O. kisutch*) (ANEXO 1).

4.1.1.1. Introducción

Se estudió la evolución de distintos parámetros sensoriales y físicos durante la conservación en hielo de salmón Coho.

4.1.1.2. Resultados y discusión

4.1.1.2.1 Determinación de propiedades sensoriales.

La evaluación se llevó a cabo en muestras crudas y cocidas. Las Tablas 1-2 (Anexo 1) incluyen los resultados obtenidos para los descriptores que mostraron una mayor influencia como resultado del tiempo de conservación en hielo; seis de ellos corresponden al estado crudo (Tabla 1, Anexo 1), mientras que los otros seis están relacionados con muestras en estado cocido (Tabla 2, Anexo 1).

Se observó un descenso en la valoración de descriptores tales como el olor fresco, la elasticidad y la dureza al incrementar el tiempo de conservación en muestras crudas; todos los descriptores reflejaron coeficientes altos de correlación negativa (r = -0.928 a -0.992) y coeficientes altos de determinación (R^2 = 86-98 %) ($p<0.05$) con los valores de los modelos ajustados.

Los valores de olor oxidado fueron progresivamente superiores durante el periodo de conservación ($p<0.05$), reflejando este parámetro un coeficiente de correlación (r = 0.951) y un coeficiente de determinación (R^2 = 90.35%) significativos ($p<0.05$). El color del músculo crudo de salmón evaluado con la carta Roche exhibió un descenso significativo ($p<0.05$) al final del periodo de conservación, pero no se obtuvo un modelo ajustado satisfactorio (Tabla 1 y 3, Anexo 1).

Los resultados para las muestras cocidas indicaron un ligero descenso ($p<0.05$) en firmeza y sabor neutro, con coeficientes de correlación negativos (r = -0.837 y -0.858, respectivamente) y altos coeficientes de determinación (R^2 = 70.00 y 73.64 %, respectivamente), con valores para los modelos ajustados expresados en la Tabla 3 (Anexo 1).

Los parámetros tales como sabor y olor oxidados mostraron incrementos progresivos ($p<0.05$) con el tiempo de conservación; los valores del modelo ajustado proporcionaron coeficientes de correlación (r = 0.924) y de determinación (R^2 = 85.42) altos para el sabor oxidado.

Los cambios en el músculo de salmón Coho durante la conservación en hielo pueden ser explicados como resultado de la degradación autolítica, el desarrollo de la actividad microbiana y la alteración lipídica (oxidación e hidrólisis) (Whittle et al., 1990; Tantasuttikul et al., 2011). En este estudio se obtuvieron valores no aceptables en el día 17 para los descriptores olores oxidado y fresco en pescado crudo y para la determinación de sabor neutro y oxidado en pescado cocido.

En un estudio previo (Brown, 1980), el salmón Coho salvaje reflejó una apariencia de limo al ser conservado en refrigeración (4.5 °C) durante 7 días, de manera que se consideró rechazable. En un trabajo posterior (Barnett et al., 1991), el salmón Coho salvaje se conservó en hielo hasta 14 días; los resultados obtenidos en el análisis sensorial

indicaron que el pescado permanecía en calidad "Premium" hasta los siete días, seguido de un corto periodo de calificación sensorial media, convirtiéndose en rechazable después de 13 días.

Los resultados del presente estudio se compararon con los obtenidos previamente para la hidrólisis y oxidación lipídicas (Aubourg et al., 2005) y la degradación autolítica y actividad microbiana (Aubourg et al., 2007) en salmón Coho. En el presente trabajo, la elasticidad del músculo crudo exhibía un descenso significativo, mientras que en los estudios previos, el contenido en ácidos grasos libres, el índice de peróxidos y el valor K aumentaron significativamente. Aunque ninguno de estos factores puede justificar a nivel individual el descenso de la elasticidad, sí se considera que representan cambios que pueden afectar a la integridad del músculo del pescado.

Asimismo, los valores de olor fresco descendieron durante la conservación en el presente estudio. Ambos estudios previos (Aubourg et al., 2005 y 2007) demostraron que el contenido en microorganismos mesófilos aumentaba, con destrucción potencial de compuestos de aroma natural y formación de productos colaterales indeseables, junto a cambios significativos en la fracción lipídica (desarrollo de hidrólisis y oxidación). Todo ello implica un medio de degradación continua durante la conservación del músculo de salmón Coho.

Estos cambios se notaron también después de que el músculo fuese cocido, donde el sabor oxidado aumentó significativamente, de acuerdo con los estudios previos que mostraron valores superiores en ácidos grasos libres, e índices de peróxidos y de TBA. Además, el sabor oxidado obtenido en pescado cocido fue posiblemente debido a la oxidación de los volátiles naturales como indican los incrementos en los índices de peróxidos y de TBA.

4.1.1.2.2. Determinación de propiedades físicas

Los resultados obtenidos para la determinación de *gaping* se recogen en la Tabla 4 (Anexo 1). El *gaping* se vio afectado significativamente por el periodo de conservación en hielo, observándose un incremento con su duración. Se obtuvo un modelo ajustado, reflejando un coeficiente de correlación ($r = 0.849$) y un coeficiente de determinación ($R^2 = 72.1$ %) significativos (Tabla 5, Anexo 1).

El salmón refrigerado correspondiente al día 0 de almacenamiento, presentó ausencia de incisiones o grietas (n), es decir *ausencia de gaping* (n=0) cuando fue evaluado 5 min después de fileteado según escala de Andersen (Tabla 4). En el día 12 presentó 3.6 ± 2.6 incisiones o grietas a lo largo de los miómeros, considerado como un *gaping leve a moderado* y puntaje de 1 a 2, respectivamente de acuerdo a la escala de Andersen. Sin embargo, a partir del día 17 de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración se observó un incremento significativo del número de incisiones o grietas superando el límite de calidad Premium para su comercialización (n>10), presentando hasta el día 24 un valor equivalente a *gaping intenso* con un puntaje sobre 3 de acuerdo a la escala de Andersen ($p<0.05$) (Andersen et al., 1994). De esta manera, el salmón Coho refrigerado presentó calidad Premium hasta el día 12 de almacenamiento.

Este incremento del valor de *gaping* puede ser explicado como resultado de la acción de las enzimas, principalmente proteasas, que actuarían sobre el tejido conectivo (colágeno) llevándolo a su destrucción. Se observó una correlación inversa del valor de *gaping* con distintos descriptores como la elasticidad ($r = - 0.874$; $R^2 = 76.36\%$), dureza ($r = -0.775$; $R^2 = 60.07\%$) y firmeza ($r = - 0.849$; $R^2 = 72.07\%$).

En un estudio previo se había observado un desarrollo importante de *gaping* en salmón Coho conservado en hielo (Aubourg et al., 2013); sin embargo, fue parcialmente inhibido

al ser tratado previamente con condiciones apropiadas de altas presiones hidrostáticas (135 MPa durante 30 s a 15±2 °C).

La medida de la capacidad de retención de agua (CRA), así como de la humedad exprimible (HE) proporcionaron diferencias significativas ($p<0.05$) a lo largo de la conservación (Tabla 4, Anexo 1). Sin embargo, no se pudo concluir una tendencia definitiva para ambos parámetros para el periodo 0-24 días. El rango de valores obtenido fue de 2.31-2.96 (g agua/g materia seca libre de grasa) y 1.38-1.55 (%), respectivamente.

Un descenso en los parámetros CRA y HE suele relacionarse con cambios deteriorativos en las proteínas miofibrilares, al disminuir su capacidad para retener agua como resultado de la desnaturalización. Este hecho ha demostrado ser especialmente importante en pescado congelado (Barroso et al., 1998; Ben-Gigirey et al., 1999). Se considera que la pérdida de agua en salmón Coho en el presente estudio fue baja.

Contrariamente a los resultados obtenidos en CRA y HE, la pérdida por cocción aumentó progresivamente en este estudio en el periodo 0-19 días, seguido por un incremento importante ($p<0.05$) al final del experimento. Se obtuvo un modelo ajustado significativo para la evolución de la pérdida de cocción a lo largo del periodo de conservación en hielo ($r = 0.850$; $R^2 = 72.28\%$; Tabla 5, Anexo 1).

La medida de cambios en textura se llevó a cabo a través de los análisis de cizalla y compresión a velocidad constante. En el test de cizalla, se obtuvieron valores de firmeza en el intervalo 9.5-11.5 (N) para el periodo 0-19 días, seguidos del valor medio superior (13.65 N) al final del experimento (Tabla 6, Anexo 1). No se obtuvo una tendencia definitiva durante el periodo de conservación en hielo. En el caso del análisis de la deformación, no se obtuvo una relación definitiva con el tiempo de conservación (Tabla 5, Anexo 1).

En el caso del test de compresión a velocidad constante, se observó un descenso importante de la dureza en el día 3 (Tabla 6, Anexo 1); posteriormente, no se observaron diferencias a lo largo del tiempo de conservación, estando todos los valores comprendidos en el intervalo 18.8-31.6. Se obtuvo un modelo con ajuste significativo con el tiempo de conservación en hielo ($r = - 0.740$; $R^2 = 54.73\%$; Tabla 5, Anexo 1). Este resultado está de acuerdo con el obtenido por Ando et al. (1991) donde se observó un descenso de la dureza del músculo de trucha arcoíris después de tres días de conservación en hielo. El test de compresión proporcionó también valores de cohesividad. Ésta, no reflejó diferencias significativas como resultado del tiempo de refrigeración, indicando que los filetes de salmón no presentaban distorsiones homogéneas al ser sometidos a presión.

Investigaciones previas han demostrado que el pescado se reblandece al aumentar el tiempo de conservación en hielo, lo que se asume como resultado de la destrucción parcial de colágeno, así como cambios en el citoesqueleto y en las proteínas miofibrilares (Fletcher et al., 2003). Este evento ha sido puesto de manifiesto en especies como el salmón Atlántico (Sveinsdóttir et al., 2002), trucha arcoíris (Ando et al., 1991) y salmón rey (Fletcher et al., 2003). Además, el entrecruzamiento de cadenas peptídicas por reacción con lípidos oxidados es conocido como inductor de cambios de textura negativos (Mackie, 1993; Sikorski and Kolakowska, 1994). Un estudio previo demostró que durante la conservación en hielo de salmón Coho se producía un importante desarrollo en hidrólisis y oxidación lipídicas (Aubourg et al., 2005); además, el presente estudio demostró el desarrollo de un importante olor y sabor oxidados durante la conservación (Tabla 3, Anexo 1). Sin embargo, los cambios de propiedades de textura en el presente estudio no fueron dependientes del tiempo de conservación; esto concuerda con el hecho de que el valor de pH del músculo de salmón Coho tampoco reflejó diferencias al ser conservado bajo las mismas condiciones (Aubourg et al., 2007).

4.1.1.2.3. Conclusiones

Se detectaron cambios importantes como resultado de la conservación en hielo. Se observó una pérdida de calidad progresiva ($p<0.05$) de acuerdo con el análisis sensorial llevado a cabo en pescado crudo (olor fresco, elasticidad, dureza y olor oxidado) y cocido (firmeza, sabor neutral, sabor oxidado y olor oxidado). Asimismo, parámetros físicos como *gaping* y pérdida de agua por cocción también reflejaron un deterioro creciente ($p<0.05$) como resultado del tiempo de refrigeración. Contrariamente, la determinación del color por medición sensorial y de textura no resultaron herramientas válidas al objeto de seguir la pérdida de calidad en salmón Coho conservado en hielo.

De acuerdo con los descriptores de olor y sabor (olor fresco, olor oxidado y sabor neutro), el salmón Coho demostró ser rechazable después de 17 días de conservación en hielo. Estos resultados están de acuerdo con parámetros de calidad químicos y microbiológicos analizados en experimentos previos que fueron llevados a cabo utilizando material de partida y condiciones experimentales similares; entre estos parámetros se pueden mencionar el contenido en ácidos grasos libres, los índices de peróxidos, TBA y valor K, así como la determinación del desarrollo de microrganismos aerobios mesófilos.

Se considera que los resultados de este estudio sobre cambios en propiedades sensoriales y físicas obtenidos en salmón Coho conservado en hielo proporcionan una información válida en relación con la aceptabilidad por parte del consumidor para esta especie y su comercialización como producto fresco.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO II. CAPÍTULO 2.

Título: Efecto del almacenamiento congelado sobre las propiedades físicas y vida útil del músculo de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*)

Estudio de las propiedades físicas y sensoriales del músculo de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch)* conservado en estado refrigerado y congelado
DEA. Diplomado de Estudios Avanzados DEA-Universidad de Santiago de Compostela.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.1.2. Capítulo 2. Efecto del almacenamiento congelado sobre las propiedades físicas y vida útil del músculo de salmón Coho (*O. kisutch*). (ANEXO 2).

4.1.2.1. Introducción

Se estudió la evolución de distintos parámetros sensoriales y físicos durante la conservación en congelación (-20 °C) de salmón Coho.

4.1.2.2. Resultados y discusión

4.1.2.2.1 Determinación de propiedades sensoriales.

La evaluación se llevó a cabo en muestras crudas congeladas y en muestras crudas congeladas y posteriormente cocidas. Las Tablas 1-2 (Anexo 2), (Figuras 4.3 a 4.5 B, DEA) incluyen los resultados obtenidos para aquellos descriptores sensoriales que mostraron diferencias significativas entre muestras ($p<0.05$), y simultáneamente no presentaron diferencias significativas entre panelistas ($p>0.05$).

Cuatro de los descriptores sensoriales corresponden al estado crudo (Tabla 1, Anexo 2), mientras que seis están relacionados con muestras en estado cocido (Tabla 2, Anexo 2).

Los primeros descriptores del músculo crudo que presentaron cambios significativos durante el tiempo almacenado congelado fueron el olor modificado y la firmeza del músculo de salmón Coho (r =0.650; R^2 =42.5% y r= -0.940; R^2= 88.59%, respectivamente) con los valores de los modelos ajustados significativos ($p<0.05$) (Tablas 1 y 3, Anexo 2). Se observó un incremento significativo del olor modificado y una disminución de la firmeza a partir del mes 4. La magnitud de este aumento no alcanzó el valor límite de rechazo de la muestra por parte de los panelistas para el olor modificado (valor límite de rechazo para olor modificado > 5 puntos), mientras que, el valor límite de rechazo para firmeza (< 5 puntos) lo presentó al mes 10 (Figura 4.3B, DEA).

Los valores de los descriptores aspecto original del músculo crudo de salmón, y color evaluado en la escala de color Salmofan™ de Roche experimentaron un descenso al incrementar el tiempo de conservación congelado presentando diferencias significativas a partir de los meses 4 y 10, respectivamente ($p<0.05$). La evaluación de color rojo del músculo crudo utilizando la escala Salmofan™, presentó una puntuación 30 ± 1 en el mes cero, presentando una disminución hasta 26 ± 1 en el mes 12 ($p<0.05$). El color visual clasificó al salmón hasta el mes 8 en categoría Premium siendo una puntación mínima exigida de 28 para clasificar en esta categoría.

En muestras de salmón Coho congeladas y evaluadas posteriormente cocidas, los primeros descriptores que experimentaron un descenso significativo durante el tiempo de almacenamiento fueron el aspecto original y el sabor típico presentando diferencias significativas a partir del mes 4, así como reflejando coeficientes de correlación (r = -0.527, y -0.880, respectivamente) y coeficientes de determinación (R^2 =26.87 y 79.2%) significativos ($p<0.05$) (Tablas 2 y 4, Anexo 2). Los valores de los descriptores olor típico y olor modificado del músculo cocido presentaron diferencias significativas a partir del mes 6 de almacenamiento congelado (r = -0.710 y 0.770; R^2 =49.72 y 58.80%, respectivamente) ($p<0.05$).

En el almacenamiento congelado, el sabor típico de salmón experimentó un mayor decrecimiento en comparación con el olor típico de salmón cuando ambos fueron evaluados cocidos. Sin embargo, ambos descriptores presentaron hasta el mes 12 puntuaciones mayores de 5, siendo considerados dentro de los rangos normales de olor y sabor típico del salmón Coho cocido.

Los descriptores sabor modificado y textura sensorial del músculo cocido presentaron diferencias significativas a partir del mes 8 de almacenamiento congelado ($r = 0.700$ y 0.800; $R^2 = 49.40$ y 63.85%, respectivamente) ($p<0.05$) (Tablas 2 y 4, Anexo 2, Figuras 4.3 y 4.4, DEA). La textura sensorial de salmón Coho congelado medida como la firmeza del músculo presentó un puntaje de textura típica sobre rangos normales (5 puntos) al final del mes 15.

El deterioro de la firmeza de los filetes de salmón durante el almacenamiento congelado podría deberse a la desnaturalización y agregación de las proteínas musculares (específicamente proteínas miofibrilares), lo que provoca una disminución de la firmeza (Ben-Gigerey et al., 1999). Mientras que el valor del descriptor olor modificado del músculo cocido presentó un incremento significativo previo al sabor modificado cocido, ambos descriptores presentaron un rango de niveles aceptables hasta el mes 12 de almacenamiento congelado.

