

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**“CONGELACION Y REFRIGERACION DE FILETES DE
TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) ENVASADO
AL VACIO”**

TESIS

PRESENTADO POR:

Bach. FREDY CCALLO MAQUERA

PARA OPTAR EL TITULO DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PUNO

PERU

2009

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

**“CONGELACION Y REFRIGERACION DE FILETES DE
TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) ENVASADO
AL VACIO”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. FREDY CCALLO MAQUERA

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

Ing. M.Sc. PABLO PARI HUARCAYA

PRIMER MIEMBRO

Ing. M.Sc. ALEJANDRO COLOMA PAXI

SEGUNDO MIEMBRO

Ing. EDGAR GALLEGOS ROJAS

DIRECTOR DE TESIS

Ing. M.Sc. F. VICTOR CHOQUEHUANCA CACERES

ASESOR DE TESIS

Ing. M.Sc. THOMAS ANCCO VIZCARRA

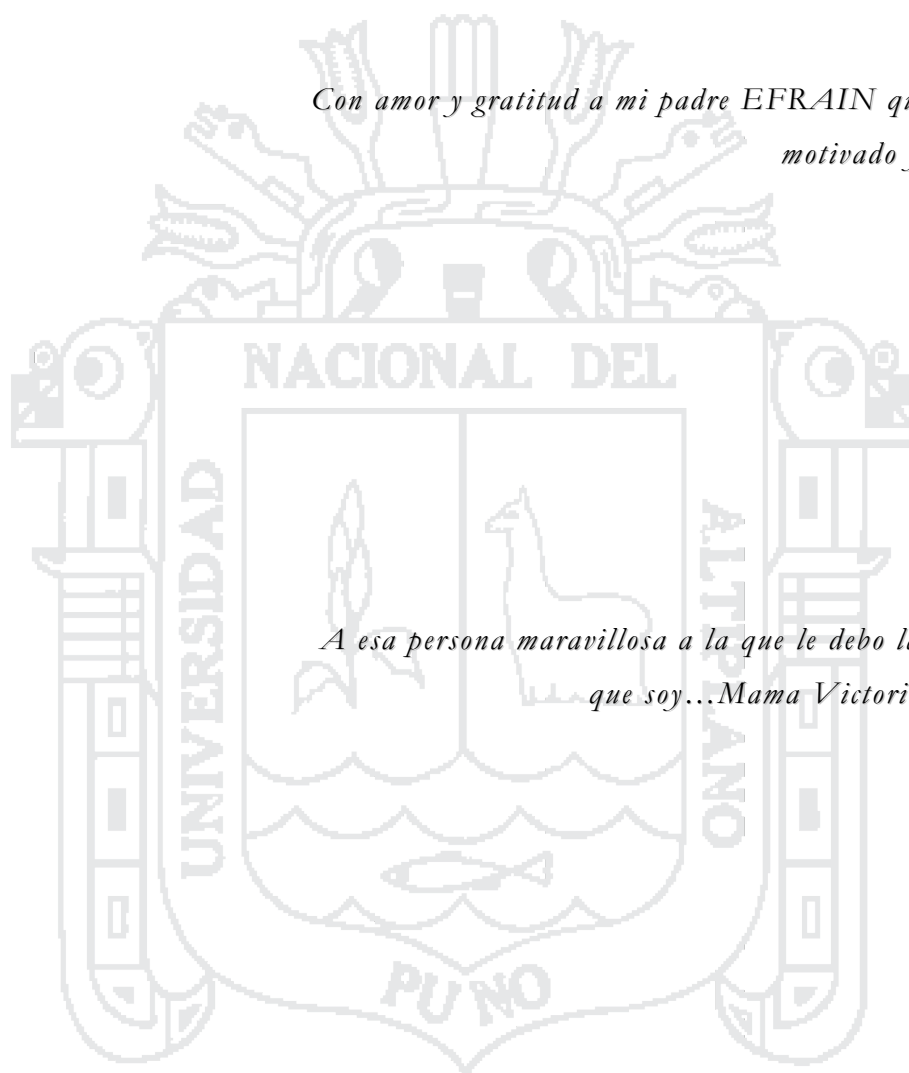
Área: Ingeniería y tecnología

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

DEDICATORIA

Con amor y gratitud a mi padre EFRAIN quien me ha motivado y apoyado.

A esa persona maravillosa a la que le debo la vida y lo que soy...Mama Victoria para Ti.



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, por haberme brindado una formación Profesional, y a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias, por los conocimientos y enseñanzas impartidas durante mi formación.

A nuestro asesor de Tesis Ing. M. Sc. Thomas Ancco Vizcarra, a quien quiero expresar mi más sincero y afectuoso agradecimiento por su inestimable, permanente e incondicional apoyo, entereza y orientación en la realización del trabajo de investigación.

También quiero agradecer a nuestro director de Tesis Ing. M.Sc. Víctor Choquehuanca Cáceres, por su valioso apoyo científico y orientación.

A todos los amigos y personas que de una y otra manera han contribuido en la realización hasta la culminación del presente estudio de investigación.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCION.....	2
II. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1 Trucha.....	3
2.1.1 Aspectos Biológicos.....	3
2.1.1.1 Clasificación.....	3
2.1.1.2 Anatomía y Fisiología.....	4
2.1.2 Composición Química.....	5
2.1.2.1 Principales Constituyentes.....	5
2.2 Congelación.....	6
2.2.1 Estructura del Hielo.....	8
A. Nucleación.....	9
B. Crecimiento de los Cristales.....	9
2.2.2 Aspectos Físicos de la Congelación.....	10
2.2.3 Factores que Influyen en el Tiempo de Congelación.....	11
2.2.4 Tiempo de Congelación.....	12
A. Tiempo Efectivo de Congelación.....	12
B. Tiempo de Congelación Nominal.....	12
C. Modelos para Determinar el Tiempo de Congelación.....	13
C.1. Ecuación de Plank.....	13
C.2. Tiempo de Congelación por Conducción, Solución Aproximada de Planck.....	13
C.3. Ecuación de Nagaoka.....	14
C.4. Velocidad de Congelación.....	15
2.3 Refrigeración.....	16
2.3.1 Cambios en la Calidad y Duración en Almacén del Pescado Enfriado.....	16
2.3.2 Efecto de la Temperatura de Almacenamiento.....	18
2.3.3 Efecto de la Higiene Durante la Manipulación.....	20

2.3.4	Efecto de las Condiciones Anaeróbicas y del Dióxido de Carbono.....	21
2.3.5	Efecto del Eviscerado.....	23
2.3.6	Efecto de la Especie de Pescado, la Zona de Pesca y la Estación.....	24
2.4	Evaluación de la Calidad del Pescado.....	26
2.4.1	Métodos Sensoriales.....	26
2.4.2	Métodos Bioquímicos y Químicos.....	30
2.4.3	Métodos Físicos.....	33
2.4.3.1	pH y EH.....	33
2.4.3.2	Medida de la Textura	33
2.4.4	Métodos Microbiológicos.....	34
2.4.4.1	Recuento Total.....	34
2.5	Bacterias del Deterioro.....	36
III.	MATERIALES Y METODOS.....	37
3.1	Lugar de Ejecución.....	37
3.2	Materiales y Métodos.....	37
3.2.1	Materias Primas.....	37
3.2.2	Maquinaria y Equipos y Materiales.....	37
3.3	Metodología para la conservación a temperaturas de Refrigeración y Congelación	38
3.4	Métodos de Análisis.....	39
3.5	Metodología del Diseño Estadístico.....	39
3.5.1	Diseño Estadístico.....	39
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	41
4.1	Resultados de la Congelación de los Filetes de Trucha.....	41
4.2	Resultados de Evaluación de la Conservación.....	45
4.3	Resultados de la Conservación en Congelación de los Filetes de Trucha.....	49
V.	CONCLUSIONES.....	58

VI. RECOMENDACIONES.....59

VII. BIBLIOGRAFIA.....60

VIII. ANEXO.....69



INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Principales Características para la diferenciación de la Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	4
Cuadro 2: Composición Química Nutricional de la Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).	5
Cuadro 3. Propiedades del hielo en función de la temperatura.....	10
Cuadro 4. Predicción de la duración en almacén de productos pesqueros almacenados a diferentes temperaturas.....	19
Cuadro 5. Efecto de las condiciones de empaque sobre la duración en almacén del pescado enfriado y de productos cárnicos.....	21
Cuadro 6. Factores intrínsecos que afectan la velocidad de deterioro de especies de pescado almacenadas en hielo.....	24
Cuadro 7. Duración en almacén de algunas especies de pescado de aguas templadas y tropicales.....	25
Cuadro 8. Esquema para la evaluación de la calidad empleado para identificar el índice de calidad mediante deméritos.....	28
Cuadro 9. Ejemplo de una hoja de puntuación: Prueba triangular.....	29
Cuadro 10. Métodos para la determinación del contenido de bacterias en productos pesqueros.....	35
Cuadro 11. Análisis de Varianza del PH durante el almacenamiento refrigerado.....	45
Cuadro 12. Comparaciones Múltiples de DUNCAN del pH entre días de almacenamiento en refrigeración.....	46

Cuadro 13. Contraste del pH entre días de almacenamiento en refrigeración.....	46
Cuadro 14. Análisis de Variancia de la acidez de los filetes de trucha durante el almacenamiento refrigerado.....	46
Cuadro 15. Comparaciones Múltiples de DUNCAN del Acidez entre días de almacenamiento en refrigeración.....	47
Cuadro 16. Contraste de la Acidez entre días de almacenamiento en refrigeración.....	47
Cuadro 17. Análisis de variancia del índice de peróxidos de los filetes de trucha durante el almacenamiento refrigerado.....	48
Cuadro18. Comparaciones Múltiples de DUNCAN del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en refrigeración.....	49
Cuadro 19. Contraste del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en refrigeración.....	49
Cuadro 20. Análisis de pH de los filetes de trucha durante el almacenamiento en congelación.....	50
Cuadro 21. Es Múltiples de DUNCAN del pH entre días de almacenamiento en congelación.....	50
Cuadro 22. Contraste del pH entre días de almacenamiento en congelación.....	50
Cuadro 23. Análisis de variancia de la acidez de los filetes de trucha durante el almacenamiento en congelación.....	51

Cuadro 24. Comparaciones Múltiples de DUNCAN de la Acidez entre días de almacenamiento en congelación.....	51
Cuadro 25. Contraste de la Acidez entre días de almacenamiento en congelación.....	51
Cuadro 26. Análisis de variancia del índice de peróxidos de los filetes de trucha durante el almacenamiento en congelación.....	52
Cuadro 27. Comparaciones Múltiples de DUNCAN del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en congelación.....	52
Cuadro 28. Contraste del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en congelación.....	52
Cuadro 29. Reporte de aerobios mesofilos en ufc/g de los filetes de trucha almacenado en refrigeración y conservación en congelación.....	54
Cuadro 30. Reporte de <i>Staphylococcus aureus</i> en ufc/g de los filetes de trucha almacenado en refrigeración y conservación en congelación.....	55

INDICE DE FIGURAS

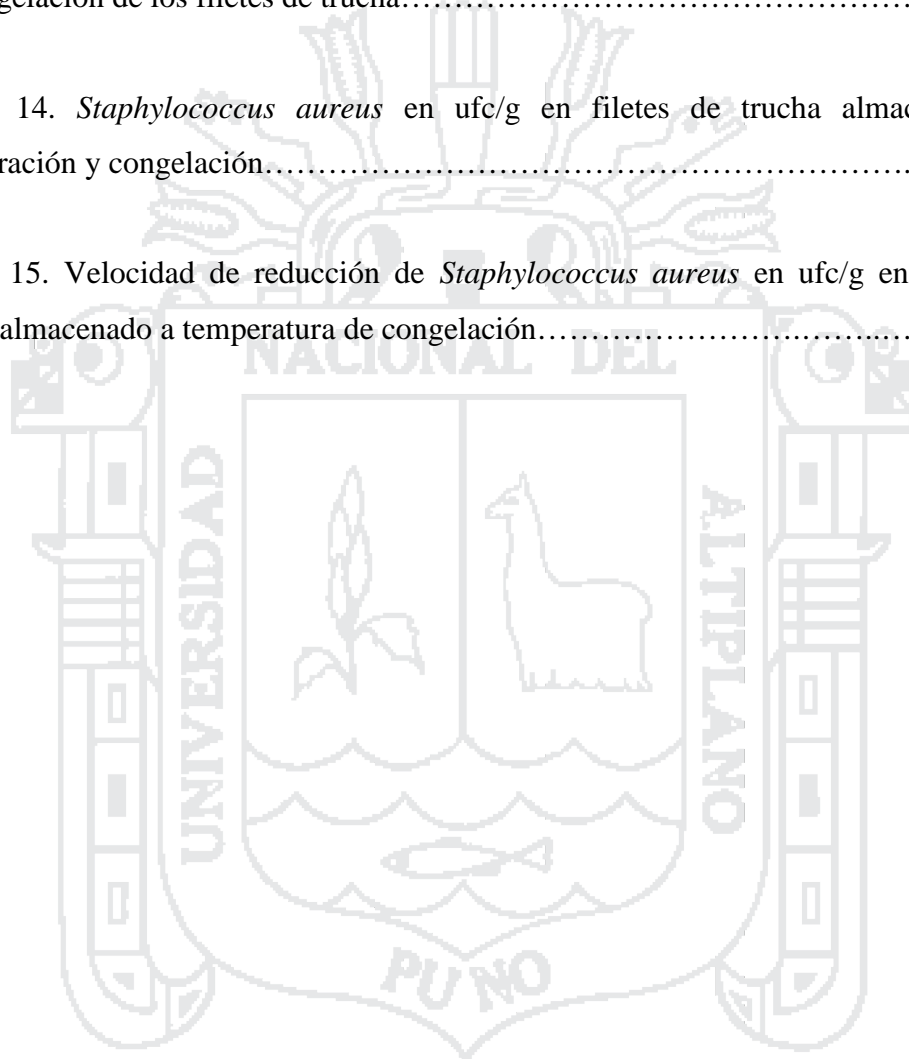
Figura 1. Curva de congelación del agua pura.....	7
Figura 2. Curva de congelación de un alimento.....	7
Figura 3. Curva de tiempo temperatura (replica 1) en la congelación de filetes de trucha.....	41
Figura 4. Curva de tiempo temperatura (replica 2) en la congelación de filetes de trucha.....	42
Figura 5. Curva de tiempo temperatura (replica 3) en la congelación de filetes de trucha.....	42
Figura 6. Relación entre fracción de agua no congelada y temperatura del filete de trucha.....	43
Figura 7. Curva de congelación promedio para los filetes de trucha envasadas al vacío.....	44
Figura 8. Porcentaje de agua congelada y sin congelar en los filetes de trucha.....	44
Figura 9. pH de los filetes de trucha bajo condiciones de almacenamiento refrigerado y en congelación.....	45
Figura 10. Acidez de los filetes de trucha bajo condiciones de almacenamiento refrigerado y en congelación.....	47
Figura 11. Índice de Peróxidos de los filetes de trucha bajo condiciones de refrigeración.....	48

Figura 12. Aerobios mesófilos durante el almacenamiento en refrigeración y congelación de los filetes de trucha.....54

Figura 13. Velocidad de reducción de Aerobios mesófilos durante el almacenamiento en congelación de los filetes de trucha.....55

Figura 14. *Staphylococcus aureus* en ufc/g en filetes de trucha almacenado en refrigeración y congelación.....56

Figura 15. Velocidad de reducción de *Staphylococcus aureus* en ufc/g en filetes de trucha almacenado a temperatura de congelación.....56



RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en la Ciudad de Puno a 3,828 m.s.n.m, cuyo objetivo fue de determinar el tiempo de congelación y evaluar su almacenamiento a temperatura de refrigeración y congelación. Se empleó como materia prima filetes de trucha Arco Iris (*Onkorinchus mikys*), los cuales se sometieron a congelación; mediante un sistema de adquisición de datos se registro el comportamiento de la temperatura y por calculo se determinó con precisión el inicio de la congelación y el tiempo total de congelación, así como la fracción de agua congelada y sin congelar. Se efectuaron pruebas microbiológicas y sensoriales cada 8 días, las pruebas duraron un tiempo de 32 días para los estudios de almacenamiento. Los resultados de los estudios de almacenamiento y pruebas sensoriales se evaluaron bajo un diseño completo al azar de solo factor. Obteniéndose resultados de curvas de congelación características, en refrigeración el producto permaneció estable por 8 días y en congelación 32 días, determinandose carga microbiana dentro de los estándares de aceptabilidad para el almacenamiento a temperatura de congelación de -18°C . Concluyéndose que la temperatura de inicio de congelación en filetes de trucha envasadas al vacío, es -1.1°C , el cual se logró alcanzar en 0.5 horas a -18C , congelándose los filetes en un tiempo de 2.6 horas, el agua sin congelar fue 6,29% y 93,7% de agua congelada. La conservación a temperatura de congelación es la mas adecuada permitiendo conservar la calidad de los filetes de trucha aceptable en términos microbiológicos. El desarrollo de microorganismo fue a mayor velocidad en refrigeración que en congelación, lográndose un producto estable hasta tres (03) días en refrigeración y treinta y dos (32) días en congelación. Un equipo de registro de datos de tiempo y temperatura en los filetes de trucha envasadas al vacío, permite identificar y estimar con precisión las tres fases del proceso de congelación (inicio, congelación y atemperado).

I. INTRODUCCION

En la actualidad esta en incremento el consumo de alimentos naturales y con mínimo proceso e intervención de tecnologías que modifican su conservación. Además los productos hidrobiológicos como el pescado están siendo muy recomendados como alternativa saludable para reemplazar las grasas saturadas en las dietas comerciales y de consumo masivo, por su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados.

La preocupación por las grasas, especialmente las saturadas, se debe a la alta correlación entre su consumo y la incidencia de enfermedades cardiovasculares. El pescado es uno de los productos de consumo que aparece como una alternativa importante en el reemplazo de estas grasas en las dietas, especialmente por los ácidos grasos omega-3 (ω -3), cuyo consumo ha llevado a una reducción en la incidencia de enfermedades coronarias, algunos tipos de cáncer y artritis reumática y en factores importantes en el desarrollo y funciones del cerebro y de la visión.

La insaturación de la grasa de la trucha (*Onkorinchus mikys*) los hace más susceptibles a autooxidación, causando rancidez en el producto y generando subproductos que proporcionan mal olor y mal sabor a los alimentos, además de la proliferación de microorganismos por que la trucha al ser un alimento biológicamente completa con alto contenido de sustratos especialmente proteínas están propensas al ataque biológico que se multiplican a grandes velocidades lo que desmedra la calidad del pescado, por ello como una alternativa de conservación es la refrigeración y para que esta garantice tal fin de su empleo requiere que se determine el punto de congelación a fin de determinar la temperatura adecuada de su almacenamiento, por lo indicado los objetivos del estudio fueron:

- Determinar el tiempo de congelación de los filetes de trucha.
- Evaluar la conservación a temperatura de refrigeración y congelación de filete de trucha.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 TRUCHA

La trucha arco iris es originaria de la cuenca del río sacramento, en California, el cultivo de la trucha es una actividad que se ha desarrollado y expandido en toda las aguas frías del mundo (Europa, Oriente y Países Latinoamericanos). La trucha arco iris se ha expandido en las vertiente del pacifico de Norteamérica, desde el sur de Alaska hasta el sur de Oregon y California. Es la especie de los salmónidos más ampliamente distribuida y cultivada desde la segunda mitad del siglo pasado. Se tiene referencias que en 1980 fueron introducidos en Europa (Gomez, 1998), sostiene que la actividad truchicola se inicio bajo un sistema extensivo en décadas de los años 1940 con la siembra en el Lago Titicaca de alevinos de trucha, habiéndose adaptado y difundido en toda la cuenca del Titicaca. Esta introducción a la que siguieron numerosas replicas en los años siguientes tuvo repercusiones económicas positivas en las comunidades residentes en las cercanías de los ríos y lago soporto en la década de los años 1970 la presión de cuatro empresas procesadoras con una capacidad instalada de 250 T.M. por año que se exportaron el producto a los mercados de Estados Unidos y Europa. (Proyecto Especial Truchas Titicaca, 1995).

2.1.1 ASPECTOS BIOLOGICOS

2.1.1.1 Clasificación

De acuerdo a la clasificación sistemática se presenta de la siguiente manera:

Reino	: Animalia
Phylum	: Chordata
Sub- phylum	: Vertebrata
Súper clase	: Actinopterygii
Orden	: Salmoniformes
Sub orden	: Salmonidae
Género	: Oncorynchus
Especie	: <i>Oncorynchus mykiss</i>
Nombre vulgar	: Trucha Arco Iris

Fuente: Recopilado en compendio Tecnológico pesquero por IMARPE/ITP (1996).

2.1.1.2 Anatomía y fisiología

Debido a la diferencia y dimorfismo sexual la trucha arco iris presenta las siguientes características, tal como se muestra en el Cuadro 1 (Acosta, 2002).

CUADRO 1: Principales Características para la diferenciación de la Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Características	Macho	Hembra
Cuerpo	Delgado	Voluminoso
Cabeza	Forma ligera triangular	Redondeado
Boca y mandíbula	Agudos	No muy agudo
Musculatura	Dura	Suave
Abdomen	Dura	Blando por los ovas
Poros genital	No prominente	Prominentes
Color nupcial	Muy negrusca	Normal
Anchura	Angosta	Ancho
Fecundidad	2-4 años	2-5 años

Fuente: Acosta, (2002).

La trucha se encuentra cubierta de finas escamas, presenta un primera aleta dorsal de radios blandos y una segunda aleta dorsal adiposa, aleta caudal, aleta anal, dos aletas pelvianas y dos aletas pectorales, maxilar superior y inferior, el comer y la lengua están provistas de dientes agudos y fuertes (López, 2003) indica que los músculos del cuerpo representan alrededor de las tres quintas partes del volumen total del pez corresponden a las partes comestibles, en la mitad de sus laterales tiene una franja Longitudinal rojo púrpura o rojizo más notable, siendo estas características. La que le da el nombre de arco iris, por otra parte en referencia a la coloración de la carne tiene una estrecha relación con su alimentación, así cuando la trucha se alimentan de los insectos y organismos bentónicos que contiene en su organismo como estaxantina, la carne toma la coloración o pigmentación variable de rosado a anaranjado, estos organismos conocidos comúnmente con el nombre de Camaroncillos o Canicani (*Genero Gammarus SP.*) existen en cualquier región del altiplano como también es variable y dependiente del sexo, edad, calidad de agua y tipo de alimentación (Reyes, 2004). Manifiesta la madurez sexual para esta especie se alcanza los 18 meses en el caso de los machos y 21 meses en las hembras, sin embargo esta madurez no llega a ser completa si no hasta los 2.5 – 3 años (Burgues, 1990).

Las épocas de reproducción varían de acuerdo a la zona geográfica, latitud y longitud, en el Perú se inicia la época de reproducción en el mes de Abril y dura hasta Octubre. (Portillo, citado por Cevallos, 1990).

2.1.2 COMPOSICION QUIMICA

2.1.2.1 Principales constituyentes

La composición de la trucha arco iris varia de acuerdo a diversos factores, tales como; el contenido de grasas y proteínas del cuerpo los que se incrementan con la edad y durante los 14 primeros meses de la vida, el contenido de ceniza permanece constante. (Instituto Tecnológico Pesquero, 1998).

En el Cuadro 2 se aprecia la composición química de la trucha arco iris fresca según varios autores. (Instituto Tecnológico Pesquero, 1998).

CUADRO 2: Composición Química Nutricional de la Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Composición	1(*)	2(**)	3(***)	4(****)	5(*****)
Humedad	75.8	73.09	76.57	75.00	70.6
Grasa	3.1	7.22	3.44	1.00	10.0
Proteínas	19.5	17.5	18.45	20.90	18.3
Ceniza	1.2	1.2	1.27	3.00	-
Carbohidratos	0.4	0.79	-	-	-

Fuente: * Instituto Tecnológico Pesquero ITP – LIMA-PERU- (1998)

** ARAPA, (2003)

*** Pacho, (2003)

**** Direccion Regional de Pesquería, (1998)

***** Charley, (1995)

Existe el conocimiento general que enmarca la exquisitez y valor proteico de la trucha donde las proteínas son de buena calidad y de fácil digestibilidad.

Así mismo se afirma que, esta especie es fuente de vitaminas del complejo B, tales como tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2) y niacina, además de una gran dotación de calorías con una mínima cantidad de colesterol. (García, 1996).

2.2 CONGELACIÓN

La congelación es un proceso físico-químico complejo, de intercambio de calor y agua entre las células y el medio externo, que culmina en un cambio de una fase líquida a una sólida (Schneider y Mazur, 1984). Se logra incorporando un agente crioprotector al medio de congelación (Schneider y Mazur, 1986). Al iniciarse el descenso de la temperatura, comienza a formarse hielo extracelular, con la consecuente concentración de sales, lo que provoca disminución del volumen celular y destrucción de la membrana plasmática. al tener una tasa de enfriamiento muy rápida, el agua no alcanza a salir del interior de la célula y se produce el hielo intracelular (Cabodevilla y Teurel, 2001).