4.1.2.2.2. Determinación de propiedades físicas

La evolución del *gaping* en el músculo de salmón Coho congelado evaluado en la escala (0 a 5 grados) presentó diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento ($p<0.05$) con valores de coeficientes altos de correlación ($r= 0.876$) y de determinación ($R^2=76.76\%$) y valores del modelo ajustado significativo ($p<0.05$) (Tabla 5 y 7, Anexo 2). El incremento en el grado de *gaping* indicó un aumento del número de incisiones (n) a lo largo de los miómeros y un deterioro del filete (Figura 4.2B, DEA).

El músculo de salmón congelado correspondiente al mes 0 de almacenamiento, presentó un promedio menor de 5 incisiones o grietas ($n = 4.8\pm 1.1$), cuando fue evaluado 5 min después de fileteado, resultando en grado 1 y considerado *gaping leve* según escala de Andersen et al. (1994) (Tabla 5, Anexo 2). En el mes 8 de conservación, el número de incisiones fue menor de 10 ($n= 9.0 \pm 4.0$) resultando en grado 2 de la escala y considerado un *gaping moderado* de acuerdo a la escala de Andersen et al. (1994). En el mes 10 se observó un incremento significativo del número de incisiones ($n = 26.0 \pm 13.0$) resultando en grado 5 de la escala y presentando un *gaping extremo* de acuerdo a la escala de Andersen et al. (1994) ($p<0.05$).

Desde el mes 0 al 8 se presentó *gaping* tipo 1, en el mes 10 y 12 el *gaping* fue tipo 2. Existen sólo dos razones para *gaping* tipo 1: la primera, muestra la acción de una enzima sobre el tejido conectivo que existe entre el bloque muscular y el miosepto resultando en un debilitamiento del tejido haciendo que este se rompa cuando es tratado. La segunda, es el debilitamiento del tejido debido a la desnaturalización de las proteínas contenidas en el tejido (Ewos Innovation, 2004).

En el *gaping* tipo 2 las aperturas son producidas debido a la aplicación de fuerzas mecánicas en la carne cuando ésta se encuentra frágil y el tejido débil. Los grados 5 a 8 no solo muestran *gaping* tipo 2 sino también tipo 1 (Ewos Innovation, 2004).

Según la escala utilizada, la calidad Premium corresponde hasta el grado 4, luego baja a calidad 1 (gaping 5-6) y calidad industrial (grado 7-8) (Ewos Innovation, 2004), por

lo tanto hasta el mes 8 los salmones congelados presentan calidad Premium en relación al *gaping*.

Skjervold et al. (2001) encontraron *gaping severo* y puntaje de 3.20 ± 0.24 en salmón Atlántico *(Salmo salar*) enfriado a 1 °C previo a la cosecha, fileteado después de cinco días y evaluado a los 14 días de conservación. El incremento del *gaping* a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento del salmón, se explica por la acción de enzimas, principalmente proteasas que actuarían sobre el tejido

La capacidad retención agua (C.R.A.) fue medida como la pérdida de agua del músculo seco y libre de grasa luego de almacenado congelado a -20 °C y descongelado hasta 4 °C y sometido a una centrifugación. La C.R.A. del músculo congelado presentó diferencias significativas a partir del mes 6 de almacenamiento a -20 °C ($p<0.05$) ($r=0.55$; $R^2= 28.89\%$) (Tablas 5 y 7, Anexo 2). Durante el almacenamiento congelado se observa que hay un aumento en la pérdida de agua, por lo tanto una disminución en la C.R.A. (Tabla 5, Anexo 2). Cheftel et al. (1989) encontraron que la congelación y el almacenamiento congelado causan desnaturalización y agregación de las proteínas, así como la ruptura de las células musculares, cuya principal consecuencia es un descenso en la C.R.A. que se manifiesta después de la descongelación provocado por la destrucción del tejido conectivo (colágeno) (Andersen et al., 1994). Eide et al. (1982) encontraron valores de C.R.A de 5.5 g agua /g muestra centrifugada seca y libre de grasa en Capelin *(Mallotus villosus*) y de 4.5 g agua/g muestra centrifugada, seca y libre de grasa en bacalao desmenuzado.

La humedad exprimible (HE) medida como el porcentaje de exudado por compresión del músculo de salmón, presentó cambios estadísticamente significativa a partir del mes 10 de almacenamiento congelado ($p<0.05$) ($r= 0.390$; $R^2=15.11\%$) (Tablas 5 y 7, Anexo 2). A medida que transcurren los meses en almacenamiento congelado a -20ºC el músculo pierde menor cantidad de agua al someterlo a una compresión después de descongelado hasta 4 °C (Figura 4.11B, DEA). Este comportamiento puede ser explicado debido a que durante su descongelación perdió líquido exudado (*dripping*) previo a la medición de humedad exprimible. Estudios realizados por Jonsson et al. (2000) obtuvieron una diferencia en el porcentaje de humedad exprimible entre 1.8 a 2.7% en las diferentes posiciones del músculo de salmón atlántico almacenado durante 3 días a 4 °C. En los resultados obtenidos en este estudio para salmón Coho congelado a –20 °C durante 10 meses la humedad exprimible fue de 2.90 ± 0.23% y 1.37 ± 0.32% en las posiciones 1 y 2 del lado B (Figura 1). Al igual que en los resultados obtenidos por Jonsson et al. (2000) la humedad exprimible en las posiciones 1 y 2 no presentaron diferencias significativas entre sí ($p>0.05$). Los cinco especímenes de salmón Coho analizados en cada punto por cuadriplicado no presentaron diferencias significativas entre sí a nivel de HE en el almacenamiento congelado durante 10 meses ($p>0.05$).

La fuerza máxima de compresión (N) es una medida de la dureza del músculo, la cual fue estadísticamente significativa en el tiempo de almacenamiento congelado ($r= -0.769$; $R^2= 59.11\%$) ($p<0.05$) (Tabla 7, Anexo 2). El músculo de salmón Coho congelado presentó la máxima dureza en el mes 0 (16.60 ± 5.99 N), descendiendo significativamente a partir del mes 6 (2.84 ± 1.56 N). Sigurgisladóttir et al. (1999) encontraron valores de dureza en salmón atlántico al cuarto día de almacenamiento refrigerado a 4 °C de 9 y 6 N en las posiciones 1 y 2, respectivamente. En este estudio se utilizaron las posiciones 1 y 2 del lado B del filete (Figura 15), no encontrándose diferencias significativas entre estas posiciones. Del mismo modo no se encontraron diferencias significativas entre especímenes y repeticiones ($p>0.05$) durante los primeros ocho meses de almacenamiento congelado. En el mes 10 no fue posible realizar los análisis, debido al deterioro de la

textura de las muestras (espesor variable e inadecuado y separación de miómeros) lo que se acentuó debido al daño mecánico extra producido por el corte cilíndrico que se realiza a la muestra para el ensayo de compresión (Tablas 5 y 7, Anexo 2). La pérdida de firmeza durante el almacenamiento congelado de salmón Coho podría estar relacionada con la pérdida de tejido intramuscular. Morzel et al. (2000) encontraron que el ablandamiento del salmón Atlántico durante la etapa de refrigerado se atribuyó a la destrucción de colágeno.

La deformación producida con la fuerza máxima (mm) en los ensayos de compresión a elocidad constante se relacionó con la cohesividad o grado de entrecruzamiento de las fibras del músculo (Tabla 5, Anexo 2). Los valores de cohesividad presentaron diferencias significativas en el tiempo a partir del mes 6 ($p<0.05$) indicando que los filetes de salmón refrigerados reflejaron deformaciones no homogéneas cuando fueron sometidos a presión ($p<0.05$) ($r=-0.509$; $R^2= 25.87\%$) (Tabla 7, Anexo 2). Los valores más altos se observaron en los meses 0 y 4 siendo de 17.94 ± 0.19 mm y 17.93 ± 0.17 mm, respectivamente. Al octavo mes de conservación, la cohesividad disminuyó en un 16.9% (Figura 3, Proc Cong Arg; Figura 4.6B, DEA).

El *dripping* cocido medido como el porcentaje de exudado perdido en el músculo de salmón Coho almacenado a -20 °C y cocido previa descongelación presentó diferencias significativas en el tiempo ($p<0.05$), observándose que en el mes cero se produce la mayor pérdida de líquido, 16.51% de exudado ($r= -0.330$; $R^2=36.22\%$) (Tabla 7, Anexo 2) (Figura 4.1B, DEA). Durante el estudio, el *dripping* cocido disminuyó en un 23.4%, lo cual pudo deberse a una posible sublimación durante el almacenamiento congelado y/o a la pérdida de líquido en el *dripping* crudo (Gruda y Polstolski, 1986). Ben-Gigirey et al. (1999) encontraron valores de 10.3% de exudado para la albacora (*Thunnus alalunga*) almacenada a -25ºC durante 12 meses Barnett et al. (1991) encontraron en salmón rosado un incremento en los valores de pérdida de *dripping* cocido de hasta 21.0% a los 9 meses de conservación en estado congelado a -23 °C con refrigeración previa coincidiendo con una pérdida de textura sensorial indicativa de una posible relación causa-efecto entre la pérdida de humedad y textura. La determinación del exudado del pescado después de la congelación indica la alteración de la proteína durante el almacenamiento (Ben-Gigerey et al., 1999).

El *dripping* crudo en salmón Coho congelado fue significativamente menor que en aquellos casos en que se sometieron a cocción (*dripping* cocido) ($p< 0.05$) (Figura 4.1 B). El *dripping* crudo aumentó durante los primeros 6 meses hasta llegar a valores de 3.46 ± 0.31%, luego comenzó su descenso hasta 1.52 ± 0.49% de exudado en el mes 12. ($r= -0.601$; $R^2=36.22\%$) (Tablas 6 y 7, Anexo 2, Figura 4.1B, DEA). Ben-Gigerey et al. (1999) observaron que el incremento del *dripping* se atribuye a un cambio en las proteínas miofibrilares, puesto que éstas disminuirían su capacidad de retener agua debido a la desnaturalización y agregación de las proteínas. Ben-Gigirey et al. (1999) encontraron valores de 10.30% de exudado para albacora (*Thunnus alalunga*) almacenada a -25ºC durante 12 meses.

Los valores promedios del análisis individual de los 5 salmones para los descriptores de color (*L**, *a**, valor Hue, y cromaticidad C*) de muestras de salmón presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) en el tiempo de almacenamiento congelado (Tablas 6 y 7, Anexo 2). La tonalidad expresada por el ángulo Hue disminuyó significativamente ($p<0.05$) aunque de forma muy leve ($r= 0.422$; $R^2= 17.82\%$) y el tono rojo (*a**) ($r=0.270$; $R^2= 7.54\%$) y Cromaticidad C* ($r= 0.463$; $R^2=21.42\%$) aumentaron levemente ($p<0.05$). A pesar de existir diferencias significativas en los valores colorimétricos a través del tiempo ($p<0.05$) de almacenamiento congelado, no se apreció una tendencia clara en estos cambios (Tabla 4, DEA; Tablas 6 y 7, Anexo 2). Esto concuerda con lo observado por

Refsgaard et al. (1998), quienes señalaron que estos cambios de color poco definidos obedecían a variaciones biológicas.

Del estudio de conservación en congelado de salmón Coho se obtuvieron las siguientes correlaciones (Tabla 8, Anexo2): La correlación positiva existente entre la cohesividad (mm) y la dureza (N) indican que mientras más duro sea el filete más cohesivos se encuentran los miómeros ($p<0.05$). El análisis de correlación entre las propiedades texturales y sensoriales indicaron que a mayor valor de los descriptores cohesividad (mm), dureza (N) y firmeza del músculo congelado crudo el aspecto original del músculo congelado crudo es mayor ($p<0.05$). La firmeza del músculo congelado crudo de salmón presenta una correlación inversa con el tiempo de almacenamiento. Similares resultados se obtuvieron en el *gaping*, el que correlaciona positivamente con el tiempo de almacenamiento de congelación del salmón crudo e influye negativamente en el sabor típico del salmón cocido. Estos parámetros fueron corroborados por el descriptor textura típica cocida del músculo que indicó que con una mayor textura típica cocida se consigue un menor sabor modificado cocido del salmón.

El sabor típico salmón cocido del salmón presentó una alta correlación negativa en el tiempo de almacenamiento congelado. El descriptor sabor modificado cocido correlacionó negativamente con el olor típico cocido del salmón. El color Salmofan^{TM} medido en la escala Roche en salmón Coho entero almacenado a -20 °C ± 1º C durante 15 meses presentó correlación negativa con el parámetro de color *L** (luminosidad; 0-100) lo que indica que mientras más alto es el valor de la escala Salmofan^{TM} Roche, el valor de la luminosidad (*L**) del músculo crudo es menor ($p<0.05$).El análisis de correlación entre las propiedades de retención de agua en filete de salmón Coho como es el caso del *dripping* cocido presentó correlación negativa estadísticamente significativa con el valor *L**, lo que indica que una mayor pérdida de agua por exudado del músculo durante la cocción el valor de *L** disminuye ($p<0.05$).

Del mismo modo el *dripping* cocido correlacionó positivamente con el valor de la escala de color Salmofan^{TM} Roche crudo indicando que a mayor pérdida de agua por exudado por cocción el valor de la puntuación de la escala Salmofan^{TM} Roche aumenta. El *dripping* cocido en salmón congelado correlacionó negativamente con el valor pH, indicando que un mayor exudado por cocción se presenta en el caso de un valor menor de pH. Durante el almacenamiento congelado los valores de pH del músculo fueron entre 6.06 ± 0.08 y 6.27 ± 0.08, no presentando diferencias significativas en el tiempo ($p>0.05$) (Tabla 5, Anexo 2). De acuerdo a Huss (1988), tras el sacrificio del pescado, éste entra en etapa de rigor mortis el cual hace disminuir el pH, observándose en especies como el bacalao un descenso desde 6.8 hasta un pH extremo de 6.1 – 6.5. Según esta referencia los valores obtenido al inicio del estudio representarían un pH post mortem. Lo que significaría que el pescado fue congelado durante esta etapa. El aumento del *dripping* en salmón congelado y evaluado crudo es consistente con la disminución de la capacidad de retención de agua debido a la desnaturalización de las proteínas miofibrilares de las fibras musculares, daño celular, menor solubilidad y agregación de las proteínas que tiene lugar durante la congelación y descongelación (Einen et al., 2002).

Durante la etapa de almacenamiento en estado congelado y posterior descongelación, las mayores pérdidas de calidad son la deshidratación, pérdida de fluidos por *dripping*, cambios en las propiedades funcionales, como por ejemplo la capacidad de retención de agua, y liberación de grasa. Las propiedades mecánicas también se ven afectadas y estos cambios negativos se consideran relacionados con el estado de las proteínas miofibrilares, especialmente la miosina, ya que después de algunos procesos estas proteínas se agregan causando pérdida de agua y una textura más dura del músculo.

Los cambios en el músculo de salmón Coho durante la conservación en estado congelado pueden ser explicados como resultado de la degradación autolítica, el desarrollo de la actividad microbiana y la alteración lipídica (oxidación e hidrólisis) (Whittle et al., 1990; Tantasuttikul et al., 2011). Los resultados del presente estudio se compararon con los obtenidos en el estudio paralelo para la hidrólisis, oxidación lipídicas y, la degradación autolítica en salmón Coho congelado (Rodríguez et al., 2007; Tabla 9, Anexo2).

En el presente trabajo, el aumento significativo del gaping del músculo crudo de salmón correlacionó positivamente con el contenido de ácidos grasos libres (FFA) e índice de peróxido (PV). Los cambios en el sabor típico del músculo cocido correlacionan en forma inversa con los contenidos de FFA y PV, indicando que un descenso del sabor del músculo cocido pueden ser debido a un aumento del grado de rancidez hidrolítica y oxidación primaria. Sin embargo, en el estudio paralelo, los valores obtenidos de estos parámetros en el transcurso del experimento y al final en el mes 15 presentaron niveles relativamente bajos en comparación a especies con contenidos de materia grasa similares y conservados bajo las mismas condiciones de almacenamiento congelado (Aubourg et al., 2005). Por lo tanto si bien existe una correlación entre estos parámetros un marcado desarrollo de rancidez hidrolítica y oxidación primaria no puede ser considerado en la presente experiencia (Rodríguez et al., 2007).

El almacenamiento al estado congelado del salmón entero HG a -20 °C ± 1 °C resultó en un decrecimiento significativo de los descriptores sensoriales firmeza del músculo crudo, sabor típico y aspecto original del músculo cocido a partir del mes 4.En el mes 12 de almacenamiento congelado los descriptores sabor y olor del músculo cocido presentaron el límite máximo de aceptabilidad mientras que, firmeza del músculo crudo fue el descriptor más indicativo del deterioro de la textura del salmón Coho congelado alcanzando la máxima puntuación aceptable hasta el mes 8.