La congelación es una alternativa importante para la reducción de la tasa de oxidación de lípidos en el músculo del pescado, ya que reduce la circulación de oxígeno alrededor de los ácidos grasos, inmoviliza el agua necesaria para que ocurran las reacciones bioquímicas y reduce la rapidez de dichas reacciones. La Figura 1 muestra la curva típica de congelación del agua pura. La temperatura desciende a 0°C para cambiar de estado. Luego, ocurre un incremento en el volumen del recipiente que lo contiene. La temperatura permanece constante hasta que toda el agua es congelada y luego la temperatura de los cristales desciende (Lewis, 1996).

La curva de congelación típica de un alimento se muestra en la Figura 2. El proceso de congelación de los alimentos es más complejo que la congelación del agua pura. Los alimentos presentan un comportamiento ante la congelación similar al de las soluciones. La curva de congelación posee las siguientes secciones:

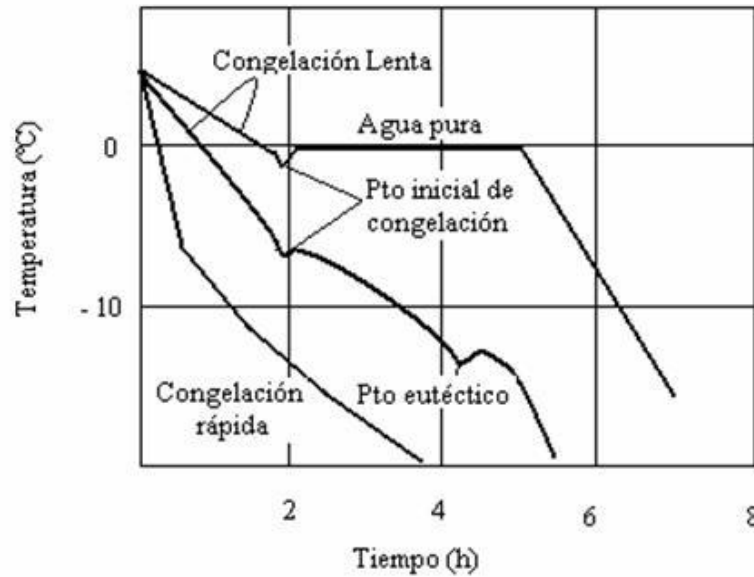


Figura 1. Curva de congelación del agua pura.

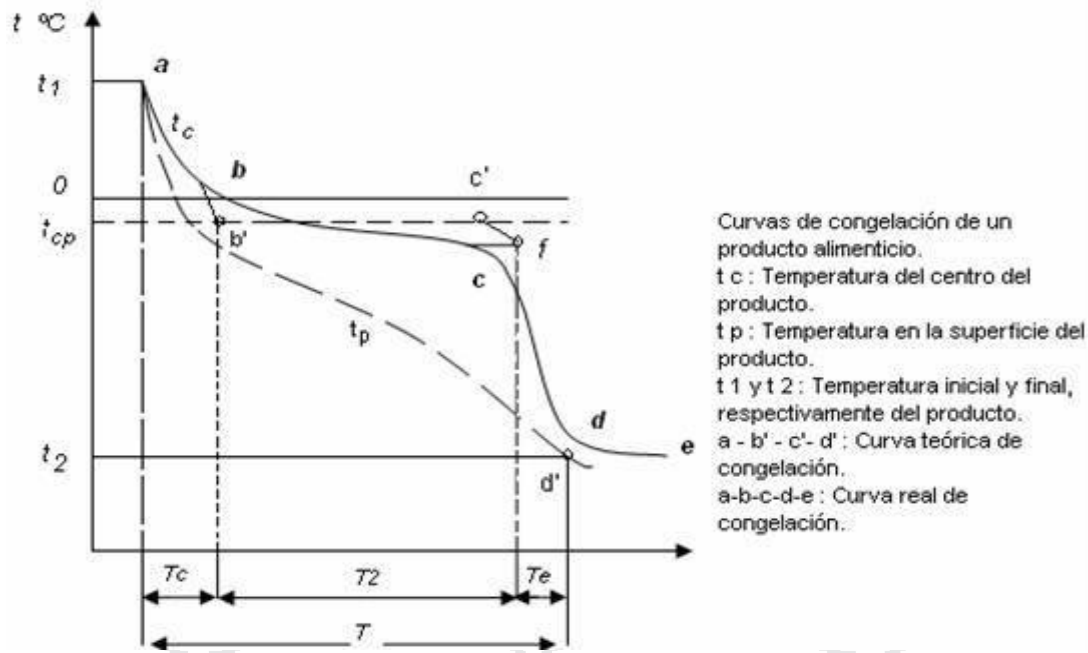


Figura 2. Curva de congelación de un alimento.

De Man, 1999; Lewis, (1993) y Gruda y Postolski, (1986), En la primera fase, que corresponde al tramo *a* hasta *b* se produce la refrigeración del artículo a congelar desde la temperatura inicial t_0 hasta la temperatura crioscópica t_{kr} . El tramo *b* a *c* corresponde a la congelación propiamente dicha. En teoría, este tramo tendría que discurrir horizontalmente. En la realidad, la concentración del jugo celular aumenta al incrementarse la cantidad de agua congelada, disminuyendo a la vez constantemente el punto crioscópico. Así se genera una curva diferente de la horizontal. En el punto en

que la curva comienza bruscamente a caer (punto *c*) se inicia una nueva fase, que es el post enfriamiento del producto congelado. En esta fase (tramo desde *c* a *d*) disminuye la temperatura del artículo congelado y alcanza una magnitud de la que puede partirse en el proceso tecnológico. Aquí debe recalcar que la división en la segunda fase (tramo *b* hasta *c*) y tercera fase (tramo *c* a *d*) es únicamente un convenio arbitrario. La sola determinación del punto *c*, que representa el final del propio proceso congelador, es muy difícil. De aquí se deduce (según *Rjutov*) que sea determinado a una temperatura de -4°C , lo que corresponde en la mayoría de los alimentos a una congelación aproximada del 73 % de la cantidad total de agua. Como la congelación del agua prosigue hasta temperaturas muy bajas, ambas fases del proceso, la congelación propiamente dicha y el postenfriamiento, discurren por consiguiente de manera simultánea dentro del tramo de *c* hasta *d*. Para poder determinar en la práctica el momento en que concluye la congelación genuina, se toma el punto *f*, que se halla en la intersección de las prolongaciones del tramo *b* a *c* y de *d* hasta *c*.

La congelación es un medio excelente para mantener casi inalteradas durante un tiempo prolongado las características originales de alimentos perecederos. Éste tipo de conservación radica en la disminución de la temperatura, generalmente entre -20°C a -30°C , lo cual permite que las reacciones bioquímicas sean más lentas y además inhibe la actividad microbiana, generando el estado de latencia de ésta, lo que no significa que los microorganismos estén muertos. Durante el proceso se produce la solidificación del agua libre presente en el alimento, es decir, el agua contenida es transformada en hielo a una temperatura habitual de -18°C , disminuyendo así la actividad de agua. (Rojas y Treguear, 1999).

La congelación uno de los procesos más comunes de conservación de alimentos, resulta efectiva en la retención de aroma color y valor nutritivo de alimentos y es moderadamente en la conservación de la textura. (Schwartzberg, 1999).

2.2.1 ESTRUCTURA DEL HIELO.

Las moléculas de agua debido a sus cuatro fuerzas de atracción, pueden asociarse por medio de enlaces de hidrógeno con cuatro moléculas de agua, de forma que cada átomo de oxígeno se une, mediante enlaces covalentes con los átomos de hidrógeno y mediante enlaces de hidrógeno con otros dos átomos de hidrógeno.

Este tipo de uniones por extensión, da la estructura hexagonal característica del hielo formado por la unión de varios tetraedros. En términos de crecimiento de cristales es aceptable descartar los hidrógenos y considerar sólo la estructura formada por el oxígeno, recordando eso si que ingresen dos oxígenos vecinos, siempre hay un ión de hidrógeno formando enlaces. En el hielo los iones de oxígeno están distribuidos en forma “zig-zag”. (Earle, 1998).

Debe tenerse en cuenta que la capa no es plana. Los iones de oxígeno están en dos distintos niveles. Con el cambio de estado de hielo agua se pierde la rigidez del primero, pero en el agua aún quedan los núcleos de moléculas de agua ordenada de forma parecida a las existentes en el hielo. Si se aumenta la temperatura, los núcleos se hacen más pequeños y numerosos, rompiéndose todas las uniones entre las moléculas de agua al alcanzar una temperatura de 100°C. Aquí se produce la vaporización. (Rojas y Treguear, 1999).

La formación de hielo pasa por las siguientes etapas.

C. Nucleación.

Se denomina así al comienzo de la transformación de una fase inestable a otra más estable. Durante esta etapa se forma el núcleo del cristal, lo cual no sucede sin un previo sub-enfriamiento. (Singh y Heldman, 2000).

D. Crecimiento de los cristales.

Al congelar un producto lo que se va congelando paulatinamente es el agua que éste contiene. En el momento de iniciarse la congelación del agua, se transforma en hielo puro, mientras que la fase líquida restante que está sin congelar aumenta la concentración de sustancias disueltas, disminuyendo así el punto de congelación. El que un producto congelado se encuentre completamente duro, no significa que se encuentre completamente congelado, por ejemplo en el pescado: a -3°C el porcentaje de agua congelada es de 80%, a -20°C el porcentaje es de 94% y a -57°C el porcentaje es de 100%, pero en este 100% no está considerada el agua que no se congela, o sea el porcentaje que corresponde al agua ligada.

El agua está presente en los alimentos como agua ligada (formando parte de proteínas y otras moléculas) así como también en forma libre. Esta última es la que se congela, mientras más baja es la temperatura, mayor cantidad o porcentaje de agua es posible congelar, y esto implica que mayor cantidad de elementos quedan sin reaccionar, por lo que el producto puede conservarse por períodos mayores de tiempo. Esto permite concluir que la zona crítica de temperaturas debe ser pasada rápidamente en alimentos, además es importante considerar que una mal aplicación de la cadena de frío también genera exudación, ya que ocurren fenómenos de recristalización y crecimiento de los cristales. (Singh y Heldman, 2000).

En la siguiente tabla se muestra algunos datos térmicos del hielo.

CUADRO 3. Propiedades del hielo en función de la temperatura.

Temperatura °C)	Conductividad térmica (W/m·K)	Calor específico (kJ/kg · K)	Densidad (kg/m ³)
- 101	3.50	1.382	925.8
- 73	3.08	1.587	924.2
- 45.5	2.72	1.783	922.6
- 23	2.41	1.922	919.4
- 18	2.37	1.955	919.4
- 12	2.32	1.989	919.4
- 7	2.27	2.022	917.8
0	2.22	2.050	916.2

Fuente: Singh y Heldman, (2000).

2.2.2 ASPECTOS FISICOS DE LA CONGELACION.

El agua del interior de las células y la que se encuentra entre ellas forma cristales diminutos de hielo cuando se congela de un modo rápido. Cuando la congelación es lenta se desarrollan cristales grandes de hielo y agrupaciones de los mismos, provocando muchas rupturas físicas y separación de células que en el caso de formación de cristales pequeños. (Barbosa y Canovas, 2000).

En la congelación de alimentos la cantidad de calor eliminado depende mayormente del agua congelable. Ésta cantidad depende de tres factores:

- b. Variación de entalpía correspondiente al enfriamiento de la temperatura inicial al punto de congelación.
- c. Calor latente de congelación.
- d. Variación de entalpía correspondiente al enfriamiento del punto de congelación a la temperatura final. (Singh Y Heldman, 2000).

El término de la congelación es cuando la mayor parte del agua congelable se transforma en hielo en el centro térmico del producto; en la mayoría de los alimentos la temperatura del centro térmico coincide con la temperatura de almacenamiento. (Postolski, 1986).

2.2.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TIEMPO DE CONGELACIÓN.

Existen varios factores que influyen en el tiempo de congelación que influirán en el diseño del equipo utilizado para la congelación de los alimentos.

Uno de estos factores es la temperatura del medio de congelación, de tal manera que los tiempos de congelación disminuirán de manera significativa cuanto menor sea ésta. De acuerdo con la ecuación de Planck, el tamaño del producto afectará directamente al tiempo de congelación, aunque este factor no puede ser utilizado para modificar dichos tiempos, ya que también dependen de la forma del producto.

El parámetro que más influye en el tiempo de congelación es el coeficiente de transmisión de calor por convección h_c . Este parámetro puede utilizarse para variar los tiempos de congelación mediante modificaciones en el diseño del equipo, debiendo analizarse cuidadosamente su influencia.

Las propiedades térmicas del producto (T_F, ρ, k) influirán en los cálculos según lo indicado en la ecuación de Plank. La selección apropiada de valores para estos parámetros será importante para una adecuada predicción de los tiempos de congelación, aunque dichos parámetros no pueden utilizarse como variables de diseño del equipo. (Heldman, 1983).

2.2.4 TIEMPO DE CONGELACION.

El tiempo de congelación, junto con la selecciones de un adecuado sistema de congelación, es un factor crítico para asegurar la óptima calidad del producto. El tiempo de congelación requerido para un producto establece la capacidad del sistema, además de influir de forma directa en la calidad del mismo. El método utilizado para calcular los tiempos de congelación es decisivo a la hora de seleccionas el sistema de congelación más adecuado para cada producto. (Heldman, 1983).

A. Tiempo efectivo de congelación.

Es el tiempo preciso para disminuir la temperatura del producto a congelar de una determinada forma desde la temperatura inicial media uniforme t_0 hasta la temperatura tecnológicamente elegida t_e en el centro térmico. (Alcázar, 2002).

B. Tiempo de congelación nominal.

tiempo que transcurre entre el momento en que la superficie del producto alcanza 0°C y el instante en que el centro térmico se encuentra a una temperatura 10°C por debajo de la formación inicial de hielo en dicho punto. El tiempo de congelación nominal se emplea para calcular el deterioro sobre el alimento. (Desrosier, 1983).

El tiempo real que dura el proceso de congelación va a depender de diferentes factores, ya sean relativos al producto como al equipo utilizado: Temperaturas inicial y final, Temperatura del refrigerante, Coeficiente de transferencia del producto, Variación de entalpía, Conductividad térmica del producto. (Rojas y Treguear, 1999).

El tiempo de congelación depende de las propiedades termo físicas, forma, grosor del alimento, resistencia externa y la técnica de congelación a emplear, los comúnmente utilizados son congeladores de placas y túnel de corriente de aire frío. Aquí algunos datos de tiempo de congelación de algunos productos cárnicos: filete de ovino tres horas en congelador de placas, carne picada de vacuno 4 horas, en túnel de congelación, ambos con un recubrimiento de película plástica. (Mulet y Ondorica, 1998)

C. MODELOS PARA DETERMINAR EL TIEMPO DE CONGELACION

C.1. ECUACION DE PLANK

La primera ecuación y la más utilizada, para calcular tiempos de congelación fueron propuestas por Planck (1913) y posteriormente adaptada al caso de alimentos por Ede (1949). La ecuación es:

$$t_F = \frac{\dots H_L}{\Delta t'} \left(\frac{P \Gamma}{h_c} + \frac{R \Gamma^2}{k_c} \right) \quad (01)$$

Donde:

H_L = Calor latente de fusión del material (J/Kg.)

$\Delta t'$ = Diferencia entre las temperaturas de congelación del alimento y el medio refrigerante. (K).

Γ = Espesor de la placa a congelar. (m).

h_c = Coeficiente de transferencia de calor convectivo. (W/m²K).

k_c = Conductividad térmica del material congelado. (W/mK).

$P = 1/2$ para placas infinitas, $1/6$ para una esfera, $1/4$ para un cilindro infinito.

$R = 1/8$ para placas infinitas, $1/24$ para una esfera, $1/16$ para un cilindro infinito.

C.2. TIEMPO DE CONGELACION POR CONDUCCION, SOLUCIÓN APROXIMADA DE PLANCK.

$$t_c = \frac{(-)}{(T_c - T_o)} \cdot \dots \cdot \frac{L^2}{2} \quad (02)$$

Donde:

$\}$ = Calor latente. (Kcal. /Kg.)

\dots = Densidad. (kg/m³)

$|$ = Conductividad térmica. (W/m.° C)

L = Espesor.

T_c = Temperatura de congelación. (° C)

T_o = Temperatura del medio (placa). (° C)

C.3. ECUACION DE NAGAOKA.

Este método establecido por De Michelis y Calvelo (1985), considera que el tiempo de residencia de las partículas en el congelador es por lo menos igual al tiempo de congelación de la partícula.

El congelador tiene una longitud de correa L (m) y ancho W (m) con una alimentación másica F (kg/s), el producto tiene una temperatura inicial T_i (°C) y el fluido gaseoso enfriado tiene una temperatura T_f (°C).

El tiempo de congelación es estimado por el modelo de Nagaoka (Nagaoka *et al.*, 1955).

$$t_c = \left[1 + 0.008(T_i - T_e) \right] \frac{\Delta \bar{H} \rho_a \left(\frac{D_p}{6h} + \frac{D_p^2}{24k} \right)}{T_e - T_f} \quad (03)$$

T_e : Temperatura que comienza la congelación (°C)

$\Delta \bar{H}$: Cambio de entalpía del producto desde T_i a T_e (J/kg)

T_f : Temperatura final del producto congelado (°C)

ρ_a : Densidad del alimento (kg/m³)

D_p : Diámetro de la partícula (m)

h : Coeficiente de transferencia de calor a la partícula (W/m² °C)

k : Conductividad térmica de la partícula congelada (W/m °C)

El cambio de entalpía $\Delta \bar{H}$ puede calcularse por medio de:

$$\Delta \bar{H} = C_{ps}(T_i - T_e) + Y_o \} _f W + C_{pe}(T_c - T_f) \quad (04)$$

Donde:

C_{ps} : Calor específico de la partícula no congelada (J/kg C)

C_{pe} : Calor específico de la partícula congelada (J/W C)

Y_o : Contenido de agua de la partícula en base húmeda

$\} _f$: Calor de solidificación del agua (J/1-g)

W : Fracción de hielo a la temperatura T_r

El $\Delta \bar{H}$ se puede calcular a partir de los gráficos de entalpía versus humedad o las tablas correspondientes (Nagaoka *et al.*, 1955).

Por otra parte el calor transferido de la partícula al medio ambiente, se puede evaluar con:

$$q = h (T_s - T_f) \quad (05)$$

Donde:

q: flujo de calor (W/m²)

T_s: temperatura en la superficie de la partícula (°C).

T_f: Temperatura final de congelación.

C.4. VELOCIDAD DE CONGELACIÓN.

Es la velocidad con que el frente congelado se desplaza hacia el interior del producto a congelar. Esta velocidad no es constante, sino que cambia a medida que aumenta la distancia de la superficie externa del producto en congelación. (Orrego 2004).

Esto puede expresarse mediante una igualdad diferencial:

$$w = \frac{d_x}{d_t} \quad (06)$$

Donde:

w : Velocidad lineal de congelación, en **cm/h.**

x : Distancia hasta la superficie exterior, en **cm.**

t : Tiempo de congelación, en **h.**

La calidad de un producto congelado depende de la velocidad a la que éste es congelado. Dicha velocidad se define como la distancia mínima entre la superficie y el punto crítico partida por el tiempo en el que el punto crítico ha pasado desde 0°C a -15°C.

- Lenta: < 1cm/h, por ejemplo un congelador doméstico con el aire inmóvil a -18 °C
- Media: 1-5 cm/h, en un túnel de aire frío a 20 cm/h y -40 °C
- Rápida: > 5cm/h, en la inmersión en nitrógeno líquido

(Orrego, 2004)

2.3 REFRIGERACIÓN

La refrigeración es la tecnología comercial mas utilizada en la actualidad para preservar la calidad y prolongar la vida útil (Ramos y Martínez, 1998), Por lo que no existen datos generales que permitan definir el almacenamiento específico de un producto determinado, lo cual hace necesario que se tengan que obtener a través de la experimentación para cada producto (Liu, 1992).

2.3.1 CAMBIOS EN LA CALIDAD Y DURACION EN ALMACEN DEL PESCADO ENFRIADO

Señala que después de la captura y muerte del pescado, este sufre inmediatamente un deterioro, cuya velocidad de degradación es mas alta que la de otros tipos de carne, Este proceso de degradación es llevado acabo en una primera etapa, por enzimas propias del músculo del pescado y posteriormente por enzima producidas por microorganismos que ingresan al músculo. La velocidad de deterioro varia según las especies dependiendo de diversos factores, tales como tamaño, estado fisiológico, alimentación, métodos de captura, temperatura y otros. (Palma, 1996).

El pescado inmediatamente después de su captura y muerte empieza a degradarse a través de una serie de proceso que lo lleva finalmente a su descomposición o putrefacción. Esto sucede aun cuando el pescado sea eviscerado, lavado o enfriado inmediatamente con hielo. Bajo las mejores condiciones de preservación con hielo, hay pescados, por ejemplo, que pueden durar o tener una vida comercial de unos 14 a 16 días, como es el caso de algunas especies de poco contenido de grasa de mares frías. Otras especies, como la caballa y el jurel o la sardina, que no se evisceran y tienen mayor contenido graso, duran mucho menos y aun bien enfriados, se vuelven incomedible después de unos pocos días en hielo inmediatamente después de la muerte del pescado sus músculos están totalmente relajados, flexible y elástico, permaneciendo en este estado entre algunas horas a un día o algo mas. (ITP, 1996, Izquierdo *et al.*, 2000).

El deterioro o descomposición del pescado se debe principalmente a la multiplicación de diminutos organismos, llamados bacterias, en su carne. Estas bacterias lo descomponen, produciendo un mal olor y haciendo que se reblandezca, se altere convirtiéndose en materia inaceptable. Todos los métodos de conservación son, en esencia,

un intento para reducir o limitar esa multiplicación de bacterias, desde el momento que se captura un pez hasta que se consume. Deberán comprenderse ciertos datos fundamentales:

- 1) Un pez tiene bacterias en sus intestinos y, en menor número, en sus branquias, pero no en su carne. Cuando muere, las bacterias invaden rápidamente su carne. Por tanto, mientras más pronto se le quiten esas partes, tanto mejor. Después de esto, se lava de modo que sea mínimo el número de bacterias intestinales que invaden la carne. Por consiguiente, el factor tiempo es importante.
- 2) Las bacterias se multiplican más, rápidamente en un medio caliente que en un frío. El enfriamiento limita la reproducción bacteriana. Por tanto, es importante la temperatura a que se mantiene el pescado.
- 3) Las bacterias no se pueden multiplicar donde no hay humedad, así que la sequedad limita su reproducción.
- 4) El humo, la sal y otros preservativos (por ejemplo, el vinagre), reducen o evitan la reproducción bacteriana.

Debido a que todos los métodos de conservación están basados en la limitación de la cantidad total de bacterias; es necesario que todos los recipientes, utensilios y otros enseres usados en la preparación, transporte o almacenamiento del pescado se mantengan perfectamente limpios. Si contienen restos de bacterias, de operaciones anteriores, se contaminan intensamente con bacterias que aceleran las descomposiciones del nuevo producto. (Sikorsh, 1994).

Los cambios bioquímicos que experimenta el pescado, da lugar a diferentes etapas de deterioro y por consiguiente diferentes grados de frescura, que son de importancia para la aceptación de la calidad del pescado cuando se lo utiliza como materia prima en la elaboración de productos para almacenamiento o para consumo humano directo. Después de la muerte del pescado, las funciones fisiológicas normales que se llevan a cabo en estado vivo cambian, iniciándose el proceso de degradación. Los procesos de deterioro se ven favorecidos por las siguientes causas:

- Ñ Al morir el pescado, se comienza a alterar la estabilidad de las membranas celulares, liberándose enzimas de los lisosomas.
- Ñ Los mecanismos de defensa cesan, posibilitando la invasión de microorganismo desde la piel y vísceras.

Ñ Al capturar un pescado, le cambiamos el medio en el que se encuentra y por lo tanto su flora microbiana normal también va a variar. Está, normalmente es psicrotrofa, luego de la captura se le suma por la manipulación una flora microbiana fundamentalmente mesófila. (Oliveira, 1997).

2.3.2 Efecto de la temperatura de almacenamiento

La actividad microbiana es responsable por el deterioro de la mayoría de los productos pesqueros frescos. Por lo tanto, la duración en almacén de los productos pesqueros se extiende marcadamente cuando los productos son almacenados a bajas temperaturas. En países industrializados es una práctica común almacenar el pescado fresco en hielo (a 0 °C); la duración en almacén a diferentes temperaturas de almacenamiento (T °C) ha sido expresada mediante la velocidad relativa de deterioro (VRD).

La relación entre la duración en almacén y la temperatura ha sido extensamente estudiada por investigadores australianos (Olley y Ratkowsky, 1973a, 1973b). Estos investigadores encontraron, basados en los datos de la literatura, que la relación entre la temperatura y la VRD puede ser expresada como una curva general de deterioro con forma de "S". Particularmente a bajas temperaturas (<10 °C) esta curva confirma los resultados de Spencer y Baines (1964). Estos autores, 10 años antes, encontraron una relación lineal directa entre la VRD y las temperaturas de almacenamiento en bacalao del Mar del Norte.

El efecto de la temperatura sobre la velocidad de las reacciones químicas generalmente se describe mediante la ecuación de Arrhenius. Sin embargo, se ha demostrado que esta ecuación no es precisa cuando se la emplea para evaluar el efecto de un amplio rango de temperaturas, sobre el crecimiento microbiano y el deterioro de alimentos (Olley y Ratkowsky, 1973^b; Ratkowsky *et al.*, 1982).