De acuerdo a la escala de color Salmofan^{TM} Roche hasta el mes 10, el salmón se clasifica en categoría Premium y, en el mes 12 corresponde a grado 1. En relación al deterioro físico, el *gaping* según la escala utilizada, Ewos Innovation, 2004, los salmones congelados presentan calidad Premium hasta el mes 8 de almacenamiento congelado.

Correlaciones significativas se observaron entre *gaping* y sabor típico versus FFA y PV. Entre C.R.A y TBA-i, *dripping cocido* y FFA, firmeza del músculo crudo y PV.

4.1.1.2.3. Conclusiones

Del estudio de conservación en congelación de salmón Coho durante los 12 meses de almacenamiento a -20 °C se observó que el parámetro que presentó mayores cambios significativos fue la textura. Se observó una mayor pérdida de calidad en el músculo cocido que en el crudo y en los parámetros físicos que en los sensoriales. De esta manera, la evolución *dripping* medido en cocido presentó diferencias significativas en el tiempo ($p<0.05$) y se observó la mayor pérdida de líquido en el mes 0.

En relación a las propiedades de textura del salmón crudo, se observó una disminución brusca de la dureza a partir del cuarto mes. Así, la dureza reflejó una disminución al igual que la cohesividad, al comparar los valores iniciales. La capacidad de retención de agua CRA presentó diferencias significativas durante los 12 meses de almacenamiento a -20 °C ($p<0.05$). A partir del mes 6 aumentó significativamente la pérdida de agua y por lo tanto la CRA disminuyó. En lo que se refiere al *dripping* medido en crudo, presentó un incremento de la pérdida de agua hasta el mes 6 seguido de un descenso hasta el final de la conservación. Mientras que la evolución del *gaping* presentó diferencias significativas en el tiempo ($p<0.05$) y el número de incisiones en los miómeros del músculo indicando que el salmón mantenido congelado a -20 °C presentó el límite de calidad Premium en el mes 8.

De acuerdo a los descriptores firmeza sensorial presentó una disminución significativa en el tiempo ($p<0.05$). Sin embargo, hasta el mes 8 de conservación presentó un puntaje de textura típica sobre 5.0 considerada aceptable por los panelistas. Mientras que, el sabor y olor típico de salmón congelado y evaluado posteriormente cocido fueron evaluados hasta el mes 12 con puntuaciones mayores de 5, siendo considerado dentro de los rangos normales de olor y sabor típico del salmón Coho cocido. El análisis de color a nivel visual color Salmofan^{TM} Roche crudo reflejó categoría Premium hasta el mes 10 ($p<0.05$)

Estos resultados correlacionaron con parámetros de calidad químicos analizados en experimentos previos que fueron llevados a cabo utilizando material de partida y condiciones experimentales similares ($p<0.05$); entre estos parámetros se pueden mencionar el contenido en ácidos grasos libres, los índices de peróxidos, TBA y valor K. Correlaciones significativas se observaron entre *gaping* y sabor típico versus FFA y PV. Entre C.R.A y TBA-i, *dripping cocido* y FFA, firmeza del músculo crudo y PV. Sin embargo, en el estudio paralelo, los valores obtenidos de estos parámetros en el transcurso del experimento y al final en el mes 15 presentaron niveles relativamente bajos en comparación a especies con contenidos de materia grasa similares y conservados bajo las mismas condiciones de almacenamiento congelado.

.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2 PARTE 2. Aplicación de tecnologías avanzadas para la mejora de la calidad de distintos tipos de productos comerciales de salmón Coho.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO III. CAPÍTULO 3.

Título: Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5 °C)

Autores: Alicia Rodríguez, Nicolás Carriles, José Manuel Cruz, Santiago P. Aubourg.
Revista: Food Science and Technology (LWT); Índice de impacto: 2.416, Primer Cuartil. Editorial: Elsevier. Volumen 41, pág. 1726-1732.
Año: 2008

http://www.sciencedirect.com/science/journal/00236438/41/9

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2.1. Capítulo 3. Cambios relacionados con la calidad en músculo de salmón Coho cocido previamente conservado en hielo líquido (ANEXO 3).

4.2.1.1. Introducción

En este estudio, el salmón Coho fue sacrificado y posteriormente conservado en hielo líquido durante 9 días. Después de 0, 5 y 9 días de conservación, el salmón fue sometido a cocción (102-103 °C durante 25 minutos). Se estudió el efecto del tiempo de conservación en hielo sobre las propiedades sensoriales, físicas y químicas del producto cocido.

4.2.1.2. Resultados y discusión

4.2.1.2.1 Análisis de composición

Los contenidos en agua y lípidos de salmón cocido estuvieron incluidos en los intervalos 68.20-73.70 y 1.80-3.10 g/100g músculo, respectivamente (Tabla 1, Anexo 3). Ambos constituyentes no reflejaron diferencias en su contendido como resultado de la conservación previa en hielo. Comparado con los valores de la materia prima inicial todas las muestras cocidas mostraron un menor contenido de agua, la pérdida de agua puede ser explicada en términos de desnaturalización de proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares y disrupción de la estructura del músculo, esto llevaría a un decrecimiento de la capacidad de retención de agua de la fracción proteica (Castrillón et al., 1996; Seet and Brown, 1983). En el caso del contenido lipídico no se observó un efecto de la cocción, que sí se había observado en trabajos previos relacionados con especies grasas (Gallardo et al., 1989; García-Arias et al., 1994). En relación con el contenido en NaCl en músculo, los individuos conservados durante 9 días reflejaron un contenido superior a los correspondientes a los correspondientes a 0 y 5 días de conservación. Esta diferencia puede justificarse por el hecho de que el hielo líquido lleva alrededor de un 2% de NaCl; además, está de acuerdo con un estudio previo que demuestra la absorción de sal por parte del músculo de pescado durante el periodo de conservación (Losada et al., 2005). Sin embargo, los valores obtenidos son claramente inferiores a los observados en muestras de pescado conservado en agua de mar refrigerada (Smith et al., 1980).

4.2.1.2.2. Formación de aminas volátiles

Se observaron valores medios crecientes a nivel de BVT, aunque no se obtuvieron diferencias significativas como resultado del tiempo de refrigeración (Tabla 2, Anexo 3). Las diferencias, sí fueron significativas en el caso de la determinación del contenido en TMA (Tabla 2, Anexo3), observándose una formación significativa como resultado de aumentar el tiempo de conservación. La formación de TMA en las muestras cocidas puede explicarse a través de dos vías diferentes: a) Como resultado de la ruptura del OTMA por catálisis bacteriana durante la conservación en hielo, y b) La TMA puede producirse a partir de la ruptura térmica del OTMA durante el proceso de cocción. La gran diferencia entre el material de partida y el músculo cocido conservado 0 días en hielo líquido demuestra que el segundo factor ha sido más importante que el primero en este estudio.

El valor de pH no indicó diferencias como resultado del tiempo de conservación en hielo líquido. Como explicación se puede argüir que no se aplicó un tiempo de conservación excesivamente largo, habiéndose observado previamente un periodo de fase letal (lag phase) de 12 días para esta especie (Aubourg et al., 2007). Asimismo, la

temperatura de conservación inferior del hielo líquido frente al hielo tradicional tiene un efecto inhibidor más fuerte sobre el desarrollo microbiano.

4.2.1.2.3. Desarrollo de hidrólisis y oxidación lipídicas

Se observó un incremento progresivo y significativo de la formación de AGL como resultado de incrementar el tiempo de conservación (Tabla 2, Anexo 3). En el presente experimento, se pueden considerar distintas vías de formación de AGL a lo largo de los distintos pasos considerados. Así, se considera que la formación de AGL durante periodos relativamente cortos de conservación en hielo es el resultado de la catálisis por enzimas endógenas, y los efectos microbianos deben ser importantes únicamente después del periodo de fase letal (Whittle et al., 1990; Olafsdóttir et al., 1997). Posteriormente, durante el tratamiento térmico, la rotura de lípidos de alto peso molecular (fundamentalmente TG y PL) es la fuente principal de formación de AGL (Gallardo et al., 1989; Yamamoto and Imose, 1989). Los resultados obtenidos demuestran que la formación enzimática ha tenido más importancia que el efecto del calor.

Se observó una formación importante de peróxidos como resultado de la cocción, así como al incrementar el tiempo de conservación en hielo de 0 a 5 días (Tabla 3, Anexo 3). Sin embargo, si el tiempo de refrigeración aumentaba a 9 días, se observó una caída de la formación de peróxidos en el correspondiente producto cocido. Este resultado se puede justificar como que una vez que la formación de peróxidos se ha iniciado, los valores obtenidos son el resultado del equilibrio entre las velocidades de formación y de ruptura (Aubourg, 1999).

El IA reflejó un importante efecto de la cocción y del tiempo de refrigeración (Tabla 3, Anexo 3). Así, ambos pasos llevaron a un incremento en este índice. Un resultado similar se obtuvo al medir el i-TBA. Nuevamente, la fracción de productos secundarios de oxidación resultó una herramienta útil al objeto de medir los cambios químicos experimentados por el músculo de salmón Coho. Así, estudios previos habían demostrado que la formación de compuestos carbonílicos durante la cocción de sardina y atún (Yamamoto e Imose, 1989; Aubourg et al., 1995).

La determinación de compuestos de interacción mediante la medida del desarrollo de fluorescencia y pardeamiento reflejan que tanto la cocción como el tiempo previo de refrigeración favorecen un incremento de su formación. Este resultado coincide con los obtenidos en los IA y e i-TBA. La formación de compuestos de interacción, también llamada oxidación terciaria (Pokorný, 1981; Aubourg, 1999), se explica como resultados de la interacción entre productos de oxidación lipídica (primarios y secundarios) y moléculas de tipo proteico presentes en el músculo; esta interacción se ve acelerada en procesos que impliquen subidas de temperatura.

4.2.1.2.4. Evaluación de propiedades de textura

Los cambios en textura fueron medidos a través de la firmeza y la cohesividad (Figura 1, Anexo 3). Depende de muchos factores biológicos intrínsecos relacionados con la densidad de las fibras del músculo, y de los contenidos en grasa y colágeno (Sigurgisladóttir et al., 1999; Olafsdóttir et al., 2004). Resultados previos han demostrado que el pescado se convierte en menos firme al aumentar el periodo previo de refrigeración (Alasalvar et al., 2001). Por otra parte, el calor convierte al músculo en un material opaco y firme, donde el tejido conectivo que mantiene las células unidas se ha desnaturalizado, por lo que los bloques de células se separan entre sí (Aitken and Connell, 1979). También se ha mencionado que los cambios de textura pueden producirse como resultado del entrecruzamiento de cadenas proteicas por reacción con productos de oxidación lipídica (Pokorný, 1981; Sikorski and Kolakwska, 1994).

4.2.1.2.5. Análisis sensorial

Se analizó el desarrollo de olores rancio y pútrido (Figura 2, Anexo 3). En ambos casos se obtuvieron valores bajos, por lo que el pescado cocido obtenido fue considerado altamente aceptable. No se observó efecto alguno como resultado de aumentar el tiempo de refrigeración, de acuerdo con el tiempo de vida útil amplio ya previamente indicado para especies de salmón bajo condiciones de conservación en hielo (Sveinsdóttir et al., 2002).

4.2.1.3 Conclusiones

Se evidenció un incremento de trimetilamina, hidrólisis de lípidos, oxidación lipídica (valores de ácido tiobarbitúrico y anisidina) y la formación de compuestos de interacción (mediciones de fluorescencia y pardeamiento). La estructura del músculo del salmón se hizo más quebradiza con el aumento del almacenamiento previo en hielo líquido, pero no hubo cambios significativos en la evaluación sensorial en cuanto a olores rancios y pútridos, observándose puntuaciones menores de 0.5 en una escala de 11 puntos. A partir de los resultados, el desarrollo de oxidación primaria y secundaria de lípidos y la formación de compuestos de interacción parecen ser los principales indicadores de cambios medibles de calidad en salmón Coho cocido. Sin embargo, de acuerdo a la evaluación sensorial la suspensión de hielo ha demostrado ser un medio adecuado para el almacenamiento previo del salmón Coho por periodos de hasta 9 días.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO IV. CAPÍTULO 4.

Título: Effect of chill storage under different icing conditions on sensory and physical properties of canned farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*).

Autores: Alicia Rodríguez, Nicolás Carriles, Santiago P. Aubourg.
Revista: International Journal of Food Science and Technology; Índice de impacto: 1.384, Segundo Cuartil. Editorial: Wiley Online Library. Volumen: 45, pág.:295-304.
Año: 2010.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2009.02135.x/abstract

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Capítulo 4. Efecto de distintas condiciones previas de conservación en hielo sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho enlatado (ANEXO 4).

.

4.2.2.1. Introducción

Este estudio se centra en las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho enlatado, previamente sacrificado y conservado en distintas condiciones de conservación en hielo (9 días). El trabajo refleja un estudio comparativo del empleo de hielo líquido frente al hielo tradicional en escamas.

4.2.2.2. Resultados y discusión

4.2.2.2.1. Análisis de textura

El análisis sensorial de la firmeza y la cohesividad del músculo de pescado (Tabla 1, Anexo 4) indicó que el proceso de enlatado había llevado a un producto con menor firmeza media y menor cohesividad. El panel sensorial no observó efecto del tipo de hielo empleado durante el sacrificio y la conservación. Asimismo, un incremento del tiempo de conservación en ambos hielos hasta 9 días no implicó cambios en ambas propiedades de textura.

La medida de textura también se llevó a cabo por métodos físicos (Tabla 2, Anexo 4). Así, como resultado del enlatado se observó un incremento de la firmeza, de acuerdo con los resultados obtenidos por Schubring (2008) al someter a calentamiento trucha arcoíris. Además, se obtuvieron valores superiores para pescado previamente conservados en HT. Para ambas condiciones de hielo, no se detectaron diferencias como resultado de incrementar el tiempo de refrigeración. En relación con el análisis de cohesividad (Tabla 2, Anexo 4), el músculo enlatado reflejó, al igual que en la medida sensorial, valores menores que el músculo crudo. No se observaron diferencias al comparar muestras de ambos hielos, ni tampoco como resultado de alargar el tiempo de conservación.

De acuerdo con las medidas sensoriales y físicas, se ha producido un incremento en la firmeza y un descenso en la cohesividad como resultado del proceso de enlatado, de manera que se ha obtenido una estructura más frágil y más vulnerable al daño mecánico.

Estudios previos indican que el calor convierte la masa traslúcida del músculo de pescado en un producto opaco y más firme como resultado de la desnaturalización proteica y de la pérdida de agua. Asimismo, el tejido conectivo que mantiene las células unidas se degrada por acción del calor, de manera que los bloques de células se separan más unos de otros, lo cual conlleva un descenso de la cohesividad (Aitken and Connell, 1979); la hidrólisis de colágeno para producir gelatina durante el tratamiento térmico eliminaría el papel del tejido conectivo de manera que no hubiese unión entre miotomos o entre músculo y hueso (Ma et al., 1983).

A nivel de contenido en NaCl, el músculo enlatado reflejó valores incluidos en el rango 10.0-14.4 g kg-1, ampliamente superiores a los del valor inicial (0.5 g kg-1). Este incremento concuerda con el efecto reconocido para esta molécula en el sentido de incrementar los valores de algunas propiedades físicas como la textura (Slabyj and True, 1978; Chiralt et al., 2001). Entre muestras enlatadas, se obtuvieron valores superiores en las correspondientes al HL al ser comparadas con las de HT.

4.2.2.2.2. Desarrollo de olor

El desarrollo de olores oxidado y pútrido fue medido por el panel sensorial (Tabla 1, Anexo 4). Se obtuvieron valores muy bajos para ambos descriptores, de manera que todos los tipos de músculo fueron altamente aceptables. Estos resultados indicaron que bajo estas condiciones experimentales, se obtuvo un desarrollo muy bajo de rancidez y de actividad microbiana a lo largo del proceso de enlatado, incluyendo sacrificio, conservación en hielo, cocción y enlatado. Ambos valores de olor no proporcionaron diferencias significativas como resultado del tiempo de conservación en ambas condiciones de hielo. Un estudio previo demostró una mejora de la calidad sensorial en pescado conservado en HL frente al conservado en HT (Piñeiro et al., 2004). Sin embargo, los resultados presentes han revelado que después de un tratamiento enérgico (cocción y esterilización), tales ventajas sensoriales no fueron perceptibles en el producto enlatado.

El desarrollo de olores oxidado y pútrido fue medido también en el aceite de cobertura. Los resultados se indican en la Tabla 3 (Anexo 4). A pesar de reflejar valores crecientes al ser comparados con el aceite inicial, ambos atributos proporcionaron valores relativamente bajos, de manera que todos los aceites enlatados fueron considerados como altamente aceptables. No se detectó efecto del tratamiento térmico sobre el desarrollo de olor al ser comparado el olor inicial con los aceites calentados. Por ello, la presencia en los aceites de cobertura de moléculas responsables de los olores oxidado y pútrido, pueden ser explicadas parcialmente por su habilidad para extraerlos del musculo enlatado y parcialmente a causa de la habilidad del aceite para interactuar con los constituyentes químicos presentes en el músculo de pescado. Tal interacción entre ambas fases de la lata fue observada en trabajos previos en relación con aspectos nutricionales y de calidad (Aubourg and Medina, 1997; Aubourg et al., 1997). Los valores del olor oxidado mostraron un incremento con el tiempo de conservación para los aceites de cobertura correspondientes a ambos hielos; además, se observaron valores medios superiores en el caso de las muestras correspondientes al tratamiento HT.

4.2.2.2.3. Análisis de los cambios de color y de turbidez

En comparación con la muestra de partida, el proceso de enlatado llevó a productos con valores superiores en los parámetros *L** y *b**, e inferiores en *a** (Tabla 4, Anexo 4). Los valores obtenidos de *L** y *a** están de acuerdo con los obtenidos para otras especies de pescado (Choudhry, 1977; Schubring, 2008), incluyendo una buena correlación entre el parámetro *a** y el contenido en pigmentos carotenos (Choudhry, 1977). Asimismo, una bajada del valor a* se ha correlacionado con la oxidación lipídica catalizada por la hemoglobina, proporcionando una relación inversa con el desarrollo de la oxidación secundaria (Wetterskog and Undeland, 2004). Por otra parte, se ha observado que pescado procesado térmicamente era siempre más amarillo (mayor valor b*) que el crudo (Choudhry, 1977), de acuerdo con los resultados presentes. Asimismo, se ha obtenido una importante relación entre el valor b* y la formación de bases de Schiff polimerizadas y compuestos fluorescentes (productos terciarios de oxidación) (Undeland et al., 2003). Aunque se han encontrado algunas diferencias en el presente estudio como resultado del tiempo de refrigeración y del tipo de hielo previamente empleado, no se ha podido concluir una tendencia general en base a estos dos efectos.

En este estudio se analizaron también los parámetros de color en el líquido de cobertura. El proceso de enlatado llevó a importantes descensos en todos los parámetros.

Asimismo, la comparación entre aceite inicial y aceite calentado demostró un incremento para los parámetros *L** y *b**, y descenso para *a**, como resultado del tratamiento térmico. Como en el caso del análisis del músculo enlatado, el análisis de los

aceites de cobertura no reflejó un efecto significativo ni como resultado del tiempo de refrigeración, ni del tipo de hielo empleado.

Se detectaron incrementos significativos en turbidez en los aceites de cobertura al ser comparados con los iniciales y con los calentados (Tabla 3, Anexo 4). Este incremento puede ser explicado como resultado de la pérdida de agua del músculo de salmón en el interior de la lata. Se obtuvieron valores medios superiores de turbidez en los aceites de cobertura correspondientes al pescado tratado previamente con HT que en sus correspondientes de HL.

4.2.2.2.4. Formación de compuestos de hidrólisis

La determinación de TMA indicó una formación importante como resultado del enlatado, al ser comparadas las muestras enlatadas con las iniciales crudas (Figura 1, Anexo 4). Este resultado coincide con un estudio previo en albacora (Gallardo et al., 1990); en este último caso, se observó un importante descenso del contenido en OTMA, acompañado de un marcado incremento en el valor de TMA durante la cocción y la esterilización. Sin embargo, no se observó efecto del tiempo de refrigeración o del tipo de hielo empleado, que sí se obtuvo en un estudio previo llevado a cabo en sardina refrigerada (Losada et al., 2006).

Los resultados obtenidos para la formación de AGL se indican en la Figura 2 (Anexo 4). El pescado enlatado correspondiente al día 1 de refrigeración reflejó un importante incremento al compararse con la muestra inicial (efecto de rotura térmica). Además, se observó un efecto importante del tiempo de refrigeración como resultado de aplicar ambos tipos de hielo, y que se obtuvieron valores crecientes de AGL al incrementar el tiempo de conservación previo (Madhavan et al., 1970; Aubourg and Medina, 1997). Finalmente, se obtuvieron valores medios superiores en todos los casos para pescado que había sido conservado en HT frente al correspondiente de HL. Este resultado está de acuerdo con un trabajo previo sobre pescado refrigerado donde se obtuvo una formación inferior de AGL en pescado conservado en HL frente a su correspondiente en HT (Piñeiro et al., 2004). Se obtuvieron buenos valores de correlación (r^2 = 0.91 y r^2 = 0.94, para HT y HL, respectivamente) entre la formación de AGL en productos enlatados y los valores de olor oxidado en los aceites de cobertura, de acuerdo con la importante relación existente entre hidrólisis y oxidación lipídicas (Rzhavskaya and Fonarev, 1988; Aubourg, 2001).

Los resultados obtenidos en la determinación del valor K se indican en la Figura 3 (Anexo 4). No se pudo concluir un efecto del tratamiento térmico (cocción y esterilización) sobre el valor K, ya que no se observaron diferencias entre las muestras iniciales y las correspondientes al día de conservación en hielo. De esta manera, se observó un valor creciente con el tiempo de refrigeración y se concluyó un comportamiento autolítico inferior en pescado correspondiente a la conservación previa en HL. Se obtuvo una buena correlación (r^2 = 0.93 y r^2 = 0.95 para las muestras correspondientes a HT y HL, respectivamente) entre el valor K en el pescado enlatado y los valores de olor oxidado en aceites de cobertura. Previamente (Piñeiro et al., 2004), se observó un valor inferior para el valor K en pescado refrigerado en HL al ser comparado con pescado conservado en HT.

Se consideró que el valor K podría ser considerado como una herramienta útil para detectar la frescura del material de partida empleado para la elaboración de productos enlatados.

4.2.2.3. Conclusiones

Los diferentes pasos incluidos en el proceso del enlatado han llevado a importantes cambios en las propiedades sensoriales y físicas del producto. La mayoría de los cambios

(especialmente textura y color) pueden relacionarse con el tratamiento térmico (cocción y esterilización), mientras que las condiciones de conservación previa (sistema de hielo y tiempo de aplicación) reflejaron únicamente cambios sobre las propiedades sensoriales y físicas (básicamente olor oxidado y turbidez en líquido de cobertura) en el producto enlatado.

De acuerdo con los valores de olores oxidado y pútrido (medidos en músculo de pescado y en aceite de cobertura), se puede concluir que el salmón Coho ha llevado a un producto enlatado altamente aceptable bajo las presentes condiciones ensayadas (sacrificio y conservación en hielo hasta 9 días). Se pudo observar un efecto mayor de la condición de hielo y su tiempo de aplicación al analizar la formación hidrolítica de algunos metabolitos químicos. Así, la formación de AGL y el valor K en músculo enlatado reflejaron una influencia importante del sistema de hielo previamente empleado, así como del tiempo en hielo; asimismo, la formación de TMA indicó un patrón similar a la mayoría de las propiedades sensoriales y físicas. Se obtuvo un buen valor de correlación para el olor oxidado en el aceite de cobertura con el contenido en AGL y el valor K en el músculo enlatado.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO V. CAPÍTULO 5.

Título: Effect of a polyphenol-vacuum packaging on lipid deterioration during an 18 month frozen storage of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).

Autores: Alicia Rodríguez, José Manuel Cruz, Perfecto Paseiro-Losada, Santiago P. Aubourg.
Revista: Food and Bioprocess and Technology; Índice de impacto: 2.691, Primer Cuartil. Editorial: Springer. Volumen: 5, pág.:2602-2511.
Año: 2012.

http://link.springer.com/article/10.1007/s11947-011-0588-5?no-access=true

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2.3. Capítulo 5. Efecto de un sistema de envasado combinando vacío y compuestos polifenólicos sobre la deterioración lipídica en salmón Coho congelado

4.2.3.1. Introducción

Este trabajo se centró en la mejora de la calidad del salmón Coho mediante un sistema de envasado para su conservación en almacenamiento al estado congelado a -18 °C durante18 meses (Paseiro et al., 2010). En él, se ensayó un sistema de envasado consistente en una película incluyendo compuestos polifenólicos (ácidos *p*-cumárico y ferúlico) que se extrajeron de la fracción de lignina de la cascarilla de cebada y se cuantificaron de acuerdo a investigaciones previas realizadas por Cruz et al. (2007). Se analizó su efecto sobre los parámetros de alteración lipídica (hidrólisis y oxidación). Las condiciones ensayadas fueron 29 y 19 µg (condición P1) y 88 y 40 µg (condición P2) de ácidos *p*-cumárico y ferúlico, respectivamente; se compararon con envasado a vacío (condición VP) y envasado sin vacío ni polifenoles (condición CP; control).

4.2.3.2. Resultados y discusión

4.2.3.2.1. Medida de la oxidación lipídica

Las muestras de salmón correspondientes a las condiciones CP y VP reflejaron un incremento progresivo en la formación de dienos conjugados ($p<0.05$) a lo largo del tiempo de conservación (Tabla 1, Anexo 5) (r^2 = 0.90-0.92, correlación cuadrática). Simultáneamente, se observó un desarrollo distinto en el pescado correspondiente a los tratamientos P1 y P2; bajo estas condiciones, los valores medios obtenidos mostraron un descenso progresivo durante el periodo 0-9 meses, seguido de un aumento al mes 15. La comparación entre muestras correspondientes a los sistemas de envasado reveló valores medios menores para aquellas muestras correspondientes a las películas portadoras de compuestos polifenólicos; dichas diferencias fueron significativas en el periodo 3-9 meses. Sin embargo, no se observaron diferencias como resultado de incrementar el contenido en polifenoles. Asimismo, se obtuvieron valores menores en la mayoría de los casos en pescado correspondiente al tratamiento VP al ser comparado con el control (condición CP), siendo significativas dichas diferencias únicamente a mes 9.

Se observó un efecto inhibidor sobre la formación de peróxidos en todos los envasados incluyendo vacío (condiciones VP, P1 y P2) a lo largo del tiempo de conservación (meses 9-18) (Tabla 1, Anexo 5). Sin embargo, no se obtuvieron diferencias como resultado de la presencia de los compuestos polifenólicos, ni de su contenido. En todas las condiciones de envasado incluyendo vacío se observó una formación progresiva de peróxidos a lo largo del periodo de conservación (r^2 = 0.89-0.93). En el caso del pescado control, se observó un descenso importante al final del experimento, fácilmente explicable como resultado de la descomposición de peróxidos. Resultados previos indicaron que en estudios de oxidación avanzada, los peróxidos son capaces de descomponerse o de reaccionar con otros constituyentes de manera que su contenido disminuye, a pesar de aumentar el grado de alteración del pescado (Christophersen et al., 1992; Ortiz et al., 2009).

La oxidación secundaria fue medida a través del índice de anisidina (IA). Los resultados obtenidos fueron muy similares a los del índice de peróxidos (IP) (Figura 1, Anexo 5). Así, se observó un efecto inhibidor ($p<0.05$) de la formación de aldehídos alfa- y beta-insaturados como resultado de aplicar un sistema con vacío (condiciones VP, P1 y P2); sin embargo no se reflejaron diferencias como resultado de la presencia y contenido

de compuestos polifenólicos. Pereira de Abreu et al. (2010) evaluaron la efectividad de una nueva película de envasado activo que contiene antioxidantes naturales (de las cáscaras de la cebada) en salmón Atlántico (*Salmo salar* L.) congelado y los resultados confirmaron la eficacia obtenida de antioxidantes naturales derivados de cáscaras de cebada en el retraso de la hidrólisis de lípidos y además, en el aumento de la estabilidad oxidativa del músculo de salmón.

En comparación con el pescado de partida, se produjo un incremento en el IA en todas las muestras a mes 3; posteriormente, únicamente en las muestras control y a mes 9 se observó un incremento en este índice. Este resultado puede ser explicado por el hecho de que las moléculas susceptibles de ser medidas con este índice (fundamentalmente aldehídos alfa-insaturados) son conocidos por ser más reactivos que los saturados, de acuerdo con la posibilidad de experimentar un ataque de tipo Michael (McMurry, 1992). Tal ataque consistiría en un ataque de tipo beta al aldehído insaturado por un compuesto nucleófilo. Como resultado de incrementar la alteración del pescado durante la conservación en congelación en el periodo 3-18 meses, sería de esperar un mayor contenido en compuestos nucleófilos, lo cual facilitaría el proceso de ataque Michael; consiguientemente, no podría incrementar el contenido en aldehídos de tipo alfa durante este periodo.

La interacción entre productos de oxidación lipídica y moléculas de tipo nucleófilo (fundamentalmente aminadas) fue medida a través de las propiedades fluorescentes (valor FR). Todas las muestras proporcionaron un incremento progresivo con el tiempo (r^2 = 0.89-0.95, correlación cuadrática), siendo ésta mayor en el caso de pescado correspondiente a las condiciones CP y VP (Tabla 2, Anexo 5). La comparación de muestras en el periodo 0-9 meses no reflejó diferencias. Sin embargo, se observó un efecto inhibidor en la formación de compuestos fluorescentes en las muestras portadoras de compuestos polifenólicos al final del experimento; simultáneamente no se observaron diferencias como resultado de incrementar su contenido (comparación de condiciones P1 y P2).

Este incremento en la formación de compuestos de interacción se corresponde con los resultados anteriormente mencionados en relación con las oxidaciones primarias y secundarias. El carácter electrófilo de la mayoría de los compuestos de oxidación los lleva a interaccionar con constituyentes alimenticios poseedores de funciones nucleófilas (Aubourg 1999; Tironi et al., 2002). Tales interacciones son muy importantes, particularmente en alimentos ricos en proteínas tales como los marinos, conocidos por sus altos contenidos en aminoácidos muy reactivos como la lisina y la metionina (Simopoulos, 1997). En el presente estudio, la formación de compuestos primarios y terciarios de oxidación resultó ser de utilidad al objeto de analizar las diferencias en el desarrollo de la oxidación lipídica durante el periodo de conservación en congelación.

4.2.3.2.2. Análisis de la hidrólisis lipídica

Se midió a través de la formación de ácidos grasos libres (AGL) (Figura 2, Anexo 5). Ésta aumentó con el tiempo en todas las muestras (r^2 = 0.91-0.94), indicando que las enzimas correspondientes a la hidrólisis lipídica (lipasas y fosfolipasas) están todavía activas durante la conservación en congelación (-18ºC) de salmón Coho. Al igual que en este estudio, se observó previamente una formación lineal con el tiempo para esta especie bajo condiciones similares de congelación (Ortiz et al., 2009). Sin embargo, la mayoría de estudios previos indican una formación logarítmica de AGL en congelación (Ingemansson et al., 1995; Aubourg, 1999; Rodríguez et al., 2007) de manera que se obtiene una formación importante en el primer periodo de la conservación (0-3 meses), que se explicaría como resultado de la liberación de enzimas desde los liposomas,

facilitada por la proximidad entre enzimas y substratos (Sikorski and Kolakowski, 2000). En el presente estudio se observaron algunas diferencias entre muestras como resultado de las condiciones de envasado. Sin embargo, no se obtuvo una conclusión definitiva en relación con el efecto del envasado sobre el desarrollo de la hidrólisis lipídica.

Se obtuvieron buenos valores de correlación entre la formación de AGL y el valor FR (r^2 = 0.86-0.93). Este resultado ha sido observado previamente en salmón Coho durante su conservación en congelación (Ortiz et al., 2009). En este sentido, se ha indicado que la liberación de AGL a partir de la matriz de TG podría acelerar su interacción con catalizadores de oxidación, y por tanto, acelerar la oxidación lipídica (Sista et al., 1997). Este efecto pro-oxidante se ha explicado sobre la base de un efecto catalítico del grupo carboxílico sobre la formación de radicales libres por descomposición de hidroperóxidos (Aubourg, 2001).

4.2.3.2.3. Cambios lipídicos relacionados con el valor nutritivo

La alteración desarrollada por los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) durante el presente estudio se midió a través del índice de polienos. El pescado de partida reflejó un valor de 1.29±0.04, de acuerdo con datos previos (Rodríguez et al., 2007), pero inferior al descrito para la misma especie proveniente de condiciones salvajes (Gruger et al., 1964).

Se observó en todas las muestras un descenso lento en el índice de polienos con el tiempo de conservación (Tabla 2, Anexo 5) (r2 = 0.91-0.98, relación cuadrática). Estos estudios previos reflejaron también un efecto importante del desarrollo de la oxidación lipídica sobre la pérdida de PUFA durante la conservación en congelación de esta especie (Rodríguez et al., 2007; Ortiz et al., 2009), así como para otras especies salmónidas tales como el salmón Atlántico cultivado (Refsgaard et al., 1998) y salmón de mar salvaje (Tironi et al., 2010). Sin embargo, en el presente estudio el índice de polienos no proporcionó una buena correlación con los distintos productos de oxidación lipídica; en cambio, sí una correlación aceptable con la formación de AGL (r^2 = 0.85.0.90).