Algunas bacterias psicrotóxicas aisladas de productos pesqueros tienen valores de T_{\min} de casi 263 grados Kelvin (-10 °C) (Ratkowsky *et al.*, 1982; Ratkowsky *et al.*, 1983). Basado en este valor T_{\min} , ha sido desarrollado un modelo de deterioro. Se asume que la velocidad (tasa) relativa de crecimiento microbiano será similar a la velocidad (tasa) relativa de deterioro.

Si se conoce el tiempo de duración en almacén de un producto pesquero a una temperatura dada, la duración en almacén a otra temperatura de almacenamiento puede ser calculada mediante los modelos de deterioro.

Se ha demostrado que el efecto de las condiciones de tiempo/temperatura de almacenamiento sobre la duración en almacén del producto es acumulativo (Charm *et al.*, 1972). Esto permite que los modelos de deterioro sean empleados para predecir el efecto de las variaciones de la temperatura, sobre la durabilidad del producto y para predecir la duración en almacén. (Owen y Nesbitt, 1984; Storey, 1985).

CUADRO 4. Predicción de la duración en almacén de productos pesqueros almacenados a diferentes temperaturas

Duración en almacén producto almacenado en hielo (días a 0°C)	Duración en almacén a temperatura de enfriamiento (días)		
	5°C	10 °C	15 °C
6	2.7	1.5	1
10	4.4	2.5	1.6
14	6.2	3.5	2.2
18	8	4.5	2.9

La historia de la temperatura de un producto, puede ser determinada por un registro de temperatura, empleando un modelo de deterioro y un simple programa de computadora, y se puede predecir el efecto de un determinado perfil de temperatura de almacenamiento. McMeekin *et al.*, (1993) revisaron la literatura sobre aplicación de registros de temperatura y sobre modelos predictivos de temperatura. El perfil de temperatura de un producto también permite estimar el crecimiento de microorganismos patógenos a partir de modelos de seguridad.

La microflora responsable del deterioro del pescado fresco cambia con las modificaciones en la temperatura de almacenamiento. A bajas temperaturas (0-5°C), *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Aeromonas spp* y *Pseudomonas spp*. Causan deterioro. Sin embargo, a altas temperaturas de almacenamiento (15-30°C) diferentes especies de *vibrionáceas*, *enterobacteriáceas* y

organismos Gram positivos son responsables del deterioro (Gram *et al.*, 1987; Gram *et al.*, 1990; Liston, 1992).

La velocidad relativa de deterioro promedio para un gran número de especies tropicales, almacenadas a 20-30 °C fue aproximadamente 25 veces mayor que a 0°C. Así, la VRD de los pescados tropicales es más del doble de lo estimado a partir de los modelos de temperatura. Los peces tropicales tienen la probabilidad de ser expuestos a altas temperaturas; en tal sentido, recientemente ha sido desarrollado un nuevo modelo tropical de deterioro que abarca un rango de tiempo de duración de almacén, la que se determina a una temperatura referencial y un determinado nivel de calidad inicial y posteriormente la duración en almacén a otras temperaturas puede ser determinada a partir de un modelo de deterioro. (Dalgaard, y Huss, 1994).

Durante el almacenamiento prolongado en congelación puede producirse una pérdida de calidad. La desecación superficial o “quemadura por el frío” se origina por un envasado inadecuado, sin vacío, y se acelera por temperaturas de congelación altas o fluctuantes, que favorecen la sublimación en superficie de los cristales de hielo y su posterior recristalización. A menos que el oxígeno sea completamente eliminado y la temperatura se mantenga extremadamente baja (menos de -60°C), no se suprimen totalmente los cambios en el flavor por la oxidación directa de la grasa o bien por una lenta actividad lipasa (Prändl *et al.*, 1994). Estos problemas pueden eliminarse por tratamientos térmicos que inactiven las enzimas implicadas o empleando aditivos que aumenten la estabilidad. También pueden producirse defectos en el color de la carne: pueden aparecer tonalidades violáceas en las carnes rojas, causadas por degeneraciones oxidativas, que pueden ser controladas por envasado al vacío u otro método que excluya el oxígeno (Carballo y López de Torre, 1991).

2.3.3 Efecto de la higiene durante la manipulación

Se ha puesto mucho énfasis en la manipulación higiénica del pescado desde el momento de la captura, a fin de asegurar una buena calidad y una larga duración en almacén. La experiencia práctica así como la experimental (Peters *et al.*, 1974) han demostrado que este tipo de contaminación no es importante, y se puede concluir que las cajas para pescado que permiten el drenaje del agua de hielo derretido, desde las cajas superiores hasta las inferiores, son ventajosas porque el enfriamiento se hace más efectivo.

2.3.4 Efecto de las condiciones anaeróbicas y del dióxido de carbono

Altas concentraciones de CO₂ pueden reducir el crecimiento microbiano y, por lo tanto, extender la duración en almacén de los productos alimenticios, en los cuales el deterioro es causado por la actividad microbiana (Killeffer, 1930; Coyne, 1933). Los aspectos tecnológicos de los empaques con atmósferas modificadas (EAM) han sido estudiados desde entonces. Hoy en día, se encuentran disponibles materiales y técnicas para el almacenamiento de alimentos a granel o en envases para el detal.

El envasado al vacío (EV) y los EAM con altos niveles de CO₂ (25 - 100 por ciento), prolongan la duración en almacén de los productos cárnicos por algunas semanas o meses. Por el contrario, la duración en almacén del pescado fresco no es afectada por el EV y sólo se obtiene un ligero incremento en la duración mediante el empleo de EAM (Cuadro 5).

CUADRO 5. Efecto de las condiciones de empaque sobre la duración en almacén del pescado enfriado y de productos cárnicos

Tipo de producto	Temperatura de almacenamiento (°C)	Duración en almacén (semanas)		
		Aire	EV ^a	EAM ^b
Carne de res, puerco y aves	1.0 - 4.4	01-Mar	01-Dic	Mar-21
Pescado magro bacalao, pollock, chancharro	0.0 - 4.0	01-Feb	01-Feb	01-Mar
Pescado graso arenque, salmón, trucha	0.0 - 4.0	01-Feb	01-Feb	01-Mar
Mariscos cangrejo, viejas	0.0 - 4.0	½ - 2	-	½ - 3
Pescado de aguas cálidas vieja, pez espada, tilapia	2.0 - 4.0	½ - 2	-	02-Abr

a) EV: empacado al vacío

b) EAM: envasado en atmósfera modificada (altas concentraciones de CO₂, 25 -100%)

Las diferencias en el tipo de microflora de deterioro y en el pH, son principalmente responsables por las diferencias observadas en la duración en almacén de los productos pesqueros y los productos cárnicos. El deterioro de la carne en condiciones de

aerobiosis es causado por organismos aeróbicos estrictos Gram negativos, principalmente *Pseudomonas* spp. Estos organismos son fuertemente inhibidos por condiciones de anaerobiosis y por CO₂. En consecuencia no desempeñan ningún papel en el deterioro de la carne empacada. En cambio la microflora de los productos cárnicos EV y EAM cambia y pasa a ser dominada por organismos Gram positivos (Bacterias ácido lácticas), los cuales son mucho más resistentes al CO₂ (Molin, 1983; Dainty y Mackey, 1992). El pescado almacenado en condiciones de aerobiosis también es deteriorado por organismos Gram negativos, principalmente *Shewanella putrefaciens*.

Se ha encontrado que la flora de deterioro de algunos productos pesqueros empacados está dominada por microorganismos Gram positivos; de esta forma la microflora resulta similar a la flora de las carnes empacadas. (Stammen *et al.*, 1990).

En algunos productos pesqueros empacados se han encontrado niveles muy bajos de bacterias (10⁵ - 10⁶ ufc/g), al momento de ser rechazados sensorialmente. En estos casos, las reacciones del tipo no microbianas pueden ser las responsables del deterioro.

El CO₂ es disuelto en la fase acuosa del músculo de pescado EAM y se observa un descenso en el pH de 0.2 - 0.3 unidades, dependiendo de la concentración de CO₂ en la atmósfera gaseosa circundante. La capacidad enlazante del agua de las proteínas musculares disminuye, con la disminución del pH, y ocurre un incremento de las pérdidas por goteo en el pescado almacenado en altas concentraciones de CO₂. El incremento del goteo ha sido encontrado en filetes de bacalao, merluza roja, salmón y camarones (Fey y Regenstein, 1982; Layrisse y Matches, 1984; Dalgaard *et al.*, 1993) pero no en arenque, pargo colorado, trevally, cangrejo de cieno y chancharro (Cann *et al.*, 1984; Gerdes *et al.*, 1991; Parking y Brown, 1983 y Parkin *et al.*, 1981).

El empaque también puede estimular la formación de metamioglobina en pescados de músculo rojo y dar como resultado un oscurecimiento del músculo. Aunque han sido empleadas atmósferas modificadas con oxígeno, el desarrollo de olores rancios en especies de pescados grasos no se ha registrado como un problema (Haard, 1992).

2.3.5 Efecto del eviscerado

Es del conocimiento común que tanto la calidad como la duración en almacén, de muchos pescados, disminuyen cuando éstos no son eviscerados. Durante los períodos de alimentación el pez contiene muchas bacterias en su sistema digestivo, produciéndose además poderosas enzimas digestivas. Estas últimas son capaces de causar una autólisis violenta post mortem, la cual puede originar fuertes olores y sabores, especialmente en el área abdominal, o incluso causar estallido de vientre. Por otra parte, el eviscerado implica exponer al aire el área abdominal y las zonas de corte haciéndolas más susceptibles a la oxidación y decoloración. De esta forma, muchos factores como la edad del pescado, la especie, el contenido de lípidos, el área de pesca y el método, entre otros, deben ser tomados en consideración antes de decidir si el eviscerado resulta o no ventajoso.

En la mayoría de los casos los pescados grasos pequeños y medianos, como el arenque, la sardina y la caballa, no son eviscerados inmediatamente después de la captura. La razón se debe, por una parte, al gran número de pequeños peces que son capturados al mismo tiempo y por otra, a los problemas con la decoloración y aceleración de la rancidez.

En la mayor parte de los países del Norte de Europa el eviscerado de las especies magras es obligatorio. Esto se basa en la presunción de que la calidad de esas especies se resiente si no son evisceradas. En el caso del bacalao, se ha demostrado que la omisión del eviscerado causa una considerable pérdida de la calidad y una reducción de la duración en almacén de cinco a seis días. Tan sólo dos días después de la captura se hacen visibles coloraciones en el área abdominal y el filete crudo adquiere un desagradable olor a coles. Estos olores son hasta cierto punto removidos al hervir el pescado.

Estos compuestos volátiles, de olor desagradable, se encuentran principalmente en las vísceras y en el área adyacente, mientras que en el filete la cantidad de ácidos y bases volátiles es relativamente baja. Estos parámetros químicos, por lo tanto, no son útiles para distinguir entre pescado eviscerado y no eviscerado. Experimentos similares con especies parecidas al bacalao presentan resultados diferentes. En el caso del eglefino (*Melanogrammus aeglefinus*), el merlán (*Merlangius merlangus*), el carbonero (*Pollachius virens*) y la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) se observó que el pescado no eviscerado y almacenado a 0 °C sufre una pérdida de calidad comparada al del pescado eviscerado, pero el grado en que ocurre varía. Se detectan algunos olores y sabores

extraños pero, el eglefino, el merlán y el carbonero no eviscerados continúan siendo aceptables como materia prima para filetes congelados después de casi una semana en hielo (Huss y Asenjo, 1976). Resultados muy diferentes fueron obtenidos con la merluza sudamericana (*Merluccius gayi*), en la cual no se observaron diferencias entre el pescado eviscerado y no eviscerado (Huss y Asenjo, 1977b).

2.3.6 Efecto de la especie de pescado, la zona de pesca y la estación

La velocidad de deterioro y la duración en almacén del pescado es afectada por muchos parámetros el pescado se deteriora a diferentes velocidades. En general, se puede decir que en condiciones aeróbicas de almacenamiento, el pescado grande se deteriora más lentamente que el pequeño; que la duración en almacén es mayor para el pescado plano que para el cilíndrico y mayor para el pescado magro que para el graso; el pescado óseo permanece comestible mucho más tiempo que el cartilaginoso como se observa en el Cuadro 6. Diversos factores probablemente contribuyen a estas diferencias, algunos son obvios pero muchos otros continúan al nivel de hipótesis.

CUADRO 6. Factores intrínsecos que afectan la velocidad de deterioro de especies de pescado almacenadas en hielo

Factores que afectan la velocidad de deterioro	Velocidad relativa de deterioro	
	Rápida	Lenta
Tamaño	pescado pequeño	pescado grande
pH <i>post mortem</i>	pH alto	pH bajo
contenido de grasa	especies grasas	especies magras
propiedades de la piel	piel delgada	piel gruesa

La manipulación inadecuada ocasiona, una mayor velocidad de deterioro; debido al daño físico producido en el pescado, que permite el fácil acceso de las enzimas y las bacterias del deterioro. La relación superficie/volumen es menor en los pescados grandes que en los pequeños, y probablemente es debido a esto que los primeros muestran una mayor duración en almacén, dado que las bacterias son halladas en el exterior. Esto es cierto para los miembros de una misma especie pero no necesariamente para todas.

El pH *post mortem* del pescado varía entre especies pero, es mayor que en los animales de sangre caliente. El largo período de *rigor* y el correspondiente pH bajo (5.4 - 5.6) de un pescado plano grande como el hipogloso (*Hippoglossus hippoglossus*), constituyen una explicación para su relativamente larga duración de almacenado en hielo. Sin embargo, la caballa también experimenta generalmente un bajo pH y esto parece tener poco efecto en su duración. Como se aprecia en el Cuadro 7, los peces grasos son en general rechazados sensorialmente mucho antes que los pescados magros debido principalmente a la presencia de la rancidez oxidativa.

CUADRO 7. Duración en almacén de algunas especies de pescado de aguas templadas y tropicales.

Especies	Tipo de pescado	Duración en almacén (días en hielo)	
		templado	tropical
Especies marinas		Feb-24	Jun-35
bacalao, eglefino	magro	Sep-15	
Besugo	magro/poco graso		Oct-31
pez murciélago	magro		21-24
lenguado, solla	plano	Jul-21	21
Hipogloso	plano	21-24	
caballa ¹⁾	muy graso/poco graso	Abr-19	14-18
arenque de verano	muy graso	02-Jun	
Sardina	muy graso	03-Ago	Sep-16
Especies de agua dulce		Sep-17	Jun-40
Trucha	poco graso	09-Nov	16-24
Percha	magro/poco graso	Ago-17	13-32
Tilapia	magro		Oct-27
peces pulmonados	magro/poco graso		Nov-25
Haplochromis	magro		6
Sábalo	medianamente graso		25
Corvina	medianamente graso		30
Chincuna	graso		40

Fuente: Lima dos Santos (1981); Poulter *et al.*, (1981) y Gram (1989).

La piel de los peces pelágicos grasos generalmente es muy delgada y esto puede contribuir a aumentar la velocidad de su deterioro. Esto permite que las enzimas y las bacterias penetren más rápidamente. Por el contrario, la piel gruesa y los compuestos antibacterianos encontrados en el mucus de los peces planos, pueden también contribuir a su duración. Según fue descrito anteriormente, el mucus de los peces planos contiene enzimas bacteriológicas, anticuerpos y algunas otras sustancias antibacterianas (Helmand *et al.*, 1983; Murray y Fletcher, 1976). A pesar de las grandes diferencias existentes en el contenido de OTMA, esto no pareciera afectar la duración del pescado almacenado aeróbicamente tanto como el perfil de deterioro químico de las especies.

2.4 EVALUACION DE LA CALIDAD DEL PESCADO

Generalmente el término "calidad" se refiere a la apariencia estética y fresca, o al grado de deterioro que ha sufrido el pescado. También puede involucrar aspectos de seguridad como: ausencia de bacterias peligrosas, parásitos o compuestos químicos. Es importante recordar que "calidad" implica algo diferente para cada persona y es un término que debe ser definido en asociación con un único tipo de producto

2.4.1 Métodos sensoriales

La evaluación sensorial es definida como una disciplina científica, empleada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones características del alimento, percibidas a través de los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y audición.

La mayoría de las características sensoriales sólo pueden ser medidas significativamente por humanos. Sin embargo, se han efectuado avances en el desarrollo de instrumentos que pueden medir cambios individuales de la calidad.

Los instrumentos capaces de medir parámetros incluidos en el perfil sensorial son: el Instron y el Reómetro de Bohlin, para medir la textura y otras propiedades reológicas. Métodos microscópicos, combinados con el análisis de imágenes, son usados para determinar cambios estructurales y la "nariz artificial" permite evaluar el perfil de olor (Nanto *et al.*, 1993).

En el análisis sensorial, la apariencia, el olor, el sabor y la textura, son evaluados empleando los órganos de los sentidos. Científicamente, el proceso puede ser dividido en

tres pasos. Detección de un estímulo por el órgano del sentido humano; evaluación e interpretación mediante un proceso mental; y posteriormente la respuesta del asesor ante el estímulo.

Durante los últimos cincuenta años muchos esquemas han sido desarrollados para el análisis sensorial del pescado crudo. El primer método, moderno y detallado, fue desarrollado por la Estación de Investigaciones Torry (Shewan *et al.*, 1953). La idea fundamental era que cada parámetro de la calidad es independiente de otros parámetros. Posteriormente, la evaluación fue modificada recolectando un grupo de características distintivas para ser expresadas en puntuación. Esto proporciona un valor para un amplio rango de características. Hoy en día en Europa, el método más comúnmente usado para la evaluación de la calidad en el servicio de inspección y en la industria pesquera es el esquema UE, introducido en la Decisión del Consejo No 103/76 enero de 1976. Existen tres niveles de calidad en el esquema UE: E (extra), A y B; donde E corresponde a la mayor calidad y por debajo del nivel B el producto no es apto para el consumo humano. El esquema UE es comúnmente aceptado en los países de la Unión Europea para la evaluación sensorial. Existen, sin embargo, algunas discrepancias dado que el esquema no toma en consideración las diferencias entre especies, puesto que sólo utiliza parámetros generales. Una sugerencia para modificar el esquema UE aparece en la Guía Políglota sobre los Grados de Frescura UE para Productos Pesqueros (Howgate *et al.*, 1992), en la cual se desarrollan esquemas especiales para pescado blanco, cazón, arenque y caballa. Un nuevo método, el Método del Índice de la Calidad (MIC), desarrollado originalmente por la unidad de Investigación de Alimentos de Tasmania (Bremner *et al.*, 1985), se usa actualmente en el Laboratorio Lyngby (Jonsdottir, 1992) para el bacalao, el arenque y el carbonero; frescos y congelados. En los países nórdicos y Europa, también ha sido desarrollado para la gallineta nórdica, la sardina y el lenguado.

El MIC se basa en los parámetros sensoriales significativos del pescado crudo, cuando se emplean muchos parámetros, y un sistema de puntuación por deméritos del 0 al 4 (Jonsdottir, 1992). El MIC utiliza un sistema práctico de calificación en el cual el pescado se inspecciona y se registran los deméritos correspondientes. Las puntuaciones registradas en cada característica se suman para dar una puntuación sensorial total, el denominado índice de la calidad, las puntuaciones para cada descripción y para todos los parámetros, son clasificadas dando puntuaciones 0-1, 0-2, 0-3 o 0-4. A los parámetros de menor

importancia se les asigna una clasificación menor. Las clasificaciones individuales nunca exceden 4, de esta forma ningún parámetro puede desbalancear la clasificación. En el Cuadro 8.

CUADRO 8. Esquema para la evaluación de la calidad empleado para identificar el índice de calidad mediante deméritos.

Parámetro de la calidad	Característica	Puntuación (hielo/agua de mar)
Apariencia general	Piel	0 Brillante, resplandeciente
		1 Brillante
		2 Opaca
	Manchas de sangre (enrojecimiento) en opérculos	0 Ninguna
		1 Pequeños, 10-30%
		2 Grandes, 30-50%
		3 Muy grandes, 50-100%
	Dureza	0 Duro, en <i>rigor mortis</i>
		1 Elástico
		2 Firme
		3 Suave
	Vientre	0 Firme
		1 Suave
		2 Estallido de vientre
	Olor	0 Fresco, algas marinas/metálico
1 Neutral		
2 A humedad/Mohoso/ácido		
3 Carne pasada/rancia		
Ojos	Claridad	0 Claros
		1 Opacos
	Forma	0 Normal
		1 Planos
Branquias	Color	0 Rojo característico
		1 Pálidas, descoloridas
	Olor	0 Fresco, algas marinas/metálico
		1 Neutral
		2 Dulce/ligeramente rancio
	3 Hedor agrio/pasado, rancio	
Suma de la puntuación		(Mínimo 0 y máximo 20)

Fuente: Larsen *et al.*, 1992.

La prueba discriminativa más empleada en el análisis sensorial de pescado es la prueba triangular (Norma ISO 4120 1983), la cual indica si existe o no una diferencia

detectable entre dos muestras. Los asesores reciben tres muestras codificadas, se les dice que dos de las muestras son idénticas y una es diferente, y se les solicita identificar la muestra diferente.

El análisis de los resultados de la prueba triangular se efectúa comparando el número de identificaciones correctas con el número que se esperaría obtener sólo por casualidad. El número de identificaciones correctas es comparado con el número esperado mediante el uso de tablas estadísticas, por ejemplo, si el número de respuestas es 12, 9 de las respuestas deben ser correctas a fin de obtener un resultado significativo (con un nivel del 1 por ciento). La prueba triangular es de utilidad para determinar, por ejemplo, si la sustitución de ingredientes produce una diferencia detectable en el producto. La prueba triangular generalmente se emplea para seleccionar los asesores del panel de degustación.

Las muestras marcadas con A y B pueden ser presentadas de seis formas diferentes:

ABB	BBA	AAB
BAB	ABA	BAA

Igual número de seis posibles combinaciones son preparadas y servidas a los miembros del panel. Ellas deben ser servidas aleatoriamente, preferiblemente como duplicados. El número de miembros en el panel no debe ser menor de 12.

CUADRO 9. Hoja de puntuación: Prueba triangular

PRUEBA TRIANGULAR	
Nombre:	Fecha:
Tipo de muestra:	
Dos de estas muestras son idénticas, la tercera es diferente.	
Examine las muestras de izquierda un círculo el número de la muestra diferente. Es esencial que efectúe a derecha y encierre en que usted considere es una selección (adivine sino encuentra una diferencia aparente)	
Muestra de prueba N°:	
Describa la diferencia:	

En la evaluación sensorial, se emplea la Calificación (ordenación), ejercicio de calificación, donde un número de muestras es presentado al panel de evaluación sensorial. Su tarea es clasificarlas en orden según el grado en el cual exhiben algunas características específicas, por ejemplo concentración de sal decreciente. Usualmente, la calificación se emplea para una búsqueda preliminar. El método no proporciona diferencias individuales entre las muestras y no es apropiado para sesiones donde deben ser evaluados muchos criterios simultáneamente.

2.4.2 Métodos bioquímicos y químicos

Los métodos bioquímicos/químicos pueden ser usados para resolver temas relacionados con la calidad marginal del producto. Además, los indicadores bioquímicos/químicos han sido usados para reemplazar los métodos microbiológicos que consumen gran cantidad de tiempo. Estos métodos objetivos deben, sin embargo, mostrar correlación con las evaluaciones sensoriales de la calidad y, además, el compuesto químico a ser medido debe incrementar o disminuir de acuerdo al nivel de deterioro microbiológico o de autólisis.

La determinación de bases volátiles totales (BVT) es uno de los métodos más ampliamente usado en la evaluación de la calidad de los productos pesqueros. Es un término general que incluye la medición de trimetilamina (producida por deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros, pesar de que los análisis de BVT son relativamente simples de realizar, generalmente reflejan sólo los últimos estadios del deterioro avanzado y son generalmente considerados poco confiables para la medición del deterioro durante los primeros diez días de almacenamiento del bacalao enfriado, como también de otras especies (Rehbein y Oehlenschlager, 1982). Son particularmente útiles para la medición de la calidad en cefalópodos como el calamar (LeBlanc y Gill, 1984), en la pesca industrial para harina y ensilado (Haaland y Njaa, 1988), y en crustáceos (Vyncke, 1970). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los valores de BVT no reflejan el modo de deterioro (bacteriano o autolítico), y los resultados dependen en gran medida del método de análisis. Botta *et al.*, (1984) encontraron poca concordancia entre seis procedimientos de BVT publicados. La mayoría depende de la destilación de las aminas volátiles o de la micro difusión de un extracto (Conway, 1962); el último método es el más popular en el

Japón. Para un examen comparativo de los procedimientos más comunes usados en el análisis de BVT, véase Botta *et al.*, (1984).