A lo largo del tiempo de conservación no se obtuvieron diferencias significativas en el índice de polienos entre los distintos tipos de muestras, de manera que tanto la aplicación de vacío como la presencia de compuestos polifenólicos no demostraron efecto alguno (Tabla 2, Anexo 5). En un estudio previo (Tironi et al., 2010), la adición de un extracto de romero a salmón de mar desmenuzado y posteriormente congelado a -11 °C durante 4 meses demostró inhibir la alteración de DHA y de EPA. También en contra de los resultados presentes, se observó una inhibición del descenso en el índice de polienos en salmón Coho cultivado que había sido previamente alimentado con dieta incluyendo antioxidantes naturales adicionales (extracto de romero y tocoferoles) (Ortiz et al., 2009).

En relación con el análisis del contenido en tocoferoles, tres de ellos (alfa, gamma y delta) fueron detectados en las diferentes muestras. Sin embargo, el delta-tocoferol fue detectado en concentraciones muy bajas (<1.0 mg kg^{-1} músculo) de manera que no fue posible cuantificarlo de forma satisfactoria. Los valores obtenidos en pescado de partida para alfa- y delta-tocoferol fueron 11.41±0.18 y 8.04±1.20 mg kg^{-1} músculo, respectivamente. A lo largo de la conservación en congelación, ambos tocoferoles reflejaron un descenso en su contenido en la mayoría de los casos (Tabla 3, Anexo 5), especialmente en el caso del alfa-tocoferol. De acuerdo con esto, gamma-tocoferol reflejó valores de correlación pobres con el tiempo de conservación, mientras que alfa-tocoferol llevó a valores aceptables (r^2 = 0.77-0.90, relación cuadrática). El índice de alteración lipídica que mejor se correlacionó con las pérdidas de ambos tocoferoles fue la formación de DC (r^2 = 0.81-0.89 y 0.83-0.90, respectivamente); este resultado puede justificarse por el hecho de que los tocoferoles son antioxidantes endógenos que pueden actuar como desactivadores de radicales libres, de manera que intervienen precisamente en la formación

de los compuestos de oxidación primaria (como los dienos conjugados). Las pérdidas en tocoferoles obtenidas en este estudio se correlacionan con las observadas en otras especies durante su conservación en congelación como la trucha arcoíris (Baron et al., 2007) y pez gato americano cultivado (Brannan and Erickson, 1996).

Se obtuvieron valores medios menores en ambos tocoferoles en las muestras correspondientes al control al ser comparadas con el salmón correspondiente a todos los sistemas de envasado incluyendo vacío. Además, se obtuvieron valores medios superiores para alfa-tocoferol en pescado correspondiente a la condición P2 al ser comparado con su correspondiente de la condición VP. Por tanto, se concluye un efecto inhibidor parcial sobre la pérdida de alfa-tocoferol como resultado de aplicar vacío y debido a la presencia de polifenoles. Previamente se observó la inhibición de la pérdida de alfa-tocoferol por adición de polifenoles de uva (rica en compuestos de tipo procianidínico) en pescado congelado desmenuzado (Pazos et al., 2005a); en dicho experimento, la pérdida de alfa-tocoferol se correlacionó de forma satisfactoria con la evolución de la oxidación lipídica.

4.2.3.2.4. Medida de olor rancio

Se detectó un desarrollo de olor rancio bajo en todas las muestras (Figura 3, Anexo 5), estando todas las valoraciones por debajo del valor 0.5. Este resultado está de acuerdo con estudios previos donde salmón Coho cultivado fue conservado a -18 °C hasta 15 meses (Rodríguez et al., 2007). El desarrollo de olor rancio ha demostrado ser el limitante de aceptabilidad para la mayoría de las especies grasas conservadas en condiciones de congelación (Erickson, 1997; Kolakowska, 2003). Sin embargo, de acuerdo con los resultados presentes, el desarrollo de olor rancio no se observó como factor decisivo durante la congelación de otras especies de salmónidos como trucha arcoíris (Christophersen et al., 1992) y salmón Atlántico (Refsgaard et al., 1998).

Los valores de olor rancio incrementaron en todas las muestras durante el periodo 0-9 meses, de acuerdo con estudios previos (Rodriguez et al., 2007). Posteriormente, se obtuvo un valor creciente en pescado conservado en condiciones incluyendo vacío (VP, P1 y P2) y permaneció constante en pescado control. A lo largo de todo el experimento, la medida de olor rancio mostró valores medios superiores para pescado conservado en condiciones CP al ser comparado con las muestras correspondientes a las condiciones que incluyen vacío (Figura 3, Anexo 5); las diferencias fueron significativas ($p<0.05$) en el periodo 15-28 meses. Sin embargo, no se pudo inferir efecto alguno como resultado de la presencia de los compuestos polifenólicos en el film de cobertura. De acuerdo con los resultados presentes, la calidad sensorial se mantuvo igual en trucha arcoíris congelada (-18 °C) por aplicación de un envasado con bajo valor de transmisión de oxígeno (Bjerkeng and Johnsen, 1995).

4.2.3.2.5. Conclusiones

En este trabajo, se aplicó una combinación de vacío y extractos polifenólicos obtenidos a partir de cáscara de cebada a salmón Coho cultivado. De acuerdo con los datos de oxidación primaria (formación de dienos conjugados) y terciarios (formación de compuestos fluorescentes), se concluyó un efecto inhibidor parcial sobre el desarrollo de la rancidez como resultado de la utilización de este sistema. Además, todos los envasados que incluían vacío (VP, P1 y P2) llevaron a valores menores de los índices de peróxidos y anisidina, a un menor desarrollo de olor rancio y a un efecto inhibidor de la pérdida de tocoferoles alfa y gamma al ser comparados con pescado control. Sin embargo, no se

observó efecto inhibidor sobre el índice de peróxidos, ni consiguientemente, sobre la retención de PUFA.

Las ventajas obtenidas como resultado de la presencia de los compuestos polifenólicos en el envase son comparables a las obtenidas al aplicar vacío considerando además su interacción en forma activa y continua con el salmón durante el almacenamiento congelado por 18 meses.

Este estudio presenta una primera aproximación al uso de una condición nueva de envasado enfocada a la conservación en congelación de especies de pescado graso como el salmón Coho.Se plantean nuevos estudios al objeto de optimizar la composición cuantitativa presente en películas susceptibles de ser empleadas durante al conservación en congelación de salmón Coho.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO VI. CAPÍTULO 6.

Título: Effect of the antioxidants composition in diet on the sensory and physical properties of frozen farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).

Autores: Alicia Rodríguez, Mónica Latorre, Mónica Gajardo, Andrea Bunger, Alejandro Munizaga, Luis López, Santiago P. Aubourg.

Revista: Journal of the Science of Food and Agriculture; Índice de impacto: 1.714, Segundo Cuartil. Editorial: Wiley on line library.com DOI 10.1002/jsfa.6808. Volumen: 95, Pág.1199-1206.

Editorial: PubMed.gov

Año: 2015.

www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25043293

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2.4. Capítulo 6. Efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho congelado

4.2.4.1. Introducción

En este estudio, el salmón Coho cultivado fue alimentado con una dieta convencional enriquecida con distintos tipos de antioxidantes: sintéticos (BHT y etoxiquina; dieta I), una mezcla rica en tocoferoles (dieta II) y una mezcla de tocoferoles y extracto de romero (dieta III). Se llevó a cabo un análisis comparativo del efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre los cambios sensoriales y físicos en el producto congelado correspondiente. El estudio se centra en el reemplazo de antioxidantes sintéticos de la dieta por naturales.

4.2.4.2. Resultados y discusión

4.2.4.2.1. Medida de olor y sabor desarrollados

En todos los tipos de muestras se observaron valores decrecientes con el tiempo de congelación tanto para el olor típico (r = 0.94-0.76, correlación lineal; Figura 2, Anexo 6) como para el sabor típico (r = 0.90-0.80, correlación lineal; Figura 3, Anexo 6); este descenso concuerda con un trabajo previo realizado sobre la misma especie y conservada en condiciones similares (15 meses a -18 °C) (Rodríguez et al., 2007). Simultáneamente, se obtuvo un desarrollo general bajo de olor rancio (r = 0.97-0.87, correlación cuadrática; Figura 3, Anexo 6) y de sabor rancio (r = 0.98-0.92, correlación cuadrática; Figura 3, Anexo 6) con el tiempo de congelación en todos los casos; ambos descriptores reflejaron un desarrollo despreciable en el periodo 0-9 meses, seguido de un incremento en el periodo 12-18 meses, con valores inferiores a 2.7 en todo los casos. Finalmente, se pudo observar un desarrollo de olor y sabor pútridos muy bajo, estando todos los valores obtenidos en el rango 0-1 (Tabla 1, Anexo 6).

En lo que respecta a la comparación entre dietas, el pescado correspondiente a la dieta I mostró un descenso de calidad mayor al final del experimento al ser comparado con el de las otras dietas enriquecidas con antioxidantes naturales; en este tiempo, se obtuvieron valores superiores en olores pútrido y rancio, así como en sabor rancio en salmón correspondiente a la dieta I, mientras que se alcanzaron valores medios menores de olor y sabor típicos.

Entre dietas enriquecidas con antioxidantes naturales se detectó un desarrollo inferior en olores pútrido y rancio así como en sabores pútrido y rancio al final del experimento en salmón previamente alimentado con la dieta II.

El desarrollo de rancidez ha sido señalado como un factor limitante de aceptabilidad para la mayoría de las especies grasas conservadas en congelación (Erickson, 1997; Medina et al., 2009). En un estudio paralelo al actual (Ortiz et al., 2009), el pescado correspondiente a la dieta II mostró una mayor estabilidad al desarrollo de la oxidación lipídica, así como una retención mayor de PUFA al ser comparado con el correspondiente de la dieta I. La comparación de los índices químicos con los sensoriales relacionados con el desarrollo de la oxidación lipídica mostró que el olor y sabor rancios obtenían sus mejores valores de correlación al ser comparados con el i-TBA (r = 0.87-0.75 y 0.95-0.71, respectivamente).

El contenido en antioxidantes en músculo de salmón fue también analizado en otro estudio paralelo (Ortiz et al., 2013). En él, los contenidos en BHT y etoxiquina se

mantuvieron por debajo de 0.01 y 0.03 mg kg^{-1}, respectivamente, en todos los casos. Adicionalmente, la dieta II llevó a obtener salmón congelado con mayores contenidos en gamma- y delta-tocoferol al ser comparado con el pescado correspondiente a la dieta I; sin embargo, no se observaron diferencias a nivel de contenido en alfa-tocoferol. En dicho estudio, fue de destacar en todos los casos una importante pérdida de contenido en alfa-tocoferol, de acuerdo con el desarrollo de rancidez observado tanto para los parámetros sensoriales (resultados de este trabajo) como los químicos (Ortiz et al., 2009).

4.2.4.2.2. Determinación de cambios de color

El empleo de la carta Roche (Tabla 1, Anexo 6) reflejó una tendencia decreciente para la intensidad del color rosado con el tiempo de conservación en todos los individuos (r = 0.91-0.80, correlación lineal); este resultado concuerda con estudios previos llevados a cabo con salmón Atlántico congelado a -10 y -20 °C durante un periodo de 34 meses (Refsgaard et al., 1998). Sin embargo, no se constataron diferencias en el presente estudio entre individuos de las distintas dietas, de manera que no se pudo concluir un efecto determinado de la composición de antioxidantes en la dieta sobre la intensidad del color rosado.

El color juega un papel importante en la apariencia y aceptabilidad de los alimentos marinos, especialmente en las especies salmónidas. La astaxantina (AX) es conocida por ser el pigmento principalmente responsable del color rosado de los salmónidos y puede deteriorarse tanto por vía no enzimática como enzimática (Krinsky, 1989). Estudios previos han demostrado que el contenido en AX desciende durante la conservación en congelación de salmón Atlántico (Refsgaard et al., 1998) y trucha (Jensen et al., 1998). Sin embargo, y de acuerdo con los resultados presentes, el análisis del color (CIE 1976 L*, a*. b*) en salmón Coho (Ortiz et al., 2013) no indicó efecto alguno sobre el contenido en AX y los parámetros *a** y *b** durante la conservación en congelación en salmón correspondiente a las tres dietas en estudio, mientras que se observó un incremento general del valor *L**. Adicionalmente, no se observó un efecto del perfil antioxidante sobre el contenido en AX, así como tampoco en los parámetros de color (*L*, a* y b**) (Ortiz et al., 2013). Esta retención del contenido en AX y de los parámetros de color puede ser explicada sobre la base de la protección ejercida por los antioxidantes naturales y sintéticos presentes en las diferentes dietas (Ortiz et al. 2009).

4.2.4.2.3. Medida de parámetros de textura

La medida de firmeza reflejó un incremento general con el tiempo de conservación a lo largo del periodo 0-9 meses, seguido de un descenso a mes 12 y un incremento en firmeza al final del experimento. La comparación entre distintos tipos de muestras llevó a algunas diferencias significativas; sin embargo, no se pudo concluir un patrón definitivo en relación al efecto del perfil de antioxidantes de la dieta sobre el valor de firmeza.

El análisis de la cohesividad (Tabla 2, Anexo 6) reflejó en la mayoría de los casos valores mayores que en las muestras correspondientes al mes 9. Después de ese tiempo se observó un descenso general en cohesividad. A lo largo de la conservación se obtuvieron algunas diferencias entre individuos de las distintas dietas; así, se observó un valor medio menor al final del experimento para las muestras alimentadas con las dietas enriquecidas en antioxidantes sintéticos (dieta I). Sin embrago, no se pudo concluir un efecto claro sobre el valor de la cohesividad como resultado del perfil de antioxidantes empleado en la dieta.

La elasticidad fue evaluada mediante percepción sensorial. Se observó una pérdida importante en todas las muestras con el tiempo de congelación (r = 0.90-0.79, correlación cuadrática), llevando a valores incluidos en el rango 4-5 para individuos alimentados con dietas III y I a mes 9 y a meses 12 y 18, respectivamente. La comparación entre dietas no

reveló un efecto definitivo sobre los valores de elasticidad durante el periodo de conservación.

La textura es considerada como uno de los atributos más importantes en la calidad de los productos marinos, mostrando una influencia fuerte sobre la aceptabilidad por parte del consumidor. En el caso de las especies grasas, el papel de la grasa en los cambios de textura ha demostrado ser importante debido al entrecruzamiento de cadenas peptídicas por reacción de compuestos lipídicos de oxidación producidos durante el procesamiento y la conservación (Sikorski and Kolakowska, 1994; Tironi et al, 2002), lo cual lleva a un incremento de la firmeza y capacidad de retención de agua (Lou et al., 2002). De acuerdo con los valores de este estudio de olor y sabor rancios, un trabajo paralelo demostró que el salmón Coho congelado obtuvo una mayor estabilidad frente al desarrollo oxidativo si previamente se había alimentad con dieta II en comparación con el pescado de la dieta I (Ortiz et al., 2009). Los resultados presentes demostraron que, a pesar de esta ventaja en relación con la estabilidad lipídica, no se obtuvo un efecto definitivo sobre las propiedades de textura en el pescado correspondiente a la dieta II.

4.2.4.2.4. Análisis de la microestructura

En relación con las muestras congeladas a tiempo 0 (Figura 4, Anexo 6), el músculo estriado del pescado correspondiente a la dieta I consistía en una estructura de filamentos de actina y miosina. Así, las bandas ligeras (bandas I y bandas A oscuras) pueden verse dispuestas alternativamente mientras que una línea oscura y fina (línea Z o membrana de Krause) bisecciona cada banda I. Un área brillante (área H o membrana de Hansen) está localizada en el centro de la banda A, mientras que una línea oscura estrecha (línea M) corre a través del centro de la banda H. Finalmente, se observa que el endomisio permanece intacto alrededor de cada una de las tres fibras.

En ese tiempo de congelación (mes 0), la adición de una mezcla rica en tocoferoles en la dieta de salmón (dieta II) llevó a ligeros cambios en la morfología miofibrilar. Así, los sarcómeros reflejaron áreas bien marcadas para las bandas I y A, y para la línea Z, mientras que el área H indicó una línea difusa de la membrana de Hansen. Las fibras musculares reflejaron un ligero desplazamiento, y la línea Z reflejó falta de alineación. En relación con el pescado correspondiente a la dieta III, no se pudo observar pérdida de alineación en la morfología de las miofibrillas; así, la red de sarcómeros estaba compuesta por líneas Z bien definidas.

Después del mes 9 de conservación (Figura 4, Anexo 6), el salmón correspondiente a las dietas I y III reflejó un desplazamiento y falta de alineación de las miofibrillas, incluyendo las líneas Z, M e I; sin embargo, no se pudo señalar pérdida de la unidad básica de sarcómeros en el músculo estriado. El desalineamiento de sarcómeros se observó especialmente en pescado correspondiente a la dieta II; así, se produjeron discontinuidades en las líneas Z e I, así como en la banda A como resultado del desplazamiento, aunque no se observó pérdida de la unidad básica del músculo estriado.

Al final del experimento (Figura 4, Anexo 6), se observaron cambios importantes relacionados con la microestructura de los sarcómeros en muestras correspondientes a la dieta I. La unidad básica del musculo estriado no presentó áreas bien marcadas de la línea Z, de la banda A y del área H. Además, se observó la banda I de forma desalineada. La desintegración de la línea Z ha sido señalada como un fenómeno post-mortem, estando asociada generalmente con la actividad de la calpaína (Morzel et al., 2000). Simultáneamente, la microestructura de los sarcómeros permaneció invariable en el músculo de salmón previamente alimentado con las dietas II y III; esto resultó un indicativo de que la adición de antioxidantes naturales no afecta a este parámetro hasta el mes 18 de conservación en congelación. Se concluye que las características típicas del

músculo estriado y de la morfología de los sarcómeros estuvo influenciada a lo largo dela conservación por el perfil de antioxidantes incluidos previamente en la dieta de manera que se consiguió una conservación mejor al final del experimento en muestras congeladas previamente alimentadas con las dietas II y III.

4.2.4.3. Conclusiones

Después de 18 meses a -18 °C, el pescado previamente alimentado con una dieta convencional enriquecida con antioxidantes naturales (dietas II y III) mostró valores inferiores de olores pútrido y rancio, así como de sabor rancio; simultáneamente, este tipo de muestras alcanzó valores medios superiores de olor y sabor típicos. En relación con los parámetros físicos, los valores medios de *dripping* y humedad exprimible al final del experimento fueron mayores en pescado correspondiente a la dieta II al ser comparados con sus correspondientes de la dieta I. Adicionalmente, el análisis microestructural reflejó que la línea Z estaba mejor conservada en pescado correspondiente a las dietas II y III después de permanecer congelado durante 18 meses. Entre dietas enriquecidas con antioxidantes naturales, se detectó un desarrollo inferior en olores y sabores pútrido y rancio al final del experimento en salmón alimentado previamente con dieta enriquecida con exceso de tocoferoles (dieta II).

De acuerdo con los presentes resultados, se reconoce que el empleo de la dieta II es el más prometedor al objeto de mantener las propiedades sensoriales y físicas del producto congelado cuando se pretende realizar una conservación larga. De acuerdo con el amplio rango de beneficios atribuidos a los antioxidantes naturales, estudios complementarios deberán llevarse a cabo al objeto de optimizar el perfil de antioxidantes a ser empleados en cada especie cultivada.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO VII. CAPÍTULO 7.

Título: Sensory and physical changes in chilled farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Effect of previous optimized hydrostatic high-pressure conditions.

Autores: Santiago P. Aubourg, Alicia Rodríguez, Yohanina Sierra, Gipsy Tabilo-Munizaga, Mario Pérez- Won.
Revista: Food and Bioprocess Technology; Índice de impacto: 2.691, Primer Cuartil.
Editorial: Springer. Volumen: 6, Pág.1539-1549. DOI 10.1007/s1 11947-012-0799-4.
ISSN 1935-5130.
Editorial: Springer
Año: 2013.
link.springer.com/article/10.1007%2Fs11947-012-0799-4

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2.5. Capítulo 7. Cambios sensoriales y físicos en salmón Coho refrigerado: Efecto de un tratamiento previo optimizado por altas presiones hidrostáticas

4.2.5.1. Introducción

En este estudio se analizó el efecto de un tratamiento previo por altas presiones hidrostáticas (APH) sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho conservado en refrigeración. El estudio se llevó a cabo en dos fases. En una primera, se aplicó un diseño factorial al objeto de optimizar las condiciones APH a aplicar; para ello, se analizó el efecto sobre el color, presencia de manchas blancas, elasticidad y dureza. En una segunda fase, se estudió en profundidad la aplicación de las condiciones APH optimizadas sobre las propiedades sensoriales y físicas relacionadas con la pérdida de calidad durante la conservación en refrigeración de salmón Coho.

4.2.5.2. Resultados y discusión

4.2.5.2.1. Estudio APH preliminar

La Tabla 1 (Anexo 7) indica los resultados de un modelo ajustado de regresión lineal múltiple realizado al objeto de describir la relación entre variables independientes (presión y tiempo de presurización) y los descriptores sensoriales (color, aparición de manchas blancas, elasticidad y dureza) del músculo de salmón. La única variable respuesta que presentó un modelo de primer orden incluyendo interacciones entre ambas variables (presión y tiempo de presurización) fue la dureza ($p<0.05$); su coeficiente de determinación (R^2) indicó que el modelo ajustado podría explicar 99.973% de la variable de la dureza. Al mismo tiempo, se obtuvo un buen coeficiente de determinación en el caso de la elasticidad ($R^2 = 97.477$). Los coeficientes de regresión fueron eliminados de la Tabla 1 (Anexo 7) en los casos en que los valores de "p" obtenidos del análisis ANOVA eran mayores o iguales a 0.05 y no fueron considerados estadísticamente significativos en el nivel de confidencia de 95% o superiores.

Las Figuras 1a-d (Anexo 7) muestran la superficie de respuesta obtenida para cada descriptor sensorial como función de las variables del proceso. Se observó que tanto la presión (100-200 MPa) como el tiempo de presurización (0-5 min) tienen un efecto significativo sobre las propiedades sensoriales del salmón ($p<0.05$). Así, la uniformidad del color del salmón descendía (Figura 1a, Anexo 6) al aumentar la presión mientras que el tiempo de presurización no proporcionó un efecto significativo. La combinación de los niveles factoriales que minimizan los cambios de la uniformidad del color fue de 100 MPa y 30 s, con un valor óptimo de 9,354.

Al mismo tiempo, la aparición de manchas blancas (Figura 1b, Anexo 7) indicó un incremento del valor con el tiempo de presurización, siendo el nivel de presión no significativo (Tabla 1, Anexo 6). La combinación 100 MPa y 30 s resultó ser la que minimizaba la aparición de manchas blancas (1,026 como valor óptimo). Tanto la presión como el tiempo de presurización reflejaron un efecto significativo sobre la elasticidad (Figura 1c, Anexo 6); así un incremento en ambas variables llevó a un descenso en elasticidad en el músculo de salmón, de acuerdo con los coeficientes indicados en la Tabla 1 (Anexo 7). La combinación de niveles factoriales que optimizaron la respuesta de la elasticidad fue de 100 MPa y 30 s, llevando a un valor óptimo de 9,348. Finalmente, la medida de dureza (Figura 1d, Anexo 7) descendió con presión y tiempo de presurización, pero aumentó como resultado de la interacción entre ambas variables (Tabla 1, Anexo 7).

La Figura 2 (Anexo 7) proporciona la evolución de la función deseabilidad en cada punto del diseño experimental, de acuerdo con el proceso de optimización basado en la combinación de las repuestas de los descriptores sensoriales.

La Figura 2a (Anexo 7) indica la superficie respuesta estimada de la relación entre la variable repuesta deseabilidad, la presión y el tiempo de presurización mediante una superficie respuesta tridimensional y la gráfica de contorno. La inclusión del término de interacción (+ 0.006 presión x tiempo de presurización) introdujo un curvatura en la función respuesta (Myers and Montgomery, 1995). Para cada valor de presión y tiempo de presurización se obtuvo un valor de respuesta deseabilidad, el cual generó una superficie que se ubica por encima del plano presión-tiempo de presurización (Myers and Montgomery, 1995). El proceso de optimización indicó un valor óptimo de deseabilidad de 0,75: El contorno de la superficie respuesta estimada en dos dimensiones (presión y tiempo de presurización; Figura 2b, Anexo 7) indica que los valores óptimos de las variables del proceso que minimizan los cambios en color y elasticidad, que llevan a la dureza hasta un valor de 5 en una escala de 10, y al tiempo que minimizan la aparición de manchas blancas son 135 MPa y 30 s, respectivamente.

Como resultado, esta condición fue escogida para ser empleada como tratamiento previo en la investigación presente donde los cambios de calidad de salmón durante la conservación en refrigeración fueron estudiados (condición T-1). Asimismo, se escogieron como tratamientos previos dos condiciones donde el tiempo de presurización se mantuvo en 30 s, pero la presión se intensificó (170 y 200 MPa; condiciones T-2 y T-3, respectivamente). Este rango de presiones (135-200 MPa) se corresponde con las condiciones de presión recomendadas para filetes de rodaballo de cultivo (Chevalier et al., 2001).

4.2.5.2.2. Estudio de conservación en refrigeración con previo tratamiento APH: Desarrollo de olor.

El desarrollo de olor rancio mostró un incremento progresivo en todas las muestras a lo largo del tiempo de refrigeración (Tabla 2, Anexo 7). A tiempo 0 se detectaron valores muy bajos; sin embargo, al ser comparados con el control se observó un incremento general como resultado del tratamiento APH, independientemente de la condición de presurización aplicada. Posteriormente (periodo 6-20 días), se obtuvieron valores medios menores para el pescado correspondiente a la condición T-1; las diferencias fueron significativas al comparar con salmón correspondiente a las condiciones T-2 y T-3. En un estudio paralelo se observó una evolución mayor de la oxidación lipídica en muestras correspondientes a dichas condiciones (Aubourg et al., 2010).

La medida del olor pútrido proporcionó valores crecientes con el tiempo de refrigeración para todos los tipos de muestras (Tabla 2, Anexo 7). A día 0, no se pudo observar efecto alguno como resultado de cualquiera de los tratamientos APH previos en comparación con el control. Posteriormente (periodo 10-20 días), el salmón correspondiente al tratamiento previo T-1 reflejó valores inferiores que sus correspondientes de las condiciones T-2 y T-3; el lote T-1 también indicó un olor pútrido inferior en el periodo 15-20 días al ser comparado con el control. Al final del experimento, se detectó en las muestras control un olor pútrido mayor.

Se obtuvo un desarrollo de olor a aminas en todas las muestras al aumentar el tiempo de refrigeración (Tabla 2, Anexo 7). En todos los casos, los valores a día 0 fueron muy bajos, de manera que no se pudo otorgar efecto alguno al tratamiento APH por sí solo. Sin embargo, a día 6 se pudo atribuir un efecto inhibidor a todos los tratamientos APH al ser comparados con el control; sin embargo, no se observaron diferencias entre los distintos tratamientos APH. Al final del experimento (periodo 15-20 días) se observó un valor

inferior en pescado sometido a la presión mayor. Este valor inferior coincide con el estudio previamente mencionado (Aubourg et al., 2010) donde el efecto inhibidor mayor del tratamiento APH sobre los parámetros microbianos (psicrófilos y aerobios) se observó en pescado correspondiente al lote T-3. La extensión de la vida útil en numerosos alimentos se ha descrito con anterioridad en numerosos estudios (Ohshima et al., 1993; Ashie et al., 1996).

4.2.5.2.3. Estudio de conservación en refrigeración con previo tratamiento APH: Cambio de textura.

El análisis de la textura reflejó un importante descenso con el tiempo de refrigeración en todos los tipos de muestra (Tabla 3, Anexo 7). A día 0, los valores medios indicaron un descenso progresivo al aumentar la presión; las diferencias fueron significativas entre las muestras correspondientes a las condiciones T-3 y control. Hasta el día 15 se obtuvieron valores medios superiores en las muestras control. Sin embargo, al final del experimento, las muestras correspondientes al tratamiento T-1 proporcionaron los valores de elasticidad mayores.

El valor de la cohesividad también mostró un descenso a lo largo del tiempo de conservación en todos los tipos de muestra (Tabla 3, Anexo 7). En este parámetro, el pescado correspondiente al lote T-1 reflejó el mayor valor de cohesividad a día 0. El salmón correspondiente a este lote mantuvo los valores medios superiores a lo largo de todo el tiempo de conservación, siendo las diferencias significativas con el control en el periodo 15-20 días

De acuerdo con el descenso observado para los valores de elasticidad y cohesividad, se alcanzó una tendencia creciente para el valor de gaping para todas las muestras a lo largo del experimento (Tabla 3, Anexo 6). A día 0, se observó un efecto negativo sobre la calidad del pescado como resultado del tratamiento previo por APH; este efecto fue mayor en el caso de la presión superior (lote T-3). Al final del experimento, las muestras de pescado correspondientes a las dos condiciones de presión más enérgicas obtuvieron el valor 5, mientras que el salmón correspondiente al lote T-1 mostró el desarrollo en gaping más bajo.
Este lote reflejó un valor de gaping inferior a 4 a lo largo de todo el experimento, de manera que permaneció por debajo del límite de aceptabilidad (Andersen et al., 1994). Contrariamente, el pescado correspondiente a los lotes T-3 y control alcanzó el valor 4 a día 15, mientras que el correspondiente al lote T-2 alcanzó el valor 5 al final del experimento.

Se observó un incremento progresivo de la firmeza con el tiempo de refrigeración en todas las muestras, excepto para aquellas correspondientes a las dos condiciones de presión superiores al final del experimento (Tabla 3, Anexo 7). Los análisis correspondientes al día 0 indican que se alcanzó un incremento en firmeza en pescado de los lotes control y T-3 al comparar con sus correspondientes en los otros dos lotes. Las muestras correspondientes a los lotes T-1 y T-2 mantuvieron valores medios más bajos a lo largo del resto del tiempo de refrigeración.

La medida de la deformación no proporcionó diferencias entre los distintos tipos de muestras a lo largo del experimento (Tabla 3, Anexo 7), de manera que no se puede atribuir efecto alguno al tratamiento previo por APH. Además, ninguna de las cuatro condiciones chequeadas proporcionó una clara tendencia del valor de la deformación con el tiempo de refrigeración.

La investigación previa ha mostrado que la textura del pescado es altamente sensible a la presión y al tiempo de presurización aplicada durante el tratamiento, de manera que se ha postulado que tal procesamiento podría ser monitorizado al objeto de obtener una

textura idónea (Hurtado et al., 2001; Uresti et al., 2005). El tratamiento por APH puede causar disociación de proteínas a partir de sus estructuras oligoméricas, afectando a sus subunidades mediante plegamientos y desnaturalizaciones parciales así como agregación y gelificación proteicas. El incremento obtenido en algunos parámetros de textura ha sido explicado sobre la base de distintos cambios químicos tales como refuerzo de enlaces por puente de hidrógeno e incremento de la formación de enlaces bisulfuro (Haremans et al., 1997; Lanier, 1998; Pérez-Won et al., 2005). Si posteriormente se aplica una conservación en refrigeración, las enzimas desactivadas durante el tratamiento APH podrían volver a activarse dependiendo del nivel de presión aplicada (Ashie et al., 1997). Cuando se analiza el efecto del tratamiento APH como tal (tiempo 0 de refrigeración) en el presente estudio, se observa que la presión superior (200 MPa) ha llevado a la calidad de textura más baja, mientras que la condición T-1 ha proporcionado los valores de textura más provechosos (especialmente en cohesividad y firmeza); consiguientemente, se ha detectado un efecto negativo de la presión sobre la textura.

En relación con la pérdida de calidad durante la conservación en refrigeración, este estudio ha demostrado que el pescado previamente sometido a la condición T-1 ha retenido un mayor nivel de calidad, de acuerdo con los valores de gaping, elasticidad y cohesividad. Tal resultado está en concordancia con un estudio previo y paralelo, que mostró un daño mayor en las proteínas del pescado previamente tratado en las condiciones T-2 y T-3 (Ortea et al., 2010); en tal estudio, se observó un descenso importante en el contenido de proteínas sarcoplásmicas, simultáneamente a la desaparición parcial de una banda ubicada a 29 kDa en el análisis electroforético de tal fracción proteica.

4.2.5.2.4. Estudio de conservación en refrigeración con previo tratamiento APH: Cambio de color.

De acuerdo con los valores medidos, el análisis de la escala Roche proporcionó un descenso general con el tiempo de refrigeración en todas las muestras, especialmente en los lotes control y T-1 (Tabla 4, Anexo 7). Este descenso puede ser explicado como pérdida parcial de compuestos carotenoides (fundamentalmente astaxantina) responsable del color del músculo de especies salmónidas (Quevedo et al., 2010). Así, se perdió parcialmente el contenido en astaxantina durante la conservación en refrigeración (hasta 4 días a 4 °C) en salmón Atlántico (Gordon Bell et al., 1998). En el presente estudio no se observaron diferencias a día 0 entre las diferentes muestras, de manera que no se concluyó un efecto definitivo del tratamiento APH por sí solo sobre el contenido en carotenoides. La comparación entre muestras apenas proporcionó diferencias a lo largo del tiempo de refrigeración; a día 15 se observó un valor superior para el pescado sometido al tratamiento T-1 al ser comparado con el pescado control.