Los ácidos grasos, altamente insaturados, presentes en los lípidos del pescado son muy susceptibles a la oxidación. Los productos primarios de la oxidación son los lípidos hidroperóxidos. Estos compuestos pueden ser detectados por métodos químicos, generalmente haciendo uso de su potencial de oxidación para oxidar yoduro a yodo o para oxidar hierro (II) a hierro (III). La concentración de hidroperóxidos puede ser determinada mediante titulación o mediante métodos espectrofotométricos, obteniéndose el valor de peróxido (VP) como miliequivalentes (mEq) de peróxido por 1 kg de grasa extraída del pescado. Lea (1952) describe un método para la determinación del VP y Stine *et al.*, (1954) otro para la determinación, por espectrofotometría, del hierro (III) tiocianato. Los métodos para la determinación del VP tienen una base empírica, así, las comparaciones entre valores de peróxido sólo son posibles para resultados obtenidos mediante métodos idénticos, el método del tiocianato puede arrojar valores 1,5-2 veces mayores que el método de titulación con yodo (Barthel y Grosch, 1974).

Debido algunas razones, la interpretación del VP como un índice de la calidad no proporciona un resultado directo. Primero: los hidroperóxidos carecen de olor y sabor, de esta forma el VP no está relacionado con la calidad sensorial del producto analizado. Sin embargo, el valor de peróxido puede indicar un potencial para la formación posterior de compuestos sensorialmente objetables. Segundo: los lípidos hidroperóxidos se descomponen con el tiempo. Un VP bajo, durante un cierto punto del almacenamiento, puede indicar tanto una fase temprana de autooxidación como una fase tardía, o también un producto severamente oxidado donde la mayoría de los hidroperóxidos han sido degradados (Kanner y Rosenthal, 1992), por ejemplo en pescado seco salado (Smith *et al.*, 1990).

Durante los estados posteriores de la oxidación generalmente están presentes los productos secundarios de la oxidación y, por lo tanto, indican una historia de oxidación. Estos productos comprenden aldehídos, cetonas, ácidos grasos de cadena corta y otros; muchos de los cuales tienen olores y sabores desagradables, que combinados producen el carácter "a pescado rancio" asociado con los lípidos oxidados del pescado. Algunos de los productos secundarios de la oxidación aldehídica reaccionan con el ácido tiobarbitúrico,

formando un producto de coloración rojiza que puede ser determinado mediante espectrofotometría. Usando este principio, pueden medirse las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBA-RS). Existen algunas variaciones del método; un método para lípidos de pescado es descrito por Ke y Woyewoda (1979), y para pescado por Vyncke (1975). Los resultados son expresados en función del patrón (di-)aldehído empleado (malonaldehído) y reportados como micromoles de malonaldehído presentes en 1 gramo de grasa (Una nota de precaución: algunas veces los resultados de TBA pueden ser expresados como mg de malonaldehído en 1 gramo de grasa, o como cantidad de malonaldehído (m mol o μg) en relación a la cantidad de tejido analizado). Algunos trabajos (como el de Hoyland y Taylor (1991) y el de Raharjo *et al.*, (1993)) indican alguna correlación entre TBA-RS y evaluaciones sensoriales, pero otros autores no encontraron una correlación como Boyd *et al.*, 1993). De este modo, es necesaria cierta precaución en la interpretación de los valores de TBA-RS, en relación con las mediciones de la calidad sensorial.

Asumiendo que el VP no ha disminuido debido a un extenso almacenamiento o exposición a altas temperatura, su valor (por titulación iodométrica) no debiera ser superior a 10-20 meq/kg de grasa de pescado (Connell, 1975).

A continuación algunos ejemplos directrices para los valores de TBA-RS: productos con TBA-RS superiores a 1-2 m mol de eq.-malonaldehído por gramo de grasa (Connell, 1975) o por encima de 10 m mol de eq.-malonaldehído por 1 kg de pescado (Ke *et al.*, 1976) probablemente presentan olor rancio.

Los métodos instrumentales modernos permiten una mayor definición en el análisis de los productos de oxidación (hidroperóxidos específicos, contenido actual de malonaldehído). Pero para las estimaciones de la calidad general, se prefieren métodos que permitan determinar un amplio rango de productos de oxidación (como el VP y el TBA-RS), a pesar de que estos métodos tienen sus limitaciones según lo discutido anteriormente. El análisis de los compuestos volátiles, productos de la oxidación que se encuentran en interfase sobre la superficie del producto, proporciona resultados que se correlacionan muy bien con la evaluación sensorial (como en el caso del bagre (Freeman y Hearnberger, 1993)), pero el método requiere de un cromatógrafo de gases.

2.4.3 Métodos físicos

Desde hace tiempo se sabe que las propiedades eléctricas de la piel y de los tejidos cambian después de la muerte y podrían proporcionar un medio para medir los cambios post mortem o el grado de deterioro. Sin embargo, se han encontrado muchas dificultades para desarrollar un instrumento destinado a tal fin, por ejemplo: las variaciones de las especies; la variación dentro de un mismo lote de pescado; diferentes lecturas del instrumento cuando el pescado está dañado, congelado, fileteado, desangrado o no desangrado; y una correlación deficiente entre la lectura del instrumento y el análisis sensorial. Se sostiene que la mayoría de estos problemas están superados con el GR Torrymeter (Jason y Richards, 1975).

2.4.3.1 pH y Eh

Se sabe que el pH de la carne de pescado proporciona una valiosa información acerca de su condición. Las mediciones se llevan a cabo mediante un pH-metro, colocando los electrodos (vidrios calomel) directamente dentro de la carne o dentro de una suspensión de la carne de pescado en agua destilada. Las mediciones de Eh no se realizan habitualmente, pero es probable que un ensayo de frescura pueda estar basado en este principio.

2.4.3.2 Medida de la textura

La textura es una propiedad muy importante del músculo de pescado, ya sea crudo o cocido. El músculo del pescado puede tornarse duro como resultado del almacenamiento en congelación, o suave y blando debido a la degradación autolítica. La textura puede ser vigilada organolépticamente, pero por muchos años ha existido la necesidad de desarrollar una prueba reológica confiable que pueda reflejar en forma precisa la evaluación subjetiva de un panel de jueces bien entrenados. Gill *et al.*, (1979) desarrollaron un método para evaluar el endurecimiento del músculo de pescado congelado, inducido por el formaldehído. El método empleaba un Instron, Modelo TM, equipado con una celda de corte Kramer, con cuatro cuchillas de corte. Con este método se obtiene una buena correlación con los datos obtenidos de un panel de textura entrenado. Johnson *et al.*, (1980), reportan un método designado como "deformación a la compresión" para medir la dureza o la suavidad de la carne de pescado. Una muestra, exactamente cortada, se comprime por medio de un émbolo y se registra la curva de esfuerzo a la deformación. El módulo de deformación se calcula mediante el gráfico registrado. Otro método

investigado por Dunajski (1980), mide la fuerza de corte de la carne de pescado. De este trabajo se concluye que puede emplearse una de celda de fuerza de corte, de hoja delgada del tipo Kramer.

Estos son sólo algunos de los ejemplos citados en la literatura y, hasta recientemente, todos requerían de equipos costosos y destrucción de muestras. Así, Botta (1991) desarrolló un método rápido, no destructivo, para medir la textura de filetes de bacalao. Consiste de un pequeño penetrómetro portátil, que mide tanto la firmeza como la elasticidad. Cada prueba toma sólo 2-3 segundos y el resultado parece correlacionar bien con la calificación subjetiva de la textura.

2.4.4 Métodos microbiológicos

La finalidad del análisis microbiológico de los productos pesqueros es evaluar la posible presencia de bacterias u organismos de importancia para la salud pública, y proporcionar una impresión sobre la calidad higiénica del pescado, incluyendo el abuso de temperatura e higiene durante la manipulación y el procesamiento. En general, los resultados microbiológicos no proporcionan ninguna información sobre la calidad comestible y la frescura del pescado. Sin embargo, el número de bacterias específicas del deterioro está relacionado con el tiempo de duración remanente y esto puede ser predecido a partir del número de bacterias.

Los análisis bacteriológicos tradicionales son laboriosos, costosos, consumen tiempo y requieren de personal capacitado en la ejecución e interpretación de los resultados. Es recomendable que este tipo de análisis sea limitado en número y en extensión. Durante la última década han sido desarrollados varios métodos microbiológicos rápidos y procedimientos automatizados, que pueden ser empleados cuando se debe analizar un gran número de muestras.

2.4.4.1 Recuento total

Este parámetro es sinónimo de Recuento Total de Aeróbicos (RTA, del inglés Total Aerobic Count, TAC) y Recuento Estándar en Placa (REP, del inglés Standard Plate Count, SPC). El recuento total representa, si se efectúa mediante métodos tradicionales, el número total de bacterias capaces de formar colonias visibles en un medio de cultivo a una temperatura dada. Este dato es difícilmente un buen indicador de la calidad

sensorial o de la expectativa de duración del producto (Huss *et al.*, 1974). En percha del Nilo, almacenada en hielo, el recuento total fue de 10^9 ufc/g por días antes de que el pescado sea rechazado (Gram *et al.*, 1989). En productos pesqueros ligeramente preservados los recuentos altos prevalecen por largos períodos de tiempo antes de ser rechazados. Si el recuento es efectuado luego de un muestreo sistemático y un profundo conocimiento de la manipulación del pescado antes del muestreo (condiciones de temperatura, empaque, entre otros), puede proporcionar una medida comparativa del grado general de contaminación bacteriana y de higiene aplicada. Sin embargo, también debe tomarse en consideración que no existe correlación entre el recuento total y la presencia de cualquier bacteria de importancia para la salud pública. Un resumen de los diferentes métodos empleados para el pescado y los productos pesqueros se muestra en el Cuadro 10.

CUADRO 10. Métodos para la determinación del contenido de bacterias en productos pesqueros

Método	Temperatura (°C)	Incubación	Sensibilidad (ufc/g)
Recuento en placa o Agar hierro	15-25	3-5 días	10
"Redigel"/"Petrifilmä SM"	15-25	3-5 días	10
Microcolonias – TEFD	15-30	3-4 horas	$10^4 - 10^5$
TEFD	-	30 min.	$10^4 - 10^5$
ATP	-	1 hora	$10^4 - 10^5$
Prueba <i>Limulus</i> lisato (LAL)	-	2-3 horas	$10^4 - 10^4$
Microcalorimetría/	15-25	4-40 horas	10

El sustrato más comúnmente usado para los recuentos totales continúa siendo el agar para recuento en placa (ARP), del inglés "plate count agar" (PCA). Sin embargo, cuando se examinan diferentes tipos de productos pesqueros, un agar más rico en nutrientes (Agar hierro, Lyngby, Oxoid) proporciona recuentos significativamente mayores que el ARP (Gram, 1990). Además, el agar hierro proporciona mayor número de bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno, las cuales constituyen bacterias específicas del deterioro en algunos productos pesqueros. Las temperaturas de

incubación iguales o superiores a 30°C son inapropiadas cuando se examinan productos pesqueros mantenidos a temperaturas de enfriamiento. Es relevante emplear siembra en profundidad y 3-4 días de incubación a 25°C cuando se examinan productos donde los organismos más importantes son psicrotrofos, mientras los productos donde los psicrófilos *Photobacterium phosphoreum* aparecen deberán ser analizados por siembra en superficie y temperatura máxima de incubación a 15°C.

Se han efectuado algunos intentos con el fin de facilitar los procedimientos para la determinación del contenido de bacterias (Fung *et al.*, 1987). El examen microscópico del alimento es una forma rápida de estimar los niveles bacterianos. el nivel de bacterias en una muestra puede ser determinado dentro de una unidad logarítmica. Una célula por campo de visión equivale a aproximadamente 5.10^5 ufc/ml, a una magnificación de 1000x. El número de bacterias en el alimento también ha sido estimado midiendo la cantidad de adenosina trifosfato (ATP) de origen bacteriano (Sharpe *et al.*, 1970), o midiendo la cantidad de endotoxinas (bacterias Gram-negativas) mediante la prueba *Limulus* amoebocito lisato LAL (Gram, 1992). El primero es muy rápido pero existen dificultades en separar el ATP bacterial del ATP de origen somático.

2.5 Bacterias del deterioro

El número total de bacterias en el pescado raramente indica calidad sensorial o duración en almacén (Huss *et al.*, 1974). Sin embargo, se reconoce que ciertas bacterias son las principales causantes del deterioro. Diferentes sustratos ricos en peptona y que contienen citrato férrico, han sido usados para la detección de bacterias productoras de H₂S como la *Shewanella putrefaciens*, las cuales aparecen como colonias negras debido a la precipitación del FeS (Levin, 1968; Gram *et al.*, 1987). El deterioro ambiental es causado generalmente por miembros de la familia *Vibrioanaceae*, los cuales también forman colonias negras en agar hierro al cual se añade una fuente de sulfato orgánico (como el Agar Hierro, Lyngby). No existe un medio selectivo o indicativo para *Pseudomonas* spp., contaminante de algunos pescados de agua dulce tropical, ni para *Photobacterium phosphoreum* que contamina el pescado empacado. La presencia, o ausencia, de bacterias patógenas es generalmente evaluada mediante métodos basados en técnicas inmunológicas o de biología molecular. Estas técnicas pueden también ser desarrolladas para bacterias específicas del deterioro.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar de Ejecución

La congelación de los filetes de trucha, y su evaluación de almacenamiento a temperaturas de refrigeración y congelación, se realizó en los laboratorios de Ingeniería de Alimentos, los análisis de las pruebas microbiológicas en el laboratorio de microbiología de alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA-PUNO, durante los meses de Noviembre del 2007 hasta mayo del 2008.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 Materias primas

Se empleó como material experimental filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

3.2.2 Maquinaria y equipos y materiales

Para el estudio de la congelación y refrigeración de los filetes de trucha, se emplearon los siguientes equipos y materiales:

- Balanza analítica de 3 decimales marca SARTORIUS
- Estufas de incubación LAB INCUBATOR
- Contador de colonias MARCA H.W. Kessel S.A.
- pH-metro MARCA JENWAY
- Acidómetro
- Envasadora al vacío
- Congelador de 103x75x61 cm con gas freón (R12) como refrigerante.
- Sensor de temperatura Pt100
- Transmisor para sensor de temperatura Pt100
- Tarjeta de adquisición de datos de 08 entradas analógicas
- Temporizador 01
- Cable USB
- Termómetros digitales marca ARMATHERM modelo GTH 1160 de -50 a 199.9C
- Termómetros de bolsillo
- Software labVIEW version 8.2.1.
- PC Pentium IV
- Bernier

- Cinta metrica
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Cuchillos de acero inoxidable
- Pipetas de 10, 50 y 100 ml

3.3 Metodología para la conservación a temperaturas de refrigeración y congelación.

La metodología para determinar el tiempo de congelación en filetes de carne de trucha (*Oncorhynchus mykiss*), establece registrar un record de los perfiles de tiempo – temperatura, durante el proceso de congelación y con la grafica obtenida se determina fácilmente el punto de congelación del filete y por formula de PLANK se estima el tiempo de congelación, una vez congelado el producto se evaluó en refrigeración por el tiempo de 1 mes, para el estudio indicado se siguió la siguiente metodología:

- **Captura y Recepción.** Las truchas fueron capturadas de los criaderos del proyecto especial Titikaka, inmediatamente fueron transportadas a las instalaciones de la planta de procesamiento de la Provincia de Chuchito donde se recibieron y seleccionaron para obtener un tamaño uniforme y facilitar las operaciones sub siguientes.
- **Lavado.** Las truchas se lavaron con abundante agua para eliminar contaminantes adheridos en la piel.
- **Evisceracion.** La evisceracion se hizo con cuchillos de acero inoxidable, con las que se procedió a abrir el abdomen de las truchas para quitarles y/o eliminaran sus vísceras desde la traquea hacia la parte posterior.
- **Lavado.** Las truchas evisceradas, fueron lavadas pon una segunda vez con abundante agua para eliminar restos de vísceras y sangre adherida a los músculos y espina dorsal
- **Fileteado y envasado al vacío.** Las truchas lavadas fueron fileteadas practicándoles un corte sechurano por la parte de la espina dorsal a fin obtener filetes de 1,2 centímetros de espesor aproximadamente. Obtenido los filetes, inmediatamente fueron envasados al vacío.
- **Congelación.** Antes de someterlos a conservación, los filetes de trucha, fueron

congelados a -18°C , durante el proceso de congelación se registraron en función al tiempo el comportamiento de la temperatura, datos con las que se determinaron la velocidad de penetración de calor para garantizar su conservación en refrigeración, para lo cual se insertaron termocuplas en el filete, las termocupla registran datos de tiempo y temperatura a través de una interfaz física que realizará la conversión de los datos analógico en datos digitales las que fueron analizados y con los datos obtenidos se construyó la curva de tiempo vs temperatura. de congelación.

- **Refrigeración.** Los filetes congelados, se sometieron a refrigeración por tiempo de 1 mes donde fueron analizados las muestras cada 8 días, y los resultados obtenidos del análisis microbiológico fueron sometidos a pruebas estadísticas para diferenciación.

3.4 Métodos de análisis

Se emplearon los siguientes métodos de analisis:

- NTP 041.002:1984. Pescado congelado. filetes, para acidez y pH
- A.O.C.S. Cd 8-53, 1989. para el Índice de Peróxidos
- ICMSF, 1991, Análisis Microbiológico de Pescados Crudos congelados y refrigerados.

3.5 Metodología del diseño estadístico

3.5.1 Diseño estadístico

Se efectuaron análisis de varianza para comparar la calidad del pescado almacenado en refrigeración asi como los datos de los análisis de pH, acidez e Índice de Peróxidos y sensorial fueron verificados por el modelos de un solo factor evaluado bajo el modelo siguiente.

$$Y_{ij} = \mu + t_i + v_j \quad (7)$$

Donde:

Y_{ij} = microorganismo y calidad sensorial al aplicar el i-esimo tratamiento en la j-esima unidad experimental.

μ = es la media muestral

t = Es el efecto del i-esimo tratamiento, definido como la diferencia entre la media del i-esimo tratamiento y la media global.

v_j =Es el efecto verdadero de la j-esima unidad experimental, sujeta al i-esimo tratamiento.

FACTORES EN ESTUDIO.

Los factores en estudio:

- Para el objetivo primero: filetes de trucha de espesor constante (1,2 cm)
- Para el objetivo segundo: Almacenamiento refrigerado
Almacenamiento en congelación

VARIABLES DE RESPUESTA:

- Objetivo 1:
 - Tiempo de congelación
- Objetivo 2:
 - pH
 - Acidez
 - Índice de peróxidos

Se efectuaron también análisis de correlación lineal para determinar la velocidad de deterioro expresado en número de microorganismos aerobios mesofilos y *Escherichia coli*, considerando para ello el recuento de microorganismos frente a los días de almacenamiento.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Resultados de la congelación de los filetes de trucha.

Los registros de tiempo temperatura de congelación en el centro termico de los filetes de trucha envasada al vacío, se presentan en el Anexo 1, y su respectivas curvas de congelación en las Figuras 3 al 5, donde se observa un comportamiento similar para las tres replicas, datos obtenidos en tiempo real, que nos permiten visualizar la historia de la temperatura de los filetes (McMeekin *et al.*, 1993), lo que nos da a entender, que con un proceso de registro y adquisición de datos en tiempo real un proceso cubre expectativas logrando obtener curvas características con un mínimo error y permite entender como un producto se va enfriando en el tiempo y los cambios que se manifiestan en la temperatura dentro del filete de trucha; los que permiten visualizar las curvas de congelación y determinación de tiempo de congelación por el método grafico o por formula, así mismo identificar el inicio de la formación de cristales de hielo dentro de los filetes de trucha envasadas al vacío.

Figura 3. Curva de tiempo temperatura (replica 1) en la congelación de filetes de trucha

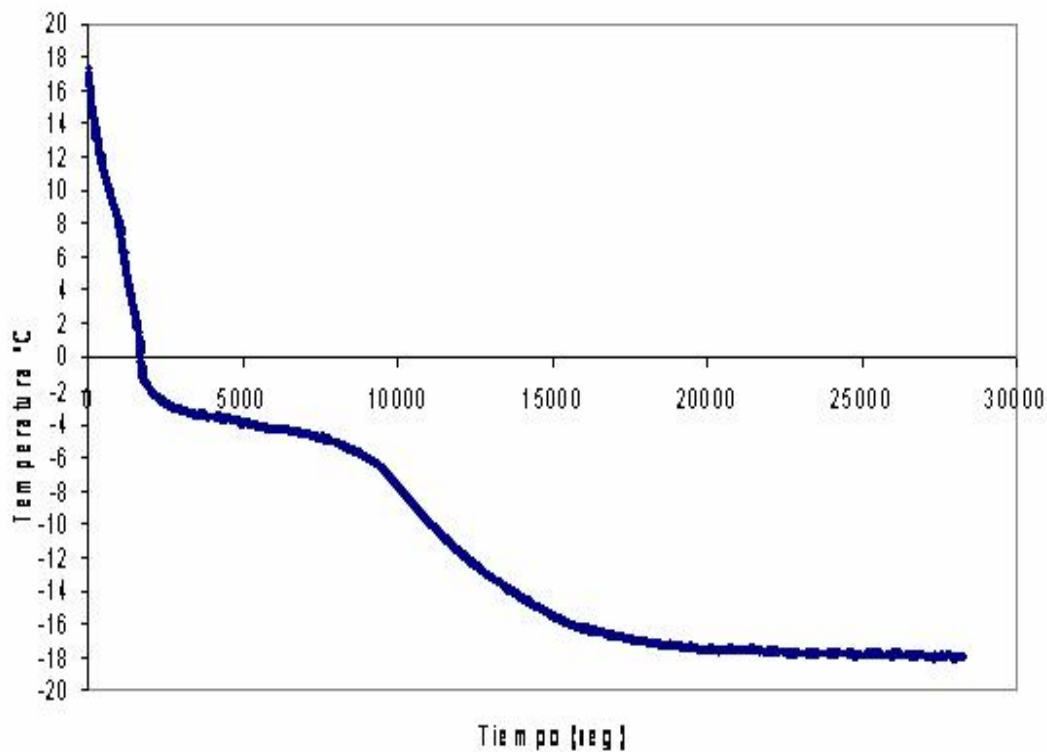


Figura 4. Curva de tiempo temperatura (replica 2) en la congelación de filetes de trucha

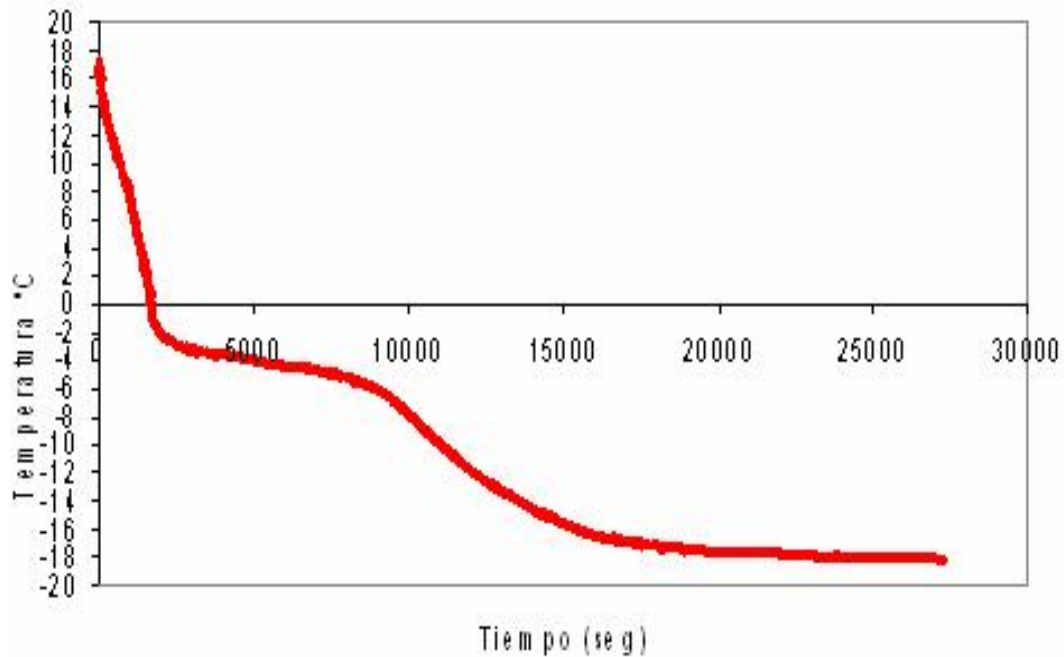
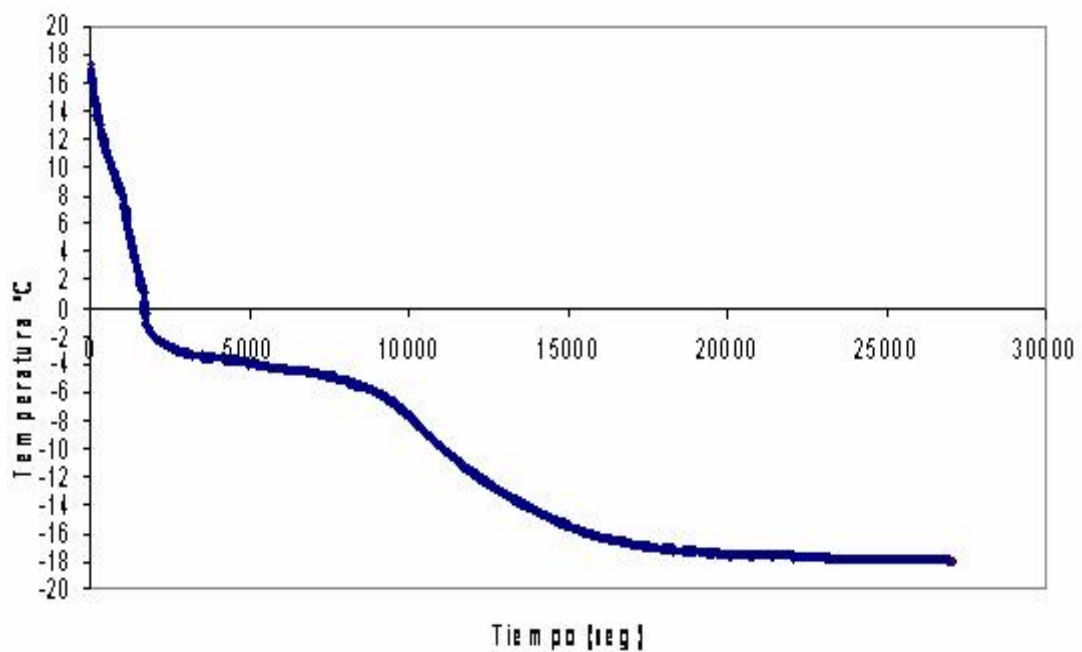


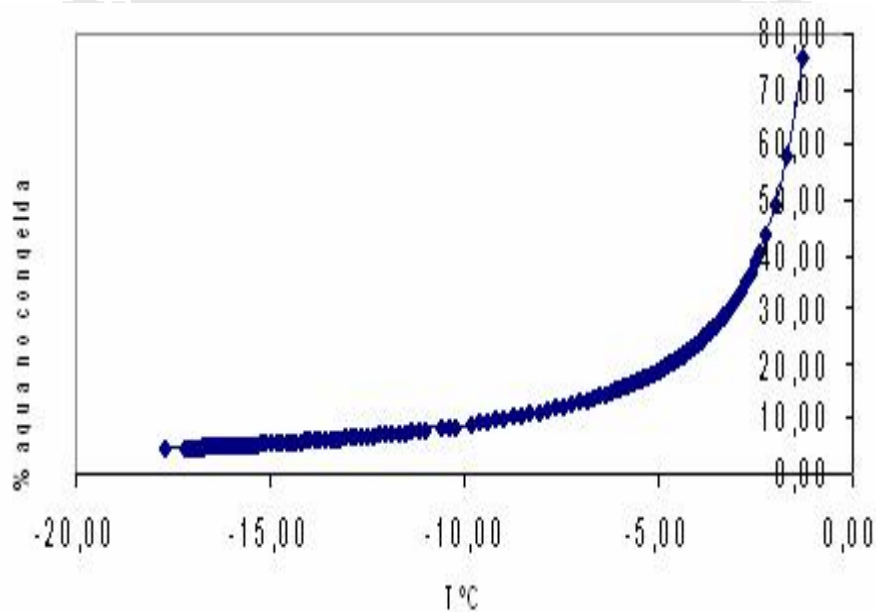
Figura 5. Curva de tiempo temperatura (replica 3) en la congelación de filetes de trucha



En el Anexo 1, se presenta el reporte promedio de temperaturas del proceso de congelación de los filetes de trucha, y cuyo procesamiento de datos, nos permite

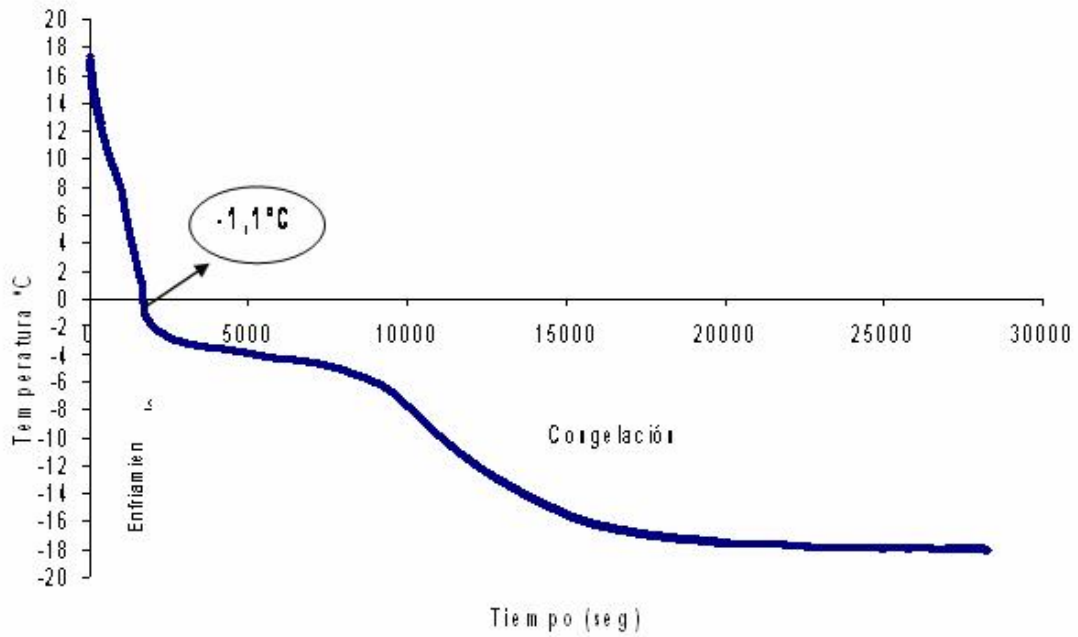
presentar la curva de la fracción de agua sin congelar de los filetes de trucha (Figura 6) determinado con los valores presentados en el Anexo 2, donde podemos observar que a mayor temperatura por debajo del punto de congelación el porcentaje de agua no congelada disminuye, a velocidad constante desde -15°C hasta una temperatura de -17.99°C en el filete de trucha; este descenso de la temperatura permite la elección de condiciones de almacenamiento técnico para garantizar la conservación de la calidad físico sensorial, y microbiológico de los filetes de trucha.

Figura 6. Relación entre fracción de agua no congelada y temperatura del filete de trucha



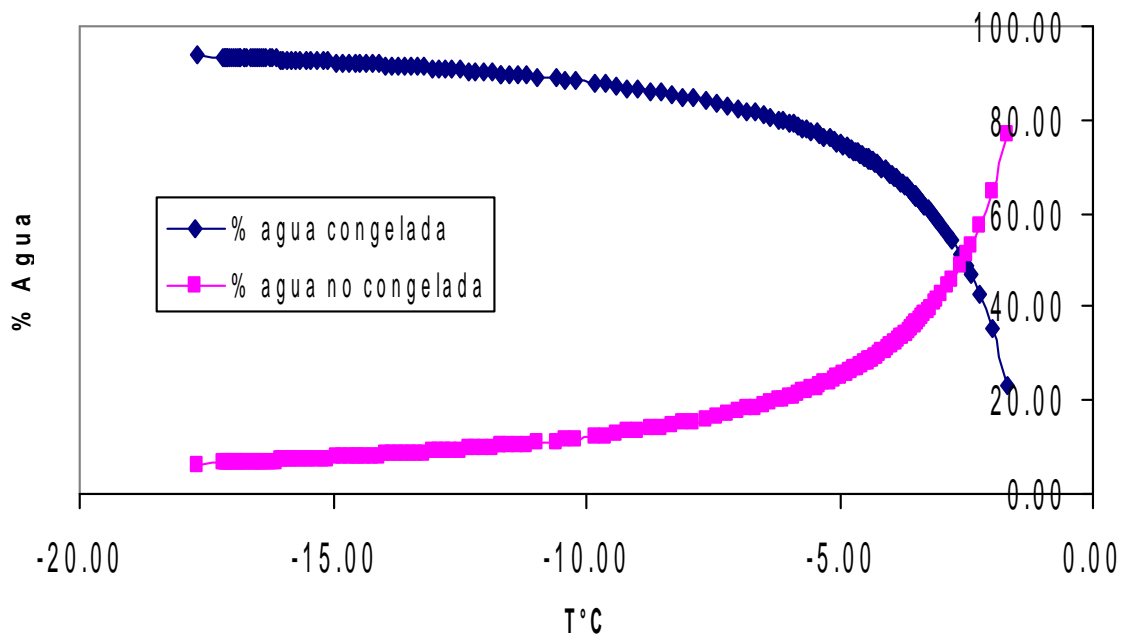
En la Figura 7 se presenta el tiempo de congelación determinado a partir del procedimiento descrito por Marfat, (1992) y Singh y Heldman, (2000); Donde podemos observar que el filete de trucha, inicia a congelarse a -1.1°C según los cálculos determinados y presentados en Anexo 1, alcanzando esta temperatura en 0.5 horas de exposición a temperatura dentro de la cámara de congelación de -18°C , congelándose íntegramente en un tiempo de 2.6 horas (Apéndice 1), donde se logra alcanzar el centro térmico del producto, donde la mayor cantidad de agua se ha congelado, lo cual se debe de considerar para efectos de conservación de productos altamente perecibles como lo indica Potolski, (1986)

Figura 7. Curva de congelación promedio para los filetes de trucha envasadas al vacío



En la Figura 8 se presenta las curvas de porcentaje de agua congelada y sin congelar; donde la cantidad de agua sin congelar fue de 6,29% y el agua congelada de 93,7%.

Figura 8. Porcentaje de agua congelada y sin congelar en los filetes de trucha



4.2 Resultados de evaluación de la conservación

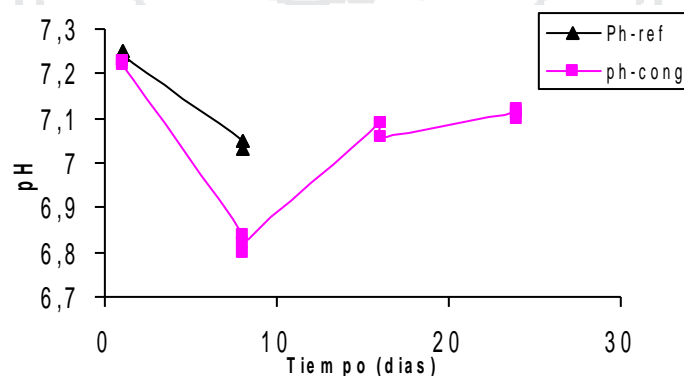
Los resultados de la evaluación de la conservación de los filetes de trucha se presentan en el Anexo 3.

En el Cuadro 11 se presenta los resultados del análisis de varianza del pH durante el almacenamiento refrigerado, donde observamos que existen diferencias estadísticas significativas del pH de los filetes de trucha bajo condiciones de refrigeración, asimismo esta variación, se observa en la Figura 9, evidenciándose que a medida que transcurren los días de almacenamiento se manifiesta una ligera reducción del pH al final del tiempo de almacenamiento

CUADRO 11. Análisis de Varianza del pH durante el almacenamiento refrigerado

F DE V	S. C.	G.L.	C.M.	Fcal.	P-Value	Sig.
Entre Días	0,062016700	1	0,0620167000	744,20	0,0000	**
Dentro del día	0,000333333	4	0,0000833333			
Total	0,062350000	5				

Figura 9. pH de los filetes de trucha bajo condiciones de almacenamiento refrigerado y en congelación.



En el Cuadro 12, se presenta las pruebas de comparaciones múltiples de Duncan, donde observamos que el pH de los filetes de trucha a los 8 días varió en 0.20, lo que se evidencia en el Cuadro 13 de contrastes entre el tiempo que duro el producto en almacenamiento.

CUADRO 12. Comparaciones Múltiples de Duncan del pH entre días de almacenamiento en refrigeración

Tiempo	Repeticiones	Promedio	Grupos homogéneos
Día 8	3	7,04333	a
Día 1	3	7,24667	b

CUADRO 13. Contraste del pH entre días de almacenamiento en refrigeración

Comparaciones entre grupos	Diferencias significativas
Día 1 – Día 8	*0,203333

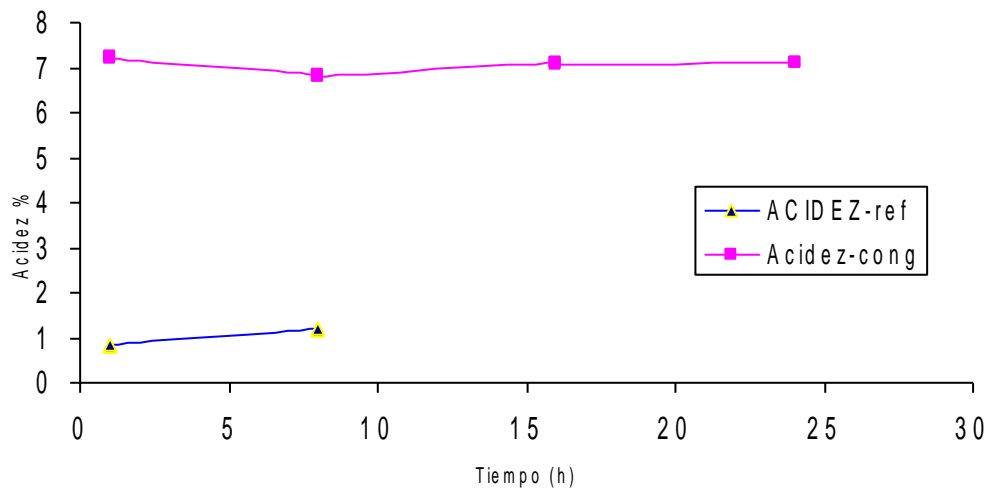
Evaluado los resultados de pH en los filetes de trucha almacenadas en refrigeración, donde se evidencia que el pH disminuye rápidamente en el tiempo, lo cual ocasiona que la formación de metamioglobina, con cambios en el color de los filetes, por la destrucción lenta de los músculos y eliminación de agua intracelular lo que altera las proteínas del filete de trucha envasada al vacío como lo indica Fey y Regenstein, (1982) y Layrisse y Matches, (1984).

En el Cuadro 14, se presenta los resultados de la acidez de los filetes de trucha en refrigeración, donde observamos que a los ocho días de almacenamiento refrigerado los filetes manifestaron un incremento en su acidez, el mismo que puede observar en la Figura 10.

CUADRO 14. Análisis de Variancia de la acidez de los filetes de trucha durante el almacenamiento refrigerado

F DE V	S. C.	G.L.	C.M.	Fcal.	P-Value	Sig.
Entre Días	0,19801700	1	0,198017000	371,28	0,0000	**
Dentro del día	0,00213333	4	0,000533333			
Total	0,20015000	5				

Figura 10. Acidez de los filetes de trucha bajo condiciones de almacenamiento refrigerado y en congelación.



En el Cuadro 15, se observa que a los ocho días de almacenamiento la acidez en los filetes de trucha incrementó desde 0.83 a 1.19% con una diferencia significativa de 0.36% al 95 de nivel de confianza como se observa en el Cuadro 16 de contrastes entre los días de almacenamiento, esto se explica debido a que las grasas del pescado están compuestas por triglicéridos y éstos a su vez, por glicerol y ácidos grasos, y una vez iniciado la degradación enzimático y bacteriana, las lipasas bacterianas van a actuar sobre los triglicéridos produciendo la hidrólisis de los mismos. Éstos son descompuestos en glicerol y ácidos grasos como lo manifiesta Huss, 1988.

CUADRO 15. Comparaciones Múltiples de Duncan de Acidez entre días de almacenamiento en refrigeración

Tiempo	Repeticiones	Promedio	Grupos homogéneos
Día 1	3	0,833333	a
Día 8	3	1,196670	b

CUADRO 16. Contraste de la Acidez entre días de almacenamiento en refrigeración

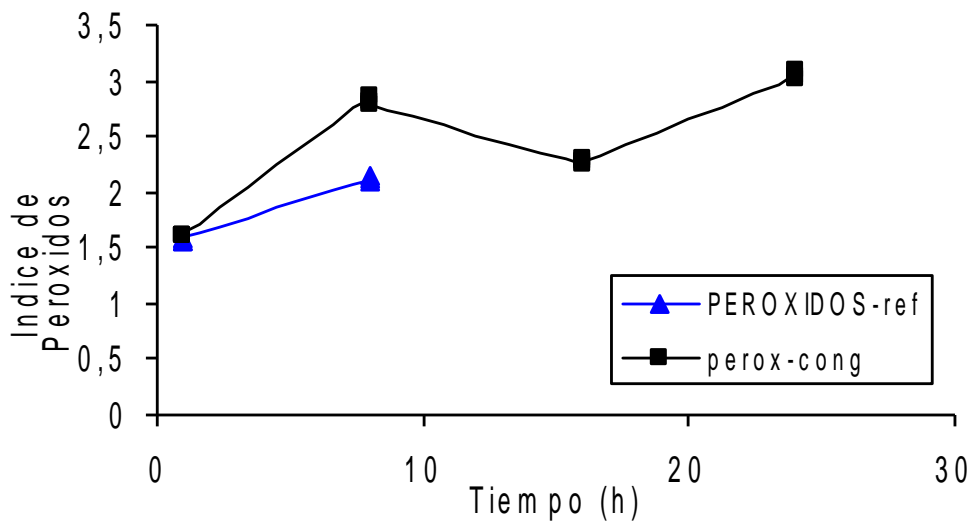
Comparaciones entre grupos	Diferencias significativas
Día 1 – Día 8	*-0,363333

En el Cuadro 17, se presenta el análisis de varianza del Índice de peróxidos, donde podemos observar que al 95% de nivel de confianza se encontró diferencias estadísticas significativas entre los días de almacenamiento y dentro de los días en los que se evaluó el índice de peróxidos, comportamiento que se puede observar en la Figura 11.

CUADRO 17. Análisis de variancia del índice de peróxidos de los filetes de trucha durante el almacenamiento refrigerado

F DE V	S. C.	G.L.	C.M.	Fcal	P-Value	Sig.
Entre Días	0,48166700	1	0,481667000	1032,14	0,0000	**
Dentro del día	0,00186667	4	0,000466667			
Total	0,48353300	5				

Figura 11. Índice de Peróxidos de los filetes de trucha bajo condiciones de refrigeración



En el Cuadro 18 se presenta las comparaciones múltiples de Duncan donde observamos que entre el día 1 y el día ocho el índice de peróxidos manifestó un incremento de 0,56 meq/kg de grasa como se observa en el Cuadro 19 de contrastes de promedios, este comportamiento se presume que es debida a que el oxígeno se combina y reacciona con facilidad con los ácidos grasos del pescado, oxidándolos, reacción produce una alteración conocida como enranciamiento el que es detectable al examen organoléptico debido a que produce un olor picante y un color amarillento característico. El mecanismo por el cual se desarrolla el enranciamiento es muy complejo como lo indica

Fenema, 2000, quien describe esta reacción en sus tres fases, iniciando con la formación de radicales libres, los que al combinarse con el oxígeno forman peróxidos y culminan con formación de aldehídos y cetonas, su formación manifiesta un crecimiento curvilíneo. Asimismo esta formación de peróxidos, puede ser perjudicial para el consumidor especialmente los peróxidos, dependiendo de su concentración final pueden provocar diversos trastornos gastrointestinales, siendo uno de los más frecuentes diarrea.

CUADRO 18. Comparaciones Múltiples de DUNCAN del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en refrigeración

Tiempo	Repeticiones	Promedio	Grupos homogéneos
Día 1	3	1,56000	a
Día 8	3	2,12667	b

CUADRO 19. Contraste del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en refrigeración

Comparaciones entre grupos	Diferencias significativas
Día 1 – Día 8	*-0,566667

Estos resultados obtenidos del pH, acidez e índice de peróxidos evaluados en almacenamiento refrigerado, evidencian y permiten afirmar que bajo las condiciones experimentales no es posible conservar la calidad de los filetes de trucha, debido a que en 8 días, los filetes se tornaron putrefactos, no aptos para su consumo como lo indica el ITP, (1996), BID, UDE, (1999), que determinaron pocos días de vida comestible en músculos de pescado recién capturados, por ello Liu, (1992), recomienda determinar tiempo de almacenamiento por cada tipo de pescado a través de la experimentación.

4.3 Resultados de la conservación en Congelación de los filetes de trucha.

En el Cuadro 20 se presenta el análisis de variancia del pH para la conservación a temperatura de congelación, donde evidenciamos que existen diferencias estadísticas significativas al 95% de nivel de confianza, obteniéndose un promedio de 7.06 de pH. Con mayor tiempo de conservación frente al almacenamiento en refrigeración como se observa en la Figura 9.

CUADRO 20. Análisis de pH de los filetes de trucha durante el almacenamiento en congelación

F DE V	S. C.	G.L.	C.M.	Fcal	P-Value	Sig.
Entre Días	0,26482500	3	0,088275000	423,72	0,0000	**
Dentro del día	0,00166667	8	0,000208333			
Total	0,26649200	11				

En el Cuadro 21, se presenta la comparación múltiple de Duncan entre los días de almacenamiento, donde observamos que a los 16 y 24 días de almacenamiento se evidencio variación de 0,14 y 0,11 y entre si en 0,03 de pH, frente a una variación de 0,4, 0,26 y 0,29 del día 8, lo que se puede observar en el Cuadro 22.

CUADRO 21. Comparaciones Múltiples de DUNCAN del pH entre días de almacenamiento en congelación

Tiempo	Repeticiones	Promedio	Grupos homogéneos
Día 8	3	6,82000	A
Día 16	3	7,08000	B
Día 24	3	7,11000	C
Día 1	3	7,22667	D

CUADRO 22. Contraste del pH entre días de almacenamiento en congelación

Comparaciones entre grupos	Diferencias significativas
Día 1 - Día 8	*0,406667
Día 1 - Día 16	*0,146667
Día 1 - Día 24	*0,116667
Día 8 - Día 16	*-0,26000
Día 8 - Día 24	*-0,29000
Día 16 - Día 24	*-0,03000

* Denota la diferencia estadística.

Las variaciones de pH del tejido muscular son indicativas de la calidad del mismo, ya que cuando un organismo muere, cesan de funcionar sus sistemas de suministro de oxígeno y producción de energía. En el caso de los filetes de trucha la disminución del pH en refrigeración y congelación disminuye paulatinamente debido a que poseen un

alto metabolismo (Watabe, 1989; 1991) se presume que la disminución de la concentración de oxígeno dentro de las células ocasiona que se originen procesos catabólicos, como la descomposición del glucógeno, con la producción de ácido láctico, el cual generalmente torna al pH más ácido (Huss, 1998)

En el Cuadro 23, se presenta el análisis de variancia de la acidez de los filetes de trucha almacenadas a temperatura de congelación, donde se evidencia diferencias estadísticas significativas al 95% de nivel de confianza en el índice de acidez, observándose mayor índice de acidez a los 24 días de almacenamiento con 1.53 %, seguido del día 16 con 1.11% (Cuadro 24), con mayor variación al día 24 con 0,58 como se observa en el Cuadro 25.

CUADRO 23. Análisis de variancia de la acidez de los filetes de trucha durante el almacenamiento en congelación

F DE V	S. C.	G.L.	C.M.	Fcal	P-Value	Sig.
Entre Días	0,57043300	3	0,190144000	356,52	0,0000	**
Dentro del día	0,00426667	8	0,000533333			
Total	0,57470000	11				

CUADRO 24. Comparaciones Múltiples de DUNCAN de la Acidez entre días de almacenamiento en congelación

Tiempo	Repeticiones	Promedio	Grupos homogéneos
Día 1	3	0,956667	a
Día 16	3	1,11667	b
Día 8	3	1,33333	c
Día 24	3	1,53333	d

CUADRO 25. Contraste de la Acidez entre días de almacenamiento en congelación

Comparaciones entre grupos	Diferencias significativas
Día 1 - Día 8	*-0,376667
Día 1 - Día 16	*-0,16000
Día 1 - Día 24	*-0,576667
Día 8 - Día 16	*0,216667
Día 8 - Día 24	*-0,20000
Día 16 - Día 24	*-0,416667

En el Cuadro 26 se presenta se presenta los resultados del análisis de variancia para el índice de peróxidos de los filetes de trucha almacenados a temperatura de congelación, donde se observa que existen diferencias estadísticas significativas al 95% de nivel de confianza, las pruebas de comparaciones múltiples Duncan nos permiten diferenciar las variaciones del índice de peróxidos, observándose que al día 24 se obtuvo 3.05 meq/kg de grasa, al día 8, 2.81, al día 16 2.27 frente a 1.16 del día 1 (Cuadro 27), observándose un incremento de 1.4 meq/kg de grasa a los 24 días, seguido del día 8 con 1,2, y al día 16 de 0,467 meq/kg de grasa respectivamente como se observa en el Cuadro 28.