Al considerar los valores medios del parámetro *L** (Tabla 4, Anexo 7), se observó un incremento con el tiempo de refrigeración para todas las muestras correspondientes al tratamiento APH, siendo este incremento superior en el caso de las dos condiciones con mayor presión (T-2 y T-3). De acuerdo con los resultados a día 0, no se pudo concluir efecto alguno del tratamiento APH. Posteriormente, se observaron valores medios superiores para el pescado correspondiente a las dos condiciones más enérgicas (T-2 y T-3) durante el periodo 6-20 días; las diferencias fueron significativas al final del experimento cuando se observó la siguiente secuencia creciente en función del tratamiento previo: C y T-1 < T-2 < T-3. En todos los casos, los valores *L** permanecieron inferiores a 70, que ha sido señalado como límite de aceptación para especies salmónidas (Amanatidou et al., 2000).

Al igual que en el presente estudio, investigaciones previas indicaron incrementos en el valor *L** en pescado conservado que previamente había sido sometido al tratamiento APH.

Así, se observó un incremento en el valor *L** con el tiempo de conservación de trucha tratada por APH (150, 300, 450 y 600 MPa; 15 min) durante su conservación posterior durante 6 días a 4 °C (Yagiz et al., 2007).

En relación con la medida del color verde/rojo (parámetro *a**) (Tabla 4, Anexo 6), no se concluyó efecto alguno del tratamiento APH a día 0. Aunque se observaron algunas diferencias significativas entre muestras durante la conservación en refrigeración, no se pudo concluir un efecto claro sobre el valor *a** en el pescado conservado. De acuerdo con los valores medios, se constató una tendencia decreciente con el tiempo de refrigeración en pescado correspondiente al tratamiento T-3. En todos los casos, el valor *a** permaneció por debajo del valor 13, que ha sido señalado como el límite de aceptabilidad para especies salmónidas (Amanatidou et al., 2000).

Estudios previos en pescado han demostrado un descenso general del valor *a** como resultado del tratamiento previo APH, siendo este efecto mayor al aumentar la presión y el tiempo de presurización aplicados (Ohshima et al., 1993; Ashie et al., 1996). Sin embargo, cuando se aplicaron presiones relativamente bajas (200 MPa o inferiores) y tiempos de presurización relativamente cortos (10 min o menos) no se obtuvo un efecto del tratamiento APH sobre el valor *a**, de acuerdo con el experimento actual. Tales conclusiones se obtuvieron en especies salmónidas como salmón Atlántico (Amanatidou et al., 2000; Yagiz et al., 2009), trucha arcoíris (Yagiz et al., 2007) y trucha salmonada (Matser et al., 2000).

En relación con el valor *b** (azul/amarillo) (Tabla 4, Anexo 6), se concluyó un efecto decreciente en todas las muestras tratadas por APH al ser comparadas con el control a día 0; sin embargo, no se obtuvieron diferencias como resultado de la presión (135-200 MPa). Posteriormente (periodo 10-20 días), el pescado correspondiente a los tratamientos T-2 y T.3 mostró valores inferiores que los correspondientes a los lotes C y T-1. Adicionalmente, no se pudo concluir una tendencia clara para el valor *b** durante la conservación en refrigeración de los distintos lotes.

A menudo, el parámetro *b** se ha asociado al desarrollo de la oxidación lipídica. Así, se ha observado una importante relación entre el valor *b** y la formación de bases de Schiff polimerizadas y compuestos fluorescentes (compuestos terciarios de oxidación lipídica) (Undeland et al., 2003). Estudios previos demostraron un efecto importante del tratamiento APH sobre el valor *b** (Yagiz et al., 2009; Sequeira-Munoz et al., 2006). En relación con la evolución del valor *b** durante la conservación en refrigeración de pescado previamente tratado por APH, los estudios previos no han demostrado une tendencia definitiva como resultado del tiempo de refrigeración. Tales conclusiones están relacionadas con estudios en lubina (100-200 MPa durante 5 min; Chéret et al., 2005) y salmonete (220 y 330 MPa durante 5 min; Erkan et al., 2010).

4.2.5.3. Conclusiones

Se detectó un efecto importante como resultado del tratamiento APH sobre las propiedades sensoriales y físicas de músculo de salmón, así como su posterior conservación conservación en hielo. De acuerdo con propiedades como olor (rancio y pútrido), textura (elasticidad, gaping y firmeza), y color (valor *L**), el pescado correspondiente a la condición T-1 ha demostrado retener mejor tales propiedades a lo largo del periodo de conservación al ser comparado con muestras correspondientes a los lotes T-2 y T-3; asimismo, se observó una mejora de la calidad al compararse con el pescado control (olor pútrido, cohesividad y gaping).

Los resultados de este estudio demostraron que la condición T-1 puede proporcionar una combinación efectiva de presión y tiempo de presurización al objeto de mantenerse

las propiedades de olor, textura y color cuando el pescado debe ser comercializado en estado fresco. Los resultados obtenidos en el experimento de conservación en hielo están de acuerdo con el estudio de optimización preliminar, donde de la condición T-1 demostró ser la más acertada. Este estudio recalca la importancia de establecer una selección cuidadosa de los parámetros del tratamiento APH al objeto de minimizar los cambios indeseables relacionados con las propiedades sensoriales y físicas.

4. 3. BIBLIOGRAFÍA

Aitken, A., and Connell, J. Fish. In R. Priestley (Ed.), Effects of heating on food stuffs (pp. 219-254). London, UK: Applied Science Publishers Ltd. 1979.

Alasalvar, C., Taylor, K., Öksüz, A., Garthwaite, T., Alexis, M., and Grigorakis, K. 2001. Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. *Food Chemistry*, **72**, 33-40.

Amanatidou, A., Schlüter, O., Lemkau, K., Gorris, L., Smid, E., and Knorr, D. 2000. Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmospheres on the shelf life of fresh Atlantic salmon. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **1**, 87–98.

Andersen, U., Stromsnes, A., Steinsholt, K., and Thomassen, M. 1994. Fillet gaping in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Norwegian Journal of Agricultural Science*, **8**, 165–179.

Ando, M., Totohara, H., Shimizu, Y., and Sakaguchi, M. 1991. Post-mortem tenderisation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure. *J. Sci. Food Agric.*, **55**, 589-597.

Ashie, I., and Simpson, B. 1996. Application of high hydrostatic pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration. *Food Research International*, **29**, 569–575.

Aubourg, S. and Medina, I. 1997.Quality differences assessment in canned sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 3617–3621.

Aubourg, S., Medina, I., and Pérez-Martín, R. 1995. A comparison between conventional and fluorescence detection methods of cooking-induced damage to tuna fish lipids. *Festschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, **200,** 252-255.

Aubourg, S., Quitral, V., Larraín, Mª., Rodríguez, A., Gómez, J., Maier, L., and Vinagre, J. 2007. Autolytic degradation and microbiological activity in farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during chilled storage. *Food Chem.*, **104**, 369-375.

Aubourg, S., Rodríguez, A., Sierra, Y., Tabilo-Munizaga, G., and Pérez-Won, M. 2013. Sensory and physical changes in chilled farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Effect of previous optimised hydrostatic high-pressure treatment. *Food Bioprocess Techn*ol., **6**, 1539-1549.

Aubourg, S., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J., Rodríguez, A., and Pérez-Won, M. 2010. Effect of high-pressure treatment on microbial activity and lipid oxidation in chilled Coho salmon. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **112**,362–372.

Aubourg, S., Vinagre, J., Rodríguez, A., Losada, V., Larraín Mª A., Quitral V., Gómez, J., Maier, L., and Wittig E., 2005. Rancidity development during the chilled storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol*., **107**, 411-417.

Barnett, H., Nelson, R., and Poysky, F. A comparative study using multiple indices to measure changes in quality of pink and Coho salmon during fresh and frozen storage. http://www.nwfsc.noaa.gov/publications/techmemos/tm208/ tm208.pdf). NOAA Technical. Memorandum NMFS F/NWC-208. U. S. Department of Commerce. 1991.

Baron, C., Kjærsgård, I., Jessen, F., and Jacobsen, C. 2007. Protein and lipid oxidation during frozen storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 8118–8125.

Barroso, M., Careche, M., and Borderías, A.J. 1998. Quality control of frozen fish using rheological techniques. *Trends Food Sci. Technol*., **9**, 223-229.

Ben-Gigirey, B., Vieites Baptista de Sousa, J., Villa, T., and Barros-Velázquez, J. 1999. Histamine and cadaverine production by bacteria isolated from fresh and frozen albacore (*Thunnus alalunga*). *J. Food Protect*., **62**, 933–939.

Bjerkeng, B., and Johnsen, G. 1995. Frozen storage quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as affected by oxygen, illumination, and fillet pigment. *Journal of Food Science*, **60**, 284–288.

Brannan, R., and Erickson, M. 1996. Quantification of antioxidants in channel catfish during frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**, 1361–1366.

Brown, D., Albright, M., Watts, D., Heyer, B., Spruce, B., and Price, R. 1980. Modified atmosphere storage of rockfish (*Sebastes miniatus*) and silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Food Sci*., **45**, 93-96.

Castrillon, A., Alvarez-Pontes, E., García, M., and Navarro, P. 1996. Influence of frozen storage and defrosting on the chemical and nutritional quality of sardine (*Clupea pilchardus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **70**, 29-34.

Cheftel, J.C., Cuq, J.L y Lorient, D. Proteínas Alimentarias. *Ed. Acribia S.A.* Zaragoza, España.1989.

Chéret, R., Chapleau, N., Delbarre-Ladrat, C., Vérrez-Bagnis, V., and De Lamballerie, M. 2005. Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fillets. *Journal of Food Science*, **70**, E477–E483.

Chiralt, A., Fito, P., Barat, J.M., Andrés, A., González.-Martínez, Escriche, L. Camacho, M.M. 2001. Use of vacuum impregnation in food salting process. *Journal of Food Engineering*, **49**, 141–151.

Chevalier, D., Le Bail, A., and Ghoul, M. 2001. Effects of high pressure treatment (100-200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. *Food Research International*, **34**, 425–429.

Choudhry, M. 1977. Effect of thermal processing, size, and storage on the carotenoid pigment content and other quality factors of channel catfish. Dissertation Abstracts International B, **37**, 69.

Christophersen, A., Bertelsen, G., Andersen, H., Knuthsen, P., and Skibsted, L. 1992. Storage life of frozen salmonids. Effect of light and packaging conditions on carotenoid oxidation and lipid oxidation. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **194**,115–119

Cruz, J. M., Moldes, A., Bustos, G., Torrado, A., and Domínguez, J. 2007. Integral utilisation of barley husk for the production of food additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **87**, 1000–1008.

Eide, O. Börresen, T. y Strom, T. 1982. Minced fish production from Capelin (*Mallotus villlosus*). A new method for gutting, skinning and removal of fat from small fatty fish species. *J. Food Sci.* **47**,347-349.

Einen, O., Guerin, T. y Skjervold, P.O. 2002. Freezing of pre-rigor Fillets of Atlantic Salmon. *Aquaculture*, **212**, 129-140.

Erickson, M. Lipid oxidation: Flavour and nutritional quality deterioration in frozen foods. In M. Erickson & Y. Hung (Eds.), Quality in frozen food (pp. 141–173). New York: Chapman and Hall. 1997.

Erkan, N., Üretener, G., & Alpas, H. 2010. Effect of high pressure (HP) on the quality and shelf life of red mullet (*Mullus surmelutus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11**,259–264.

Ewos. 2004. Innovation Research S.A.Industria pesquera.

Fletcher, G. C., Corrigan, V.K., Summers, G., Leonard, M.J., Jerrett, A.R., and Black, S. E. 2003. Spoilage of rested harvested king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *J. Food Sci.*, **68**, 2810-2816.

Fletcher, G.C., summers, G., Corrigan, V., Cumarasamy, V., and Dufour, J.P. Spoilage of King salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) fillets stored under different atmospheres. *Journal of Food Science*, 2002, **67**, 2363-2373.

Gallardo, J. M., Aubourg, S., and Pérez-Martín, R. 1989. Lipid classes and their fatty acids at different loci of albacore (*Thunnus alalunga*): effects of the pre-cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **37**, 1060-1064.

Gallardo, J., Pérez-Martín, R., Franco, J., Aubourg, S. and Sotelo, C. 1990.Changes in volatile bases and trimethylamine oxide during the canning of albacore (*Thunnus alalunga*). International *Journal of Food Science and Technology*, **25**, 78–81.

García-Arias, T., Sánchez-Muniz, J., Castrillón, A., and Navarro, P. 1994. White tuna canning, total fat, and fatty acid changes during processing and storage. *Journal of Food Composition Analysis*, **7**, 119-130.

Gordon Bell, J., McEvoy, J., Webster, J., McGhee, F., Millar, R., and Sargent, J. 1998. Flesh lipid and carotenoid composition of Scottish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**,119–127.

Gruda, Z. y Postolski., J. Tecnología de la congelación de los alimentos. Ed Acribia. España, 1986. pp. 631.

Gruger, E., Nelson, R., and Stansby, M. 1964. Fatty acid composition of oils from 21 species of marine fish, freshwater fish and shellfish. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **4**, 662–667.

Heremans, K., Van Camp, J., and Huyghabaert, A. High pressure effects on proteins. In S. Damodaran & M. Paraf (Eds.), Fundamentals of food proteins and their applications (pp. 473–502). New York: Marcel Dekker. 1997.

Hurtado, J., Montero, P., and Borderías, A. J. 2001. Chilled storage of pressurized octopus (*Octopus vulgaris*) muscle. *Journal of Food Science*, **66**, 400–406.

Huss, H. El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de Calidad. Colección FAO: Pesca Nº 29, Cap. IV. 1988.

Ingemansson, T., Kaufmann, P., and Ekstrand, B. 1995. Multivariate evaluation of lipid hydrolysis and oxidation data from light and dark muscle of frozen stored rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, 2046–2052

Jonsson, A., Sigurgisladottir, S., Hafsteinsson, H., and Kristbergsson, K. 2000. Textural properties of raw Atlantic salmón (*Salmo salar*) fillets measured by different methods in comparison to expressible moisture. *Aquaculture Nutrition*, **2**, 1-9.

Kolakowska, A. Lipid oxidation in Food Systems. In Z. E. Sikorski and A. Kolakowska (Eds.), Chemical and functional properties of food lipids (pp. 133–165). London: CRC. 2003.

Lanier, T. 1998. High pressure processing effects of fish proteins. In F. Shahidi (Ed.), Process-induced chemical changes in food (pp.45–55). New York: Plenum Press.

Losada, V., Piñeiro, C., Barros-Velázquez, J., and Aubourg, S. **P**. 2005**.** Inhibition of chemical changes related to freshness loss during storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in slurry ice. *Food Chemistry*, **93**, 619-625.

Losada, V., Rodríguez, A., Ortiz, J., and Aubourg, S.P. 2006. Quality enhancement of canned sardine (*Sardina pilchardus*) by a preliminary slurry ice chilling treatment. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**, 598–605.

Lou X, Wang C, Xiong Y, Liu B and Mims S. 2000.Physicochemical stability of paddle fish (*Polyodon spathula*) meat under refrigerated and frozen storage. *J Aquat Food Prod Technol* **9**:27–39.

Ma, L., Deng, J., Ahmed, E. and Adams, J. 1983.Canned shrimp texture as a function of its heat history. *Journal of Food Science*, **48**, 360–363.