CUADRO 26. Análisis de variancia del índice de peróxidos de los filetes de trucha durante el almacenamiento en congelación

F DE V	S. C.	G.L.	C.M.	Fcal	P-Value	Sig.
Entre Días	3,69016000	3	1,230050000	1658,50	0,0000	**
Dentro del día	0,00593333	8	0,000741667			
Total	3,69609000	11				

CUADRO 27. Comparaciones Múltiples de DUNCAN del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en congelación

Tiempo	Repeticiones	Promedio	Grupos homogéneos
Día 1	3	1,60667	A
Día 16	3	2,27667	B
Día 8	3	2,81	C
Día 24	3	3,05	D

CUADRO 28. Contraste del Índice de Peróxidos entre días de almacenamiento en congelación

Comparaciones entre grupos	Diferencias significativas
Día 1 - Día 8	*-1,203330
Día 1 - Día 16	*-0,670000
Día 1 - Día 24	*-1,443330
Día 8 - Día 16	*0,5333330
Día 8 - Día 24	*-0,240000
Día 16 - Día 24	*-0,773333

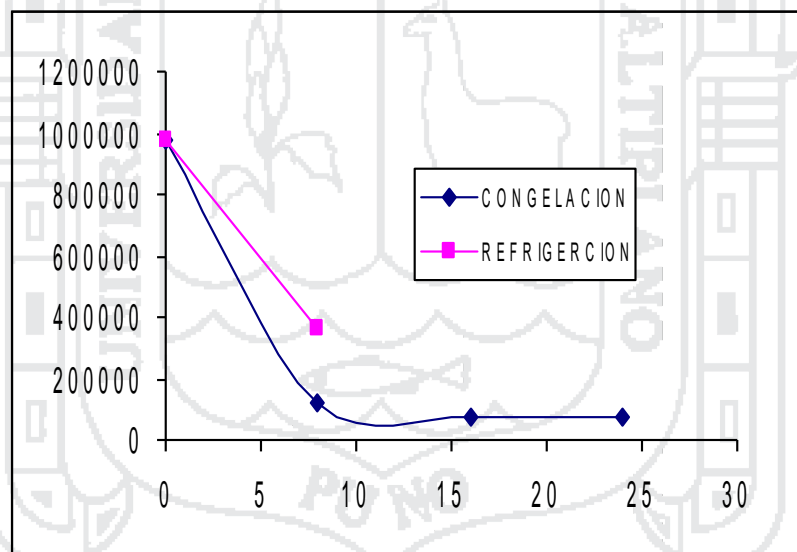
En pescado graso congelado los cambios químicos más importantes son los que tienen lugar en la fracción lipídica del pescado, fenómenos como hidrólisis, oxidación e interacción de los productos de estas reacciones con otros constituyentes no lipídicos produce deterioro; Sin embargo, el almacenamiento en condiciones de vacío, retarda la aparición de estas alteraciones, dado que la presencia de oxígeno, es un requisito para las reacciones oxidativas y enzimático de los lípidos (Huss, 1980) así por ejemplo Ortiz y Bello (Ortiz y Bello, 1992) determinaron en pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) almacenada por 4 meses a -10°C una variación significativa en el contenido de ácidos grasos de la serie n-3, mientras que en sardina pilchardus (*Clupea pilchardus*), entera y almacenada a -20°C por 4 meses, disminuyó ligeramente la concentración de C20:6 (n-3) y C22:6(n-3) de 14,4% a 11,0% y de 16,9% a 16,3% respectivamente, por otra parte en el presente trabajo se incrementaron el índice de peróxidos de 1.6 a 3.05. Estos resultados indican que en general se puede obtener una buena estabilidad de los ácidos grasos e inclusive de los poliinsaturados y que la misma, es dependiente de la temperatura de congelación empleada y la forma en que es tratada los filetes de trucha y comparativamente con la refrigeración la conservación en congelación, es alternativa importante para reducir el deterioro de los lípidos como lo indica Lejía, (1996), Carballo y Lopez de Torre, (1991), suprimiéndose diferencialmente con la conservación a temperatura de congelación la oxidación lipídica del músculo de los filetes de trucha como lo indica Prandl *et al.*, (1994) y los filetes por tanto se presumen que el congelación será retardada la formación de hidroperóxidos.

En el Cuadro 29 se presenta los resultados del recuento de aerobios mesófilos en los filetes de trucha almacenadas en refrigeración y congelación, y el comportamiento se observa en la Figura 12, donde observamos que el almacenamiento a temperaturas de congelación presenta menor carga microbiana,

CUADRO 29. Reporte de aerobios mesofilos en ufc/g de los filetes de trucha almacenado en refrigeración y conservación en congelación

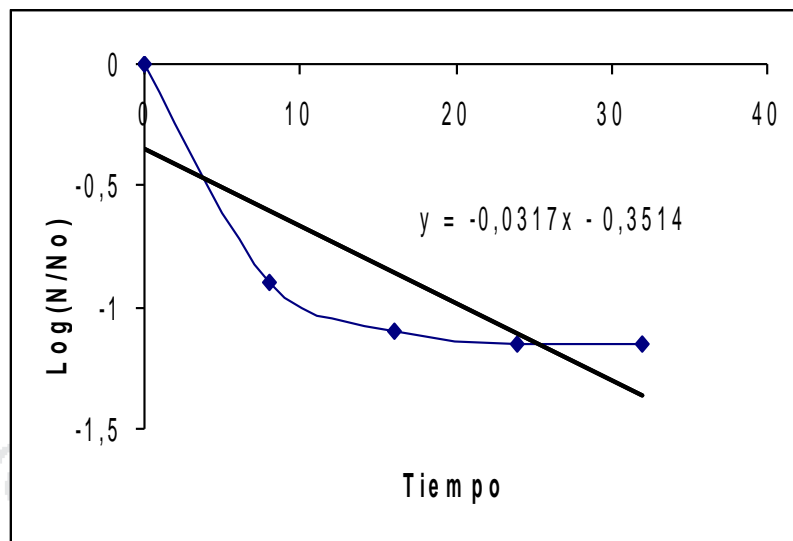
Repeticiones	ALMACENAMIENTO EN DIAS					
	Congelacion				Refrigeracion	
	0	8	16	24	0	8
1	16x10 ⁵	0	10x10 ⁴	90x10 ³	16x10 ⁵	10x10 ⁴
2	12x10 ⁵	35x10 ⁴	10x10 ⁴	60x10 ³	12x10 ⁵	90x10 ⁴
3	10x10 ⁴	20x10 ³	20x10 ³	60x10 ³	10x10 ⁴	90x10 ³
Promedio	98x10 ⁴	12x10 ⁴	77x10 ³	70x10 ³	98x10 ⁴	36x10 ⁴

Figura 12. Aerobios mesofilos durante el almacenamiento en refrigeración y congelación de los filetes de trucha



En la Figura 13, se observa la velocidad de reducción de aerobios mesofilos viables, donde observamos que por cada número de microorganismos reducidos en el tiempo estas disminuirán en -0.0317 ufc/g de muestra. Con mejor efecto en almacenamiento a temperatura de congelación, comparativamente al almacenado en refrigeración, siendo estable esta hasta los 8 días de almacenamiento refrigerado.

Figura 13. Velocidad de reducción de Aerobios mesofilos durante el almacenamiento en congelación de los filetes de trucha



En el Cuadro 30 y Figura 14 se presenta los resultados del recuento de *Staphylococcus aureus* en los filetes de trucha almacenados en refrigeración y congelación, donde podemos observar que en refrigeración la población microbiana incrementa aceleradamente, mientras que en congelación disminuye a una velocidad de -0.0405 ufc, conservándose mayor tiempo para los filetes de trucha en congelación (Figura 15).

CUADRO 30. Reporte de *Staphylococcus aureus* en ufc/g de los filetes de trucha almacenado en refrigeración y conservación en congelación

Repeticiones	ALMACENAMIENTO EN DIAS					
	Congelacion				Refrigeracion	
	0	8	16	24	0	8
1	16×10^4	30×10^3	10×10^1	0	16×10^4	10×10^4
2	20×10^3	10×10^3	0	0	20×10^3	50×10^4
3	0	10×10^3	10×10^3	0	0	30×10^3
Promedio	60×10^3	16×10^3	33×10^2	0	60×10^3	21×10^4

Figura 14. *Staphylococcus aureus* en ufc/g en filetes de trucha almacenado en refrigeración y congelación

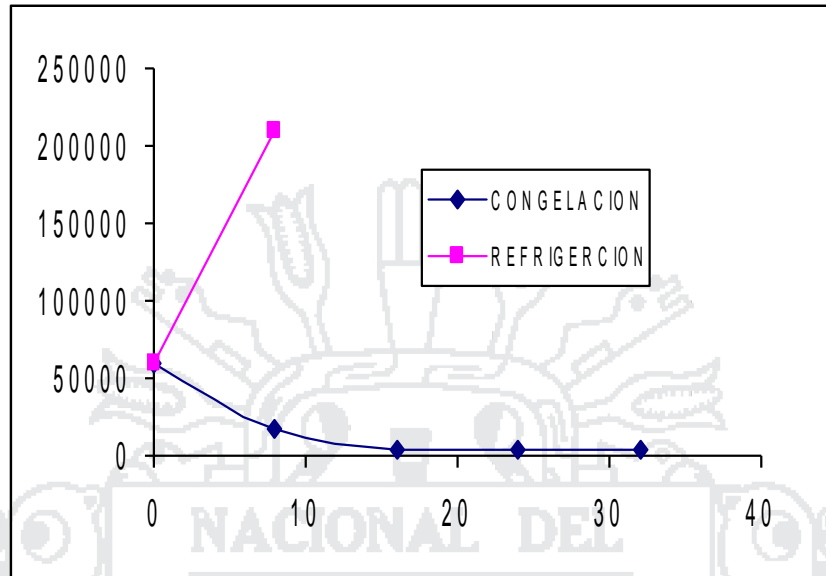
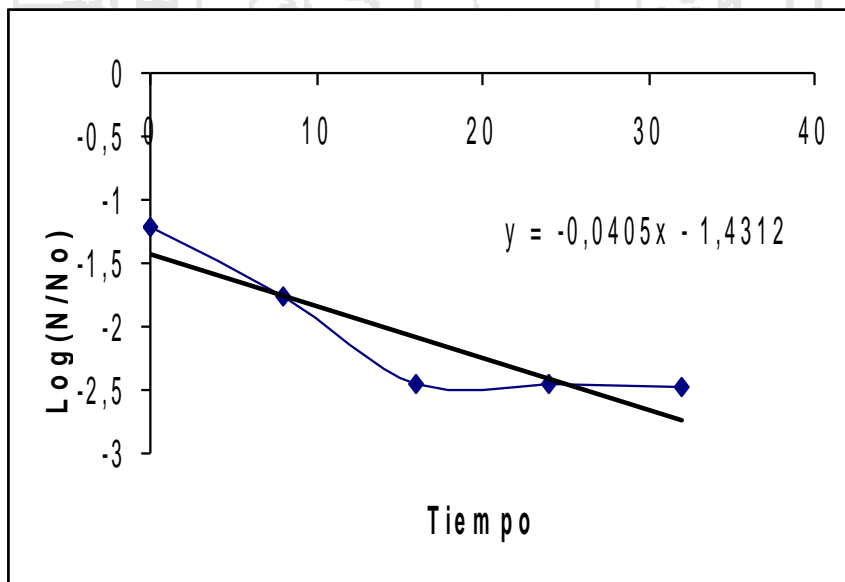
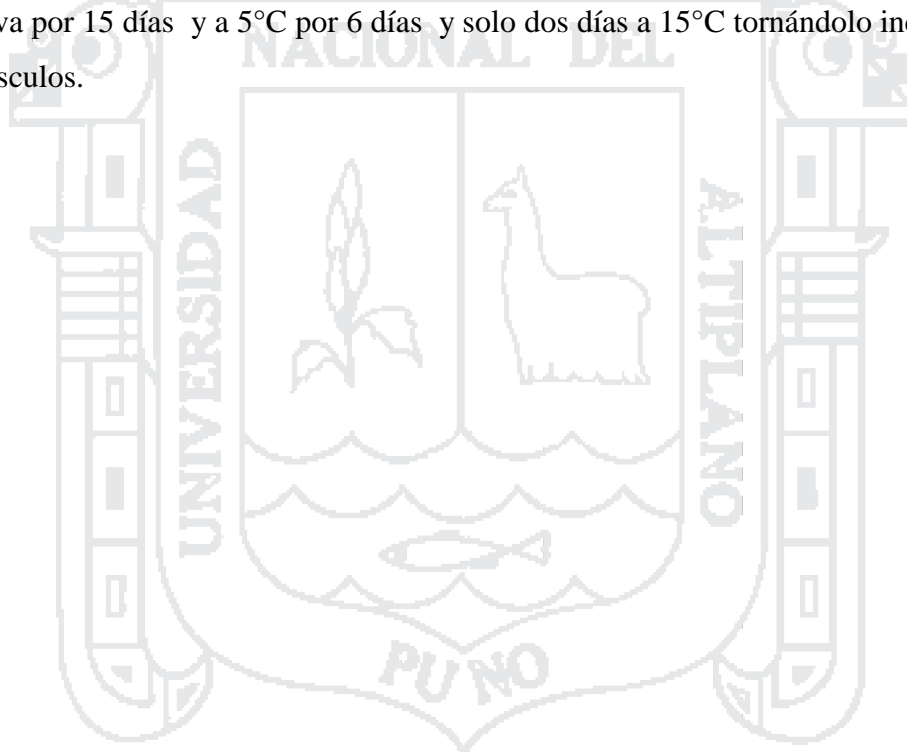


Figura 15. Velocidad de reducción de *Staphylococcus aureus* en ufc/g en filetes de trucha almacenado a temperatura de congelación



Cabe indicar que durante las evaluaciones de almacenamiento a temperatura de refrigeración y congelación se determinaron que hubo ausencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en las muestras sometidas a conservación como se puede observar en el Anexo 4 cuadros 1 y 2 respectivamente.

De los resultados observados en el incremento y reducción de microorganismos durante el almacenamiento en refrigeración y temperaturas de congelación, atribuimos la menor duración de los filetes al efecto de la temperatura de refrigeración donde se presume que la disponibilidad de oxígeno del aire, contribuyen en las reacciones químicas, producto de las reacciones enzimáticas que contribuyen en a proliferación de microorganismos y la aparición de sabores y olores pútridos en los filetes como lo manifiesta (Gram *et al.* , 1992), por lo que para conservar un filete de trucha es necesario antes enfriar y congelar para su conservación y alargar su vida útil, ya que de ella depende el incremento o reducción de bacterias que contribuyen en la descomposición del pescado, lo que se corrobora con lo indicado por Gram. *et al.*, 1993, quien indica que a 0°C el pescado se conserva por 15 días y a 5°C por 6 días y solo dos días a 15°C tornándolo incomedible los músculos.

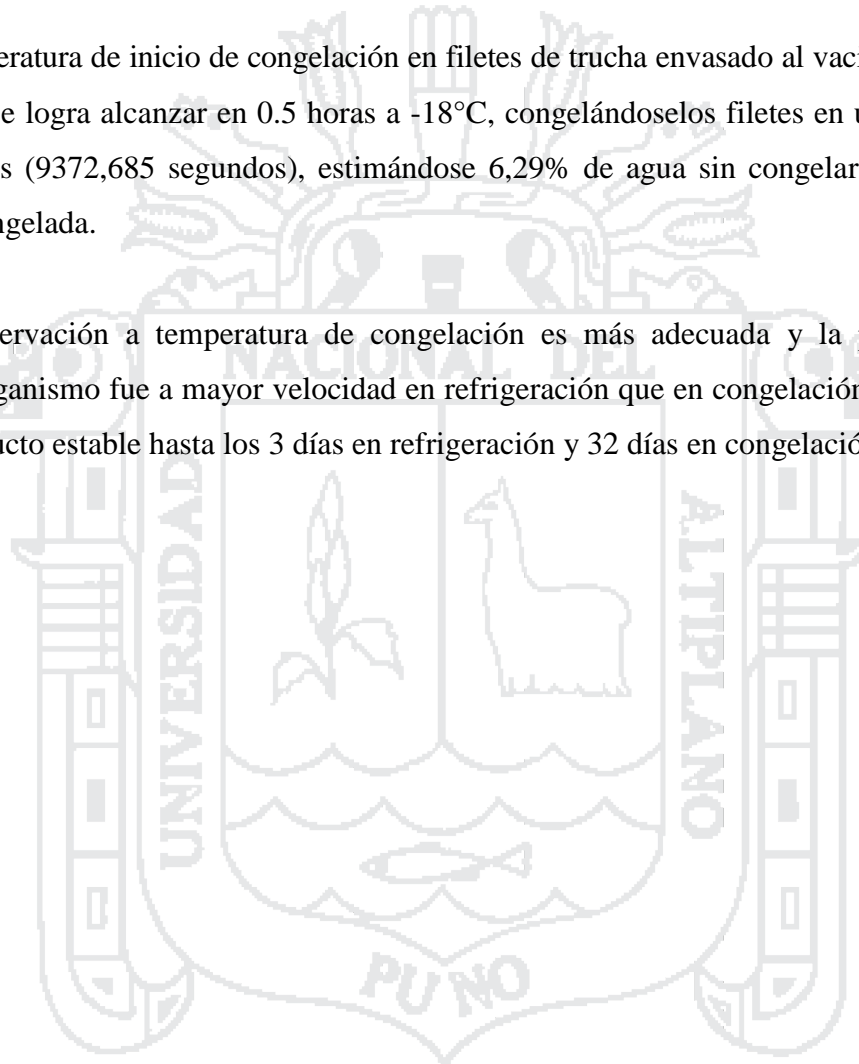


V. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos concluimos lo siguiente:

La temperatura de inicio de congelación en filetes de trucha envasado al vacío, es -1.1°C , lo cual se logra alcanzar en 0.5 horas a -18°C , congelándose los filetes en un tiempo de 2.6 horas (9372,685 segundos), estimándose 6,29% de agua sin congelar y 93,7% de agua congelada.

La conservación a temperatura de congelación es más adecuada y la presencia de microorganismo fue a mayor velocidad en refrigeración que en congelación, lográndose un producto estable hasta los 3 días en refrigeración y 32 días en congelación.



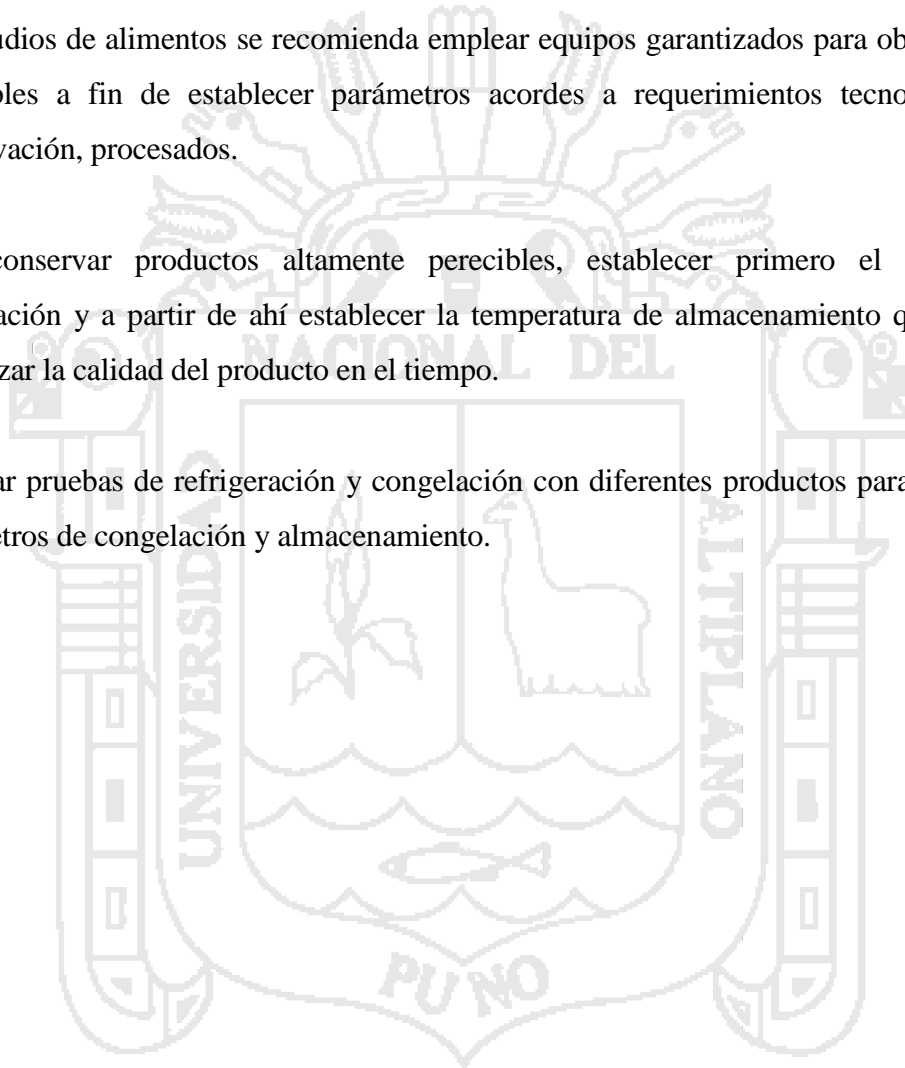
VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda lo siguiente:

En estudios de alimentos se recomienda emplear equipos garantizados para obtener datos confiables a fin de establecer parámetros acordes a requerimientos tecnológicos de conservación, procesados.

Para conservar productos altamente perecibles, establecer primero el tiempo de congelación y a partir de ahí establecer la temperatura de almacenamiento que permita garantizar la calidad del producto en el tiempo.

Efectuar pruebas de refrigeración y congelación con diferentes productos para establecer parámetros de congelación y almacenamiento.



VII. BIBLIOGRAFIA

- Alcázar C. J. (2002), Diccionario técnico de Industria Alimentaria 2da ed. Cusco – Perú
- Arapa, F.S.R.(2003). Elaboración de Salchichas Ahumadas y Empacado al vacío a partir de la pulpa de la Trucha (*Oncorhynchus mykiss*), Tesis, Ing. Agroindustrial, Universidad Nacional del Altiplano, Fac. Cienc. Agrar. Puno, Perú.
- Acosta, G.M. (2002). Truchicultura. Primera Reimpresión Producciones Gamma. Ayacucho – Perú.
- Barbosa - Cánovas, G. V.; Pothakamury, U.R.; Palou, E.; Swanson. B. G. (2000) Conservación no Térmica de Alimentos.
- Barthel, G. and W. Grosch (1974). Peroxide value determination - comparison of some methods. J. Am. Oil Chem. Soc. 51, 540-544.
- Botta, J.R. (1991). Instrument for non-destructive texture measurement of raw Atlantic cod (*Gadus morhua*) fillet. J. Food Sci. **56**, 962-964, 968.
- Botta, J.R., J.T. Lauder, and M.A. Jewer (1984). Effect of methodology on total volatile basic nitrogen (TVB-N) determination as an index of quality of fresh Atlantic cod (*Gadus morhua*). J. Food Sci. 49, 734-736, 750.
- Boyd, L.C., D.P. Green, F.B. Giesbrecht, and M.F. King (1993). Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tert-butylhydroquinone and rosemary extract J. Sci. Food Agric. 61, 87-93.
- Burges, G. (1990). El pescado y las industrias derivados de la pesca (2da Edic.). Ed. Acribia. Madrid, España.
- ITP,BID, UDP (1999). Programa de capacitación Artesanal. Curso Nacional de Manipulación y Procesamiento de pescado Fresco. (2da. Ed.) Callao, Perú.
- Bremner, H.A. and I.C. Hallett (1985). Muscle fiber-connective tissue junctions in the blue grenadier (*Macrurus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study. J. Food Sci. 50, 975-980.
- Cabodevilla, J. Y M. Teruel. (2001). Crío preservación de embriones bovinos. Citado por: PALMA G. (2001). Biotecnología de la Reproducción. Ed. INTA Balcarce. Argentina.
- Cann, D.C., N.C. Houston, L.Y. Taylor, G.L. Smith, A.B. Thomson, and A. Craig (1984). Studies of salmonids packed and stored under a modified atmosphere. Tony Research Station, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Aberdeen.
- Carballo, B. y López de Torre, G. (1991). Manual de bioquímica y tecnología de la carne. Servicio de Investigación Agraria de la Junta de Extremadura.

- Ceballos, O.M.A., y Velázquez, E.M.A. (1988). *Perfiles de la Alimentación de Peces y Crustáceos en los Centros y Unidades de Producción Acuícola en México*. Programa Cooperativo Gubernamental. FAO-AQUILA GCP/RLA/075/ITA. 139pp.
- Conway, W.J. (1962), Microdiffusion analysis and volumetric error. Crosby Lockwood, London.
- Connell, J.J. (1975). *Control offish quality*. Fishing News (Books) Ltd., Farnham, Surrey, UK.
- Coyne, F.P. (1933). The effect of carbon dioxide on bacterial growth with special reference to the preservation offish. Part II J. Soc. Chem. Ind. 52, 19T-24T.
- Charm, S.E., R.J. Learson, L.J. Ronsivalli, and M. Schwartz (1972). Organoleptic technique predicts refrigeration shelf life of fish. FoodTechnol. 26, 65-68.
- Charley, H. (1995). *Tecnología de Alimentos, Procesos Químicos y Físicos en la Preparación de alimentos* (3ª.ed.) Ed. Limusa, S. A. México.
- Dainty, R.H. and B.M. Mackey (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser. 21,103 S-114S
- Dalgaard, P. (1993). Evaluation and prediction of microbial fish spoilage. Ph. D. Thesis. The Technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and the Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark.
- Dalgaard, P. and H.H. Huss (1994). Mathematical modelling used for evaluation and prediction of microbial fish spoilage. In: D.E. Kramer, F. Shahidi and Y. Jones (eds.) Proceedings of the Symposium New Developments in Seafood Science and Technology, CIFST, Vancouver, Canada.
- De Michelis, R.H. Mascheroni y A. Calvelo (1985). "Cálculo de tiempos de congelación de productos cárneos". *La Alimentación Latinoamericana* 19 (151), 52
- Dirección Regional de Pesquería (1998), Determinación Bromatológica de la Trucha Arco Iris. PP 1-3. Informe Técnico N° 45 D.R.P., Puno, Perú.
- De Man J, Principles of Food Chemistry. Maryland (1999).
- Desrosier, N. (1983). Elementos de tecnología de alimentos. 6. to. Impresión. Compañía Editorial. Continental, S. A. de C. V., México, D.F. México. 783p
- Dunajski, E. (1980). Texture offish muscle. *J. Texture Stud.* **10**, 301-318.
- Earle R. L. (1998) Ingeniería de los Alimentos. Editoril Acribia.
- Ede, A. J. (1949), The calculation of the freezing and thawing of foodstuffs.
- Fey, M.S. and J.M. Regenstein (1982). Extending shelf-life of fresh wet red hake and salmon using CO₂-O₂ modified atmosphere and potassium sorbate ice at 1 °C. *J. Food Sci.* 47, 1048-1054.
- Freeman D.W. and J.O. Heamsberger (1993). An instrumental method for determining rancidity in frozen catfish fillets. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 2, 35-50.

- Fennema, O. (2000): “*Química de los Alimentos*”, Editorial Acribia, Zaragoza – España
- Fung, D.Y.C., R.E. Hart and V. Chain (1987). Rapid methods and automated procedures for microbiological evaluation of seafood. In: D.E. Kramer and J. Liston (eds.) *Seafood Quality Determination. Proceedings of and International Symposium coordinated by the University of Alaska Sea Grant College Program, Anchorage, Alaska, U.S.A., 10-14 November 1986.* Elsevier, Amsterdam, 247-253.
- García, P. (1996). Estudios físico químicos y microbiológicos de la estabilidad de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) Ahumada y envasado al vacío. Tesis, Univ. Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Gerdes, D.L. and C.S. Valdez (1991). Modified atmosphere packaging of commercial Pacific red snapper (*Sebastes entomelas*, *Sebastes flavidus* or *Sebastes goodei*). *Lebensm.-Wiss. & - Technol* 24, 256-258.
- Gill, T.A., R.A. Keith, and B. Smith Lall (1979). Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in myofibrillar proteins. *J. Food. Sci.* 44, 661-667.
- Gómez A. (1998). Estudio sobre el cultivo marino de la tilapia en la isla de Margarita (Venezuela).
- Gram, L. (1990). Spoilage of three Senegalese fish species stored in ice and at ambient temperature. Paper presented at SEAFOOD 2000 in Halifax, Canada, 12-16 May 1990.
- Gram, L. (1992). Evaluation of the bacteriological quality of seafood. *J. Food Microbiol.* 16, 25-39.
- Gram, L., C. Wedell-Neergaard and H.H. Huss (1990). The bacteriology of spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). *Int. J. Food Microbiol.* 10, 303-316.
- Gram, L., G. Trolle, and H.H. Huss (1987). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 °C) and high (20 °C) temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* 4, 65-72.
- Gram, L., J. Oundo and J. Bon (1989). Storage life of Nile perch (*Lates niloticus*) dependent on storage temperature and initial bacteria load. *Trop. Sci.* 29, 221.
- Gruda, Z. y Postolski, J. (1986). *Tecnología de la congelación de alimentos.* Editorial. Acribia, S.A. - Mafart, P. (1993) *Ingeniería industrial alimentaría*
- Haaland, H. and L.R. Njaa (1988). Ammonia (NH₃) and total volatile nitrogen (TVN) in preserved and unpreserved stored whole fish. *J. Sci. Food Agric.* 44, 335-342.
- Haard, N.F. (1992). Technological aspects of extending product quality of seafood: A review. *J. Aqua. Food Prod. Technol.* 1, 9-27.
- Heldman, D. R. (1983). Factors influencing food freezing rates. *Food Technol.* 37(4), 103-109.
- Heldman, D. R., and Lai, D. J. (1983). A model for prediction of shelf-life for frozen foods. *Proc. Int. Congr. Refrig.* 16th Commission C2, 427-433

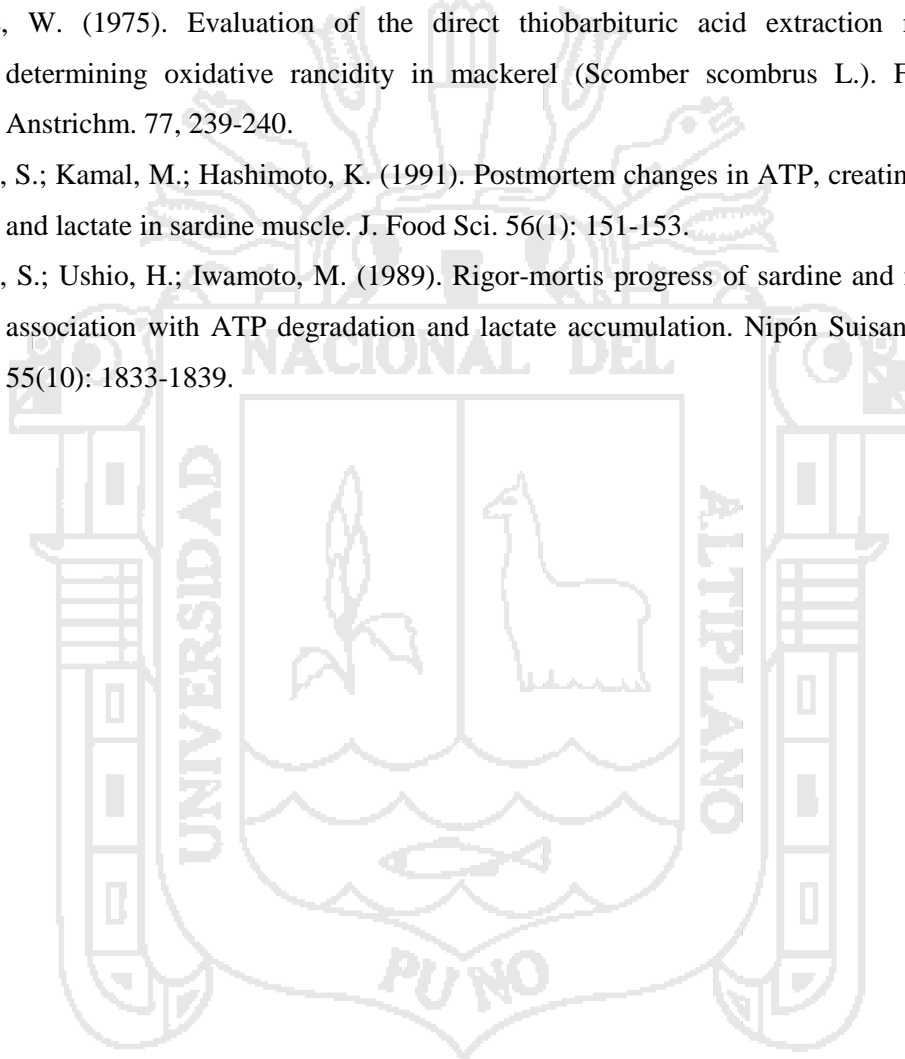
- Howgate, P., A. Johnston and K.J. Whittle (1992). Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products. Tony Research Station. Aberdeen.
- Hoyland D.V. and A.J. Taylor (1991). A Review of the Methodology of the 2-Thiobarbituric Acid Test. *Food Chem.* 40, 271-291.
- Huss, H.H. and A. Larsen (1980). Changes in the oxidation-reduction potential (Eh) of smoked and salted fish during storage. *Lebensm. -Wiss. & Technol.*, 13,40-43.
- Huss, H.H. 1998. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. FAO Doc. Tec. De Pesca n. 348, Roma, 202p.
- Huss, H.H. and I. Asenjo (1976). I. Storage life of gutted and ungutted white fish. In: Annu. Rep. Technological Laboratory, Danish Ministry of Fisheries, Technical University, Lyngby, Denmark.
- Huss, H.H. and I. Asenjo (1977b). Some technological characteristics of hake from South American waters. In: P. Sutcliffe & J. Disney (eds.), Handling, processing and marketing of tropical fish. Tropical Products Institute, London, 84-94.
- Huss, H.H., D. Dalsgaard, L. Hansen, H. Ladefoged, A. Pedersen and L. Zittan (1974). The influence of hygiene in catch handling on the storage life of iced cod and plaice. *J. Food Technol.* 9, 213-221.
- Huss, H.H.(1988). El Pescado Fresco: su calidad y cambios de calidad. Colección Food and Agriculture Organization of the United Nation :Pesca N° 29. Roma. Italia.
- IMARPE-ITP (1996) "Compendio Biológico Tecnológico de las Principales Especies Hidrobiológicas Comerciales del Perú". Instituto del Mar del Perú (IMARPE) & Instituto Tecnológico Pesquero del Perú (ITP). Ed. Stella. Lima.
- Instituto Tecnológico Pesquero (1998), Manual de Ensayos de Laboratorio Físico – Químico. Lima, Perú.
- Izquierdo, P.; Torres, G.; Barboza, Y.; Márquez, E. y Allara, M. (2000) "Análisis Proximal, Perfil de Ácidos Grasos, Aminoácidos Esenciales y Contenido de Minerales en Doce Especies de Pescado de Importancia Comercial en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Vol. 50. N°2.
- Jason, A.C. and J.C.S. Richards (1975). The development of an electronic fish freshness meter. *J. Phys. E. Sci. Instrum.* 8, 826-830.
- Johnson, E.A., R.A. Segars, J.G. Kapsalis, M.D. Normand and M. Peleg (1980). Evaluation of the compressive deformability modulus of fresh and cooked fish flesh. *J. Food Sci.* 45, 1318-1320, 1326.
- Jonsdottir, S. (1992). Quality index method and TQM system. In: R. Olafsson and A.H. Ingthorsson (eds.) Quality Issues in the Fish Industry. The Research Liaison Office, University of Iceland.

- Kanner J. and I. Rosenthal (1992). An Assessment of Lipid Oxidation in foods - Technical Report. *Pure Appl. Chem.* 64, 1959-1964.
- Ke, P.J., and A.D. Woyewoda (1979). Microdetermination of thiobarbituric acid values in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system. *Anal. Chim. Acta.* 106, 1279-284.
- Ke, P.J., D.M. Nash and R.G. Ackman (1976). Quality preservation in frozen mackerel. *Can Inst. Food Sci. Technol. J.* 9, 135-138.
- Killeffer, D.H. (1930). Carbon dioxide preservation of meat and fish. *Ing. Eng. Chem.* 22, 140-143.
- Layrisse, M.E. and J.R. Matches (1984). Microbiological and chemical changes of spotted shrimp (*Pandalus platyceros*) stored under modified atmospheres. *J. Food Prot.* 47, 453-457.
- Larsen E. P.: Heldbo, C.M.: Jespersen; Nielsen, D. (1992). Development of a Standard for qualite assement on fish consumption. In: agosto; 351-358.
- Lea, C.H. (1952). Methods for determining peroxide in lipids. *J. Sci. Food Agric.* 3, 586-594.
- LeBlanc, R.J., and T.A. Gill (1984). Ammonia as an objective quality index in squid. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 17, 195-201.
- Levin, R.E. (1968). Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria on fish. I. Methodology. *Appl. Microbiol.*, 16, 1734-1737.
- Lewis M. (1993) Propiedades físicas de los alimentos procesados.
- Lewis M. (1996). *Physical Properties of Foods and Food Processing Systems*. Woodhead Publishing. Pg. 230-233.
- Lima dos Santos, C.A.M. (1981). The storage life of tropical fish in ice -A review. *Trop. Sci.* 23, 97-127.
- Liston, J. (1992). Bacterial spoilage of seafood. In: H.H. Huss, M. Jacobsen and J. Liston (eds.) *Quality Assurance in the Fish Industry. Proceedings of an International Conference, Copenhagen, Denmark, August 1991*. Elsevier, Amsterdam, 93-105.
- Liu, F.W., (1992). Sistema de almacenamiento para productos hortícolas. En "Fisiología y Tecnología de Productos Hortícolas. Yahia, E. M., Higuera C. I. Ed. Limusa. México.
- López, A. (2003). *Psicultura y acuarios de las especies de trucha, tilapias, conchas, mariscos*, Ed. Ripalme. Lima, Perú.
- Marfat, P., y Beliard, E., (1992). *Ingeniería Industrial Alimentaria*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España.
- McMeekin, T.A., J. Oiley, T. Ross, and D.A. Ratkowsky (1993). *Predictive Microbiology: Theory and Application*. Research Studies Press Ltd., Taunton, England.
- Molin, G. (1983). The resistance to carbon dioxide of some food related bacteria. *Eur. J. Appl.*

- Microbiol. Biotechnol. 18, 214-217.
- Murray, C.K. and T.C. Fletcher (1976). The immunohistochemical location of lysozyme in plaice (*Pleuronectes platessa* L.) tissues. *J. Fish Biol.* 9, 329-334.
- Nagaoka, J., Takagi, S., and Hotani, S. (1955). Experiments on the freezing of fish in an air-blast freezer. *Proc. Int. Congr. Refrig.* 9th, Vol. 2, p. 4.
- Nanto, H., H. Sokooshi and T. Kawai (1993). Aluminium-doped ZnO thin film gas sensor capable of detecting freshness of sea foods. *Sensors and actuators* 13-14.
- Oliveira, J. (1997) "Datos absolutos de monumentos megalíticos da Bacia hidrográfica do rio Sever". En R. de Balbín y P. Bueno (eds.): II Congreso de Arqueología Peninsular. II: Neolítico, Calcolítico y Bronce II: 229-239. Zamora
- Olley, J., Ratkowsky, D.A., (1973^a). Temperature function integration and its importance in storage and distribution of flesh foods above the freezing point. *Food Technol. Aust.* 25, 66-73.
- Olley, J., Ratkowsky, D.A., (1973^b). The role of temperature integration in monitoring fish spoilage. *Food Technol. N. Z.* 8, 147-153
- Owen, D. and M. Nesbitt (1984). A versatile time temperature function integrator. *Lab. Practice* 33, 70-75.
- Ortiz, H.; Bello, R. (1992). Composición y estabilidad de los ácidos grasos de la pulpa de cachama y sardina durante el almacenamiento en congelación. *Arch. Latinoamer. de Nutri.* 42: 460-465.
- Palma, E. J. (1996). Frescura del pescado y mecanismo de deterioro. XII curso internacional tecnológico de procedimiento de productos pesqueros. Del 15 Enero al 01 de Marzo.
- Parkin, K.L. and W.D. Brown (1983). Modified atmosphere storage of Dungeness Crab (Cancer magister). *J. Food Sci.* 48, 370-374.
- Parkin, K.L., M.J. Wells, and W.D. Brown (1981). Modified atmosphere storage of rockfish fillets. *J. Food Sci.* 47, 181-184.
- Peters, J.A., A.F. Benzanson and J.H. Green (1974). Effect of draining method on the quality of fish stored in boxes. *Mar. Fish. Rev.*, 36, 33-35.
- Plank, R. Z. (1913). *Z. Gesamte Kalte-Ind.* 20, 109 (cited by Ede, 1949).
- Postolski J. (1986). Tecnología de congelación de los alimentos EDITORIAL ACRIBIA
- Poulter, R.G., B. Samaridivakera, V. Jayaweera, I.S.R. Samaraweera and N. Chinivasagam (1981). Quality changes in three Sri Lankan species stored in ice. *Trop. Sci.*, 23, 155.
- Proyecto Especial Truchas Titicaca, (1995). Consolidación y desarrollo de la crianza de trucha en el Lago Titicaca. Puno, Perú.
- Prändl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T., Sinell, H.J. (1994). Tecnología e Higiene de la Carne. Ed. Acribia, Zaragoza.

- Raharjo, S., J.N. Sofos, and G.R. Schmidt (1993). Solid phase acid extraction improves thiobarbituric acid method to determine lipid oxidation. *J. Food Sci.* 58, 921-924,932.
- Ramos- Clamont, M.G., Martínez, Téllez, M.A. (1998). Efecto del manejo postcosecha en la susceptibilidad al daño por frío y la actividad poligalacturonasa en calabaza zuchini. *Revista Horticultura Mexicana*, Vol. 6. pp. 42-55.
- Ratkowsky, D.A., J. Olley, T.A. McMeekin, and A. Ball (1982). Relation between temperature and growth rate of bacterial cultures. *J. Bacteriol* 149, 1 -5.
- Ratkowsky, D.A., R.K. Lowry, T.A. McMeekin, A.N. Stokes and R.E. Chandler (1983). Model for bacterial culture growth rate throughout me entire biokinetic temperature range. *J. Bacteriol* 154, 1-5.
- Rehbein, H. and J. Oehlenschlager (1982). Zur Zusammensetzung der TVB-N fraktion (fluchtige Basen) in sauren Extrakten und alkalischen Destillaten von Seefischfilet. *Arch. für Lebensmittelhyg.* 33, 44-48.
- Reyes, S.C. (2004). Crianza y producción de Truchas. Ed. Ripalme. Lima, Perú.
- Schneider, U.P. Mazur. (1984). Osmotic consequences of cryoprotectant permeability and its relation to the survival of frozen-thawed embryos. *Theriogenology* 21: 70-79.
- Schneider, U. Y P. Mazur. (1986). Implications and aplicación of long-term preservation of embryos for freezing. In: MORROW, D. Ed. *Current Therapy in Theriogenology II*, Philadelphia, WB Saunders Co. pp 81-83.
- Sharpe, A.N., M.N. Woodrow and A.K. Jackson (1970). Adenosinetriphosphate (ATP) levels in foods contaminated with bacteria, *J. Appl. Bacteriol.*, 33, 758-767.
- Shewan, J.M., R.G. Mackintosh, C.G. Tucher and A.S.C. Erhenberg (1953). The development of a numerical scoring system for me sensory assessment of the spoilage of wet fish stored in ice. *J. Sci. Food Agric.* 6, 183-198.
- Sikorsh, Z.E., (1994). *Tecnología de los productos del mar: composición, nutrición y conservación*, Acribia, Zaragoza.
- Singh, R.P. and D.R. Heldman. (2000). *Introduction to Food Engineering*, Third Edition, Academic Press, London.
- Smith. G., M. Hole, and S.W. Hanson (1990). Assessment of lipid oxidation in Indonesian salted-dried marine catfish (*Arius thalassinus*). *J. Sci. Food Agric.* 51, 193-205.
- Spencer, R. and C.R. Baines (1964). The effect of temperature on the spoilage of wet white fish. I. Storage at constant temperatures between -1 °C and 25 °C. *Food Technol.* 18,769-772
- Stammen, K., D. Gerdes and F. Caporaso (1990). Modified atmosphere packaging of seafood. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29, 301-331.
- Stine, C.M., H.A. Harland, S.T. Coulter, and R. Jenness (1954). A modified peroxide test for detection of lipid oxidation in dairy products. *J. Dairy Sci.* 37, 202-208.

- Storey, R.M. (1985). Time temperature function integration, its realisation and application to chilled fish, IIR Conference of Storage Life of Chilled and Frozen Fish and Fish Products. Aberdeen, October 1-3. Sci. Tech. Froid 1985-4,293-29.
- Vyncke, W.(1970). Determination of the ammonia content offish as an objective quality assessment method. Medelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijkauniversiteit Gent. 35, 1033-1046.
- Vyncke, W. (1975). Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). Fette Seifen Anstrichm. 77, 239-240.
- Watabe, S.; Kamal, M.; Hashimoto, K. (1991). Postmortem changes in ATP, creatine phosphate, and lactate in sardine muscle. J. Food Sci. 56(1): 151-153.
- Watabe, S.; Ushio, H.; Iwamoto, M. (1989). Rigor-mortis progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation. Nipón Suisan Gakkaishi. 55(10): 1833-1839.



VIII. ANEXO
ANEXO 1

Registro de tiempo temperatura del congelado de filetes de trucha

Tiempo seg	REPLICA 01	REPLICA 02	REPLICA 03	Promedio De Temperatura
0	17,0597280	16,9611280	17,010428	17,0104280
1	17,3891340	17,2905340	17,339834	17,3398340
2	16,9195690	16,8209690	16,870269	16,8702690
3	16,9373100	16,8387100	16,888010	16,8880100
4	16,7900730	16,6914730	16,740773	16,7407730
5	16,9247820	16,8261820	16,875482	16,8754820
6	16,8793290	16,7807290	16,830029	16,8300290
7	16,9415560	16,8429560	16,892256	16,8922560
8	16,9095270	16,8109270	16,860227	16,8602270
9	16,7318820	16,6332820	16,682582	16,6825820
10	16,7444040	16,6458040	16,695104	16,6951040
11	16,7338120	16,6352120	16,684512	16,6845120
12	16,7465970	16,6479970	16,697297	16,6972970
13	16,7221910	16,6235910	16,672891	16,6728910
14	16,5711110	16,4725110	16,521811	16,5218110
15	16,6134770	16,5148770	16,564177	16,5641770
16	16,5556080	16,4570080	16,506308	16,5063080
17	16,5577130	16,4591130	16,508413	16,5084130
18	16,5617250	16,4631250	16,512425	16,5124250
19	16,4281240	16,3295240	16,378824	16,3788240
23	16,3397700	16,2411700	16,290470	16,2904700
24	16,3154620	16,2168620	16,266162	16,2661620
25	16,2831010	16,1845010	16,233801	16,2338010
26	16,2845380	16,1859380	16,235238	16,2352380
27	16,2818930	16,1832930	16,232593	16,2325930
28	16,2775440	16,1789440	16,228244	16,2282440
29	16,2437120	16,1451120	16,194412	16,1944120
30	16,2315150	16,1329150	16,182215	16,1822150
31	16,1774050	16,0788050	16,128105	16,1281050
32	16,1187770	16,0201770	16,069477	16,0694770
33	16,1049670	16,0063670	16,055667	16,0556670
34	16,1026480	16,0040480	16,053348	16,0533480
35	16,0663570	15,9677570	16,017057	16,0170570
36	16,0782530	15,9796530	16,028953	16,0289530
39	16,0123370	15,9137370	15,963037	15,9630370
40	16,0085470	15,9099470	15,959247	15,9592470
41	15,9909870	15,8923870	15,941687	15,9416870
42	15,9322690	15,8336690	15,882969	15,8829690
43	15,8592090	15,7606090	15,809909	15,8099090
44	15,8419900	15,7433900	15,792690	15,7926900
45	15,8235960	15,7249960	15,774296	15,7742960
46	15,8036010	15,7050010	15,754301	15,7543010
47	15,8264780	15,7278780	15,777178	15,7771780
48	15,8096830	15,7110830	15,760383	15,7603830
49	15,7766410	15,6780410	15,727341	15,7273410
50	15,7493830	15,6507830	15,700083	15,7000830



Tiempo seg	REPLICA 01	REPLICA 02	REPLICA 03	Promedio De Temperatura
26913	-17,8881590	-17,9867590	-17,937459	-17,9374590
26914	-17,8879660	-17,9865660	-17,937266	-17,9372660
26915	-17,8884610	-17,9870610	-17,937761	-17,9377610
26916	-17,8892130	-17,9878130	-17,938513	-17,9385130
26917	-17,8891810	-17,9877810	-17,938481	-17,9384810
26918	-17,8896380	-17,9882380	-17,938938	-17,9389380
26919	-17,8911660	-17,9897660	-17,940466	-17,9404660
26920	-17,8916250	-17,9902250	-17,940925	-17,9409250
26921	-17,8918760	-17,9904760	-17,941176	-17,9411760
26922	-17,8908140	-17,9894140	-17,940114	-17,9401140
26923	-17,8917790	-17,9903790	-17,941079	-17,9410790
26924	-17,8931020	-17,9917020	-17,942402	-17,9424020
26925	-17,8940430	-17,9926430	-17,943343	-17,9433430
26926	-17,8932790	-17,9918790	-17,942579	-17,9425790
26927	-17,8922110	-17,9908110	-17,941511	-17,9415110
26928	-17,8921310	-17,9907310	-17,941431	-17,9414310
26929	-17,8924580	-17,9910580	-17,941758	-17,9417580
26930	-17,8924270	-17,9910270	-17,941727	-17,9417270
26931	-17,8931010	-17,9917010	-17,942401	-17,9424010
26932	-17,8919060	-17,9905060	-17,941206	-17,9412060
26933	-17,8921050	-17,9907050	-17,941405	-17,9414050
26934	-17,8925970	-17,9911970	-17,941897	-17,9418970
26935	-17,8931000	-17,9917000	-17,942400	-17,9424000
26936	-17,8925080	-17,9911080	-17,941808	-17,9418080
26937	-17,8929430	-17,9915430	-17,942243	-17,9422430
26938	-17,8943520	-17,9929520	-17,943652	-17,9436520
26939	-17,8960300	-17,9946300	-17,945330	-17,9453300
26940	-17,8964780	-17,9950780	-17,945778	-17,9457780
26941	-17,8978680	-17,9964680	-17,947168	-17,9471680
26942	-17,8975380	-17,9961380	-17,946838	-17,9468380
26943	-17,8988640	-17,9974640	-17,948164	-17,9481640
26944	-17,8989700	-17,9975700	-17,948270	-17,9482700
26945	-17,8981940	-17,9967940	-17,947494	-17,9474940
26946	-17,8990400	-17,9976400	-17,948340	-17,9483400
26947	-17,8986130	-17,9972130	-17,947913	-17,9479130
26948	-17,8995820	-17,9981820	-17,948882	-17,9488820
26949	-17,8994080	-17,9980080	-17,948708	-17,9487080
26950	-17,8995430	-17,9981430	-17,948843	-17,9488430
26951	-17,8991650	-17,9977650	-17,948465	-17,9484650
26952	-17,8987610	-17,9973610	-17,948061	-17,9480610
26953	-17,8983350	-17,9969350	-17,947635	-17,9476350
26954	-17,8994240	-17,9980240	-17,948724	-17,9487240
26955	-17,9006550	-17,9992550	-17,949955	-17,9499550
26956	-17,8995760	-17,9981760	-17,948876	-17,9488760
26957	-17,9008810	-17,9994810	-17,950181	-17,9501810
26958	-17,9012290	-17,9998290	-17,950529	-17,9505290

ANEXO 2

Cálculos de la fracción molar de agua sin congelar (XA), porcentaje de agua congelada y sin congelar

TP	TP ^k	XA	Wb	ma	% agua congelada	% agua no congelada
-1,2913755	271,8086245	0,987517511	469,7888526	75,8000		
-1,6758399	271,4241601	0,983808734	360,8186526	58,2178	23,1956	76,8044
-1,9920152	271,1079848	0,980761312	302,7240877	48,8443	35,5617	64,4383
-2,2419044	270,8580956	0,978354448	268,4025598	43,3065	42,8674	57,1326
-2,4114763	270,6885237	0,976722019	249,1637008	40,2023	46,9626	53,0374
-2,5081984	270,5918016	0,975791204	239,3551734	38,6197	49,0505	50,9495
-2,6319822	270,4680178	0,974600282	227,8540413	36,7640	51,4986	48,5014
-2,7725642	270,3274358	0,973248187	216,0376744	34,8575	54,0139	45,9861
-2,8807797	270,2192203	0,972207709	207,7274185	33,5166	55,7828	44,2172
-2,9948391	270,1051609	0,971111347	199,6185219	32,2083	57,5089	42,4911
-3,0741503	270,0258497	0,970349175	194,3347012	31,3557	58,6336	41,3664
-3,1339302	269,9660698	0,969774796	190,5288524	30,7417	59,4437	40,5563
-3,1973911	269,9026089	0,969165143	186,6443921	30,1149	60,2706	39,7294
-3,2613993	269,8386007	0,96855033	182,8795749	29,5075	61,0720	38,9280
-3,3162620	269,7837380	0,96802344	179,7683535	29,0055	61,7342	38,2658
-3,4461082	269,6538918	0,966776713	172,7995836	27,8811	63,2176	36,7824
-3,4860622	269,6139378	0,966393175	170,7597359	27,5519	63,6518	36,3482
-3,5085644	269,5914356	0,966177181	169,6313353	27,3699	63,8920	36,1080
-3,5410432	269,5589568	0,965865447	168,0279432	27,1112	64,2333	35,7667
-3,5763511	269,5236489	0,965526587	166,3179260	26,8352	64,5973	35,4027
-3,5945904	269,5054096	0,965351551	165,4477287	26,6948	64,7825	35,2175
-3,6041065	269,4958935	0,965260232	164,9972091	26,6221	64,8784	35,1216
-3,6343299	269,4656701	0,964970213	163,5820030	26,3938	65,1797	34,8203
-3,6766240	269,4233760	0,964564404	161,6406539	26,0806	65,5929	34,4071
-3,7142051	269,3857949	0,964203852	159,9527365	25,8082	65,9522	34,0478
-3,7536879	269,3463121	0,963825093	158,2158200	25,5280	66,3219	33,6781
-3,7923038	269,3076962	0,963454685	156,5520252	25,2595	66,6761	33,3239
-3,3243662	269,7756338	0,967945615	179,3174731	28,9327	61,8302	38,1698
-3,3723331	269,7276669	0,96748502	176,6932112	28,5093	62,3888	37,6112
-3,8342977	269,2657023	0,963051917	154,7807321	24,9737	67,0531	32,9469
-3,8738701	269,2261299	0,962672413	153,1467250	24,7101	67,4009	32,5991
-3,9170301	269,1829699	0,962258546	151,4022242	24,4286	67,7723	32,2277
-3,9591412	269,1408588	0,961854782	149,7367872	24,1599	68,1268	31,8732
-4,0104098	269,0895902	0,961363272	147,7563972	23,8404	68,5483	31,4517
-4,0611930	269,0388070	0,96087648	145,8440588	23,5318	68,9554	31,0446
-4,1138982	268,9861018	0,96037133	143,9092774	23,2196	69,3672	30,6328
-4,1579342	268,9420658	0,959949321	142,3303543	22,9649	69,7033	30,2967
-4,1986999	268,9013001	0,959558695	140,8982141	22,7338	70,0082	29,9918
-4,2363859	268,8636141	0,959197615	139,5987862	22,5241	70,2848	29,7152
-4,2734249	268,8265751	0,958842768	138,3440029	22,3217	70,5519	29,4481
-4,3007523	268,7992477	0,958580983	137,4320808	22,1745	70,7460	29,2540
-4,3222562	268,7777438	0,958374997	136,7225991	22,0601	70,8970	29,1030
-4,3533519	268,7466481	0,958077153	135,7090529	21,8965	71,1128	28,8872
-4,3780927	268,7219073	0,957840194	134,9129244	21,7681	71,2822	28,7178
-4,3932167	268,7067833	0,957695349	134,4306700	21,6903	71,3849	28,6151

-4,4023748	268,6976252	0,957607643	134,1402600	21,6434	71,4467	28,5533
-4,4147034	268,6852966	0,957489577	133,7512136	21,5806	71,5295	28,4705
-4,4400622	268,6599378	0,957246738	132,9577759	21,4526	71,6984	28,3016
-4,4633629	268,6366371	0,95702362	132,2366785	21,3363	71,8519	28,1481
-4,5023515	268,5976485	0,956650313	131,0467821	21,1443	72,1052	27,8948
-4,5451879	268,5548121	0,956240207	129,7629917	20,9371	72,3784	27,6216
-4,5911050	268,5088950	0,955800657	128,4134807	20,7194	72,6657	27,3343
-4,6261951	268,4738049	0,955464786	127,4002395	20,5559	72,8814	27,1186
-4,6663106	268,4336894	0,955080849	126,2605574	20,3720	73,1240	26,8760
-4,7183186	268,3816814	0,954583152	124,8118671	20,1383	73,4323	26,5677
-4,7635431	268,3364569	0,954150424	123,5778470	19,9392	73,6950	26,3050
-4,8189759	268,2810241	0,953620087	122,0968793	19,7002	74,0103	25,9897
-4,8726869	268,2273131	0,953106296	120,6940615	19,4739	74,3089	25,6911
-4,9334570	268,1665430	0,952525064	119,1437123	19,2237	74,6389	25,3611
-4,9847778	268,1152222	0,95203428	117,8638760	19,0172	74,9113	25,0887
-5,0505684	268,0494316	0,951405215	116,2612456	18,7586	75,2524	24,7476
-5,1189511	267,9810489	0,950751481	114,6391448	18,4969	75,5977	24,4023
-5,4633096	267,6366904	0,947461194	107,0878829	17,2785	77,2051	22,7949
-5,5493218	267,5506782	0,946639822	105,3480744	16,9978	77,5754	22,4246
-5,6436451	267,4563549	0,945739295	103,5011340	16,6998	77,9686	22,0314
-5,7207214	267,3792786	0,945003595	102,0371367	16,4636	78,2802	21,7198
-5,8052953	267,2947047	0,9441965	100,4754713	16,2116	78,6126	21,3874
-5,9019980	267,1980020	0,943273878	98,7447056	15,9324	78,9810	21,0190
-6,0049294	267,0950706	0,942292089	96,96372527	15,6450	79,3601	20,6399
-6,1053385	266,9946615	0,941334613	95,28426554	15,3740	79,7176	20,2824
-6,2227220	266,8772780	0,940215594	93,38962632	15,0683	80,1209	19,8791
-6,3614165	266,7385835	0,938893866	91,24116055	14,7217	80,5783	19,4217
-6,5056096	266,5943904	0,937520253	89,10467703	14,3770	81,0330	18,9670
-6,6611770	266,4388230	0,936038876	86,90342684	14,0218	81,5016	18,4984
-6,8262978	266,2737022	0,934467199	84,67679912	13,6625	81,9756	18,0244
-7,0236593	266,0763407	0,932589553	82,15281395	13,2553	82,5128	17,4872
-7,2277821	265,8722179	0,930648628	79,68742363	12,8575	83,0376	16,9624
-7,4337008	265,6662992	0,928691706	77,33758854	12,4783	83,5378	16,4622
-7,6555765	265,4444235	0,926584358	74,94720917	12,0927	84,0466	15,9534
-7,8737260	265,2262740	0,924513636	72,72838089	11,7347	84,5189	15,4811
-8,0862550	265,0137450	0,922497449	70,68191075	11,4045	84,9545	15,0455
-8,3056539	264,7943461	0,920417317	68,6792133	11,0813	85,3808	14,6192
-8,5218660	264,5781340	0,918368626	66,80654861	10,7792	85,7795	14,2205
-8,7507743	264,3492257	0,916200962	64,92482914	10,4756	86,1800	13,8200
-8,9721510	264,1278490	0,914105925	63,19641188	10,1967	86,5479	13,4521
-9,1872859	263,9127141	0,912071192	61,59658806	9,9386	86,8885	13,1115
-9,4066383	263,6933617	0,909997827	60,04079905	9,6875	87,2196	12,7804
-9,6223716	263,4776284	0,907959911	58,57991669	9,4518	87,5306	12,4694
-9,8280047	263,2719953	0,906018556	57,24717837	9,2368	87,8143	12,1857
-10,2206554	262,8793446	0,902314723	54,85144011	8,8502	88,3242	11,6758
-10,4085403	262,6914597	0,900543883	53,76906525	8,6756	88,5546	11,4454
-10,6096279	262,4903721	0,898649656	52,65314165	8,4955	88,7922	11,2078
-11,6669300	261,4330700	0,88870796	47,41918341	7,6510	89,9063	10,0937
-10,9893966	262,1106034	0,895075243	50,65714108	8,1735	89,2170	10,7830
-11,1781386	261,9218614	0,89330024	49,71564874	8,0216	89,4174	10,5826
-11,3513934	261,7486066	0,891671736	48,87900086	7,8866	89,5955	10,4045
-11,5199332	261,5800668	0,890088335	48,08929671	7,7592	89,7636	10,2364

-11,6777082	261,4222918	0,88860677	47,37071358	7,6432	89,9166	10,0834
-11,8558203	261,2441797	0,886935052	46,58251516	7,5160	90,0844	9,9156
-12,0276571	261,0723429	0,885323055	45,84423866	7,3969	90,2415	9,7585
-12,1921524	260,9078476	0,883780691	45,15702505	7,2860	90,3878	9,6122
-12,3402432	260,7597568	0,882392779	44,55403704	7,1888	90,5162	9,4838
-12,4946521	260,6053479	0,880946299	43,94056519	7,0898	90,6467	9,3533
-12,6397015	260,4602985	0,879588099	43,37795117	6,9990	90,7665	9,2335
-12,7793342	260,3206658	0,87828117	42,84842942	6,9136	90,8792	9,1208
-12,9203777	260,1796223	0,876961587	42,3251939	6,8291	90,9906	9,0094
-13,0574909	260,0425091	0,875679308	41,82739061	6,7488	91,0966	8,9034
-13,1945312	259,9054688	0,874398234	41,34020536	6,6702	91,2003	8,7997
-13,3224074	259,7775926	0,873203301	40,89465295	6,5983	91,2951	8,7049
-13,4444162	259,6555838	0,872063624	40,4774581	6,5310	91,3839	8,6161
-13,5734655	259,5265345	0,870858637	40,04436399	6,4611	91,4761	8,5239
-13,7055539	259,3944461	0,869625758	39,60953113	6,3910	91,5687	8,4313
-13,8359281	259,2640719	0,86840936	39,18849656	6,3230	91,6583	8,3417
-13,9696561	259,1303439	0,86716217	38,76480972	6,2547	91,7485	8,2515
-14,0994561	259,0005439	0,865952098	38,36126787	6,1896	91,8344	8,1656
-14,2121423	258,8878577	0,864901959	38,01692046	6,1340	91,9077	8,0923
-14,3264286	258,7735714	0,863837276	37,67322616	6,0785	91,9808	8,0192
-14,4524397	258,6475603	0,862663796	37,30058456	6,0184	92,0601	7,9399
-14,9535231	258,1464769	0,858001936	35,88103391	5,7894	92,3623	7,6377
-15,0999141	258,0000859	0,856641336	35,48413211	5,7253	92,4468	7,5532
-15,2052032	257,8947968	0,85566313	35,20340256	5,6800	92,5065	7,4935
-15,3181051	257,7818949	0,854614552	34,90667234	5,6322	92,5697	7,4303
-15,7247960	257,3752040	0,850840453	33,87319631	5,4654	92,7897	7,2103
-15,8163535	257,2836465	0,849991459	33,647878	5,4291	92,8377	7,1623
-15,9010817	257,1989183	0,849206009	33,44168304	5,3958	92,8816	7,1184
-15,9773444	257,1226556	0,848499213	33,25796417	5,3661	92,9207	7,0793
-16,0517330	257,0482670	0,847809951	33,08044614	5,3375	92,9584	7,0416
-16,2467353	256,8532647	0,846003884	32,62283469	5,2637	93,0559	6,9441
-16,3106511	256,7893489	0,845412153	32,47523041	5,2398	93,0873	6,9127
-16,3511668	256,7488332	0,845037121	32,38226449	5,2248	93,1071	6,8929
-16,5541777	256,5458223	0,843158683	31,92331183	5,1508	93,2048	6,7952
-16,5927746	256,5072254	0,842801686	31,83732845	5,1369	93,2231	6,7769
-16,6414615	256,4585385	0,842351427	31,72943774	5,1195	93,2460	6,7540
-16,6902704	256,4097296	0,841900109	31,62191012	5,1022	93,2689	6,7311
-16,7321344	256,3678656	0,841513064	31,5301834	5,0874	93,2884	6,7116
-16,7717549	256,3282451	0,841146808	31,44379518	5,0734	93,3068	6,6932
-16,8165135	256,2834865	0,84073311	31,34669488	5,0578	93,3275	6,6725
-16,8524850	256,2475150	0,840400674	31,26903257	5,0452	93,3440	6,6560
-16,8801079	256,2198921	0,840145418	31,20961981	5,0356	93,3567	6,6433
-16,9236062	256,1763938	0,839743508	31,11645603	5,0206	93,3765	6,6235
-16,9710813	256,1289187	0,839304917	31,01532124	5,0043	93,3980	6,6020
-17,0169467	256,0830533	0,83888126	30,91815282	4,9886	93,4187	6,5813
-17,0462852	256,0537148	0,838610294	30,8562726	4,9786	93,4319	6,5681
-17,0751543	256,0248457	0,838343689	30,79559068	4,9688	93,4448	6,5552
-17,0897708	256,0102292	0,838208714	30,76494548	4,9639	93,4513	6,5487
-17,1172345	255,9827655	0,837955123	30,70750696	4,9546	93,4636	6,5364
-17,1454338	255,9545662	0,837694761	30,64872176	4,9451	93,4761	6,5239
-17,1798929	255,9201071	0,837376636	30,57714991	4,9336	93,4913	6,5087
-17,6944873	255,4055127	0,832630111	29,54159156	4,7665	93,7117	6,2883

DONDE:

Ecuación para el cálculo del tiempo de congelación
 Formula de planck (seg)

$$t_F = \frac{H_L}{\Delta T} \left(\frac{Pr}{h_c} + \frac{Rr^2}{k_c} \right)$$

Donde:

HL, Calor latente de fusión del material (J/Kg.) 295,1 Dato tabla A.2.7 entalpía de alimentos congelados Heldmand (1993)

T, Diferencia entre las temperaturas de congelación del alimento y el medio refrigerante. (K). 15,9

r, Espesor de la placa a congelar. (m). 0,012

hc, Coeficiente de transferencia de calor convectivo. (W/m2K). 0,0125

kc, Conductividad térmica del material congelado. (W/mK). 0,465732

P = 1/2 para placas infinitas, 1/6 para una esfera, 1/4 para un cilindro infinito.

R = 1/8 para placas infinitas, 1/24 para una esfera, 1/16 para un cilindro infinito.

Promedio de temp. Replicas 16,66 °C (289,816 °K)

Medio refrigerante R-12 (-18 °C = 255,15 °K)

Temperatura inicio de congelación de la trucha -1,2 °C (271,95 °K)

Densidad trucha (ρ) 1052 kg/m³

Temperatura en el centro geométrico del filete de trucha (TP)

Temperatura en grados kelvin TP(°K)

Formula para calcular la Fracción molar del agua no congelada (XA)

$$\ln X_A = \frac{H_L}{R} \left(\frac{1}{T_{A0}} - \frac{1}{T_A} \right)$$

Donde:

H_L = calor latente de fusión del agua

R= constante de los gases perfectos

TA0=temperatura de fusión del agua

TA= temperatura inicio de congelación

Formula para calcular el Peso molecular del soluto (Wb)

$$W_b = \frac{K_w x m_s}{m_A \left[e^{\frac{H_L}{R_g} \left(\frac{1}{T_{A0}} - \frac{1}{T_A} \right)} - 1 \right]}$$

Donde:

Wb = peso molecular

Ms = fracción másica del soluto

Kw = constante criogénica

mA = agua en el alimento

H_L = calor latente de congelación del agua

TA0= Temperatura del cero absoluto

TA= Temperatura inicio de congelación

Rg= constante de los gases

Formula para calcular la Masa de agua congelada (Ma)

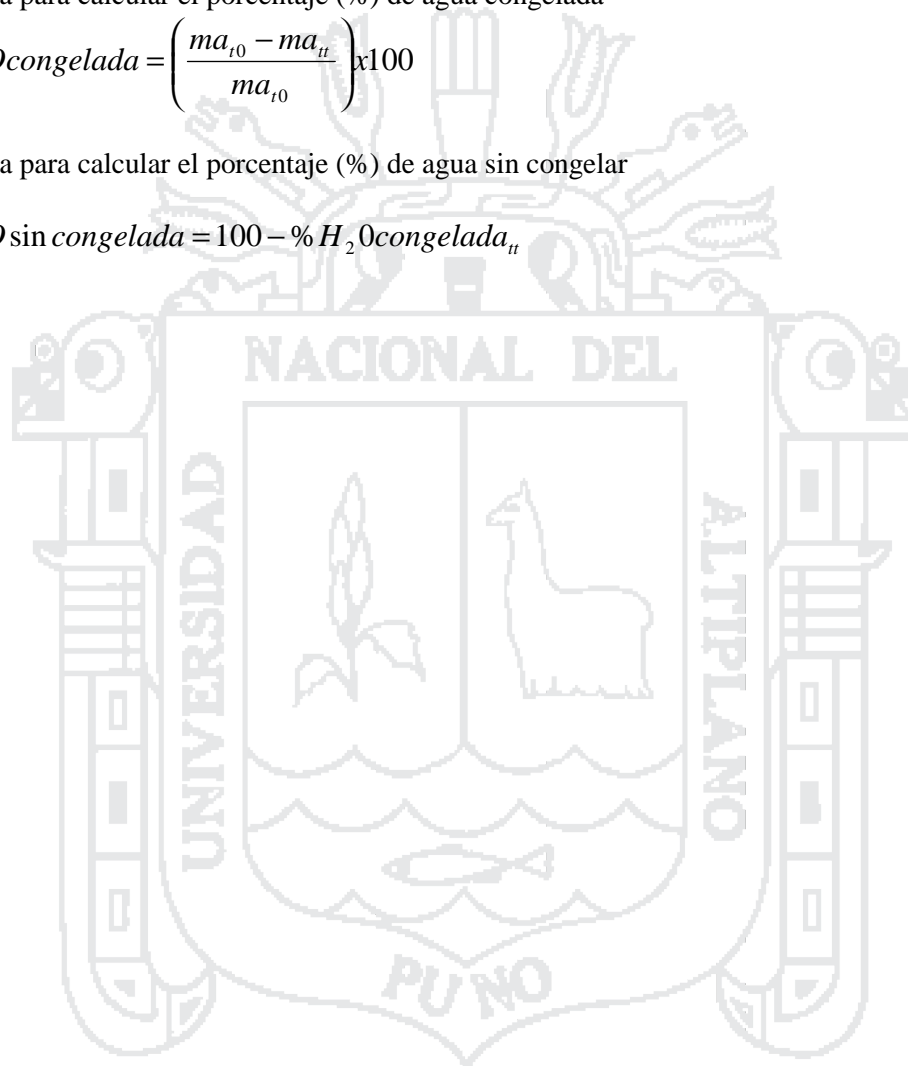
$$ma = \frac{Kwxms}{m \left[\frac{1}{XA} - 1 \right]}$$

Formula para calcular el porcentaje (%) de agua congelada

$$\% H_2O_{congelada} = \left(\frac{ma_{i0} - ma_{ii}}{ma_{i0}} \right) \times 100$$

Formula para calcular el porcentaje (%) de agua sin congelar

$$\% H_2O_{sin\ congelada} = 100 - \% H_2O_{congelada}_{ii}$$



ANEXO 3

Resultados del pH, Acidez e Índice de peróxidos del almacenamiento refrigerado y en congelación

DIAS	pH Refrigeración	Acidez refrigeración	Peróxidos Refrigeración	pH congelación	Acidez congelación	Peróxidos congelación
1	7,25	0,82	1,55	7,23	0,97	1,62
1	7,25	0,82	1,55	7,23	0,97	1,6
1	7,24	0,86	1,58	7,22	0,93	1,6
8	7,05	1,21	2,13	6,84	1,32	2,85
8	7,05	1,17	2,1	6,8	1,36	2,8
8	7,03	1,21	2,15	6,82	1,32	2,78
16				7,09	1,09	2,25
16				7,09	1,13	2,3
16				7,06	1,13	2,28
24				7,11	1,52	3,05
24				7,1	1,52	3,08
24				7,12	1,56	3,02

Cuadro 1. Reporte de *Salmonella* en 25 g de los filetes de trucha almacenado en refrigeración y conservación en congelación

Repeticiones	ALMACENAMIENTO EN DIAS					
	CONGELACION				REFRIGERCION	
	0	8	16	24	0	8
1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Cuadro 2. Reporte de *Escherichia coli* en ufc/g de los filetes de trucha almacenado en refrigeración y conservación en congelación

Repeticiones	ALMACENAMIENTO EN DIAS					
	CONGELACION				REFRIGERCION	
	0	8	16	24	0	8
1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

ANEXO 4

CALCULO DE LA TEMPERATURA INICIO DE CONGELACION.

Ecuación de Levy (1979), citado en Marfat (1991) ecuación empírica para determinar el punto inicio de congelación en la trucha arco iris

$$T_c = -3 \left(\frac{1}{w} - 1 \right)$$

Donde:

T_c= temperatura inicio de congelación

W= humedad de los filetes de trucha

Temperatura inicio de congelación para los datos experimentales de la trucha eviscerada y oreada

N° muestra	humedad filete	T _c
1	0,729	-1,1
2	0,740	-1,1
3	0,750	-1,0
4	0,780	-0,8
5	0,710	-1,2
6	0,720	-1,2
7	0,730	-1,1
8	0,729	-1,1
9	0,728	-1,1
10	0,730	-1,1
Promedio	0,735	-1,1

ANEXO 5
ALBUN DE FOTOS DE PROCESAMIENTO Y CORTE DE FILETES DE
TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)



EVISERADO Y LAVADO DE LA TRUCHA



FILETEADO Y OREADO DE FILETES DE TRUCHA



ENVASADO AL VACÍO DE LA TRUCHA



FILETES DE LA TRUCHA ENVASADO

ANEXO 6
ALBUN DE FOTOS DE PROCESO DE REFRIGERACION Y CONGELACION
DE FILETES DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)



REFRIGERACION DE FILETES DE LA TRUCHA



CONGELACIÓN DE FILETES DE LA TRUCHA



CONGELADORA, TERMOSTATO Y SENSOR



REGISTRO DE DATOS DE CONGELACIÓN



ANEXO 7
ALBUN DE FOTOS DE ANALISIS FISICO DE FILETES DE TRUCHA ARCO
IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) SOMETIDOS A REFRIGERACION Y
CONGELACION



PESADO DE FILETES DE LA
TRUCHA



FILETES DE TRUCHA COMO
MUESTRA



MUESTRAS PARA DETERMINAR LA
ACIDEZ DE LA TRUCHA



HIDROXIDO DE SODIO PARA
DETERMINACIÓN DE ACIDEZ

ANEXO 8
ALBUN DE FOTOS DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICA DE TRUCHA ARCO
IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) SOMETIDOS A REFRIGERACION Y
CONGELACION



TOMA DE MUESTRA DE FILETE DE TRUCHA PARA ANÁLISIS



AUTOCLAVE PARA ESTERILIZAR LOS MATERIALES DE TRABAJO



PLACAS PETRI ESTERILIZADAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO



PLACAS PETRI CON MUESTRAS PARA INCUBAR



EQUIPO INCUBADORA PARA PRUEBAS DE LABORATORIO



MUESTRAS PARA ANALISIS MICROBIOLÓGICO EN INCUBADORA