McMurry, J. 1992. Organic chemistry (3rd ed., pp. 874–875). México: Grupo Editorial Iberoamérica.
Mackie, I. 1993. The effects of freezing on flesh proteins. *Food Rev. Internat.* **9**, 575-610.
Medina I, Gallardo J and Aubourg S, 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *Int J Food Sci Technol* **44**:1467–1479.
Morzel, M., Heapes, M.M., Reville, W.J. and Arendt. E.K, 2000. Textural and ultraestructural changes during processing and storage of lightly preserved salmon (*Salmo salar*) products. *Journal Science Food Agricultural*, **80**, 1692-1697.
Myers, R. H., and Montgomery, D. C. Response surface methodology:Process and product optimization using designed experiments. New York: Wiley. 1995**.**
Ohshima, T., Ushio, H., and Koizumi, C. 1993. High-pressure processing of fish and fish products. *Trends in Food Science and Technology*, **4**, 370–375.
Olafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., and Ortea, I., Rodríguez, A., Tabilo-Munizaga, G., Pérez-Won, M., and Aubourg, S. (2010). Effect of hydrostatic high-pressure treatment on proteins, lipids and nucleotides in chilled farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) muscle. European *Food Research and Technology*, **230**, 925–934.
Ortiz J, Larraín Ma A, Pacheco N, Vivanco J. and Aubourg S. 2013. Effect of the antioxidant profile in the diet of farmed salmon (Oncorhynchus kisutch) on the nutritional value retention during frozen storage. *Grasas y Aceites* **64,** 311-319.
Ortiz, J., Larraín, M. A., Vivanco, J., and Aubourg, S. 2009. Rancidity development during the frozen storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutc*h): effect of antioxidant composition supplied in the diet. *Food Chemistry*, **115**, 143–148.
Pérez-Won, M., Tabilo-Munizaga, G., and Barbosa-Cánovas, G. 2005. Effects of ultra high pressure on bay scallop (*Aequipecten irradians*) adductor muscles. *Food Science and Technology International*, **11**, 477–484.
Quevedo, R., Aguilera, J. M., and Pedreschi, F. 2010. Color of salmon fillets by computer vision and sensory panel. *Food and Bioprocess Technology*, **3**, 637–643
Paseiro Losada, P., Cacho, J.C., Juárez, M., Ortega, T., Nerín, N., and López, R. Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los envases activos e inteligentes Número de referencia: AESAN-2010-011 Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 28 de septiembre de 2010. Revista del Comité Científico. N °13. 2010, 89-105. < http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/docs/docs/evaluacion_riesgos/comite_cientifico/ENVASES_ACTIVOS_INTELIGENTES.pdf> [Consulta: 01 septiembre de 2015].
Pazos, M., González, M. J., Gallardo, J., Torres, J., and Medina, I. 2005a. Preservation of the endogenous antioxidant system of fish muscle by grape polyphenols during frozen storage. *European Food Research and Technology*, **220**, 514–519.
Pereira de Abreu, D.A. Paseiro Losada, P., Maroto, J., Cruz, J.M. 2010. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard Lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Food Research International*. **43**, 1277-1282.
Pereira de Abreu, D.A. Paseiro Losada, P., Maroto, J., Cruz. J.M. 2011.Lipid damage during frozen storage of Atlantic habilut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film contained antioxidants. *Food Chemistry*, **126**, 315-320.
Piñeiro, C., Barros-Velázquez, J. and Aubourg, S. 2004. Effects of newer slurry ice systems on the quality of aquatic food products: a comparative review versus flake-ice chilling methods. *Trends in Food Science and Technology*, **15**, 575–582.

Pokorný, J. 1981. Browning from lipid-protein interactions. *Progress in Food Nutrition and Science*, **5**, 421-428.
Refsgaard, H.H.F., Brockhoff, P.B., Jensen, B. 1998. Sensory and chemical change in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *J. Agric. Food Chem.* **46,** 3473-3479.
Rzhavskaya, F. and Fonarev, N. 1988. The effect of lipid content on the quality of canned mackerel. *Rybnoe Khozyaistvo*, **5**, 82–84.
Rodríguez A., Losada V., Larraín M. A., Quitral V., Vinagre J., Aubourg, S. P. 2007. Development of lipid changes related to quality loss during the frozen storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)". *J. Amer. Oil Chem. Soc*., **84**, 727-734**.**
Schubring, R. 2008. Comparative study of the DSC pattern, color texture and water-binding capacity of rainbow trout muscle during heating. *Journal of Food Processing and Preservation*, **32**, 190–218.
Seet, S., and Brown, D. 1983. Nutritional quality of raw, precooked and canned albacore tuna (Thunnus alalunga). *Journal of Food Science*, **48**, 288-289.
Sequeira-Muñoz, A., Chevalier, D., Le Bail, A., Ramaswamy, H., & Simpson, J. 2006. Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **7**, 13–18.
Sigurgisladottir, S. Hafsteinsson, H., Jonson, A., Lie, O., Nortvedt, R., Thomassen, M., **y Torrissen, O.** 1999. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *J. Food Science*, **64**, 99-104.
Sikorski, Z. and Kolakowska, A., Changes in protein in frozen stored fish in: *Seafood proteins*. Sikorski, Z., Sun Pan, B., Shahidi, F., Eds. Chapman and Hall, New York (USA), 1994, pp.99–112.
Sista, R., Erickson, M., and Shewfelt, R. Quality deterioration in frozen foods associated with hydrolytic enzyme activities. In M. C. Erickson & Y. C. Hung (Eds.), Quality in frozen food (pp.101–110). New York: Chapman and Hall. 1997.
Skjervold , P.O.; Røra, A.M.B.; Fjaera, S.O.; Vegusdal, A.; Vorre, A. y Einen, O. 2001. Effects of pre-, in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. *Aquaculture*, **194**, 315-326.
Slabyj, B. and True, R. Effect of pre-process holding on the quality of canned Marine sardines. *Journal of Food Science*, 1978, **43**, 1172–1176.
Smith, J., Hardt, R., McDonald, I., and Templeton, J. 1980. The storage of herring (*Clupea harengus*) in ice, refrigerated sea water and at ambient temperature. Chemical and sensory assessment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **31**, 375-385.
Simopoulos, A. Nutritional aspects of fish. In J. Luten, T. Börrensen, & J. Oehlenschläger (Eds.), Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality (pp. 589–607). London: Elsevier. 1997.
Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., Hyldig, G., Jørgensen, B., and Kristbergsson, K. 2002. Application of quality index method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, **67**, 1570-1579.
Tantasuttikul, A., Kijroongrojana, K., and Benjakul, S. 2011. Quality indices of squid (*Photololigo duvaucelii*) and cuttlefish (*Sepia aculeata*) stored in ice. *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, **20**, 129-147.
Tironi, V., Tomás, M., & Añón, M. C. 2002. Structural and functional changes in myofibrillar proteins of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*) by interaction with malondialdehyde (RI). *Journal of Food Science*, **67**, 930–935.

Tironi, V., Tomás, M., and Añón, M. C. 2010. Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). Effect of rosemary (Rosmarinus officinalis) extract. Food Science and Technology, **43**, 263–272.
Undeland, I., Hultin, H., and Richards, M. 2003. Aqueous extracts from some muscles inhibit hemoglobin-mediated oxidation of cod muscle membrane lipids. Journal of Agricultural and *Food Chemistry*, **51**, 3111–3119.
Undeland, I., et al. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology*, **8**, 258-265.
Uresti, R., Velázquez, G., Vázquez, M., Ramírez, R., and Torres, J. A. 2005. Effects of sugars and polyols on the functional and mechanical properties of pressure-treated arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) proteins. *Food Hydrocolloids*, **19**, 964–973.
Whittle, K., R., and Hobbs, G. Chilled fish and fishery products. In: Chilled foods: The state of the art. Gormley, T. (Ed.) Elsevier Applied Science, New York, USA. 1990, pp. 87-116.
Yagiz, Y., Kristinsson, H., Balaban, M., Welt, B., Ralat, M., & Marshall, M. 2009. Effect of high pressure processing and cooking treatment on the quality of Atlantic salmon. *Food Chemistry*, **116**,828–835
Yamamoto, Y., and Imose, K. 1989.Changes in fatty acid composition in sardines (*Sardinops melanosticta*) with cooking and refrigerated storage. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, **35**, 39-47.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5. CONCLUSIONES

Se muestran las conclusiones específicas de cada capítulo y las conclusiones generales para cada una de las dos partes en las que se ha dividido el presente trabajo.

PARTE 1. ESTUDIO DE LAS MODIFICACIONES DE LA CALIDAD DE SALMÓN COHO DURANTE SU CONSERVACIÓN COMERCIAL EN HIELO Y EN CONGELACIÓN.

Capítulo 1.

Este estudio se enfocó en estudiar los cambios en los parámetros físicos y sensoriales del salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) durante el almacenamiento en estado refrigerado durante 24 días.

De acuerdo al análisis de *gaping* hasta el día 12, almacenado en estado refrigerado a 2 °C, la comercialización del salmón Coho es posible realizarla con calidad Premium. Según los descriptores de olor y sabor (olor fresco, olor oxidado y sabor neutro), y parámetros físicos (*gaping*) el salmón Coho demostró ser rechazable después de 17 días de conservación en hielo en escamas a 2 °C.

Estos resultados están de acuerdo con parámetros de calidad químicos y microbiológicos analizados en experimentos previos que fueron llevados a cabo utilizando material de partida y condiciones experimentales similares; entre estos parámetros se pueden mencionar el contenido en ácidos grasos libres, los índices de peróxidos, TBA y valor K, así como la determinación del desarrollo de microrganismos aerobios mesófilos.

Capítulo 2.

Este estudio se enfocó en estudiar el efecto del almacenamiento congelado sobre las propiedes físicas y vida útil del salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) durante 12 meses.

Los parámetros de color y textura son determinantes en la exportación de salmones Coho enteros H&G congelado. De acuerdo al conjunto de análisis realizados hasta el octavo mes el salmón Coho de acuicultura congelado a -20 °C se puede clasificar con calidad Premium, siendo la textura un parámetro limitante de su vida útil.

En relación al *gaping* y color de los salmones congelados, la comercialización del salmón Coho es posible realizarla con calidad Premium hasta el mes 8 de almacenamiento siendo la firmeza y C.R.A. en el músculo crudo y el *dripping* en el músculo cocido los parámetros más indicativos del deterioro del salmón Coho, alcanzando el límite máximo de aceptabilidad en el mes 10 de almacenamiento congelado.

CONCLUSIONES PARTE 1.

La conservación del salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) en refrigeración con hielo en escamas a 2 °C y en congelación a -20 °C permitieron ralentizar las reacciones químicas, microbiológicas y enzimáticas hasta el día 12 de almacenamiento al estado refrigerado y hasta el mes 8 de almacenamiento congelado, respectivamente, presentando ambos calidad Premium para su comercialización.

Sin embargo, en el tiempo no es posible detener por completo la velocidad de degradación, y los cambios en el olor, sabor y textura en refrigeración, y color y textura en congelación llevaron a su rechazo después del día 17 de almacenamiento refrigerado y al mes 10 en el almacenamiento congelado.

PARTE 2. APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS AVANZADAS PARA LA MEJORA DE LA CALIDAD DE DISTINTOS TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES DE SALMÓN COHO.

Capítulo 3.

Este estudio permitió aplicar la técnica de conservar en hielo líquido al salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) previo a la cocción como método de preservación y procesamiento alternativo al de hielo en escama. A partir de los resultados, el desarrollo de oxidación primaria y secundaria de lípidos y la formación de compuestos de interacción parecen ser los principales indicadores de cambios medibles de calidad en salmón Coho cocido.

Las ventajas de aplicar el hielo líquido antes del proceso de cocción en comparación con salmón previamente conservado en hielo en escamas se evidenciaron en un producto de mayor firmeza sin presentar cambios significativos en cuanto a olores rancios y pútridos.

De acuerdo a la evaluación sensorial la suspensión de hielo líquido demostró ser un medio adecuado para el almacenamiento previo al tratamiento de cocción del salmón Coho por un período de hasta 9 días.

Capítulo 4.

Este estudio permitió aplicar la técnica de almacenar y mantener en hielo líquido al salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) previo al proceso de esterilización como método de preservación y procesamiento alternativo al de hielo en escama.

De acuerdo con los valores de olores oxidado y pútrido (medidos en músculo de pescado y en aceite de cobertura), se puede concluir que el salmón Coho ha llevado a un producto enlatado altamente aceptable bajo las presentes condiciones ensayadas (sacrificio y conservación en hielo hasta 9 días). Se pudo observar un efecto mayor de la condición de hielo y su tiempo de aplicación al analizar la formación hidrolítica de algunos metabolitos químicos. Así, la formación de AGL y el valor K en músculo enlatado reflejaron una influencia importante del sistema de hielo previamente empleado, así como del tiempo en hielo líquido; asimismo, la formación de TMA indicó un patrón similar a la mayoría de las propiedades sensoriales y físicas.

Capítulo 5.

Se estudió un sistema de envasado combinando vacío y extractos polifenólicos (ácidos *p*-cumárico y ferúlicos), obtenidos a partir de cáscara de cebada, sobre el deterioro lipídico de salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) congelado cultivado bajo condiciones de almacenamiento congelado a -18 °C durante 18 meses.

De acuerdo con los datos de oxidación primaria (formación de dienos conjugados) y terciarios (formación de compuestos fluorescentes), se concluyó un efecto inhibidor parcial sobre el desarrollo de la rancidez, un menor desarrollo de olor rancio y un efecto inhibidor de la pérdida de tocoferoles alfa y gamma al ser comparados con pescado control como resultado de la utilización de este sistema.

Las ventajas obtenidas como resultado de la presencia de los compuestos polifenólicos en el envase son comparables a las obtenidas al aplicar vacío considerando además, la interacción de los polifenoles del envase en forma activa y contínua con el salmón durante el almacenamiento congelado por 18 meses.

Este estudio presenta una primera aproximación al uso de una condición nueva de envasado enfocada a la conservación en congelación de especies de pescado graso como el salmón Coho. Se plantean nuevos estudios al objeto de optimizar la composición cuantitativa presente en películas susceptibles de ser empleadas durante al conservación en congelación de salmón Coho.

Capítulo 6.

El estudio se centra en el efecto del reemplazo de antioxidantes sintéticos de la dieta de salmones por naturales sobre las propiedes físicas y sensoriales del salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*).

En este estudio, el salmón Coho cultivado fue alimentado con una dieta convencional enriquecida con distintos tipos de antioxidantes: sintéticos (BHT y etoxiquina; dieta I), una mezcla rica en tocoferoles (dieta II) y una mezcla de tocoferoles y extracto de romero (dieta III).

Del análisis comparativo del efecto de la composición de antioxidantes en la dieta sobre los cambios sensoriales y físicos en el producto congelado correspondiente, se reconoce que después de 18 meses almacenado a -18 °C, el empleo de la dieta II es el más prometedor al objeto de mantener las propiedades sensoriales y físicas del producto congelado cuando se pretende realizar una conservación larga. La microestructura de los sarcómeros permaneció invariable en el músculo de salmón previamente alimentado con esta dieta.

Capítulo 7.

En este estudio se analizó el efecto de un tratamiento previo por altas presiones hidrostáticas (APH) sobre las propiedades sensoriales y físicas de salmón Coho conservado en refrigeración durante 20 días.

Los resultados demostraron que la condición T-1 (135 MPa por 30 s) puede proporcionar una combinación efectiva de presión y tiempo de presurización al objeto de mantenerse las propiedades de olor, textura y color cuando el pescado debe ser comercializado en estado fresco. Los resultados obtenidos en el experimento de

conservación en hielo están de acuerdo con el estudio de optimización preliminar, donde de la condición T-1 demostró ser la más acertada.

CONCLUSIONES PARTE 2.

Los resultados obtenidos en este estudio abren el camino a la aplicación de distintas tecnologías avanzadas de conservación para el salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) que aporten con mayor valor agregado a la actual comercialización del producto en estado refrigerado y congelado.

Al objeto de inhibir las distintas vías de alteración típicas de esta especie marina grasa, se ensayaron las tecnologías de hielo líquido, envases activos incluyendo antioxidantes naturales, alimentación con dietas enriquecidas en antioxidantes naturales durante el periodo de crecimiento y altas presiones hidrostáticas.

Los análisis de calidad llevados a cabo a lo largo del desarrollo de los distintos experimentos incluyendo los químicos y microbiológicos, pero de un modo especial los de tipo sensorial y físico recalcan la importancia de establecer una selección cuidadosa de los parámetros de los tratamientos de las distintas tecnologías al objeto de minimizar los cambios indeseables relacionados con las propiedades sensoriales y físicas.

Se necesitaría una investigación más profunda para reforzar las posibilidades comerciales y tecnológicas con el fin de proporcionar al consumidor la mejor tecnología para esta especie que permita garantizar así la alta calidad y seguridad alimentaria del producto resultante.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

RESUMEN

El salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*), también denominado salmón plateado, ha adquirido recientemente un papel relevante debido a su producción acuícola creciente en países como Chile, Japón y Canadá, en paralelo con importantes capturas en países como Estados Unidos de Norteamérica, Rusia, Canadá y Japón. Este proyecto de tesis se centra en esta especie y en sus productos derivados de tipo refrigerado, congelado, cocido y enlatado, susceptibles de ser empleados en la dieta humana.

En una primera fase se llevó a cabo el estudio de su conservación en refrigeración (hielo tradicional) y en congelación (-20 °C), haciéndose hincapié en su tiempo de vida útil, así como en el desarrollo relativo de las distintas vías de alteración. En una segunda fase, se estudió la aplicación de distintas tecnologías avanzadas de conservación al objeto de inhibir los distintos mecanismos de degradación y por tanto de prolongar el tiempo de vida útil. Entre estas tecnologías ensayadas se encuentran el hielo líquido, envases activos incluyendo antioxidantes naturales, altas presiones hidrostáticas y alimentación con dietas enriquecidas en antioxidantes naturales durante el periodo de crecimiento.

Los análisis de calidad llevados a cabo a lo largo del desarrollo de los distintos experimentos incluyeron los químicos y microbiológicos, pero de un modo especial los de tipo sensorial y físico.

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA