

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



**EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE FILETES DE
TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) ENVASADA CON
PELÍCULAS BIODEGRADABLES CON LA ADICIÓN DE ACEITE
ESENCIAL DE MUÑA (*Mintostachys mollis*)**

TESIS

PRESENTADA POR

LISBET CCOPA MAMANI

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

PUNO – PERÚ

2014

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

“EVALUACIÓN DE LA CONSERVACIÓN DE FILETES DE TRUCHA ARCO
IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) ENVASADA CON PELÍCULAS
BIODEGRADABLES CON LA ADICIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE MUÑA
(*Minthostachys mollis*)”

TESIS PRESENTADA POR:

LISBET CCOPA MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

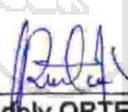
PRESIDENTE :


Ing. M.Sc. Lizandro Gilberto FERNÁNDEZ CASTRO

PRIMER MIEMBRO :


Ing. M.Sc. Florentino V. CHOQUEHUANCA CÁCERES

SEGUNDO MIEMBRO:


Ing. Rosario Edeley ORTEGA BARRIGA

DIRECTOR DE TESIS:


Dr. Wenceslao Teddy MEDINA ESPINOZA

ASESOR DE TESIS :


Lic. M.Sc. Adelaida Giovanna VIZA SALAS

PUNO - PERÚ

2014

Área: Ingeniería y tecnología

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

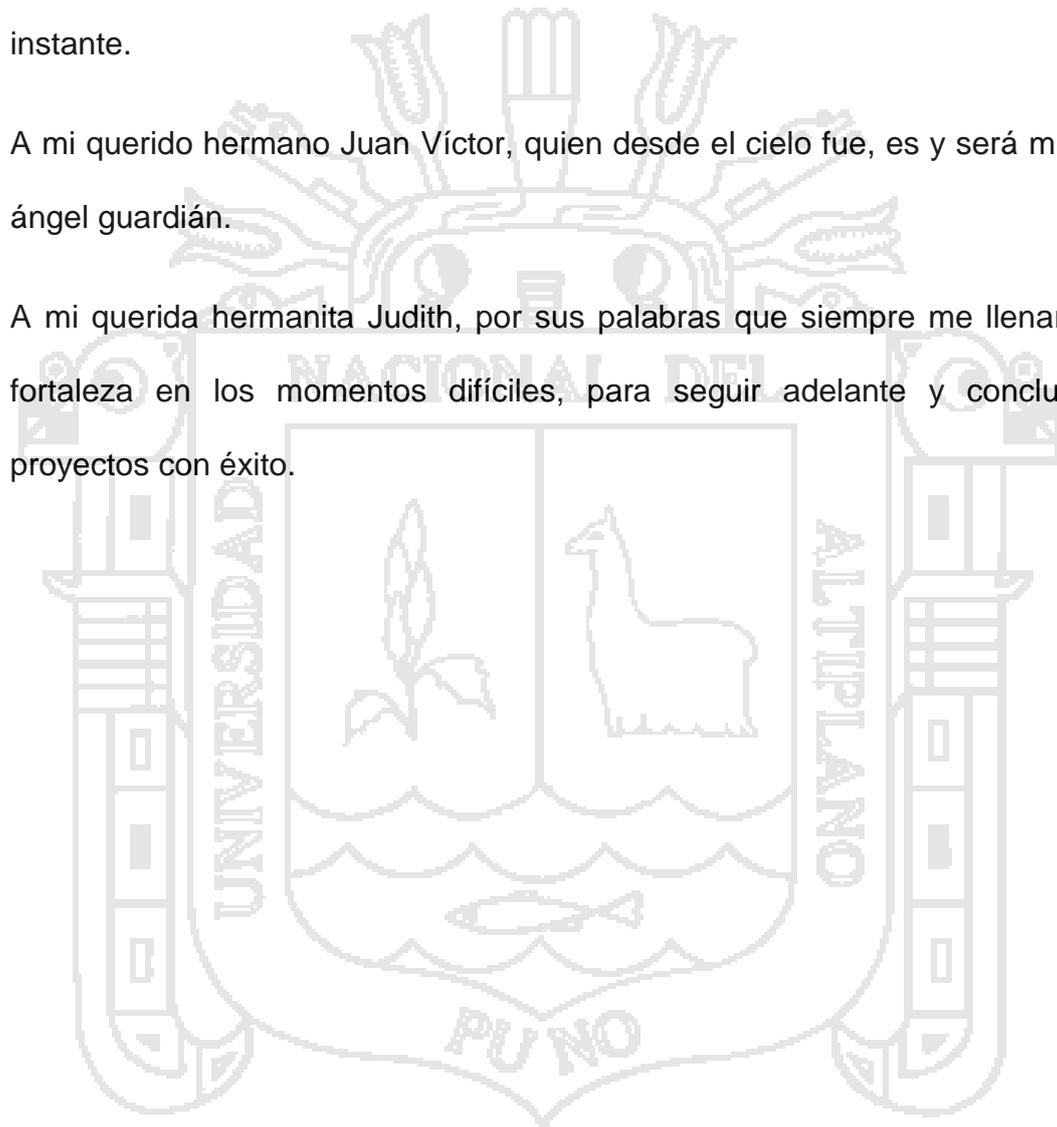
DEDICATORIA

A Dios todo poderoso, quien con su infinito amor guía cada uno de mis pasos.

A mis queridos padres Juan y Teodora por su dedicación y orientación desde los primeros años de mi vida y por enseñarme a dar lo mejor de mí en cada instante.

A mi querido hermano Juan Víctor, quien desde el cielo fue, es y será mi dulce ángel guardián.

A mi querida hermanita Judith, por sus palabras que siempre me llenaron de fortaleza en los momentos difíciles, para seguir adelante y concluir mis proyectos con éxito.



AGRADECIMIENTOS

A mis queridos docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por sus conocimientos impartidos durante mi formación académica, por compartirme su tiempo, conocimientos, experiencias y anécdotas.

Al Dr. Wenceslao Teddy Medina Espinoza por su apoyo en la realización del presente trabajo.

A la Lic. Adelaida Giovanna Viza Salas por su constante apoyo desde el inicio hasta la culminación de mi trabajo.

Al Ing. Lizandro Gilberto Fernández Castro por sus palabras de aliento.

Al Ing. Víctor Choquehuanca Cáceres por todo su apoyo y orientación.

A la Ing. Rosario Edely Ortega Barriga por su tiempo y palabras motivadoras.

A mi compañero de la vida Adisson Sergio Villalta Quispe, por su gran apoyo, para cumplir esta meta.

Finalmente agradezco toda mi gran familia y a todas las personas que directa o indirectamente me apoyaron en la realización de mi trabajo y de manera muy especial a Alex, Álvaro y Keli; quienes me apoyaron en toda circunstancia, a pesar de las adversidades.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE FIGURAS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1.	Envases.....	3
	a) Plásticos degradables.....	3
	b) Polímeros biodegradables.....	3
2.1.1	Diferencia entre recubrimientos y película biodegradable.....	4
2.2.	Compuestos para el desarrollo de películas biodegradables.....	5
	a) Gelatina.....	5
	b) Quitosano.....	6
	c) Aceites esenciales.....	7
	c.1. Aceite esencial de muña.....	8
	d) Plastificante.....	11

2.3. Aspectos generales de la Trucha Arco Iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	12
a) Origen de la trucha.....	12
b) Características generales.....	12
c) Descripción taxonómica.....	13
d) Algunas características biológicas.....	13
e) Composición química de la trucha arco iris.....	14
f) Valor nutritivo de la trucha arco iris.....	15
g) Ventajas de la especie como cultivo.....	15
h) Producción pesquera en la región de Puno.....	16
2.4. Alteración del pescado fresco.....	17
a) Descomposición aeróbica y anaeróbica del glucógeno en el músculo del pescado.....	18
2.5. Métodos para la evaluación de la calidad del pescado.....	20
2.5.1. Métodos químicos.....	20
a) Índice de peróxidos en el pescado.....	20
b) pH.....	21
c) Actividad de agua.....	22

2.5.2. Métodos microbiológicos.....	23
2.5.3. Métodos sensoriales.....	23
2.6. Vida útil.....	25
2.7. Especificaciones técnicas para el desarrollo del análisis sensorial de acuerdo al ASTM (<i>American Society for Testing and Materials</i>) – 1986.....	26
a) Laboratorio de análisis sensorial.....	26
b) Localización del laboratorio.....	27
c) Área de evaluación en las cabinas.....	28
d) Área de capacitación.....	30
e) Área de preparación de muestras.....	31
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.1. Lugar de ejecución.....	32
3.2. Materiales.....	32
3.3. Métodos.....	34
3.3.1. Formación de las películas biodegradables.....	34
a) Preparación de las soluciones filmogénicas de gelatina.....	36
b) Preparación de las soluciones filmogénicas de quitosano.....	37

c) Preparación de las soluciones filmogénicas de gelatina- qitosano.....	38
3.3.2. Determinación de las propiedades mecánicas de las películas biodegradables.....	39
a) Procedimiento para la determinación del porcentaje de alargamiento.....	39
b) Procedimiento para la determinación del Esfuerzo de tracción en la Ruptura.....	40
3.3.3. Determinación de la vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable y la adición de aceite esencial de muña.....	41
a) Evaluación de las propiedades químicas.....	41
a.1. Determinación de pH.....	41
a.2. Determinación del índice de peróxidos.....	41
a.3. Determinación de la actividad de agua.....	42
b) Análisis microbiológico.....	42
b.1. Procedimiento para el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos.....	42
b.2. Procedimiento para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	43

b.3. Procedimiento para la determinación de coliformes totales, coliformes fecales y <i>E. coli</i>	44
b.4. Procedimiento para la determinación de <i>Salmonella</i> sp.....	45
c) Evaluación sensorial.....	46
3.4. Unidades de análisis y observaciones.....	48
3.4.1. Variables de estudio.....	48
3.4.2. Variables de respuesta.....	48
3.4.3. Indicadores.....	49
3.5. Diseño de investigación.....	49
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	53
4.1 Propiedades mecánicas de las películas biodegradables con la adición de aceite esencial de muña.....	53
4.2 Evaluación del tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable con adición de aceite esencial de muña.....	58
4.2.1 Evaluación de propiedades químicas de los filetes de trucha.....	58
a) Evaluación del pH.....	58
b) Evaluación del índice de peróxidos.....	61
4.2.2 Evaluación del análisis microbiológico de los filetes de trucha.....	65
a) Otros microorganismos encontrados.....	66

b) Interacción de la actividad de agua y el crecimiento microbiano.....	68
4.2.3 Evaluación de las propiedades sensoriales de los filetes de trucha.....	70
a) Aspecto.....	71
b) Textura.....	72
c) Olor.....	73
4.2.4 Cálculo del tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable con la adición de aceite esencial de muña.....	75
4.3 Costo de elaboración de las películas biodegradables.....	78
CONCLUSIONES	82
RECOMENDACIONES	83
BIBLIOGRAFÍA	84
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Principales características para la diferenciación de la trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	14
Tabla 2	Composición química nutricional de la trucha arco iris.....	15
Tabla 3	Producción pesquera de la Región Puno en toneladas.....	17
Tabla 4	Esquema para la evaluación de la calidad empleado para identificar el índice de calidad mediante deméritos.....	24
Tabla 5	Áreas recomendadas por la ASTM (1986) para la instalación del laboratorio de análisis sensorial y número de cabinas.....	28
Tabla 6	Dimensiones recomendadas por la ASTM (1986) para cabinas.....	29
Tabla 7	Descripción de formulaciones para la elaboración de películas biodegradables.....	35
Tabla 8	Requerimientos para el análisis sensorial.....	48
Tabla 9	Valores del esfuerzo de tracción en la ruptura y porcentaje de alargamiento de las diferentes formulaciones.....	53
Tabla 10	ANOVA del esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) y porcentaje de alargamiento de las películas biodegradables.....	54
Tabla 11	Prueba de comparación de <i>Tukey</i> del esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) de las películas biodegradables.....	54

Tabla 12	ANOVA del porcentaje de alargamiento de las películas biodegradables.....	55
Tabla 13	Prueba de comparación de <i>Tukey</i> del porcentaje de alargamiento de las películas biodegradables	55
Tabla 14	Valores de pH registrados durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración	59
Tabla 15	ANOVA del pH de los filetes recubiertos con la película biodegradables y sin recubrimiento a través de tiempo de almacenamiento.....	60
Tabla 16	Prueba de Duncan para la interacción Tratamientos - Tiempo.....	61
Tabla 17	Valores del índice de peróxidos registrados durante el almacenamiento de los filetes de trucha en refrigeración.....	62
Tabla 18	ANOVA del índice de peróxidos de los filetes recubiertos con la película biodegradable y sin recubrimiento a través de tiempo de almacenamiento.....	63
Tabla 19	Prueba de comparación de Duncan del índice de peróxidos con respecto a los tratamiento.....	63
Tabla 20	Prueba de comparación de Duncan del índice de peróxidos con respecto al tiempo	64
Tabla 21	Recuento microbiano de los filetes de trucha con y sin película en ufc/g.....	65
Tabla 22	Otras especies microbiológicas encontradas en los filetes de trucha durante el período de almacenamiento en refrigeración.....	66

Tabla 23	Valores de actividad de agua registrados durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración.....	68
Tabla 24	ANOVA de la actividad de agua de los filetes recubiertos con la película biodegradable y sin recubrimiento a través de tiempo de almacenamiento.....	69
Tabla 25	Prueba de comparación de Duncan de la actividad de agua con respecto al tiempo.....	70
Tabla 26	Promedios y desviaciones estándar del aspecto en la escala del MIC en el análisis sensorial.....	71
Tabla 27	ANOVA del aspecto durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración con y sin el recubrimiento de la película biodegradable.....	72
Tabla 28	Promedios y desviaciones estándar de la textura en la escala del MIC en el análisis sensorial.....	72
Tabla 29	ANOVA de la textura durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración con y sin el recubrimiento de la película biodegradable.....	73
Tabla 30	Promedios y desviaciones estándar del olor en la escala del MIC en el análisis sensorial.....	73
Tabla 31	ANOVA del olor durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración con y sin el recubrimiento de la película biodegradable.....	74
Tabla 32	Prueba de comparación Duncan para la interacción Tratamiento - Tiempo, sobre el parámetro olor.....	75

Tabla 33	Tiempo de vida útil de los filetes recubiertos con la película biodegradable y de los filetes sin películas.....	77
Tabla 34	Costo de elaboración de la película biodegradable de gelatina.....	79
Tabla 35	Costo de elaboración de la película biodegradable de quitosano.....	80
Tabla 36	Costo de elaboración de la película biodegradable de gelatina-quitosano.....	81



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Fuentes naturales de los polímeros biodegradables usados en <i>films</i> para el envasado y materiales compuestos.....	4
Figura 2 Ciclo del carbono de polímeros biodegradables.....	5
Figura 3 Estructura de la quitina y del quitosano.....	6
Figura 4 Compuestos mayoritarios del aceite esencial de muña.....	9
Figura 5 Sitios del mecanismo de acción de los aceites esenciales frente a la célula bacteriana.....	10
Figura 6 Diagrama de flujo para la elaboración de películas biodegradables a partir de gelatina y adición de aceite esencial de muña.....	36
Figura 7 Diagrama de flujo para la elaboración de películas biodegradables a partir de quitosano y adición de aceite esencial de muña.....	37
Figura 8 Diagrama de flujo para la elaboración de películas biodegradables a partir de gelatina - quitosano y adición aceite esencial de muña.....	38
Figura 9 Ajuste de regresión lineal para los valores del Índice de Peróxidos de los filetes con y sin recubrimiento de la película biodegradable.....	76

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Aw	Actividad de agua
ETR	Esfuerzo de tracción en la ruptura
%A	Alargamiento porcentual
D _f	Distancia de alargamiento hasta la ruptura
D _i	Distancia inicial entre las líneas de referencia
T	Tonelada
C	Carga máxima en la ruptura de la película
A _R	Área transversal inicial de la película
E	Espesor de la película
A	Ancho de la película
S	Gasto de ml de solución valorada
N	Normalidad de la solución
N	Número de muestras evaluadas
&	Desviación estándar
Q ₀	Valor inicial del índice de peróxidos
Q	Valor de índice de peróxido máximo permitido
O ₂	Oxígeno
CO ₂	Dióxido de carbono
K	Pendiente de la ecuación
Ufc/g	Unidades formadoras de colonia por gramo
MIC	Método del Índice de Calidad
AES	Aceites esenciales
VU	Vida Útil

FSP	Filete sin película
FCP	Filete con película
VP	Valor de Peróxido
PLA	Ácido polilático
PHA	Polihidroxicanoatos
TMAO	Óxido de trimetilamina
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
ITP	Instituto Tecnológico Pesquero



RESUMEN

Actualmente existen empresas dedicadas a la producción de trucha que emplean el empaçado al vacío para su comercialización, sin embargo este tipo de envasado proporciona un corto tiempo de conservación, variando de 3 a 12 días, por lo que el objetivo de esta investigación fue prolongar el tiempo de vida útil de filetes de trucha, empleando una película biodegradable con adición de aceite esencial de muña en condiciones de refrigeración. Mediante el proceso de *casting* se obtuvieron películas a base gelatina, quitosano y gelatina – quitosano para evaluar sus propiedades mecánicas (esfuerzo de tracción en la ruptura y alargamiento porcentual), se evaluó también la conservación de los filetes recubiertos con las películas que presentaron mejores propiedades mecánicas, empaçados al vacío y almacenados a 2°C en los días 0, 6, 12 y 18, determinándose el tiempo de vida útil tomando como referencia el índice de peróxidos. En los resultados obtenidos se destacó la ausencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp., pero se observó mayor crecimiento de Aerobios Mesófilos y *Staphylococcus aureus* en los filetes sin película, en contraste a los filetes recubiertos. Por otro lado la película de quitosano no afectó el aspecto ni textura de los filetes y presentó mejores resultados en cuanto al olor. Concluyéndose que las películas de quitosano, presentaron mejores propiedades mecánicas e incrementaron el tiempo de vida útil de los filetes en comparación con la muestra patrón.

I. INTRODUCCIÓN

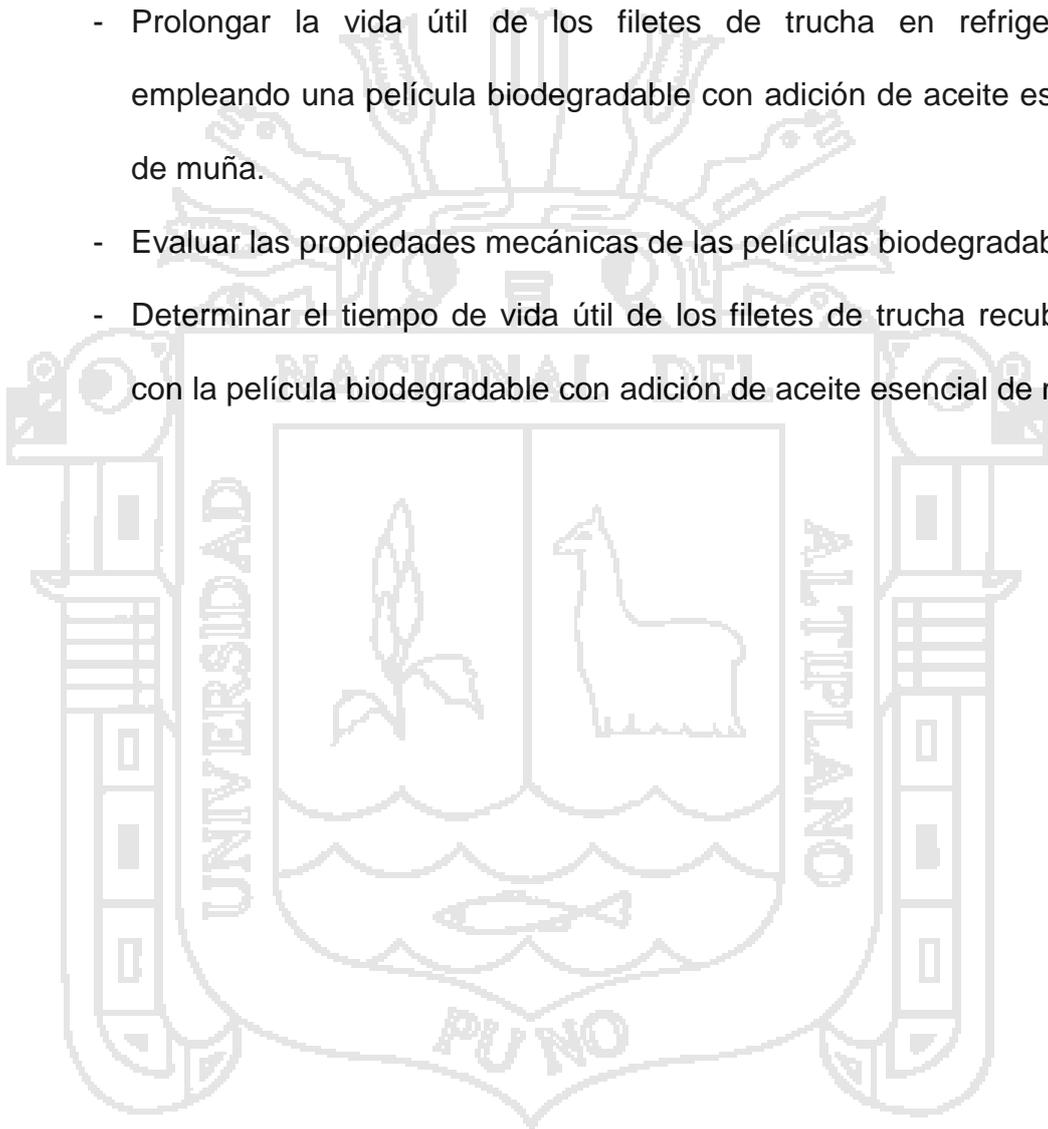
La producción de trucha se destaca dentro de las actividades económicas de la región de Puno, el Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero señala que de las 19 mil toneladas anuales de trucha que se produjo en el Perú en el año 2012, solo en la región de Puno se alcanzaron las 14 mil toneladas, siendo una de las potencias en la producción de este recurso hidrobiológico (Diario La República, 2012).

Así mismo se conoce que en el pescado surgen una serie de reacciones de origen enzimático y microbiológico que degradan este alimento, después de su muerte, es por eso que la utilización de envases biodegradables con adición de aceite esencial de muña pretende ser una alternativa para la conservación de los filetes de trucha, alargando su vida útil, sin afectar sus características sensoriales. La elaboración de envases biodegradables es un medio ecológico para el envasado, ya que muchos investigadores concuerdan en señalar que el interés en el desarrollo y uso de empaques a base de biomateriales, para prolongar la vida en anaquel y mejorar la calidad de productos alimenticios, viene creciendo debido a la necesidad de reducir y substituir el empleo de plásticos y envases sintéticos, por materiales menos agresivos con el medio ambiente (Lee et al., 2010). Por tal razón las películas o recubrimientos biodegradables resultarían ser una forma innovadora y efectiva de proteger el alimento.

Entre las ventajas del uso de envases biodegradables en comparación a los degradables, se destaca el proceso de fabricación involucrando solamente el uso de sustancias no tóxicas; el uso de materias primas provenientes de fuentes renovables; alta biodegradabilidad y adicionalmente, la

biomasa resultante de la biodegradación puede actuar como fertilizante, en el compostaje o enviarse para vertederos sanitarios, así los microorganismos son capaces de consumir esos materiales en su totalidad entre 6 – 12 semanas generando apenas agua, dióxido de carbono y biomasa, sin residuos tóxicos (Zetty, 2012), por lo expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

- Prolongar la vida útil de los filetes de trucha en refrigeración empleando una película biodegradable con adición de aceite esencial de muña.
- Evaluar las propiedades mecánicas de las películas biodegradables.
- Determinar el tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable con adición de aceite esencial de muña.



II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Envases

Los envases juegan un papel fundamental en la industria alimentaria ya que realizan importantes funciones como la de: Contener, proteger, manipular, distribuir y presentar mercancías, desde materias primas hasta artículos acabados, y desde el fabricante hasta el usuario o el consumidor (López de Lacey, 2012). Los envases se pueden clasificar según el tipo de material del que están hechos y por ende presentar diferencias significativas, como se presenta a continuación:

a) Plásticos degradables

La *American Society for Testing of Materials* (ASTM, 2003) y la *International Organization for Standardization* (ISO 2005, 2007) definen los plásticos degradables como aquellos que sufren un cambio significativo en la estructura química bajo las condiciones ambientales específicas. Estas alteraciones resultan en una pérdida de las propiedades físicas y mecánicas, medidas por medio de métodos estandarizados.

b) Polímeros biodegradables

Los polímeros biodegradables pueden provenir de fuentes agrícolas y tienen la capacidad de combinarse o procesarse con polímeros de otras fuentes para resultar en el material deseado, estos son derivados de cuatro fuentes principales: Animal (colágeno/gelatina), productos del mar (quitina/quitosano), microbiana (ácido poliláctico o PLA y polihidroxialcanoatos o PHA) y origen agrícola (lípidos e hidrocoloides, proteínas y polisacáridos) (Tharanathan, 2003), como se muestra en la Figura 1.

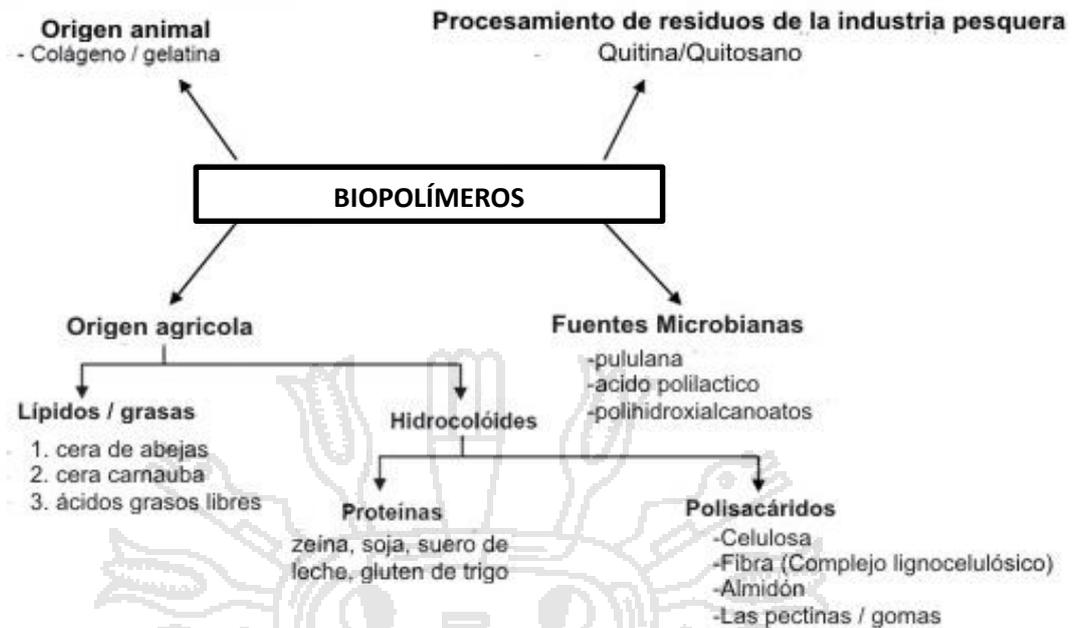


Fig 1. Fuentes naturales de los polímeros biodegradables usados en *films* para el envasado y materiales compuestos (Tharanathan, 2003).

En los polímeros biodegradables ocurre un proceso intrínseco, por el cual microorganismos y sus enzimas consumen este polímero como fuente de nutrientes, en condiciones normales de humedad, temperatura y presión. Los mejores adaptados a la biodegradación completa son los naturales, aquellos hidrolizables a CO_2 y H_2O (Zetty, 2012).

2.1.1. Diferencia entre recubrimiento y película biodegradable

Un **recubrimiento** o cobertura comestible (*coating*) se define como una capa delgada de material comestible formado como un revestimiento sobre el alimento, mientras una **película** (*film*) biodegradable es una capa preformada y delgada elaborada con material comestible que una vez preparada puede disponerse sobre el alimento o entre los componentes del mismo. De forma general puede decirse que los recubrimientos se aplican en forma líquida sobre el alimento, normalmente por inmersión del producto en la solución con

capacidad filmogénica, mientras que las películas elaboradas como láminas sólidas se aplican posteriormente sobre el alimento como envoltura (López de Lacey, 2012).

Por otro lado la biodegradación es un proceso natural donde los compuestos orgánicos, por el medio de mecanismos bioquímicos, son convertidos en compuestos mineralizados simples y son entonces, redistribuidos en el medio ambiente, a través del ciclo elemental del carbono, nitrógeno y azufre, tal como se aprecia en la Figura 2 (Zetty, 2012).

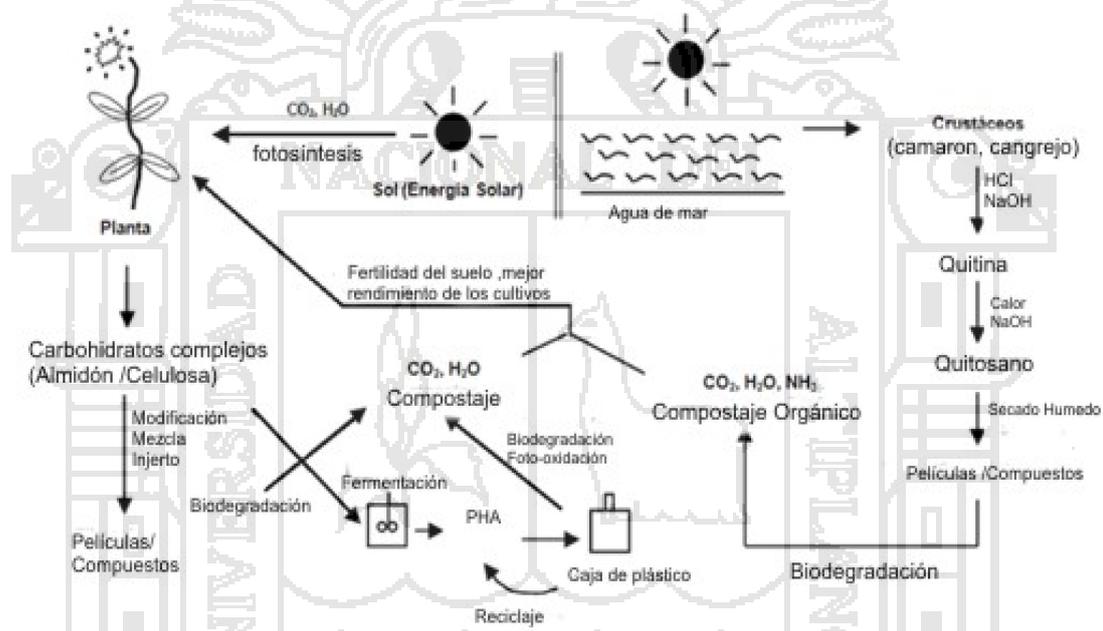


Fig 2. Ciclo del carbono de polímeros biodegradables (Adaptado de Tharanathan, 2003).

2.2. Compuestos para el desarrollo de películas biodegradables

a) Gelatina

La gelatina se obtiene a partir de la hidrólisis parcial del colágeno, el cual se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza formando parte de la piel, tendones, sistema vascular, huesos, espinas, escamas y tejido conectivo

de los animales. Esta proteína se obtiene principalmente a partir de la piel y huesos de mamíferos terrestres, fundamentalmente vacuno y porcino. Las películas o recubrimientos basadas en gelatinas se han diseñado para recubrir los alimentos con el fin de reducir el transporte de agua, oxígeno y grasas en productos cárnicos (López de Lacey, 2012).

b) Quitosano

El quitosano es un polímero lineal derivado de la N-desacetilación parcial de la quitina, la misma que se localiza en el exoesqueleto de los crustáceos, en la pared de los hongos y en otros materiales biológicos (algas verdes) y representa uno de los biopolímeros más abundantes de la naturaleza, después de la celulosa. La estructura del quitosano está formado por unidades de glucosamina y N-acetil D-glucosamina unidos por enlaces β -(1 \rightarrow 4), como se aprecia en la Figura 3 (López de Lacey, 2012).

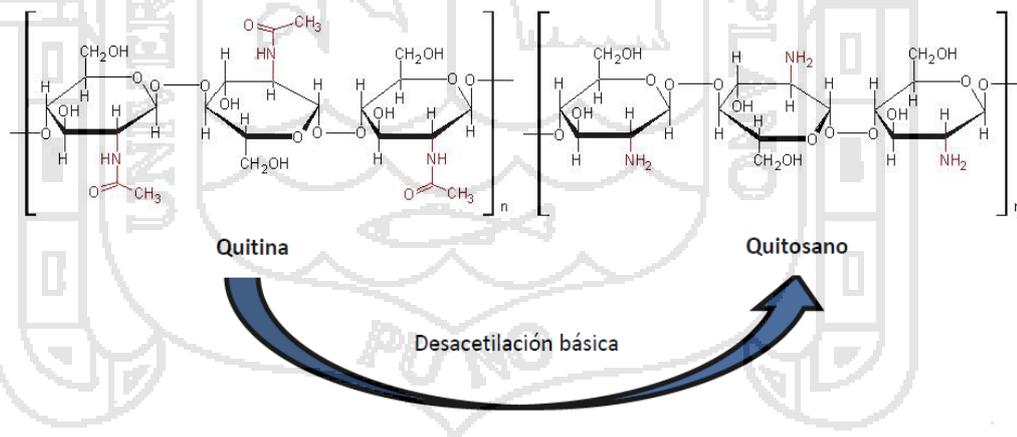


Fig 3. Estructura de la quitina y del quitosano (López de Lacey, 2012).

Algunos autores mencionan que la efectividad del quitosano como antimicrobiano en los envases comestibles depende en cierto modo de la técnica aplicada, ya que su disponibilidad para actuar como conservante es

mayor cuando está disuelto en la solución filmogénica que cuando se encuentra formando parte de una película (Vásconez, Flores, Campos, Alvarado y Gerschenson, 2009).

Con el objeto de aumentar la acción antimicrobiana, el quitosano se suele combinar con otros agentes antimicrobianos como el sorbato potásico, nisina y aceites esenciales (Hosseini, Razavi y Mousavi, 2009).

c) Aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos aromáticos oleosos que se obtienen a partir de diferentes partes de las plantas, como: Flores, brotes, semillas, hojas, ramitas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces (Burt, 2004). El método comúnmente empleado para la extracción de estos aceites es mediante la destilación por arrastre de vapor.

Los aceites esenciales tienen actividad frente a un amplio espectro de microorganismos, como por ejemplo frente a bacterias responsables del deterioro o patógenos transmitidas por alimentos (Sánchez-González, Vargas, González-Martínez, Chiralt, Chafer, 2011). Los principales componentes de los aceites esenciales de plantas, hierbas y especias responsables del efecto antimicrobiano son los compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonoides (Tiwari et al., 2009).

Las películas y recubrimientos de diferente origen (proteico, polisacárido, etc.) incorporan una gran variedad de aceites esenciales con el objetivo de crear envases activos con propiedades antimicrobianas y antioxidantes que supongan una mejora en la conservación de varios tipos de alimentos: Frutas, carne y pescado (López de Lacey, 2012).

Se ha observado que su aplicación en los alimentos puede significar una reducción o inhibición del crecimiento microbiano o incluso una reducción de la oxidación de sus compuestos y por lo tanto una extensión de la vida útil del producto recubierto. Así mismo se ha visto que la incorporación de aceites esenciales dentro de la matriz polimérica produce una mejora en los valores de permeabilidad al vapor de agua y gases (Sánchez-González, González-Martínez, Chiralt y Cháfer, 2010). Generalmente los valores de permeabilidad al agua de las películas disminuyen en proporción a la cantidad de aceite esencial. Por ejemplo, las películas de quitosano sin aceites esenciales poseen escasa barrera a la humedad a los 20 °C, pero la adición del aceite esencial de bergamota (3%) reduce de forma significativa los valores de permeabilidad al vapor de agua casi al 50% (Sánchez-González et al., 2010).

La mayor parte de los autores coincide en señalar que el empleo de aceites esenciales en la conservación de los alimentos imparte propiedades sensoriales indeseables a los alimentos, (Burt, 2004). Sin embargo de acuerdo con Sánchez-González et al., (2011) una forma para paliar los intensos aromas de los aceites u otros efectos indeseables (toxicidad) es mediante la incorporación de estos compuestos naturales en películas biodegradables, ya que de este modo, se requiere menos cantidad de aceite que cuando se administran directamente en el alimento.

c.1. Aceite esencial de muña

La muña es una especie que se encuentra dentro de la familia Lamiaceae (Labiatae), que está compuesta por aproximadamente 224 géneros y 5 600 especies. Muchas de las especies de esta familia son utilizadas en la medicina popular y así representan importancia económica. Estas plantas crecen en

forma de arbustos, con hojas opuestas, enteras o divididas y flores hermafroditas (Luna, 2010).

La pulegona y la mentona, son los componentes mayoritarios de los géneros *Menta* y *Minthostachys*, generalmente la primera está presente en mayor porcentaje en contraste con la *Minthostachys*. La pulegona puede ser tóxica, en grandes cantidades, produciendo aborto y daños al hígado. Esa toxicidad es dañina también para las plagas y parásitos, lo que justifica su utilización como conservante de alimentos. La mentona presenta propiedades digestivas y no tiene toxicidad. En la Figura 4, se presenta la estructura química de estos compuestos (Luna, 2010).

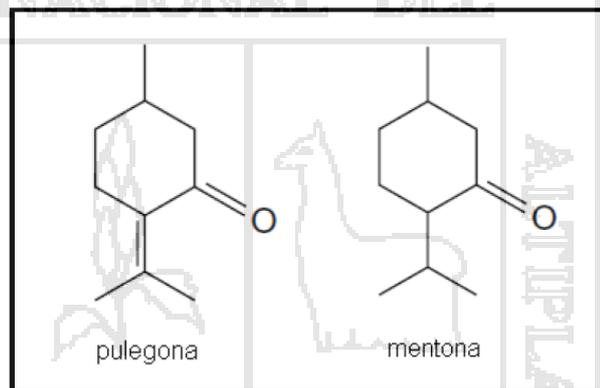


Fig 4. Compuestos mayoritarios del aceite esencial de muña (Luna, 2010).

c.1.1. Validación de la actividad antimicrobiana

Muchas especies vegetales han sido usadas, por las características antimicrobianas, a través de compuestos sintetizados por el metabolismo secundario de la planta, estos productos son reconocidos por sus sustancias activas, como es el caso de los compuestos fenólicos, que son parte de los aceites esenciales y de los taninos (Nascimento, Locatelli, Freitas y Silva, 2000).

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales y de sus componentes aislados o no, son verificados y revisados por diferentes autores (Ríos y Recio, 1988). Así el mecanismo de acción de los aceites esenciales para la actividad antimicrobiana está relacionada con la perturbación de la membrana citoplasmática, la interrupción de la fuerza motriz de los protones del flujo de electrones del transporte activo y de la coagulación de los contenidos celulares (Burt, 2004). Los trabajos referentes a ese mecanismo fueron también estudiados, mostrando la causa de la degradación de la pared celular (Helander, Nurmiäho-Lassila, Ahvenainen, Rhoades, y Roller, 2001); daño de la membrana citoplasmática y daño de la membrana proteica, tal como se muestra en la Figura 5 (Luna, 2010).

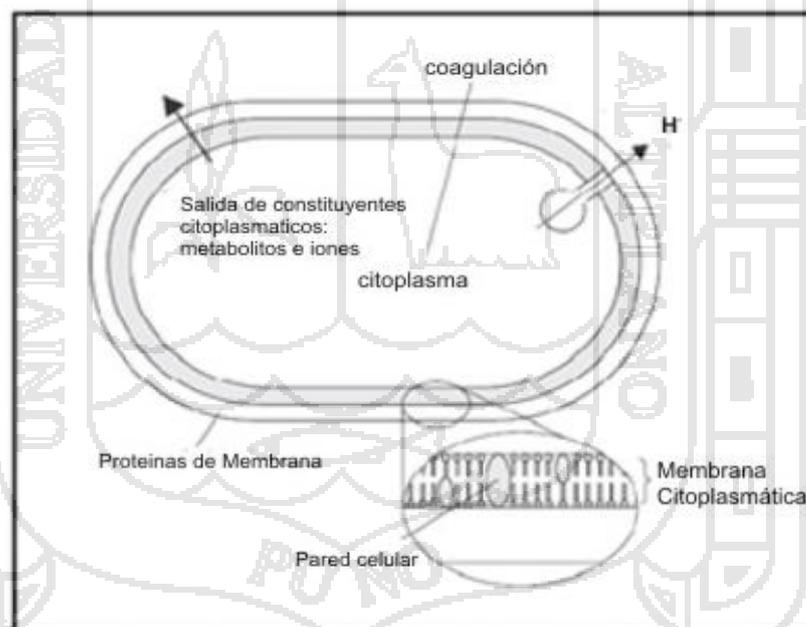


Fig 5. Sitios del mecanismo de acción de los aceites esenciales frente a la célula bacteriana (Adaptado de Burt, 2004).

El extracto liofilizado de partes aéreas de *Minthostachys setosa* a 0.125% (p/v) muestra actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y 10^4 UFC/mL de *C.albicans*.

El aceite esencial de partes aéreas de la *Minthostachys setosa* a 0.00028% (p/v) en un compuesto mayoritario de pulegona a 0.00016 % (p/v) muestran actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C.albicans* y *A.niger*. La mentona presenta actividad a 0.00029% (p/v) frente a *S. aureus*.

Entre los compuestos mayoritarios, la pulegona es el principal responsable de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las partes aéreas de la *Minthostachys setosa* (Luna, 2010).

d) Plastificante

Las películas a base de polisacáridos o proteínas suelen ser quebradizas y poco flexibles por lo que requieren de la adición de plastificantes (Gennadios, Hanna y Kurth, 1994). Los plastificantes son compuestos de pequeño peso molecular que se añaden a las coberturas para mejorar su flexibilidad y propiedades mecánicas. La adición de introducción de plastificantes modifica la organización polimérica de la red proteica tridimensional, disminuyendo las fuerzas de atracción intermoleculares, incrementando el volumen libre y favoreciendo la movilidad de las cadenas (López de Lacey, 2012).

2.3. Aspectos generales de la Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*)

a) Origen de la 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 todas las aguas frías del mundo (Europa, Oriente y Países Latinoamericanos). La trucha arco iris se ha expandido en la vertiente del pacífico de Norteamérica, desde el sur de Alaska hasta el sur de Oregón y California. Es la especie de los salmónidos más ampliamente distribuida y cultivada desde la segunda mitad del siglo pasado. Se tiene referencia que en 1980 fueron introducidos en Europa y que la actividad truchícola se inició bajo un sistema extensivo en la década 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 que soportó en la década de los años 1970 la presión de cuatro empresas procesadoras con una capacidad de enlatado de 250 t por un año que se exportaron el producto a los mercados de Estados Unidos de Norteamérica y Europa (Proyecto especial Truchas Titicaca, 1995).

b) Características generales

Esta especie se caracteriza por tener el cuerpo cubierto con finas escamas y de forma fusiforme (forma de huso), ligeramente aplanada lateralmente. Posee una banda lateral rosada iridiscente que se hace más vistosa en la época de reproducción. La denominación de trucha arco iris se debe a la presencia de una franja de colores de diferentes tonalidades, con

predominio de una franja rojiza sobre la línea lateral en ambos lados del cuerpo. Se distingue de otras especies adiposas por presentar una aleta adiposa en la parte posterior del dorso (Mendoza y Palomino, 2007).

c) Descripción taxonómica

Reino : Animalia
Sub reino : Metazoa
Phylum : Chordata
Sub phylum : Vertebrata
Super clase : Piscis
Clase : Osteichthyes

Fuente: (Mendoza y Palomino, 2007).

d) Algunas características biológicas

La trucha es un pez de hábito carnívoro y se alimenta en la naturaleza de presas vivas, como insectos en estado larvario, moluscos, crustáceos, gusanos, renacuajos y peces pequeños. Su aparato digestivo (muy corto) está preparado para el aprovechamiento de proteína animal y solo pueden digerir y aprovechar una variedad muy limitada de productos vegetales (Mendoza y Palomino, 2007).

La trucha arco iris es una especie ovípara cuya fecundación es externa, para reproducirse requiere alcanzar la madurez sexual, la que se presenta aproximadamente a los 2 años de edad en las hembras y a los 1 a 1 ½ años en los machos. Las tallas promedio en que la trucha inicia el desove son variables, generalmente, a partir de los 30 cm en las hembras y 25 cm en el caso de los machos, no siendo esta una regla fija, debido a que la madurez depende de muchos factores ambientales. Las principales diferencias entre los géneros de la trucha arco iris, se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales características para la diferenciación de la trucha arco iris
(*Oncorhynchus mykiss*)

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

Fuente: Mendoza y Palomino (2007).

La reproducción de la trucha se inicia aproximadamente en Abril y se prolonga hasta el mes de Septiembre, siendo los meses de Junio y Julio los de mayor actividad reproductiva, los periodos de desove son anuales, es decir, las truchas desovan una vez al año, esta actividad se realiza tanto en ambientes naturales, como en forma artificial en las piscigranjas (Mendoza y Palomino, 2007).

e) **Composición química de la trucha arco iris**

La composición de la trucha arco iris varía 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 primeros meses de vida, el contenido de cenizas permanece constante (Instituto Tecnológico Pesquero, 1998).

En la Tabla 2 se aprecia la composición química de la trucha arco iris fresca.

Tabla 2. Composición química nutricional de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

Composición química nutricional	Porcentaje
Humedad	75.8
Grasa	3.1
Proteínas	19.5
Cenizas	1.2
Carbohidratos	0.4

Fuente: Instituto Tecnológico Pesquero ITP – Lima – Perú (1998).

f) Valor nutritivo de la trucha arco iris

Existen estudios que afirman la exquisitez y valor proteico de la trucha donde las proteínas son de buena calidad y de fácil digestibilidad, así mismo se asume 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. Por otro lado el consumo de ácidos grasos Omega 3 como los presentes en pescados salmónidos, especialmente ácido decosahecanoico (DHA), es bastante beneficioso tanto para la madre como para el feto (Quispe, 2006).

g) Ventajas de la especie como cultivo

La trucha arco iris presenta las siguientes características favorables para dedicarla a un cultivo controlado (Mendoza y Palomino, 2007):

- Es adaptable a los ambientes confinados y soporta altas densidades de carga.

- Cuenta con tecnología definida de su proceso productivo.
- Acepta la alimentación formulada y es un eficiente convertidor del alimento.
- Es un pez domesticado y resistente al manipuleo, inhibe enfermedades en cuanto tiene buenas condiciones de cultivo.
- Se reproduce en cautiverio, lo cual asegura la disponibilidad de alevinos
- Posee alto valor proteico, necesario para el desarrollo del ser humano.
- Exquisitez en su carne, por lo cual es muy apreciado.
- En nuestro medio tiene alto valor comercial.
- Buen mercado nacional e internacional.

h) Producción pesquera en la región de Puno

El comportamiento de la producción pesquera en Agosto, continuó creciendo significativamente (78.7 por ciento) en comparación con el mismo mes del año 2011, resultado de la mayor producción de truchas en jaulas flotantes (81.8 por ciento), que representa el 98.3 por ciento del VBP (Valor Bruto de Producción).

Por otro lado, la producción pesquera acumulada del periodo Enero – Agosto, totalizó un volumen de 13 340 toneladas métricas, que representó un incremento de 42.1 por ciento respecto al año anterior, explicado también por la mayor producción de trucha de crianza (45.1 por ciento). Este comportamiento positivo fue resultado de la mayor importación de ovas de trucha, motivado por el aumento de la demanda (local, nacional e internacional) (Gonzales y Choque, 2012).

En la Tabla 3, se puede observar que la producción de trucha sobresale por sobre los otros peces en la región de Puno, tal como se muestra a continuación.

Tabla 3. Producción pesquera de la Región Puno en toneladas

	Agosto			Enero – Agosto		
	2011	2012	Var % 1/	2011	2012	Var % 1/
Boga	0	0	-	0	0	-
Carachi	30580	33141	8.4	327568	284884	-13
Ispi	25330	11661	-54	86735	104209	201
Suche	0	0	-	656	0	-100
Mauri	724	772	6.6	21038	5048	-76
Pejerrey	15873	10199	-35.7	227797	116352	-48.9
Trucha Natural	6515	7259	11.4	57327	36245	-36.8
Trucha Crianza	925650	1683000	81.8	8815666	12792640	45.1
Total	1004672	1746032	78.7	9536787	13339378	42.1

1/Variación en términos reales del VBP

Fuente: Ministerio de la Producción – Dirección Regional de Pesquería Puno.

2.4. Alteración del pescado fresco

Varios son los factores que coadyuvan en la caducidad sin igual del tejido muscular de los pescados. En el caso del pescado graso, la alteración puede ser no microbiológica; los lípidos del pescado contienen un elevado porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, que desde el punto de vista químico, son más reactivos que las grasas considerablemente saturadas que existen en la carne de los mamíferos.

Esta característica de la composición de los lípidos del pescado determina que este sea mucho más sensible al desarrollo de la rancidez oxidativa. No obstante, en la mayoría de los casos de alteración es de origen microbiológica.

Por naturaleza, el músculo del pescado contiene muy bajas concentraciones de carbohidrato y, además, estas se agotan durante la brega previa a la muerte del pez. Esto tiene dos consecuencias importantes con respecto a la alteración. En primer lugar limita el grado de acidificación *post mortem* de los tejidos de modo que el pH definitivo del músculo tiene un valor de 6.2 – 6.5 comparado con el existente en el músculo de los mamíferos que tiene un valor en torno a 5.5. En segundo lugar, la ausencia de carbohidrato significa que las bacterias existentes en la superficie del pescado recurrirán inmediatamente a utilizar la mezcla soluble de sustancias nitrogenadas que son fácilmente asimiladas produciendo mucho antes olores y sabores desagradables.

La combinación de un pH casi neutro y la existencia de óxido de trimetilamina (TMAO), parte integrante del sistema osmoregulador, como aceptor de electrones alternativo significa que el envasado del pescado al vacío y en atmósfera modificada no proporciona el mismo aumento espectacular de la calidad de conservación que se observa en la carne. Típicamente, la prolongación de la vida comercial envasado al vacío y en atmósfera modificada variará desde menos de 3 días hasta unas 2 semanas (Adams y Moss ,1995).

a) Descomposición aeróbica y anaeróbica del glucógeno en el músculo del pescado

La producción de energía en el músculo *post mortem* al momento de la muerte, el suministro de oxígeno al tejido muscular se interrumpe porque la sangre deja de ser bombeada por el corazón y no circula a través de las branquias donde, en los peces vivos, es enriquecida con oxígeno. Dado que el oxígeno no está disponible para la respiración normal, se restringe la producción de energía a partir de los nutrientes ingeridos. El glucógeno

(carbohidratos de almacenamiento) o las grasas son oxidadas o quemadas por las enzimas del tejido, en una serie de reacciones las cuales finalmente producen dióxido de carbono (CO_2), agua y adenosintrifosfato (ATP), en compuesto orgánico rico en energía. Este tipo de respiración se efectúa en dos etapas: Una anaeróbica y otra aeróbica. La última depende de la continua presencia de oxígeno (O_2), solo disponible en el sistema circulatorio. En condiciones de anaerobiosis, el ATP puede ser sintetizado a través de otras dos importantes rutas a partir de la creatina fosfato o la arginina fosfato. En cualquiera de los dos casos la producción de ATP cesa en cuanto se agotan la creatina fosfato o la arginina fosfato. (Huss, 1994).

Para la mayoría de los peces teleósteos, la glucólisis es la única ruta posible para la producción de energía en cuanto el corazón deja de latir. Este proceso, más ineficiente, genera principalmente ácido láctico y ácido pirúvico como productos finales. Además, mediante la glucólisis se producen dos moles de ATP por cada mol de glucosa, en comparación con los 36 moles de ATP producidos por cada mol de glucosa si los productos glucolíticos finales son oxidados aeróbicamente en la mitocondria del animal vivo. Así, después de la muerte, el músculo anaeróbico no puede mantener su nivel normal de ATP, y cuando el nivel intracelular declina de 7-10 moles/g a 1.0 moles/g de tejido, el músculo entra en *rigor mortis*. La glucólisis *post mortem* resulta en la acumulación de ácido láctico, con la concomitante disminución del pH en el músculo. En el bacalao, el pH disminuye desde 6.8 hasta un pH extremo de 6.1-6.5. En algunas especies de pescado, el pH final puede ser menor; en caballas grandes, el pH extremo en el *rigor* puede llegar a ser tan bajo como 5.8-6.0, y en atunes e hipoglosos se han encontrado valores tan bajos como

5.4-5.6. Sin embargo, estos niveles tan bajos de pH no son frecuentes en teleósteos marinos.

El músculo de pescado contiene un nivel relativamente bajo de glucógeno, comparado con los mamíferos y por esta razón se genera mucho menos ácido láctico después de la muerte. También el estado nutricional del pez, la cantidad y grado de agotamiento al momento de la muerte, tienen un efecto dramático en los niveles de glucógeno almacenado y consecuentemente en el pH *post mortem* final. Como regla, el pescado bien descansado y bien alimentado contiene más glucógeno que el pescado exhausto y hambriento (Chiba et al., 1991).

2.5. Métodos para la evaluación de la calidad del pescado

2.5.1. Métodos químicos

a) Índice de peróxidos en el pescado

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 (Barthel y Grosch, 1974).

Debido a algunas razones, la interpretación del VP como un índice de la calidad no proporciona un resultado directo. 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. Los lípidos hidroperóxidos se descomponen con el tiempo, un VP bajo, durante un cierto punto del almacenamiento, puede indicar tanto una fase temprana de autoxidación como una fase tardía, o también un producto severamente oxidado donde la mayoría de los hidroperóxidos han sido degradados (Kanner y Rosenthal, 1992).

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).

b) pH

En relación al pH, el ácido láctico generado a partir del glucógeno en condiciones de anoxia es la causa principal del descenso que experimenta *post mortem* el pH de los músculos del pescado. En esta acidificación influye también la liberación de fosfatos inorgánicos y amoníaco como consecuencia de la degradación enzimática del ATP y la Capacidad *Buffer* de los músculos.

Los descensos de pH en una unidad pueden estar ocasionados por la acumulación de unos 60 y 120 μg de ácido láctico por un gramo de músculo de pescado. Por lo general, el pH final del pescado capturado comercialmente en aguas frías, no es menor de 6.0; debido a que en la mayoría de los casos. Durante las etapas posteriores de los cambios *post mortem*, la descomposición

de los compuestos nitrogenados provoca el incremento del pH en la carne del pescado. La intensidad de este cambio del pH depende de la temperatura (Sikorski, Scott y Buisson, 1984).

El pH muscular en estado fresco, varía entre 7.3 – 7.4; debido a la glicólisis anaeróbica el ácido láctico se acumula y comienza a descender el pH hasta niveles aproximados de 7.0 a 6.0 – 6.8; los niveles de variación de pH dependerán de la cantidad de glucógeno almacenado al momento de la muerte. El pH *post mortem* inicial varía con las especies, hábitat y métodos de captura (Price, Melvin y Bell, 1991).

El pH del pescado fresco oscila por lo común entre 6.0 y 6.5 en las proximidades del límite de aptitud para el consumo se alcanzan valores de pH de 6.8; el pH del pescado descompuesto es 7 a más (Belitz y Grosch, 1988).

c) **Actividad de agua (Aw)**

Un parámetro relacionado con la actividad de agua es la presión osmótica, que puede ser definida como la fuerza por unidad de superficie necesaria para detener el flujo neto de moléculas de agua desde una zona con elevada actividad de agua a otra en la que la actividad es baja. El citoplasma es una solución acuosa y por ello debe tener una actividad menor que el agua pura: por este motivo un microorganismo en un medio de agua pura experimentará un flujo neto de moléculas de agua hacia el interior del citoplasma. Si no puede hacer frente a este flujo, aumentará de tamaño y estallará. Las bacterias, hongos y algas hacen frente a este flujo por tener una pared celular rígida capaz de soportar la presión osmótica del citoplasma que en una especie Gram- Negativa puede ser tan alta como 30 atm (0.5 MPa).

Con una reducción de la actividad de agua en su medio, disminuye el número de grupos de microorganismos capaces de crecer activamente. Así por ejemplo la mayoría de las bacterias Gram Negativas crecen en actividades de agua mínimas de 0.97 y las bacterias Gram Positivas en 0.90 (Adams y Moss ,1995).

2.5.2. Métodos microbiológicos

De igual modo que en la carne, el músculo y los órganos internos del pescado sano recién capturado suelen ser estériles pero la piel, las agallas y el tracto alimentario contienen un número importante de bacterias. El número de bacterias que se ha indicado que existe en la piel es incluso del 10^2 ufc /cm² y desde 10^3 hasta 10^9 ufc/g en las agallas y el intestino. Estas bacterias son principalmente especies Gram negativas de los géneros *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Psychrobacter*, *Vibrio*, *Flavobacterium* y *Cytophaga* y algunas especies Gram - Negativas como por ejemplo *corineformes* y *micrococos* (Adams y Moss ,1995).

2.5.3. Métodos sensoriales

El método del índice de la calidad (MIC), desarrollado originalmente por la unidad de Investigación de Alimentos de Tasmania (Bremner y Hallett ,1985), que se usa actualmente en el Laboratorio Lyngby para pescados frescos y congelados.

El MIC se basa en los parámetros sensoriales significativos del pescado crudo, cuando se emplean muchos parámetros, y un sistema de puntuación por deméritos. Este método 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.

El MIC asigna una puntuación de cero al pescado muy fresco; así, a mayor puntuación mayor es el deterioro del pescado (Larsen, Heldbo, Jespersen y Nielsen 1992).

El Codex desarrollo directrices para la evaluación sensorial del pescado y mariscos en laboratorio, tal como se muestra en el Tabla 4.

Tabla 4. Esquema para la evaluación de la calidad empleado para identificar el índice de calidad mediante deméritos

Parámetro de calidad	Característica	Puntuación
Aspecto	Brillante resplandeciente	0
	Brillante	1
	Color natural	2
	Opaco	3
Textura	Firme	0
	Elástica	1
	Blanda	2
	Plástica	3
Olor	Fresco	0
	Neutro	1
	Agrio	2
	Descompuesto	3

Fuente: Larsen et al. (1992)

2.6. Vida útil

La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil. Este período depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad del agua, humedad relativa, radiación (luz), concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones (Singh, 2000).

La VU se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de VU mediante utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas (Charm, 2007).

Labuza (1994), detalla que la metodología de trabajo consiste en identificar primero las reacciones químicas y biológicas que influyen en la calidad y seguridad del alimento. Entonces, a través de un estudio cuidadoso de los componentes del alimento y del proceso, se determinan las reacciones que se considera que presentan el impacto más crítico.

Reacción de orden cero:

$$-\frac{dQ}{dt} = k \dots\dots\dots (1)$$

Integrando:

$$Q = Q_0 - kt \dots\dots\dots (2)$$

Donde:

Q_0 : Calidad inicial

Q : Q_0 después de transcurrido el tiempo t

Una variación lineal implica siempre orden cero. Si el final de la vida útil (t_f), se alcanza cuando el atributo de calidad toma un cierto valor llamado Q_f , se tiene:

$$Q_f = Q_0 - k * t \dots\dots\dots (4)$$

Vida útil:

$$t_f = \frac{Q_0 - Q_f}{k} \dots\dots\dots (5)$$

El empleo de una ecuación de orden cero es útil en la descripción de procesos tales como la degradación enzimática, el pardeamiento no enzimático y la oxidación de los lípidos que lleva al desarrollo de olores rancios (Labuza, 1994).

2.7. Especificaciones técnicas para el desarrollo del análisis sensorial de acuerdo al ASTM (*American Section of the International Association for Testing Materials*) - 1986

a) Laboratorio de análisis sensorial

El control de los análisis involucra la sala de evaluación, el aire, el uso de cabinas, la iluminación, el área de preparación y las áreas de entrada y salida.

El control de los productos involucra los equipos usados, el modo como las

muestras son seleccionadas, preparadas, enumeradas, codificadas y servidas, y el control de equipo involucra el procedimiento a ser usado.

Antes de iniciar el proyecto para la instalación de un laboratorio de análisis sensorial se debe hacer los planos y algunos parámetros deben ser establecidos (ASTM, 1986):

- Objetivos de la organización en el que se refiere al uso de las instalaciones.
- Frecuencia y tipos de análisis que serán realizados.
- Cantidad y tipos de productos a ser validados.
- Número y tipo de jueces.

b) Localización del laboratorio

Para la selección de un local apropiado para la instalación de un laboratorio de análisis sensorial se debe considerar los siguientes factores:

- Tamaño (área) suficiente para acomodar el número de jueces requeridos para los análisis que serán realizados.
- Áreas adecuadas para la preparación de los diferentes tipos de muestras y para la realización de los diferentes tipos de análisis.
- Acceso fácil a los jueces.
- Seguridad suficiente para resguardar la confidencialidad de los estudios realizados.
- “*Layout*” que permita un flujo racional y eficiente del trabajo.
- Local libre olores y ruidos.
- Recursos de red eléctrica, hidráulica y de ventilación.

Consideraciones iniciales

Una vez definidas las actividades a ser desarrolladas en el laboratorio de análisis sensorial y su localización, se hace necesario definir:

- Número de cabinas u otras áreas de evaluación.
- Necesidad de ambientes para los jueces (capacitación, evaluación, etc).
- Necesidad de equipos especializados para la preparación de muestras, para la recolección y análisis de resultados.
- Necesidad de áreas especiales para almacenar las muestras (temperatura controlada).

Las áreas seguridad por la ASTM para la instalación del laboratorio se muestran en el Tabla 5.

Tabla 5. Áreas recomendadas por la ASTM (1986) para la instalación del laboratorio de análisis sensorial y número de cabinas

Áreas recomendadas según tamaño y número de cabinas		
Tamaño de laboratorio	Área (m ²)	Número de cabinas
Pequeño	90 a 95	3 a 5
Mediano	90 a 200	6 a 10
Grande	≥ a 200	12 a 24

Fuente: Manual de análisis sensorial de pruebas discriminatorias y efectivas, (2000).

c) Área de evaluación en las cabinas

Los jueces deben evaluar las muestras en cabinas individuales y privadas, evitando distracciones, interferencias del ambiente y de otros jueces.

Las cabinas deben estar posicionadas de forma adyacente al área de preparación de muestras para permitir y facilitar la entrega de las mismas entre los jueces.

El acceso del coordinador de la evaluación a las cabinas debe ser fácil para que sea posible limpiarlas y acomodarlas rápidamente entre las pruebas.

El acceso de los jueces a las cabinas debe ser fácil y totalmente independiente del área de preparación para evitar errores en los resultados por un posible conocimiento de los objetivos del análisis o de la codificación de las muestras.

El espacio total destinado a las cabinas debe ser establecido, tomándose en consideración:

- Número y tipo de análisis a ser realizados.
- Número de participantes requeridos para cada análisis.
- Tiempo necesario para la realización de cada análisis.

Las dimensiones sugeridas para cada cabina están indicadas en el Tabla 6 y la altura debe ser la misma del área de preparación, a través del cual son servidas las muestras. Además, debe ser considerada la existencia de un corredor atrás de las cabinas que permita el acceso de los jueces.

Tabla 6. Dimensiones recomendadas por la ASTM (1986) para cabinas

Dimensiones de cabinas en cm	
Ancho	70 a 85
Largo	45 a 60
Altura	75 a 90

Fuente: Manual de análisis sensorial de pruebas discriminatorias y efectivas, (2000).

Es indispensable la existencia de red eléctrica para la utilización de equipos como computadores y principalmente, para permitir la instalación de iluminación apropiada.

Para la iluminación pueden ser utilizadas lámparas incandescentes o fluorescentes (luz blanca) con intensidades variando de 753.47 a 861.11 lux o hasta 1184 lux, y deben ser instaladas de modo que se evitan las sombras que puedan perjudicar la observación de las muestras.

El control de la iluminación puede quedar a cargo del coordinador de la evaluación o de los jueces, dependiendo de su entrenamiento.

Se recomienda la instalación de aire acondicionado no solo para el confort de los jueces, sino también para facilitar el control de temperatura de las muestras.

d) Área de capacitación

El área usada para la capacitación debe ser grande o suficiente para acomodar de 6 a 12 jueces, y además presentar las mismas características de iluminación y temperatura exigida para las cabinas. El uso de cortinas o persianas en las ventanas es recomendado para el control de la iluminación.

Los muebles deben ser de colores neutros, libres de olores y de fácil limpieza para la higienización.

Los jueces deben tener el espacio suficiente para la validación de las muestras, siendo sugerida una mesa de 1.37 m de diámetro con centro giratorio, para la comodidad de 6 a 8 personas.

Esta sala debe ser adyacente al área de preparación de las muestras y tener el área de entrada de los jueces independiente del área de preparación.

e) Área de preparación de muestras

El tamaño y *layout* del área de preparación de muestras, depende de:

- Tipo y número de productos de serán evaluados.
- Grado de complejidad de preparación de muestras.
- Tipo y número de análisis que serán realizados.

Los siguientes equipos básicos deben estar disponibles en el local, conforme a las necesidades de preparación de las muestras.

- Horno convencional o de microondas.
- Extractores de humo.
- Refrigerador o congelador.
- Máquina para lavar platos.
- Lavatorios.
- Balanza, estufas.
- Termómetros, cronómetros.
- Basureros, recipientes de material descartable.
- Filtros para agua mineral.
- Extintores de incendio.
- Armarios.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La elaboración de las películas biodegradables y la conservación de los filetes de trucha se realizaron en el Laboratorio de Postcosecha.

Las pruebas mecánicas se efectuaron en el laboratorio de Física Experimental I de la Escuela Profesional de Físico – Matemáticas, Facultad de Ingeniería Civil y Arquitectura.

Para la determinación de vida útil de los filetes de trucha, los análisis microbiológicos fueron llevados a cabo en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos; los análisis químicos en los laboratorios de Evaluación Nutricional y Biotecnología y la evaluación sensorial en el Laboratorio de Pastas y Harinas de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA-PUNO, durante los meses de Septiembre a Diciembre del 2013.

3.2. Materiales

Insumos

- Filetes de trucha (80 – 100 gramos), obtenido de la empresa Psifactorias de los Andes S.A – Piscis.
- Aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) – 500 ml, obtenido de la empresa Aromainka S.R.L - Cusco
- Gelatina *Fleischmann* (20g)
- Qitosano $\geq 75\%$ Deacetilización – C3646/100G
- Glicerol (1L)
- Sorbitol (D-Glucitol al 70% - 1L)
- Lecitina de soya (500g)

Reactivos

- Ácido acético ($C_2H_4O_2$)
- Cloroformo ($CHCl_3$)
- Yoduro de potasio (KI)
- Solución de almidón al 1%
- Tiosulfito de sodio ($Na_2S_2O_3$) 0.1N
- Agua destilada
- Caldo Verde Brillante - BRILA 2% (40/L)
- *Agar plate count* (23.5g/L)
- SS Agar (60g/L)
- *Agar Mannitol Salt Phenol* (111g/L)
- Reactivo Kovax

Instrumentos y equipos

- Soporte universal
- Sensor fuerza, modelo N°CI-6537
- Software DataStudio, creado por PASCO
- Software AutoCAD 2013
- Software *Magix Video Deluxe 16*
- Vernier digital, marca *Stainless*
- Placa rectangular de teflón de 185 cm²
- Cámara fotográfica, marca Sony - 12.1 Mega Pixeles
- Matraces Erlenmeyer
- Jeringas de 1mL
- Potes plásticos

- Cápsulas o placas petri 90-100mm de vidrio
- Tubos de incubación
- Pipetas graduadas de 15 y 10 ml (flujo total)
- Probetas
- Pinza
- Contador de colonias, *LightBox*, modelo Petite
- Cocinilla eléctrica
- Licuadora, marca Oster
- Autoclave, marca Greetmed, modelo LS- B50L-II, serie N°186
- Agitador magnético *Rovax* , Typ:M6, serie 122271
- Balanza analítica, marca Monoblec , modelo PB3002 – S
- Balanza analítica, marca Kern, modelo ABS-200-4, serie WB1210336
- Congelador, marca Coldex , modelo CH10P,serie 0100991279
- Estufa, marca Binder, modelo D78532 – Tufflinger / Alemania
- Incubadora, marca Lab Incubador, modelo IN-601, serie 7100842
- Higrómetro Aqualab serie 4TVE.
- pH – metro, marca Jenway, modelo 3510.

3.3. Métodos

3.3.1. Formación de las películas biodegradables

Las películas biodegradables se elaboraron de acuerdo a la Tabla 7 y a las Figuras 6,7 y 8; como se muestra a continuación.

Tabla 7. Descripción de formulaciones para la elaboración de películas biodegradables

Compuesto	Película biodegradable de gelatina	Película biodegradable de quitosano	Película biodegradable de gelatina-quitosano
Gelatina	8 g	-	7.5 g
Quitosano	-	1 g	0.5 g
Aceite esencial de muña	0.75 ml / g de biopolímero	0.75 ml / g de biopolímero	0.75 ml / g de biopolímero
Glicerol	0.15 g/g de gelatina	0.15 g/g de gelatina	0.15 g/g de gelatina
Sorbitol	0.15 g/g de gelatina	0.15 g/g de gelatina	0.15 g/g de gelatina
Lecitina de soya	0.125 g/ g gelatina	0.125 g/ g gelatina	0.125 g/g gelatina

Fuente: Elaboración propia

Las cantidades utilizadas de gelatina y quitosano para obtener las soluciones filmogénicas se obtuvieron luego de realizar experimentaciones preliminares. Por otro lado las cantidades del aceite esencial de muña, glicerol, sorbitol y lecitina de soya fueron tomadas de manera referencial de la investigación realizada por López de Lacey (2012), además de otras investigaciones detalladas con anterioridad.

a) Preparación de las soluciones filmogénicas de gelatina

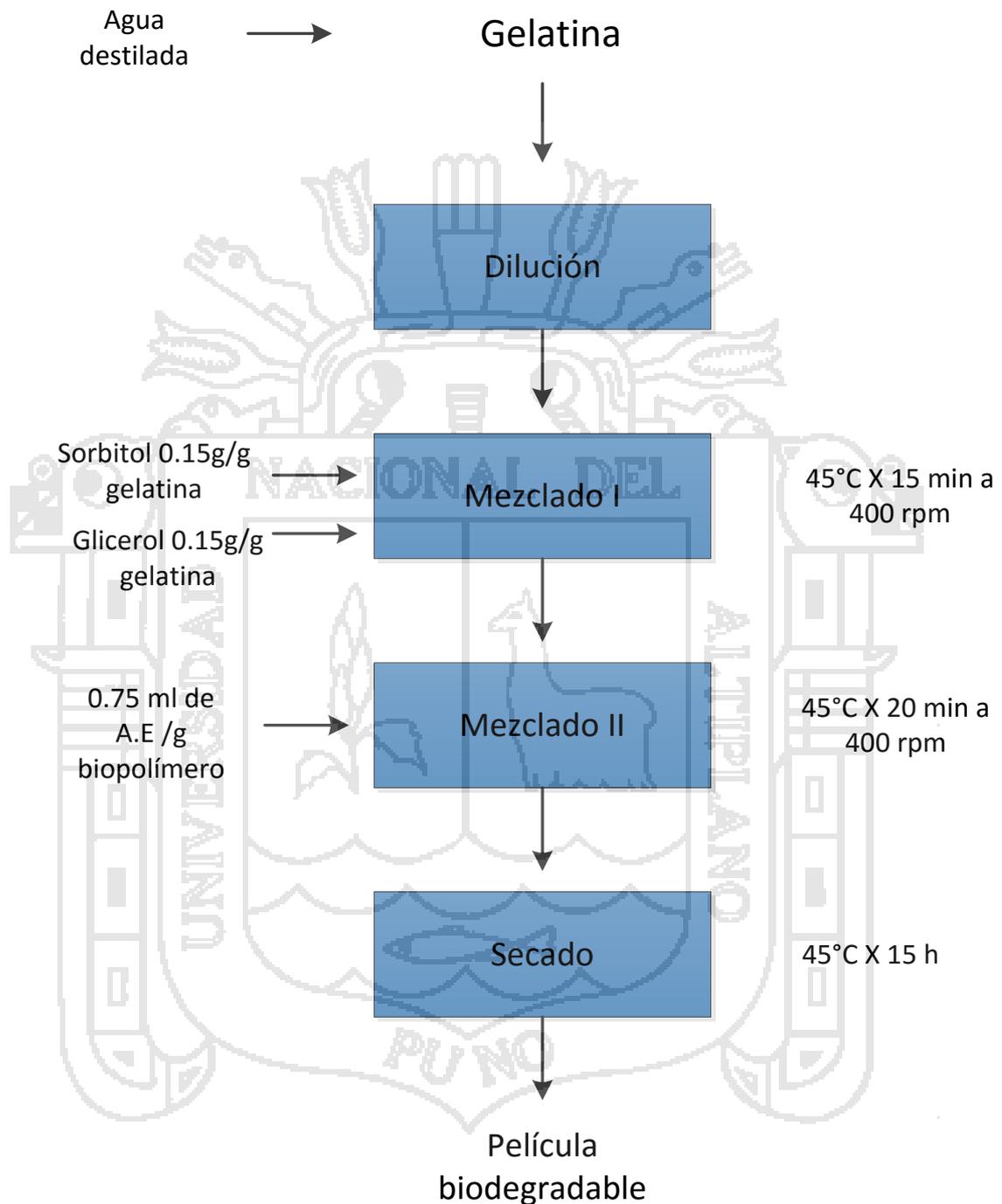


Fig 6. Diagrama de flujo para la elaboración de películas biodegradables a partir de gelatina y adición de aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*).

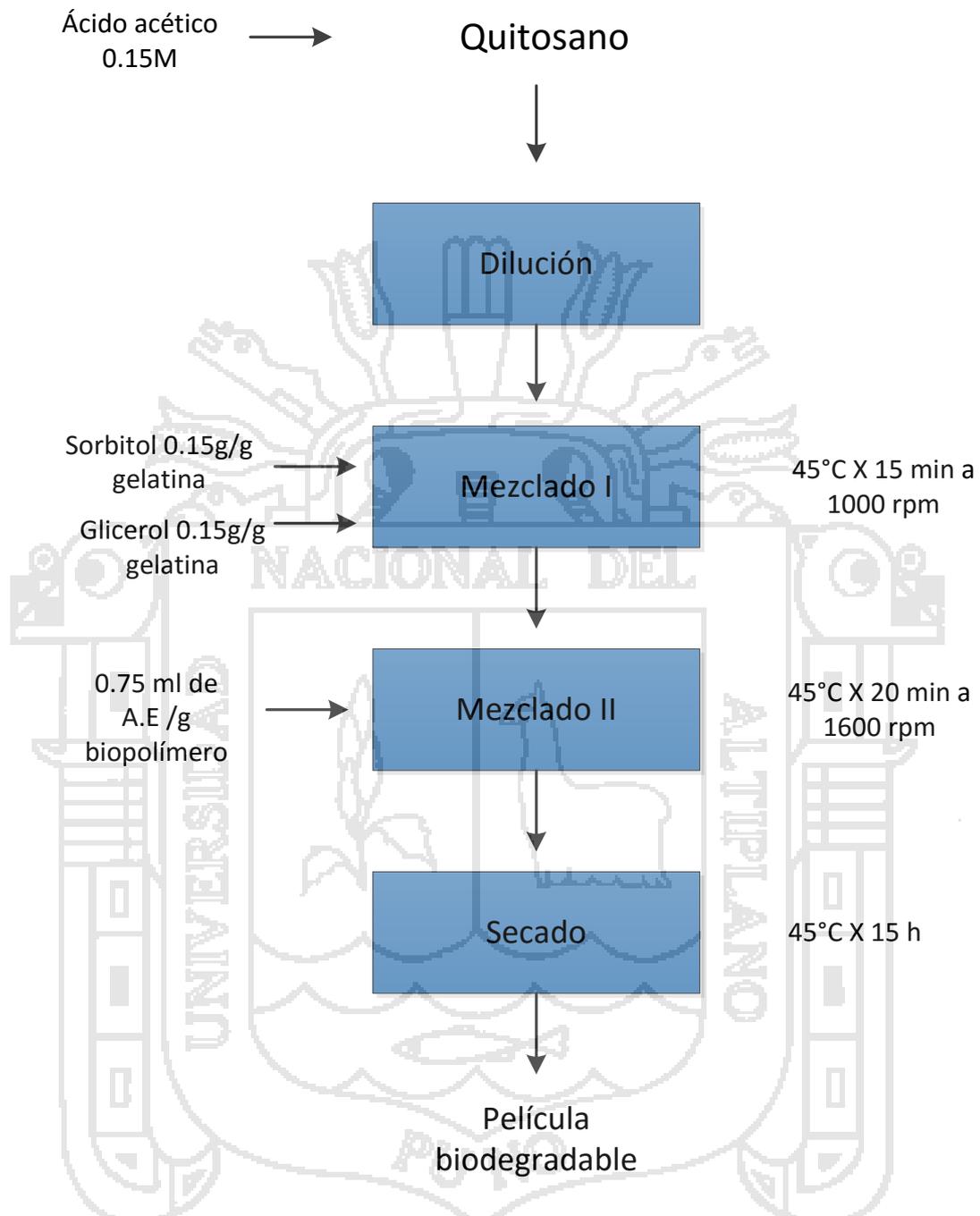
b) Preparación de las soluciones filmogénicas de quitosano

Fig 7. Diagrama de flujo para la elaboración de películas biodegradables a partir de quitosano y adición de aceite esencial de muña (*Menthastachys mollis*).

c) Preparación de las soluciones filmogénicas de gelatina-quitosano

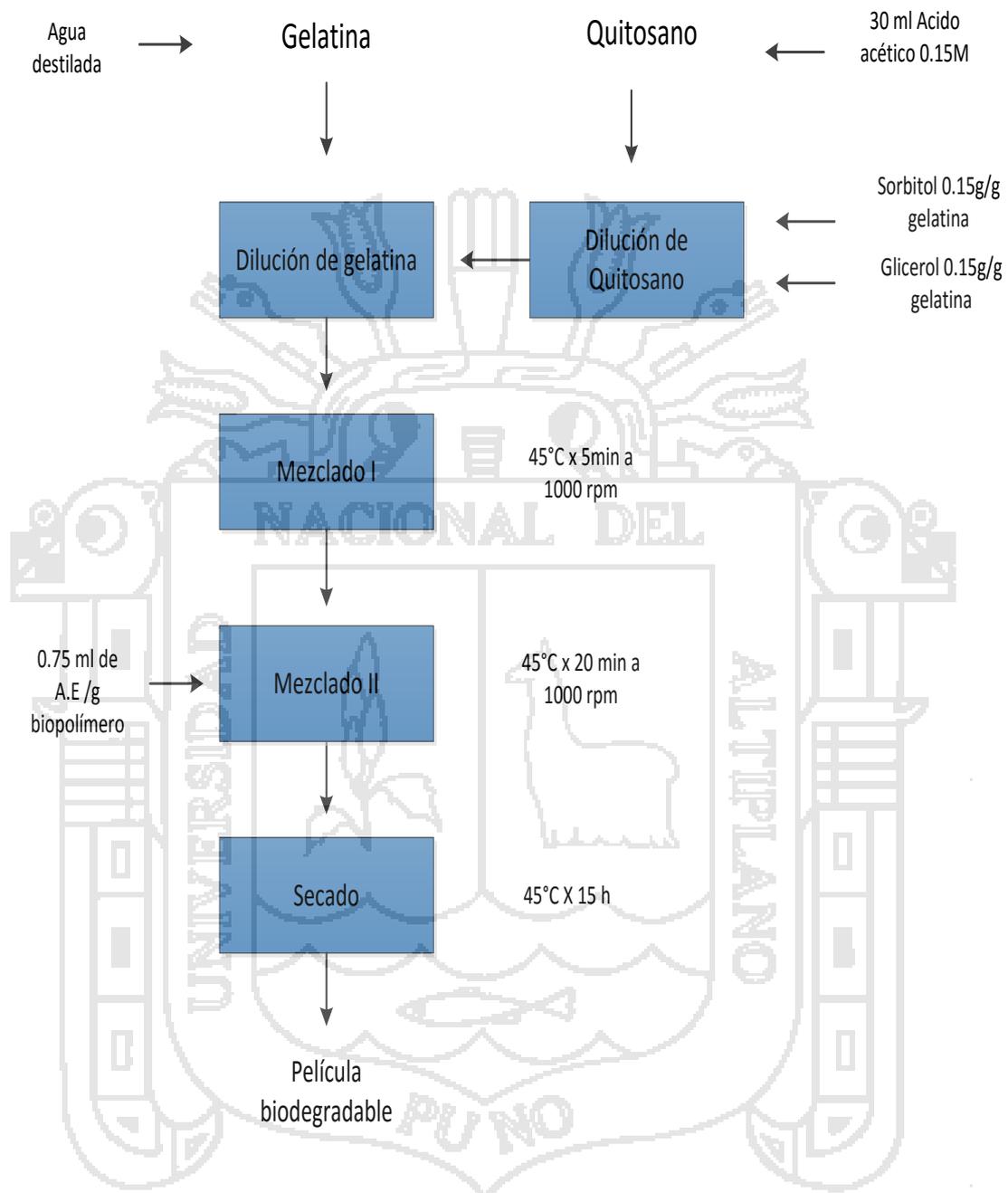


Fig 8. Diagrama de flujo para la elaboración de películas biodegradables a partir de gelatina - quitosano y adición aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*).

3.3.2. Determinación de las propiedades mecánicas de las películas biodegradables

Para la evaluación de las propiedades mecánicas de las películas biodegradables se empleó la Norma Internacional ISO R1184-1970, descrita con algunas modificaciones por Villamán (2007).

a) Procedimiento para la determinación del alargamiento porcentual

(A%)

1. Las películas fueron cortadas con 10 mm de ancho y 50 mm largo.
2. Se dispuso el sensor de fuerza en un soporte universal en el que se colocó la película de manera vertical.
3. El período de tiempo en el que se realizó el esfuerzo hasta el momento de la ruptura de la película, fue registrado en filmación por una cámara fotográfica de 12,1 Mega Pixeles.
4. Las grabaciones fueron disgregadas por el software MAGIX Video Deluxe 16, con el objetivo de obtener los fotogramas iniciales y finales (antes de la ruptura) de las películas biodegradables.
5. Por la técnica de fotogrametría digital llevada a cabo en el *software* AutoCAD 2013 se obtuvieron las distancias finales, por proporcionalidad a las distancias iniciales conocidas (50mm).
6. El porcentaje de alargamiento se determinó con la siguiente ecuación:

$$A\% = \frac{D_f - D_i}{D_i} \times 100$$

Donde:

A% = Alargamiento porcentual

D_f = Distancia de alargamiento hasta la ruptura, en mm

D_i = Distancia inicial entre las líneas de referencia, en mm

b) Procedimiento para la determinación del Esfuerzo de Tracción en la Ruptura (ETR)

1. Las películas fueron cortadas con 10 mm de ancho y 50 mm largo.
2. Se dispuso el sensor de fuerza en un soporte universal en el que se colocó la película de manera vertical.
3. Se realizó un esfuerzo hasta el momento de la ruptura de la película, los mismos que fueron registrados por software Data Studio.
4. El Esfuerzo de Tracción en la Ruptura se determinó con la siguiente ecuación:

$$ETR = \frac{C}{A_R}$$

Donde:

ETR = Esfuerzo de tracción en la ruptura, en N/mm²

C = Carga máxima en la ruptura de la película, en N

A_R = Área transversal inicial de la película, en mm²

Área transversal inicial de la película

$$A_R = \varepsilon \times A$$

Donde:

A_R = Área transversal inicial de la película, en mm²

ε = Espesor de la película, en mm

A = Ancho de la película, en mm

3.3.3. Determinación de la vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable y la adición de aceite esencial de muña

Para la determinación de la vida útil de los filetes de trucha, estos fueron recubiertos con película biodegradable, empacados al vacío y almacenados en condiciones de refrigeración (2°C). Así mismo se empacaron filetes de trucha al vacío sin la película biodegradable, las mismas que sirvieron como muestras patrón y fueron almacenadas en las mismas condiciones que los filetes que contaban con la película.

a) Evaluación de las propiedades químicas

La evaluación química se llevó a cabo por la metodología descrita por la AOAC.

a.1. Determinación del pH

Se pesaron 10 g de muestra de filete de trucha, moliéndolo en un mortero y se añadieron 80 ml de agua destilada; posteriormente se agitó por 10 minutos con una bagueta en un vaso precipitado de 150 ml, seguidamente se vertió la muestra enjuagando el vaso con 20 ml de agua para homogenizarlo en una fiola de 100 ml, finalmente se filtró la muestra en un matraz Erlenmeyer de 125 ml y el filtrado se midió con el pH- metro.

a.2. Determinación del índice de peróxidos

En un Erlenmeyer previamente tarado se añadieron 0.5 gramos de grasa de filete, agregando a la muestra 15 ml de ácido acético y 10 ml de cloroformo.

Para el ensayo en blanco sin muestra se añadieron a un Erlenmeyer 15 ml de ácido acético y 10 ml de cloroformo. Seguidamente se añadió a la muestra 1 ml de solución saturada de yoduro de potasio, dejando reposar por

un período de 1 minuto, para continuar adicionando 100 ml de agua destilada y 5 ml de solución de almidón al 1% (indicador).

Finalmente se tituló la muestra con Tiosulfito de Sodio al 0.1 N hasta la presencia de un cambio de color de morado a blanco.

Para el cálculo del índice de peróxido se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{S \times N \times 100}{g}$$

Donde:

S = Gasto de ml de solución valorada de Tiosulfito de Sodio en el ensayo.

N= Normalidad de la solución de tiosulfito de sodio al 0.1 N

g = Peso en gramos de la muestra.

a.3. Determinación de actividad de agua

Se determinó con el equipo Aqualab serie 4TVE.

b) Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos fueron llevados a cabo bajo la metodología descrita por Yousef y Carlstrom (2006).

b.1. Procedimiento para el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos

Preparación de diluciones

Se pesaron en un vaso previamente tarado, 1 ± 0.1 gramos representativos de filete de trucha, seguidamente se añadió un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9 ml), homogenizándolo hasta conseguir 15.000 a 20.000 revoluciones en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución 10^{-1} . Luego se tomó 1ml del homogenizado y se colocó en un tubo con

9 ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10^{-2} , prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

Siembra

Se pipetearon alícuotas de 1 ml de las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} , sobre placas de Agar *Plate Count* previamente temperadas. Seguidamente se mezclaron las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a $35 - 37$ °C durante 48 horas.

Conteo de colonias

Transcurridas 48 horas de incubación se procedió al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo o por ml de muestra.

b.2. Procedimiento para el recuento de *Staphylococcus aureus*

Preparación de diluciones

Se pesaron en un vaso previamente tarado, 1 ± 0.1 gramos representativos de filete de trucha, seguidamente se añadió un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9 ml), homogenizándolo hasta conseguir 15.000 a 20.000 revoluciones en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución 10^{-1} . Luego se tomó 1ml del homogenizado y se colocó en un tubo con 9 ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10^{-2} , prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

Siembra

Se pipetearon alícuotas de 1 ml de las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} , sobre placas de Agar *Mannitol Salt Phenol* previamente temperadas. Seguidamente se mezclaron las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 37 ± 1 °C durante 72 horas.

Conteo de colonias

Transcurridas 72 horas de incubación se procedió al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo o por ml de muestra.

b.3. Procedimiento para la determinación de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*

El método de determinación de coliformes totales, Coliformes fecales y *E. coli* se realizaron en tres pasos sucesivos, como se detalla a continuación.

Procedimiento de prueba presuntiva para bacterias coliformes

Preparación de diluciones

Se pesaron en un vaso previamente tarado, 1 ± 0.1 gramos representativos de filete de trucha, seguidamente se añadió un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9 ml), homogenizándolo hasta conseguir 15.000 a 20.000 revoluciones en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución 10^{-1} . Luego se tomó 1ml del homogenizado y se colocó en un tubo con 9 ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10^{-2} . Prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

Procedimiento de prueba presuntiva

Se pipeteó 1 ml de cada dilución decimal de la muestra, a cada uno de los tres tubos conteniendo Caldo Verde Brillante – BRILA 2% (10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) para incubarlos a 35 - 37°C por 24 horas. Después de este período, se seleccionaron los tubos gas-positivos para continuar con el procedimiento de determinación de Bacterias coliformes de Origen Fecal.

Procedimiento de prueba confirmativa

Se transfirió 1 ml de los tubos gas-positivos a tubos conteniendo Caldo Verde Brillante – BRILA 2%), incubando los tubos confirmatorios durante 24 horas a 44.5 °C y se anotaron los tubos con formación de gas, puesto que ello confirmaría la presencia de bacterias coliformes.

b.4. Procedimiento para la determinación de *Salmonella* sp.

Preparación de diluciones

Se pesó en un vaso previamente tarado, 25±0.1 gramos representativos de la muestra del filete de trucha, seguidamente se añadió un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (225 ml), homogenizándolo hasta conseguir 15.000 a 20.000 revoluciones en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución 10⁻¹. Luego se tomó 1ml del homogenizado y se colocó en un tubo con 9 ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10⁻². Prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

Siembra

Se pipetearon alícuotas de 1 ml de las diluciones 10⁻³ y 10⁻⁴, sobre placas de SS Agar previamente temperadas. Seguidamente se mezclaron las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 35°C durante 72 horas.

Conteo de colonias

Transcurridas 72 horas de incubación se procedió al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo o por ml de muestra.

c) Evaluación sensorial

Para el análisis sensorial se empleó el método del índice de la calidad (MIC), desarrollado originalmente por la unidad de Investigación de Alimentos de Tasmania (Bremner y Hallett ,1985), que se usa actualmente en el Laboratorio Lyngby para pescados frescos y congelados.

El MIC se basa en los parámetros sensoriales significativos del pescado crudo, cuando se emplean muchos parámetros, y un sistema de puntuación por deméritos. Este método 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, asignando una puntuación de cero al pescado muy fresco; así, a mayor puntuación mayor es el deterioro del pescado (Larsen et al., 1992).

Para el desarrollo del análisis sensorial se contó con 10 jueces semientrenados, quienes fueron capacitados previamente, bajo el protocolo para dicho análisis. Así mismo se utilizó como referencia para la calificación de las muestras, las características sensoriales de acuerdo a las Directrices del Codex para la evaluación sensorial del pescado y mariscos en laboratorio.

Las especificaciones técnicas para el desarrollo del análisis sensorial fueron llevadas a cabo, bajo la metodología del ASTM (1986), según las siguientes consideraciones específicas de acuerdo a las necesidades de la evaluación realizada, como se muestra en el Tabla 8.

Tabla 8. Requerimientos para el análisis sensorial

Características	Requerimientos	Dimensiones / Área
Ambientes	Capacitación Sala de cabinas Área de preparación y servir	Largo = 8 m Ancho = 6 m Área total = 48 m ²
Tipo de análisis	MIC para pescado fresco	-
Cantidad de productos a ser validados	2 muestras representativas de filetes	-
Tipo de productos a ser validado	Pescado fresco	-
Tiempo de cada análisis	5 minutos	-
Turnos de evaluación	2 turnos	-
Tiempo de limpieza entre análisis	1 minuto	-
Número de jueces	10	-
Tipo de jueces	Semientrenados	-
Número de cabinas	5	Largo = 0.9 m Ancho = 0.893.m Alto = 1.80 m
Iluminación	10 Lámparas fluorescentes	-
Ventilación	Ventiladores	-
Equipos	Balanzas Refrigerador Mesas Sillas Material descartable	-

Fuente: Elaboración propia.

c.1. *Layout* del laboratorio para el análisis sensorial

El análisis sensorial se llevó a cabo en el Laboratorio de Pastas y Harinas, al inicio y final de la experimentación el 20/11/2013 y el 09/12/2013 respectivamente a las 3.00 p.m.

La disposición del laboratorio en 2D y 3D, se presenta en el Anexo 16.

3.4. Unidades de análisis y observaciones

3.4.1. Variables de estudio

a) Evaluación de las propiedades mecánicas de las películas biodegradables

- Película de gelatina con aceite esencial de muña.
- Película de quitosano con aceite esencial de muña.
- Película de gelatina - quitosano con la adición de aceite esencial de muña.

b) Determinación del tiempo de vida útil de los filetes de trucha

- Propiedades químicas
- Propiedades microbiológicas
- Propiedades sensoriales

3.4.2. Variables de respuesta

a) Evaluación de las propiedades mecánicas de las formulaciones de películas biodegradables

- Esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR)
- Alargamiento porcentual (% A)

b) Determinación del tiempo de vida útil de los filetes de trucha

- 0 Días
- 6 Días
- 12 Días
- 18 Días

3.4.3. Indicadores

a) Evaluación de las propiedades mecánicas de las formulaciones de películas biodegradables

- N/mm²
- %Alargamiento

b) Evaluación de la vida útil de los filetes de trucha

- pH
- Índice de peróxido
- Actividad de agua (Aw)
- Recuento microbiano
- Evaluación por Método de Índice de Calidad (MIC).

3.5. Diseño de investigación

a) Evaluación de las propiedades mecánicas de las películas biodegradables

Para procesar los datos obtenidos durante la investigación se aplicó el análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95% y el test de *Tukey* ($p \leq 0.05$) para determinar las posibles diferencias entre las formulaciones de las películas biodegradables, para lo cual se empleó el paquete estadístico SPSS *Statistics 20*.

Las variables de estudio y respuesta fueron los tratamientos (formulaciones) y los resultados de las propiedades mecánicas de las películas biodegradables respectivamente. Se utilizó un experimento bajo el diseño

completo al azar (DCA) con 5 repeticiones, ajustado al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

$i = 1, 2, 3$ (Formulaciones)

$j = 1, 2, 3, 4, 5$ (Repeticiones)

Donde:

Y_{ij} = Es una observación en la j – ésima unidad experimental, sujeto a la i -ésima formulación.

μ = Es el efecto de la media general o constante común.

ϵ_{ij} = Efecto verdadero de la j – ésima unidad experimental (replica), sujeto a la i -ésima formulación (error experimental).

b) Evaluación de la vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable y la adición de aceite esencial de muña

Para procesar los datos obtenidos durante la investigación se aplicó el análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95% y el test de Duncan ($p \leq 0.05$) para determinar las posibles diferencias entre los filetes recubiertos con las películas biodegradables y los filetes sin película (muestra patrón), para lo cual se empleó el paquete estadístico SPSS *Statistics* 20.

Las variables de estudio fueron los tratamientos (filete con la película y filete sin película) a través del tiempo de evaluación, teniendo como indicadores las propiedades químicas y sensoriales de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable.

Se utilizó un experimento factorial bajo el Diseño Bloque Completo al Azar (DBCA) , en el que se considera el siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + B_l + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

$i = 1$ y 2 (Filete con película, filete sin película)

$j = 1, 2, 3$ (Propiedades químicas y sensoriales)

$k = 1, 2, 3, 4$ (Tiempo)

$l = 1, 2, 3$ (Repeticiones)

Donde:

Y_{ijk} = Es la variable de respuesta del k -ésimo día bajo la j -ésima propiedad, sujeto al i -ésimo tratamiento.

μ = Constante, media de la población a la cual pertenecen las observaciones.

α_i = Efecto del i -ésimo tratamiento.

β_j = Efecto de la j -ésima propiedad.

γ_k = Efecto del k -ésimo día.

B_l = Efecto de la l -ésima repetición.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i -ésimo tratamiento.

$(\alpha\gamma)_{ik}$ = Efecto de la interacción de la i -ésima propiedad, en el k -ésimo día.

$(\beta\gamma)_{jk}$ = Efecto de la interacción de la j -ésima propiedad, en el k -ésimo día.

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = Efecto de la interacción del i -ésimo tratamiento, en la j -ésima propiedad, sujeto al K -ésimo día.

ξ_{ijkl} = Efecto del error experimental, que está distribuido como ξ_{ijkl} .



4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Propiedades mecánicas de las películas biodegradables con la adición de aceite esencial de muña

Los resultados de las propiedades mecánicas de las películas biodegradables de gelatina, quitosano y gelatina – quitosano, se presentan en la Tabla 9.

De la misma manera en el Anexo 6 se presentan las curvas de esfuerzo de tracción en la ruptura de las mencionadas formulaciones; registradas por el *software* Data Studio.

Tabla 9. Valores del esfuerzo de tracción en la ruptura y porcentaje de alargamiento de las diferentes formulaciones

Películas	ETR (N/mm ²) ±&	%A ±&
Gelatina	8.20±0.97 ^a	79.42±8.82 ^a
Quitosano	14.24±0.56 ^b	112.20±14.02 ^b
Gelatina/Quitosano	7.82±0.58 ^a	67.21±3.29 ^a

n= 5

& : Desviación estándar

ETR: Esfuerzo de Tracción en la Ruptura

%A : Porcentaje de alargamiento

a,b : Prueba de comparación *Tukey*

Los datos registrados en la Tabla 9 fueron empleados para realizar los análisis de varianza y determinar el grado de diferencia entre las formulaciones con la prueba de comparación de medias *Tukey*.

4.1.1. Análisis estadístico del Esfuerzo de Tracción en la Ruptura (ETR)

La Tabla 10, muestra que existe una diferencia altamente significativa entre los valores de ETR registrados por cada una de las formulaciones filmogénicas, con un nivel de confianza del 99%.

Tabla 10. ANOVA del esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) y porcentaje de alargamiento de las películas biodegradables

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	Nivel signif.
Películas	2	64.775	129.310	**
Error experimental	12	0.501		
TOTAL	14			

Por lo cual se realizó la prueba de comparación *Tukey*, la misma que muestra la diferencia de las formulaciones filmogénicas de gelatina y gelatina-quitosano, frente a la formulación a base de quitosano, que muestra mejores resultados, con un esfuerzo de tracción en la ruptura de 14.24 ± 0.56 N/mm² como se presenta en la Tabla 11.

Tabla 11. Prueba de comparación de *Tukey* del esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) de las películas biodegradables

Películas	Promedio	Nivel de significación
Quitosano	14.23600	a
Gelatina	8.20040	b
Gelatina/Quitosano	7.82060	b

4.1.2. Análisis estadístico del Porcentaje de Alargamiento (%A)

La Tabla 12, evidencia una diferencia altamente significativa entre los valores del porcentaje de alargamiento registrados por cada una de las formulaciones filmogénicas, con un nivel de confianza del 99%.

Tabla 12. ANOVA del porcentaje de alargamiento de las películas biodegradables

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	Nivel signif.
Películas	2	2707.046	28.492	**
Error experimental	12	95.009		
TOTAL	14			

Por lo cual se realizó la prueba de comparación *Tukey*, como se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13. Prueba de comparación de *Tukey* del porcentaje de alargamiento de las películas biodegradables

Películas	Promedio	Nivel de significación
Quitosano	112.2026	a
Gelatina	79.4218	b
Gelatina/Quitosano	67.2064	b

La prueba de comparación *Tukey* muestra la diferencia entre las formulaciones filmogénicas de gelatina y gelatina-quitosano, frente a la

formulación a base de quitosano, que mostró mejores resultados con un porcentaje de alargamiento de 112.20 ± 14.02 %.

Por tanto las películas a base de quitosano con la adición de aceite esencial de muña, presentan mejores propiedades mecánicas, con respecto a las demás películas a base gelatina y gelatina-quitosano, debido a que probablemente las propiedades gelificantes, emulsificantes, espesantes, de sinergia o incompatibilidad entre polisacáridos son superiores a las de la gelatina, en ese entender Nieto (2009) señala que estas características estructurales determinan las diferencias entre un polímero y otro e incluso determinan sus propiedades formadoras de películas.

Al respecto López de Lacey (2012) señala que las películas de quitosano son fuertes, flexibles y con buenas propiedades de barrera al oxígeno y dióxido de carbono, así mismo describe que las propiedades de las películas varían en función del grado de acetilación y peso molecular del quitosano utilizado para la formación de las mismas. En este sentido, Park, Marsh y Rhim (2002) observaron que los quitosanos con pesos moleculares altos forman películas más fuertes, así también describen que las propiedades mecánicas de las películas de quitosano aumentan cuando el ácido acético se utilizó como solvente en su preparación. Este hecho probablemente haya sido el determinante para obtener resultados positivos en las películas de quitosano con respecto a las demás formulaciones, dado que para su elaboración se empleó ácido acético.

Cabe señalar que las películas de quitosano mostraron mejores propiedades mecánicas que las películas a base de fécula y almidón de

mandioca, en contraste con los estudios realizados por Zetty (2012), quien evaluó las películas biodegradables a base de fécula de mandioca como potencial indicador de cambio de pH, encontrando que el esfuerzo de tracción en la ruptura varió entre (2.92 ± 0.77 a 6.50 ± 0.75 N/mm²) y el porcentaje de alargamiento entre (150.06 ± 10.65 a 228 ± 15.30 %).

Por otro lado la diferencia entre las propiedades mecánicas de las películas de quitosano y las películas de gelatina-quitosano, pueden ser atribuidas a que las películas formadas por mezclas de biopolímeros están relacionadas con la naturaleza de los materiales, así como las interacciones entre ellos y el método de procesado, tal como lo señalan Tian, Xu, Yang y Guo (2011), quienes reportan que el esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) y el porcentaje de alargamiento (%A) de las películas a base de agar fueron 18.48 N/mm² y 62.35%, respectivamente, sin embargo la sustitución de un 33% del agar por gelatina de pescado provocó una ligera disminución en los valores de ETR y un aumento en el %A.

Los resultados de las propiedades mecánicas de las películas de quitosano se encuentran dentro de los rangos encontrados por Villamán (2007), en su estudio sobre películas a base de extracto de proteína de quinua y quitosano (v/v) a 5 diferentes proporciones 1:0; 4:1; 1:1; 1:4; 0:1, por la técnica *casting*, quien obtuvo que el esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) varió entre (2 ± 0.6 a 22.16 ± 3.90 N/mm²) y el porcentaje de alargamiento varió entre (73.6 ± 8.2 a 273 ± 21.6 %).

Sin embargo Alfonso (2011) en su investigación sobre la incorporación de aceites esenciales (AES) en películas a base de quitosano, encontró que la

película de control hecha solo con quitosano tuvo una resistencia a la tracción en la ruptura de 10.97 N/mm^2 , observando que al incorporarse AES en las soluciones de quitosano, las películas que presentaron mayor resistencia a la ruptura fueron las que no contenían AES ($p < 0.05$). No obstante los resultados de las películas a base de quitosano con la incorporación de aceite esencial de muña muestran un ETR mayor ($14.24 \pm 0.56 \text{ N/mm}^2$); lo que puede ser atribuido a diversos factores, como el uso de insumos para su elaboración (plastificantes, emulsificantes, entre otros) y/o el método de obtención de las soluciones filmogénicas.

4.2. Evaluación del tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos por la película biodegradable con adición de aceite esencial de muña

Para la determinación del tiempo de vida útil se realizó una evaluación de las propiedades químicas, microbiológicas y sensoriales durante un período de 18 días en condiciones de refrigeración (2°C) cuyos resultados y discusiones se detallan a continuación.

4.2.1. Evaluación de las propiedades químicas de los filetes de trucha

a) Evaluación del pH

En la Tabla 14, se observa que el pH inicial de los filetes recubiertos con la película biodegradable, se encuentra con mayor cercanía dentro de los rangos para pescado fresco entre 6.0 y 6.5 (Belitz y Grosch, 1988); con respecto a los filetes sin el recubrimiento, probablemente debido a las condiciones particulares como el estado nutricional del pez, la cantidad y grado de agotamiento al momento de la muerte, los mismos que tienen un efecto dramático en los niveles de glucógeno almacenado y consecuentemente en el

pH *post mortem* final (Chiba et al.,1991), arribando a que una de estas causas pudo provocar valores de pH, por encima de los rangos establecidos. Así mismo se observa una disminución de pH en los filetes con y sin recubrimiento en el día 6 debido que como se mencionó anteriormente el músculo del pescado contiene relativamente bajo contenido de glucógeno en comparación con el músculo de los mamíferos (Price et al.,1991).

Tabla 14. Valores de pH registrados durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración

Día	FSP ±&	FCP ±&
0	6.65±0.01 ^b	6.57±0.02 ^a
6	6.21±0.01 ^d	6.28±0.02 ^c
12	6.34±0.01 ^c	6.32±0.07 ^c
18	6.54±0.01 ^b	6.28±0.01 ^c

n= 3

FSP : Filete sin película

FCP : Filete con película

& : Desviación estándar

a,b,c,d: Prueba de comparación Duncan

Al día 12 se aprecia un incremento de pH, ya que durante las etapas posteriores a los cambios *post mortem*, la descomposición de los compuestos nitrogenados provoca el incremento de pH en la carne del pescado (Sikorski et al., 1984).

El pH del pescado fresco oscila por lo común entre 6.0 y 6.5 en las proximidades del límite de aptitud para el consumo se alcanzan valores de pH de 6.8; el pH del pescado descompuesto es 7 a más (Belitz y Grosch, 1988).

Adams y Moss (1995) señalan que existen mayor estabilidad del pescado en condiciones de pH bajo. Así al día 18 se aprecia una disminución del pH para los filetes recubiertos con la película biodegradable, sin embargo, se observa un comportamiento contrario para los filetes sin el recubrimiento de la película biodegradable con un pH final de 6.54; lo que podría indicar una mayor estabilidad para los primeros.

De la misma manera se observa que el pH de los filetes recubiertos con la película biodegradable se encuentra dentro del rango de 6.2 a 6.4, reportados por Schlesinger (1993), para salmón después de 18 días de almacenamiento a 0°C.

Tabla 15. ANOVA del pH de los filetes recubiertos con la película biodegradable y sin recubrimiento a través de tiempo de almacenamiento

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	P	Nivel signif.
A:Tratamientos	1	0.0322667	45.29	0.0000	**
B:Tiempo	3	0.146744	205.96	0.0000	**
Interacción AxB	3	0.029478	41.37	0.0000	**
Error expe.	16	0.000713			
TOTAL	23				

En la Tabla 15, se observa que existe una diferencia altamente significativa entre los valores de pH para los tratamientos y tiempo como para la interacción de ambos factores, es decir, que existe diferencia entre el filete

recubierto por la película biodegradable y el filete sin película, con un 99% de nivel de confianza, por lo que fue necesario realizar la prueba Duncan, para los mencionados casos, tal como se presenta en el Anexo 13.

Tabla 16. Prueba de Duncan para la interacción Tratamientos - Tiempo

Orden de merito	Muestra (M)	Tiempo (Días)	Promedio pH	Nivel de significación
1	FSP	T1=0	6.65	a
2	FCP	T1=0	6.57	b
3	FSP	T4=18	6.54	b
4	FSP	T3=12	6.34	c
5	FCP	T3=12	6.32	c
6	FCP	T2=6	6.28	c
7	FCP	T4=18	6.28	c
8	FSP	T2=6	6.21	d

FCP : Filete con película
FSP : Filete sin película

En la Tabla 16 se presenta la prueba de Duncan para la interacción tratamiento – tiempo, por presentar una mayor relevancia de análisis, ya que se observa una diferencia altamente significativa de los filetes recubiertos con la película biodegradable con respecto a los filetes sin la película en los días 6 y 18.

b) Evaluación del índice de peróxidos

En la Tabla 17, se presentan los valores del índice de peróxidos de los filetes de trucha conservados en refrigeración.

Se puede observar que al día 6 y 12, los índices de peróxidos de los filetes sin película son mayores a los valores registrados por los filetes con película. En el

día 12, el índice de peróxidos en la muestra patrón (película sin el recubrimiento) sobrepasó el límite permisible para el consumo de 20 meq/Kg de grasa, lo que según Sikorski et al.,(1984) puede provocar diversos trastornos gastro intestinales, siendo uno de los más frecuentes la diarrea.

Tabla 17. Valores del índice de peróxidos registrados durante el almacenamiento de los filetes de trucha en refrigeración

Día	FSP ± &	FCP ± &
0	3.63±0.142	3.82±0.1155
6	8.36±0.652	4.61±0.7506
12	20.51±3.798	16.42±0.5556

n= 3

FSP: Filete sin película

FCP: Filete con película

& : Desviación estándar

De la misma manera, el índice de peróxidos de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable presenta un valor de 16.42±0.5556 meq/Kg de grasa, encontrándose dentro del rango reportado por Quispe (2006), quien presenta valores del índice de peróxidos de 13 – 19 meq /Kg de grasa en filetes revestidos de bacterias lácticas a diferentes concentraciones, empacados al vacío y almacenados a 4°C en el día 14.

Tabla 18. ANOVA del índice de peróxidos de los filetes recubiertos con la película biodegradable y sin recubrimiento a través de tiempo de almacenamiento

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	P	Nivel signif.
A:Tratamientos	1	29.2868	11.15	0.0059	**
B:Tiempo	2	368.255	140.23	0.0000	**
Interacción AxB	2	8.45434	3.22	0.0760	n.s
Error expe.	12	2.62611			
TOTAL	17				

En la Tabla 18, se observa que existe diferencia altamente significativa entre los valores de índice de peróxidos para los tratamientos y tiempo, es decir, que existe diferencia entre el filete recubierto por la película biodegradable y el filete sin película, así como para el tiempo de evaluación, con un 99% de nivel de confianza; por lo que fue necesaria la realización de la prueba de comparación Duncan para los mencionados factores (Tratamientos y tiempo), tal como se muestra en la Tabla 19 y 20.

Tabla 19. Prueba de comparación de Duncan del índice de peróxidos con respecto a los tratamientos

Tratamientos	Promedio	Nivel de significación
Sin película	10.8344	a
Con película	8.2833	b

La Tabla 19, muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 99% de confianza, entre los filetes recubiertos con la película y la muestra patrón (sin película) con respecto a los resultados del índice de peróxidos obtenidos durante el período de almacenamiento, lo que hace dar cuenta que la película biodegradable presenta, claramente, una función como medio protector contra la oxidación lipídica.

Tabla 20. Prueba de comparación de Duncan del índice de peróxidos con respecto al tiempo

Tiempo (días)	Promedio	Nivel de significación
12	18.463	a
6	6.488	b
0	3.725	c

La Tabla 20, muestra diferencias estadísticamente significativas del índice de peróxidos con un nivel del 99% de confianza, entre los días (tiempo) que fueron llevadas a cabo las evaluaciones, lo que explica que el índice de peróxidos guardó una relación directamente proporcional con respecto al tiempo, es decir, que a medida que el tiempo de almacenamiento incrementó, el índice de peróxidos, actuó de la misma manera, tal como lo confirman los resultados de León (2007), en su estudio sobre la estabilización del músculo de trucha para la elaboración de hamburguesa, con un incremento en el índice de peróxidos de 1.100 – 13.520 meq/Kg de grasa a 15°C, a través del tiempo.

4.2.2. Evaluación del análisis microbiológico de los filetes de trucha

En la Tabla 21, se presenta el recuento total de microorganismos analizados, exigidos de acuerdo a la Norma Técnica Sanitaria N°071 dispuesta por DIGESA (Dirección General de Salud Ambiental) para productos hidrobiológicos crudos (frescos, refrigerados, salpados o ahumados en frío), presentada en el Anexo 14. Así en comparación con la mencionada Norma se aprecia que no se encontraron microorganismos *E. coli* y *Salmonella* sp., desde el inicio hasta el final del período de evaluación tanto para los filetes recubiertos con la película biodegradable, como para los filetes sin película.

Tabla 21. Recuento microbiano de los filetes de trucha con y sin película en ufc/g

TIEMPO	FSP				FCP			
	0	6	12	18	0	6	12	18
<i>E. coli</i>	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>Salmonella</i> sp.	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>S. aureus</i>	A	A	A	76x10 ³	A	A	A	A
A.MESÓFILOS	13x10 ⁴	45x10 ⁵	24x10 ⁵	14x10 ⁵	22x10 ⁴	37x10 ⁶	12x10 ⁴	11x10 ⁵

A : Ausencia de microorganismos
 ufc/g: Unidades Formadoras de Colonia por Gramo
 FSP : Filete sin película
 FCP : Filete con película

Para el caso de los microorganismos *S. aureus* se aprecia claramente la diferencia entre el filete recubierto con la película, el mismo que no mostró crecimiento de ninguna unidad formadora de colonia, frente el filete sin película, que evidenció el crecimiento de 76x10³ufc/g, valor que sobrepasa ampliamente el límite máximo permisible de 10³ufc/g según Norma, hecho que se podría atribuir a la acción antimicrobiana del aceite esencial de muña, como indica

Luna (2010), en su estudio sobre la validación antimicrobiana del referido aceite esencial.

Con respecto a los microorganismos Aerobios Mesófilos en los filetes recubiertos con la película biodegradable y el filete sin película en el día 0, se encontraban en los rangos establecidos por la Norma. El día 6 ambos filetes (con y sin película) sobrepasaron los límites máximos permisibles de 10^6 ufc/g probablemente debido a las condiciones ambientales cargadas en las que se trabajó el día de la evaluación.

El día 12 el filete recubierto con la película mostró un crecimiento microbiano menor con 12×10^4 ufc/g, encontrándose dentro de los rangos permisibles (5×10^5 - 10^6 ufc/g), frente al filete sin película, que mostró un crecimiento mucho mayor al rango permisible con 24×10^5 ufc/g.

Finalmente el día 18 ambos filetes (con y sin película) sobrepasaron los límites máximos permisibles de 10^6 ufc/g.

a) Otros microorganismos encontrados

Tabla 22. Otras especies microbiológicas encontradas en los filetes de trucha durante el período de almacenamiento en refrigeración

TIEMPO	FSP				FCP			
	0	6	12	18	0	6	12	18
Enterobacter aerogenes	18×10^4	A	A	A	61×10^3	A	A	A
Levaduras	16×10^4	A	12×10^4	A	12×10^4	A	A	A

A: Ausencia de microorganismos

ufc/g: Unidades Formadoras de Colonia por Gramo

FSP: Filete sin película

FCP: Filete con película

En la Tabla 22, se presenta el crecimiento microbiano de otras especies encontradas en el análisis microbiológico, microorganismos señalados a continuación:

- *Enterobacter aerogenes*, hallado en el SS agar (usado para el recuento de *Salmonella* sp.), dicho microorganismo fue registrado en la evaluación inicial en los filetes recubiertos con y sin la película biodegradable, evidenciando claramente un mayor crecimiento microbiano en el filete sin el recubrimiento de la película biodegradable (18×10^4 ufc/g), frente a aquel que si contaba con la película (61×10^3 ufc/g).
- Levaduras, hallado en el agar APC (usado para el recuento de aerobios mesófilos), registrándose un mayor crecimiento microbiano en los filetes sin la película biodegradable (16×10^4 ufc/g), con respecto al filete recubierto con la película (12×10^4 ufc/g) en la evaluación inicial.

De la misma manera el día 12 fueron registradas (12×10^4 ufc/g) en los filetes sin recubrimiento de la película, frente a ninguna ufc/g con el recubrimiento de la película.

Esto demuestra notoriamente que el quitosano y el aceite esencial de muña presentaron actividad inhibitoria contra la proliferación microbiana. Al respecto Burt (2004), señala que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales es atribuida a la perturbación de la membrana citoplasmática y la interrupción de la fuerza motriz de los protones del flujo de electrones del transporte activo y a la coagulación de los contenidos celulares, generando degradación de la pared celular, membrana citoplasmática y membrana proteica de los microorganismos.

b) Interacción de la actividad de agua y el crecimiento microbiano

En la Tabla 23, se observa que la actividad de agua en el día 0, se encuentra entre 0.9958 y 0.9963, para el filete recubierto con la película biodegradable y el filete sin película respectivamente.

Tabla 23. Valores de actividad de agua registrados durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración

Día	FSP ±&	FCP ±&
0	0.9963 ± 0.003	0.9958 ± 0.0003
6	0.9865 ± 0.0016	0.9846 ± 0.0002
12	0.9830 ± 0.0012	0.9852 ± 0.0029
18	0.9888 ± 0.0053	0.9847 ± 0.0006

n= 3

FSP: Filete sin película
FCP: Filete con película
& : Desviación estándar

Así mismo se observa un descenso de la actividad de agua a partir del día 6 hasta el día 18. Se pudo observar que los días 6 y 18 la actividad de agua del filete recubierto con la película biodegradable fue menor al filete sin película. Por el contrario solo el día 12 se evidenció una mayor actividad de agua del filete recubierto con la película, frente al filete sin película.

Adams y Moss (1995) señala que con una reducción de la actividad de agua, disminuye el número de grupos de microorganismos capaces de crecer activamente. De la misma manera López de Lacey (2012) señala que los factores, como el pH bajo, temperatura de almacenamiento, reducción de concentraciones de oxígeno y un alto contenido de sal mejora el efecto del aceite esencial empleado. Ambas afirmaciones realizadas por estos autores

pueden justificar el menor crecimiento microbiano en los días con menor actividad de agua y pH bajo, tal como es para el caso del día 18, en el que se evidenció la inhibición del *S. aureus* en el filete recubierto con la película en comparación a la amplia proliferación del filete sin película.

Tabla 24. ANOVA de la actividad de agua de los filetes recubiertos con la película biodegradable y sin recubrimiento a través de tiempo de almacenamiento

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	P	Nivel signif.
A:Tratamientos	1	0.000006827	1.33	0.2660	n.s
B:Tiempo	3	0.000175131	34.07	0.0000	**
Interacción AxB	3	0.000010136	1.97	0.1588	n.s
Error expe.	16	0.000005140			
TOTAL	23				

En la Tabla 24 se observa que el valor del factor tiempo es menor que 0.01; lo que indica que tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la actividad de agua con un 99% de nivel de confianza, razón por la cual se realizó la prueba de comparación Duncan, como se muestra en la Tabla 25.

Tabla 25. Prueba de comparación de Duncan de la actividad de agua con respecto al tiempo

Tiempo (días)	Promedio	Nivel de significación
0	0.996050	a
18	0.986750	b
6	0.985517	b
12	0.984117	b

La Tabla 25, muestra diferencias estadísticamente significativas de la actividad de agua con un nivel del 99% de confianza, entre los días (tiempo) que fueron llevadas a cabo las evaluaciones.

La oxidación de lípidos incluye reacciones muy rápidas, constituyendo a menudo el factor limitante en la conservación de alimentos. Por consiguiente se debe, señalar que numerosos compuestos liposolubles, sensibles a la oxidación, quedan protegidos por las reducciones de la actividad de agua, por los mecanismos que protegen los lípidos (Cheftel y Cheftel ,1995). Este hecho puede justificar que con la reducción de la actividad de agua con respecto al tiempo, el estado de deterioro, representado por el índice de peróxidos, incrementa durante el proceso de almacenamiento de los filetes de trucha.

4.2.3. Evaluación de propiedades sensoriales de los filetes de trucha

Las características evaluadas en el análisis sensorial fueron: Aspecto, textura y olor, tal como lo indica el *Codex*, para la evaluación de pescado fresco.

En las Tablas 26, 28 y 30; se muestran los resultados de la evaluación sensorial realizada por los panelistas sobre el aspecto, textura y olor de los filetes recubiertos por la película biodegradable y filetes sin película.

De la misma manera en el Anexo 12, se presentan los resultados de la evaluación sensorial de los filetes de trucha y las pruebas de comparación de medias, presentados dependiendo de la significancia estadística encontrada (Anexo 13), cuya interpretación se detallará a continuación para cada parámetro analizado.

a) **Aspecto**

Tabla 26. Promedios y desviaciones estándar del aspecto en la escala del MIC en el análisis sensorial

Día	FSP ± &	FCP ± &
0	1.1±0.816	1 ±0.876
18	1.8±0.789	1.1±0.568

n= 3
FSP: Filete sin película
FCP: Filete con película
& : Desviación estándar

La Tabla 27 muestra que no se encontró una diferencia significativa entre los valores obtenidos, para los tratamientos y tiempo, es decir, que el filete recubierto por la película biodegradable y el filete sin película tuvieron un aspecto parecido desde el inicio hasta el final de la evaluación. Con lo que podría aseverar que las películas no alteran la apariencia general de los filetes de trucha.

Tabla 27. ANOVA del aspecto durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración con y sin el recubrimiento de la película biodegradable

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	P	Nivel signif.
A:Tratamientos	1	0.9	1.51	0.2265	n.s
B:Tiempo	1	1.6	2.69	0.1096	n.s
Interacción	1	1.6	2.69	0.1096	n.s
AxB					
Error expe.	36	0.59			
TOTAL	39				

b) Textura

Tabla 28. Promedios y desviaciones estándar de la textura en la escala del MIC en el análisis sensorial

Día	FSP ± &	FCP ± &
0	0.9±0.876	1.1±0.876
18	1.9±0.558	1.5±0.527

n= 3

FSP: Filete sin película

FCP: Filete con película

& : Desviación estándar

La Tabla 29 evidencia una diferencia altamente significativa entre los valores de textura con un 99.0% de nivel de confianza con respecto al tiempo, por lo que fue necesario la realización de una prueba de comparación Duncan (Anexo 13), la cual mostró el incremento de los valores de textura de ambos tratamientos (con y sin película), con un promedio de 1.0 en el día inicial y 1.7

en el día 18, lo que implica la disminución de este parámetro de calidad a través del tiempo de almacenamiento.

Tabla 29. ANOVA de la textura durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración con y sin el recubrimiento de la película biodegradable

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	P	Nivel signif.
A:Tratamientos	1	0.1	0.19	0.6676	n.s
B:Tiempo	1	4.9	9.19	0.0045	**
Interacción AxB	1	0.9	1.69	0.2022	n.s
Error expe.	36	0.53			
TOTAL	39				

c) **Olor**

Tabla 30. Promedios y desviaciones estándar del olor en la escala del MIC en el análisis sensorial

Día	FSP ± &	FCP ± &
0	0.6±0.516	0.7±0.577
18	2.4±0.516	0.8±0.632

n= 3

FSP : Filete sin película

FCP : Filete con película

& : Desviación estándar

En la Tabla 31 se observa una diferencia altamente significativa entre los valores de olor para los tratamientos, tiempo e interacción de ambos factores, con un 99% de nivel de confianza, es decir, que existe diferencia entre

el filete recubierto por la película biodegradable y el filete sin película, por lo que fue necesario la realización de la prueba de comparación Duncan para los mencionados factores (Tratamientos y tiempo), así los filetes con recubrimiento, mostraron un menor valor MIC de 0.75; frente a 1.15 de los filetes sin la película, lo que indica que las películas funcionaron probablemente como un neutralizador de olor por las propiedades aromáticas del aceite esencial de muña.

Tabla 31. ANOVA del olor durante el almacenamiento de los filetes en refrigeración con y sin el recubrimiento de la película biodegradable

F. de V.	G.L	C.M.	Fc	P	Nivel signif.
A:Tratamientos	1	5.625	16.20	0.0003	**
B:Tiempo	1	9.025	25.99	0.0000	**
Interacción AxB	1	7.225	20.81	0.0001	**
Error expe.	36	0.347			
TOTAL	39				

También se encontró que el cambio de olor desde el inicio hasta la culminación fue significativo con un nivel del 99% de confianza, por lo que los filetes mostraron tener menor calidad al final de la experimentación con un índice de calidad de 1.6 con respecto a 0.61 al inicio del análisis.

Tabla 32. Prueba de comparación Duncan para la interacción
Tratamientos - Tiempo, sobre el parámetro de olor

Orden de merito	Tratamientos	Tiempo (días)	Calificativo promedio de olor	Nivel de significación
1	FSP	T2=21	2.40	a
2	FSP	T2=21	0.80	b
3	FCP	T1=0	0.70	b
4	FCP	T1=0	0.60	b

FSP: Filete sin película
FCP: Filete con película

Consecuentemente en la prueba de comparación Duncan para la interacción de los factores, presentada en la Tabla 32, se observa diferencia altamente significativa, evidenciando que en el día 0, no existía diferencia estadísticamente significativa, sin embargo al día 21 se observa los resultados son estadísticamente diferentes, para tal hecho los filetes sin recubrimiento de la película biodegradable presentan un mayor índice de deterioro en la escala del MIC.

4.2.4. Cálculo del tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable con la adición de aceite esencial de muña

Labuza (1994), indica que la metodología para la determinación del tiempo de vida útil, consiste en identificar primero las reacciones químicas y biológicas que influyen en la calidad y seguridad del alimento. En este caso se tomó al índice de peróxidos como parámetro de calidad y la ecuación de orden

cero, por corresponder a la oxidación de los lípidos que lleva al desarrollo de olores rancios.

$$t_f = \frac{Q_0 - Q_f}{k}$$

Donde:

Q_0 : Valor inicial del índice de peróxidos

Q : 20 meq/kg grasa, valor de índice de peróxido máximo permitido

k : Pendiente de la ecuación.

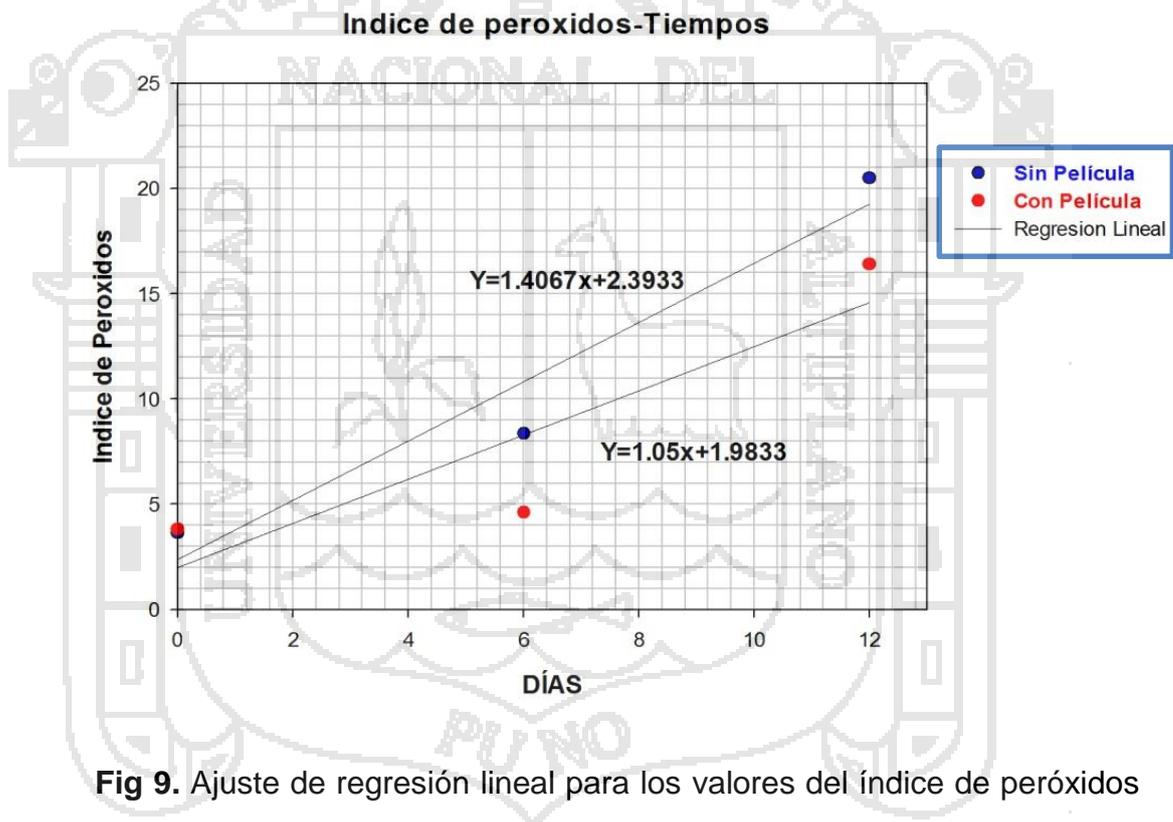


Fig 9. Ajuste de regresión lineal para los valores del índice de peróxidos de los filetes con y sin recubrimiento de la película biodegradable.

En la Figura 9 se presenta el ajuste de regresión lineal para los valores del índice de peróxidos de los filetes con y sin recubrimiento de la película biodegradable, para determinar el valor k , representado por la pendiente de la ecuación, tal como se observa en a continuación.

Tabla 33. Tiempo de vida útil de los filetes recubiertos con la película biodegradable y de los filetes sin película

	FSP	FCP
Valor k	1.4067	1.0500
Vida útil (días)	11.6372	15.4095

FSP: Filete sin película
FCP: Filete con película

En la Tabla 33, se comprueba que los filetes recubiertos con la película biodegradable presentan mayor tiempo de vida útil, con 15 días; respecto a los filetes sin el recubrimiento de la película con 12 días, estos datos registrados pueden ser considerados mucho más satisfactorios que los resultados presentados por Ccallo (2009), quien reporta una estabilidad de filetes empacados al vacío de 3 días en refrigeración, este hecho puede ser atribuido a que existen diferentes factores implicados desde la alimentación, condiciones de crianza y captura, transporte, manipuleo y finalmente el procesamiento de los filetes de trucha, que pueden influir directamente en su vida útil.

Por otro lado López de Lacey (2012), reporta un tiempo de vida de útil de 12 días para filetes de salmón recubiertos con películas biodegradables de gelatina y la adición de aceite esencial de clavo, empacados al vacío, resultado dentro del margen de tiempo encontrado en el presente trabajo de investigación.

De lo anteriormente expuesto, en la Tabla 33 se puede inferir que se logró prolongar el tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable por un período de 3 días, lo que coincide con el estudio

realizado por Souza et al., (2010) quien consiguió aumentar la vida útil del salmón (*Salmo salar*) en 3 días conservado a 0°C mediante la utilización de recubrimiento a base de quitosano, que se manifestó por una disminución de recuentos de los aerobios totales y una reducción significativa en los valores de ácido tiobarturico (TBA) a partir del noveno día de conservación.

De la misma manera los resultados encontrados, se asemejan en gran medida al estudio realizado por Ojagh, Rezaei, Razavi y Hosseini (2010), quienes reportaron que los recubrimientos basados en quitosano con aceite esencial de canela sobre trucha conservada a 4 °C, mejoraron la calidad del pescado (cuatro días), al disminuir la oxidación lipídica y el crecimiento microbiano, sin afectar a las propiedades sensoriales evaluadas (textura, color, sabor, olor y apariencia general).

4.3. Costo de elaboración de las películas biodegradables

A continuación, en las Tablas 34, 35 y 36, se presenta el costo total por película biodegradable según las formulaciones evaluadas.

Tabla 34. Costo de elaboración de la película biodegradable de gelatina

Materiales				
Materiales	Unidad	Cantidad	Valor unitario	Valor total
Gelatina	G	8	1	8
A.E de muña	MI	6	1.16	6.96
Glicerol	MI	1.2	0.03	0.04
Sorbitol	MI	1.2	0.025	0.03
Lecitina de soya	MI	1	0.03	0.03
Agua	MI	100	0.002	0.2
Placas de teflón	U	1	15	15
Equipos				
Equipos	Costo	Vida útil (años)	Costo/ Hora	Costo de uso
Balanza analítica	600	5	0.20	0.20
Agitador magnético	935	10	0.06	0.23
Estufa	6500	10	0.22	3.25
Suministro de servicios				
Servicio	Unidad	Consumo	Valor unitario	Valor total
Agua	m3	1	0.45	0.45
Luz	Kw-h	26.4	0.4	10.56
Personal				
Personas	Cantidad	Valor /Hora	Horas empleadas	Valor total
Operario	1	6	4	24
Costo total de fabricación				
Materiales	Equipos	Suministro	Personal	Costo total
30.26	3.68	11.01	24.00	68.95

Fuente: Elaboración propia

Tabla 35. Costo de elaboración de la película biodegradable de quitosano

Materiales				
Materiales	Unidad	Cantidad	Valor unitario	Valor total
Quitosano	G	1	5	5.00
A.E de muña	MI	0.75	1.16	0.870
Glicerol	MI	0.15	0.03	0.005
Sorbitol	MI	0.15	0.025	0.004
Lecitina de soya	MI	0.125	0.03	0.004
Ácido acético	MI	100	0.79	79.00
Placas de teflón	U	1	15	15.00
Equipos				
Equipos	Costo	Vida útil (años)	Costo/ Hora	Costo de uso
Balanza analítica	600	5	0.20	0.20
Agitador magnético	935	10	0.06	0.23
Estufa	6500	10	0.22	3.25
Suministro de servicios				
Servicio	Unidad	Consumo	Valor unitario	Valor total
Agua	m3	1	0.45	0.45
Luz	Kw-h	26.4	0.4	10.56
Personal				
Personas	Cantidad	Valor /Hora	Horas empleadas	Valor total
Operario	1	6	4	24
Costo total de fabricación				
Materiales	Equipos	Suministro	Personal	Costo total
99.88	3.68	11.01	24.00	138.58

Fuente: Elaboración propia

Tabla 36. Costo de elaboración de la película biodegradable de gelatina - quitosano

Materiales				
Materiales	Unidad	Cantidad	Valor unitario	Valor total
Quitosano	G	7.5	5	37.5
Gelatina	G	0.5	0.1	0.05
A.E de muña	ml	6	1.16	6.96
Glicerol	ml	1.125	0.03	0.034
Sorbitol	ml	1.125	0.025	0.028
Lecitina de soya	ml	0.94	0.03	0.028
Ácido acético	ml	50	0.79	39.5
Agua	ml	50	0.002	0.1
Placas de teflón	U	1	15	15
Equipos				
Equipos	Costo	Vida útil (años)	Costo/ Hora	Costo de uso
Balanza analítica	600	5	0.20	0.20
Agitador magnético	935	10	0.06	0.23
Estufa	6500	10	0.22	3.25
Suministro de servicios				
Servicio	Unidad	Consumo	Valor unitario	Valor total
Agua	m3	1	0.45	0.45
Luz	Kw-h	26.4	0.4	10.56
Personal				
Personas	Cantidad	Valor /Hora	Horas empleadas	Valor total
Operario	1	6	4	24
Costo total de fabricación				
Materiales	Equipos	Suministro	Personal	Costo total
99.20	3.68	11.01	24.00	137.89

Fuente: Elaboración propia

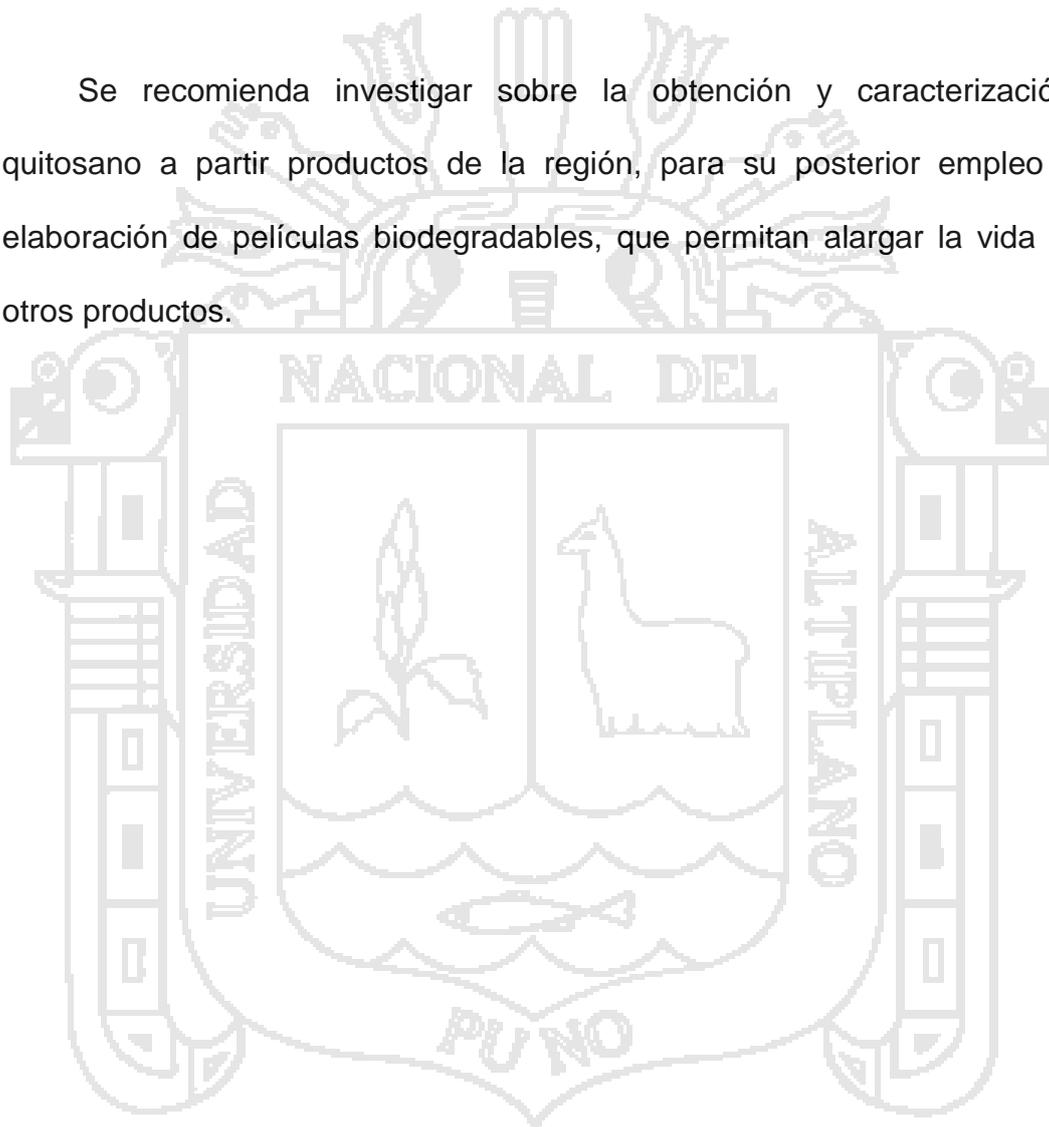
5. CONCLUSIONES

- Se prolongó el tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos por una película biodegradable de quitosano, con adición de aceite esencial de muña, empacados al vacío, en comparación a la muestra patrón (filete de trucha sin el recubrimiento de la película biodegradable empacado al vacío) por un período de 3 días, en condiciones de refrigeración.
- Se evaluaron las propiedades mecánicas: Esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) y alargamiento porcentual (%A) a las películas biodegradables a base de gelatina, quitosano y gelatina - quitosano, con adición de aceite esencial de muña, obteniendo que las películas de quitosano mostraron mejores propiedades mecánicas, con respecto a las demás formulaciones.
- El tiempo de vida útil de los filetes de trucha recubiertos con la película biodegradable de quitosano con adición de aceite esencial de muña y empacados al vacío fue de 15 días, conservados en refrigeración.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso del quitosano para la obtención de películas biodegradables, por influir de manera positiva en la conservación del producto recubierto.

Se recomienda investigar sobre la obtención y caracterización del quitosano a partir productos de la región, para su posterior empleo en la elaboración de películas biodegradables, que permitan alargar la vida útil de otros productos.



7. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, M.R. y Moss, M.O. (1995). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
- Alfonso, C.C. (2011). *Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales*. Título de especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos, UNC, Colombia.
- Association of Official Analytical Chemists. (1995). Official methods of analysis of AOAC International. 16.ed. Arlington: AOAC, p.763-776.
- Barthel, G. y W. Grosch. (1974). Peroxide value determination - comparison of some methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 51, 540-544.
- Belitz, H.D y Grosch, W. (1988). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- Bremner, H.A. y Hallett, I.C. (1985). Muscle fiber-connective tissue junctions in the blue grenadier (*Macrurus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study. *J. Food Sci.* 50, 975-980.
- Ccallo, F. (2009). *Congelación y refrigeración de filetes de trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) envasado al vacío*. Tesis de ingeniería no publicada, UNA, Puno, Perú.
- Cheftel, J.C y Cheftel, H. (1995). *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.

- Chiba, A., M. Hamaguchi, M. Kosaka, T. Tokuno, T. Asai, and S. Chichibu (1991). Quality evaluation of fish meat by ³¹P nuclear magnetic resonance. *J. Food Sci.* **56**, 660-664.
- Connell, J.J. (1975). *Control of fish quality*. Fishing News (Books) Ltd., Farnham, Surrey, UK.
- Charm, S.E. (2007). Food engineering applied to accommodate food regulations, quality and testing. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*. 16 (1): 5-8.
- Gennadios, A., Hanna, M. A., & Kurth, L. B. (1994). Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A Review. *LWT - Food Science and Technology*, 30(4), 337-350. doi: 10.1006/fstl.1996.0202
- Gonzales, C. y Choque M. (2012). Síntesis económica de Puno Agosto 2012.
- Hosseini, M. H., Razavi, S. H. y Mousavi, M. A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(6), 727-743.
- Helander, I. M., Nurmiäho-Lassila, E. L., Ahvenainen, R., Rhoades, J. y Roller, S. (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2-3), 235-244.
- Huss, H.H. (1994). Assurance of Seafood Quality. *FAO Fisheries Technical Paper N° 334*. FAO. Rome.
- Instituto Tecnológico Pesquero. (1998). Manual de ensayos de laboratorio físico – químico. Lima, Perú.
- Kanner, J. y Rosenthal, L. (1992). *An Assessment of Lipid Oxidation in foods - Technical Report*. *Pure Appl. Chem.* 64, 1959-1964.

- Labuza, T.P. (1994). Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods. *Food. Technol.*, v. 36, n.10, p. 66-74.
- Larsen, E.P., J. Heldbo, C.M. Jespersen y J. Nielsen. (1992). Development of a standard for quality assessment on fish for human consumption. 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, 351-358.
- La Republica. (2012). *Puno ocupa el primer lugar en producción de trucha a nivel nacional*. Recuperado de <http://www.larepublica.pe/29-04-2012/puno-ocupa-el-primer-lugar-en-produccion-de-trucha-nivel-nacional>.
- Lee, J.-E., Lee, B.-J., Chung, J.-O., Hwang, J.-A., Lee, S.-J., Lee, C.-H. y Hong, Y.-S. (2010). Geographical and Climatic Dependencies of Green Tea (*Camellia sinensis*) Metabolites: A ¹H NMR-Based Metabolomics Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), 10582-10589. doi: 10.1021/jf102415m.
- Leon, A. (2008). *Estabilización del músculo de trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) con Cloruro de Sodio y Trifosfato de Sodio para la elaboración de hamburguesa*. Tesis de ingeniería no publicada, UNA, Puno, Perú.
- López de Lacey, A.M.(2012). *Diseño, desarrollo y aplicación e envases comestibles potencialmente bioactivos*. Tesis de doctorado, Universidad Complutense de Madrid, España.
- Luna, D.M. (2010). *Validación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial y del extracto de *Myrtillocactus setosus**. Tesis de maestría, Universidad de Sao Paulo, Brasil.

- Mendoza,R., y Palomino,A.(2007). *Manual de cultivo de trucha Arco Iris en Jaulas*. Puno, Perú: Enriques.
- Nascimento, G.G.F., Locatelli, J., Freitas, P.C., Silva,G.L.(2000).Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic – resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*,31 (2), 247 – 256. doi: 10.1590/S1517-83822000000400003.
- Nieto, M. B. (2009). Structure and Function of Polysaccharide Gum-Based Edible Films and Coatings. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. In K. C. Huber & M. E. Embuscado (Eds.), (pp. 57-112): Springer New York.
- NTS N° 071-MINSAIDIGESAV,01 "Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano" aprobada por Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. y Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193-198.doi: 10.1016/j.foodchem.2009.10.006.
- Park, S. Y., Marsh, K. S. y Rhim, J. W. (2002). Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. [Article]. *Journal of Food Science*, 67(1), 194-197. doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb11382.x.
- Price, R.J., Melvin, E.E y Bell, E.B. (1991). Post mortem chages in chilled round, blend and dressed albacore. *Journal FD.Sci.Pag.56,2*

- Proyecto especial truchas Titicaca. (1995). Consolidación y desarrollo de la crianza de Trucha en el lago Titicaca .Puno, Perú.
- Quispe, B. (2006). *Evaluación de la conservación de filetes de trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss) con revestimiento de bacterias lácticas (Lactobacillus bulgaricus y Streptococcus thermophilus)* .Tesis de ingeniería no publicada, UNA, Puno, Perú.
- Rios, J.L. y Recio, M.C. (1988). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal Ethnopharmacol*, 100, 80-84.
- Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A. y González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 277-283. doi:10.1016/j.carbpol.2010.04.047.
- Sánchez-González, L., González-Martínez, C., Chiralt, A. y Cháfer, M. (2010). Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. *Journal of Food Engineering*, 98(4), 443-452. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.01.026.
- Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A. y Chafer, M. (2011). Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings. *Food Engineering Reviews*, 3(1), 1-16. doi: 10.1007/s12393-010-9031-3.
- McHugh, T. H. y Senesi, E. (2000). Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*, 65(3), 480-485. doi:10.1111/j.1365-2621.2000.tb16032.x.
- Schlesinger, G. (1993). Estudio de percibibilidad de salmón fresco envasado al vacío, N°2 vol 18, Chile.

- Singh, R.P. (2000). Scientific Principles of Shelf-Life Evaluation in MAN, C.M.D.; Jones, A.A.(2000). Shelf-life Evaluation of Foods. Springer.
- INTERNET:
<http://books.google.co.cr/books?id=ovoNjpn6aLUC&printsec=frontcover>
- Sikorski, Z.E., D.N. Scott y D.H. Buisson (1984). The role of collagen in the quality and processing offish. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **20**, 301-343.
- Sociedad Brasileira de los Ciencias y Tecnología de los alimentos,(2000). Manual de análisis sensorial de pruebas discriminativas y efectivas. São Paulo, Brasil.
- Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Ruiz, H. A., Martins, J. T., Casariego, A., Teixeira, J. A. y Vicente, A. A. (2010). Effect of Chitosan-Based Coatings on the Shelf Life of Salmon (*Salmo salar*). [Article]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(21), 11456-11462. doi: 10.1021/jf102366k.
- Tian, H., Xu, G., Yang, B. y Guo, G. (2011).Microstructure and mechanical properties of soy protein/agar blend films: Effect of composition and processing methods. *Journal of Food Engineering*, *107*(1), 21-26.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P. y Cullen, P. J. (2009). Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(14), 5987-6000. doi: 10.1021/jf900668n.
- Tharanathan, R.N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. *Trend in Food Science and Technology*, *14*, 71-78.doi: 10.1016/S0924-2244(02)00280-7.
- Vásconez, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J. y Gerschenson, L. N. (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca

starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42(7), 762-769. doi: 10.1016/j.foodres.2009.02.026.

Villamán, M.C. (2007). *Elaboración y caracterización de films comestibles basadas en mezclas entre proteínas de quínoa y quitosano*. Título de Ingeniería, Universidad de Chile, Chile.

Yousef, A.E. y Carlstrom, C. (2006). *Food Microbiology: A Laboratory Manual*. Zaragoza, España: Acribia.

Zetty, A.M. (2012). *Film biodegradable a base de fécula de mandioca como potencial indicador de cambio de pH*. Tesis de maestría en Ingeniería, Universidad de São Paulo, Brasil.



ANEXOS



ANEXO 1

ALBUM DE FOTOS DE LA ELABORACION DE PELÍCULAS



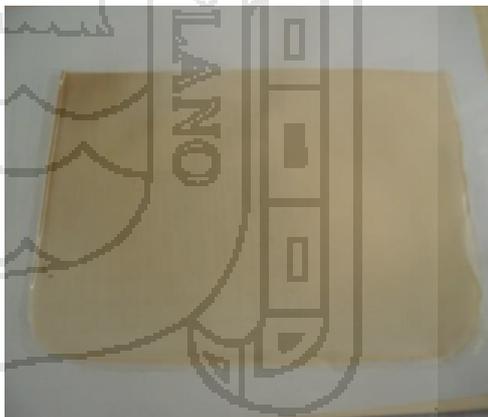
INSUMOS PARA LA ELABORACIÓN DE PELÍCULAS



ELABORACIÓN DE PELÍCULAS



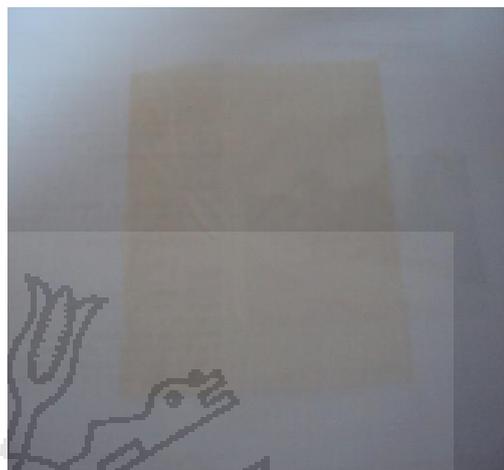
SECADO DE PELÍCULAS



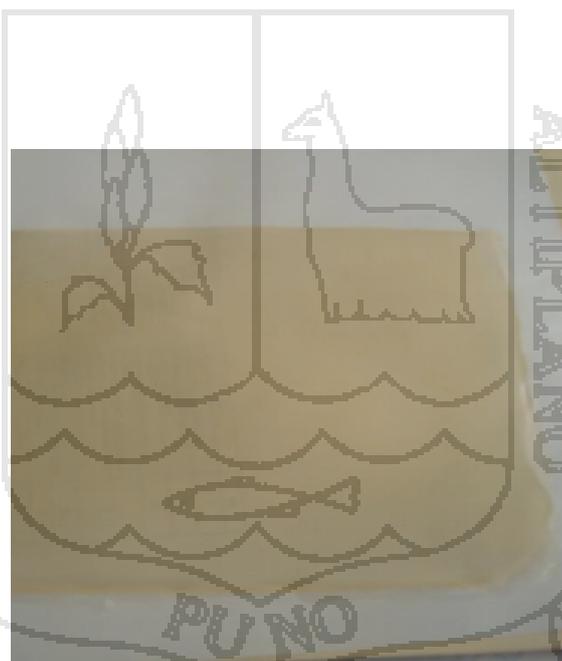
OBTENCIÓN DE LA PELÍCULA



PELÍCULA BIODEGRADABLE
DE GELATINA



PELÍCULA BIODEGRADABLE
DE QUITOSANO



PELÍCULA BIODEGRADABLE DE
GELATINA - QUITOSANO

ANEXO 2

ALBUM DE FOTOS DE LAS PRUEBAS MECANICAS REALIZADAS A LAS PELÍCULAS



MUESTRA PARA ANALISIS



MUESTRAS PARA PRUEBA
DE ESFUERZO



EVALUCIÓN DE LAS
PROPIEDADES MECÁNICAS

ANEXO 3

ALBUM DE FOTOS DE CAPACITACIÓN PARA PRUEBAS SENSORIALES



CAPACITACIÓN DE PANELISTAS A CARGO DE:
Lic.M.Sc.Adelaida VIZA SALAS - TECNOLOGA DE LOS ALIMENTOS
Universidad de São Paulo, Brasil.

ANEXO 4

ALBUM DE FOTOS DEL ENVASADO Y EMPACADO AL VACIO



MUESTRA DE TRUCHA
RECUBIERTA CON PELÍCULA



MUESTRAS ENVASADAS Y
CODIFICADAS



EMPACADO AL VACIO

ANEXO 5

ALBUM DE FOTOS DE PRUEBAS QUÍMICAS



PREPARACIÓN DE MUESTRAS
PARA EL ANÁLISIS DEL ÍNDICE
DE PERÓXIDOS



PESADO DE MUESTRA PARA
EL ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE
PERÓXIDOS



EXTRACCIÓN DE LA GRASA
DE PESCADO



ADICIÓN DE REACTIVO



VIRADO DE COLOR A
MORADO



TITULACIÓN DE MUESTRAS
PARA DETERMINAR GASTO



REGISTRO DE GASTO



PESADO DE MUESTRA PARA
DETERMINACIÓN DE
ACTIVIDAD DE AGUA



DISPOSICIÓN DE MUESTRA
EN EL EQUIPO AQUALAB

DETERMINACIÓN DE LA
ACTIVIDAD DE AGUA



ANEXO 6

ALBUM DE FOTOS DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS



AUTOCLAVE



SS AGAR PARA
DETERMINACIÓN DE
Salmonella sp.



LICUADO DE LA MUESTRA



DILUCIÓN DE MUESTRA



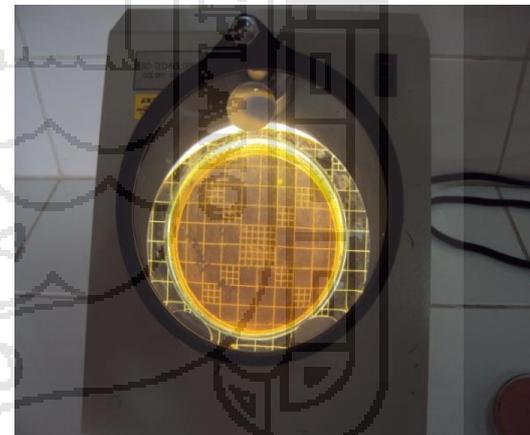
PLAQUEO DE INÓCULO EN
AGAR



CODIFICACIÓN DE PLACAS

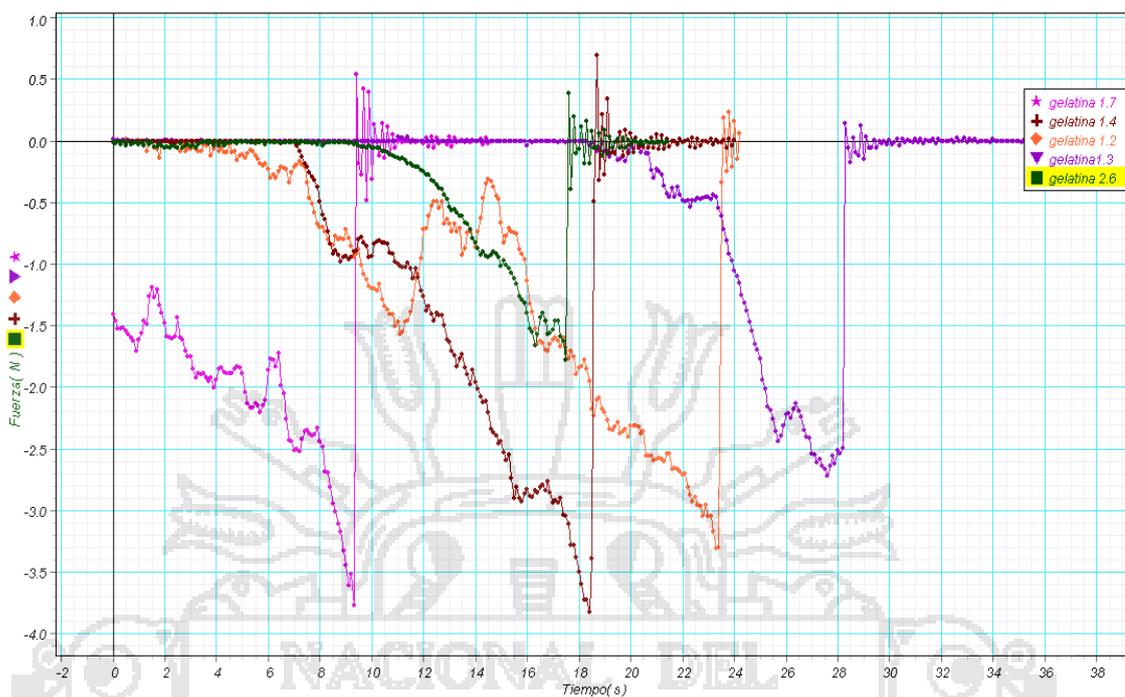


INCUBACIÓN DE PLACAS

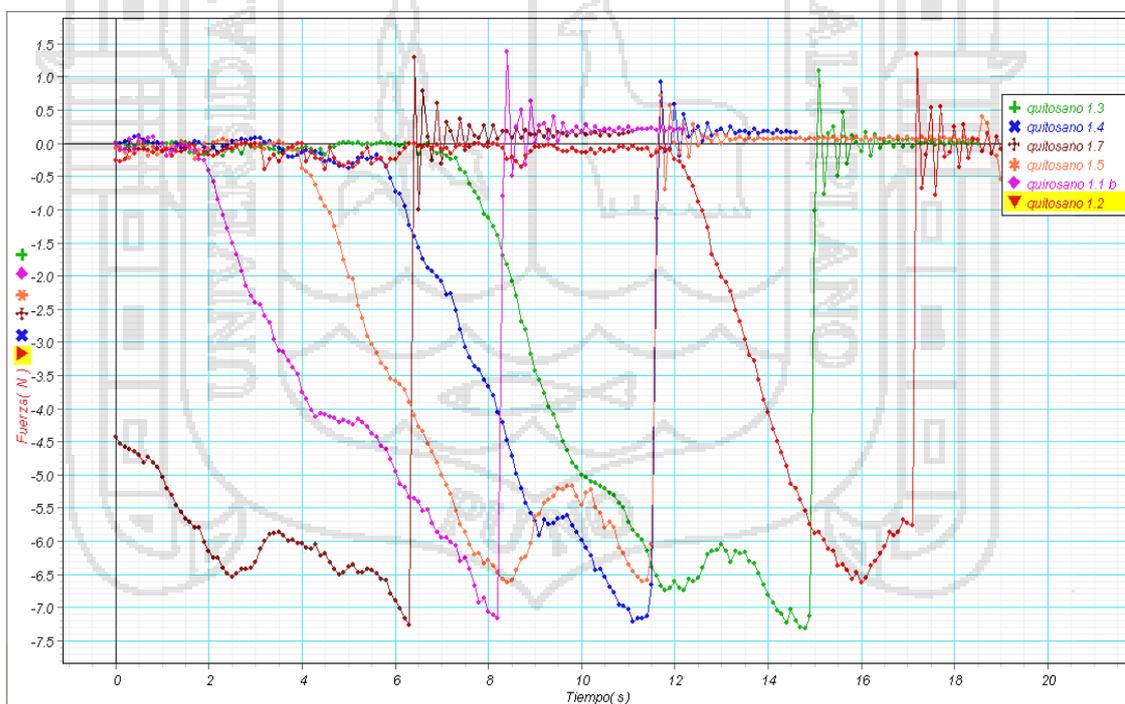


CONTEO DE UFC EN EL
CUENTA COLONIAS

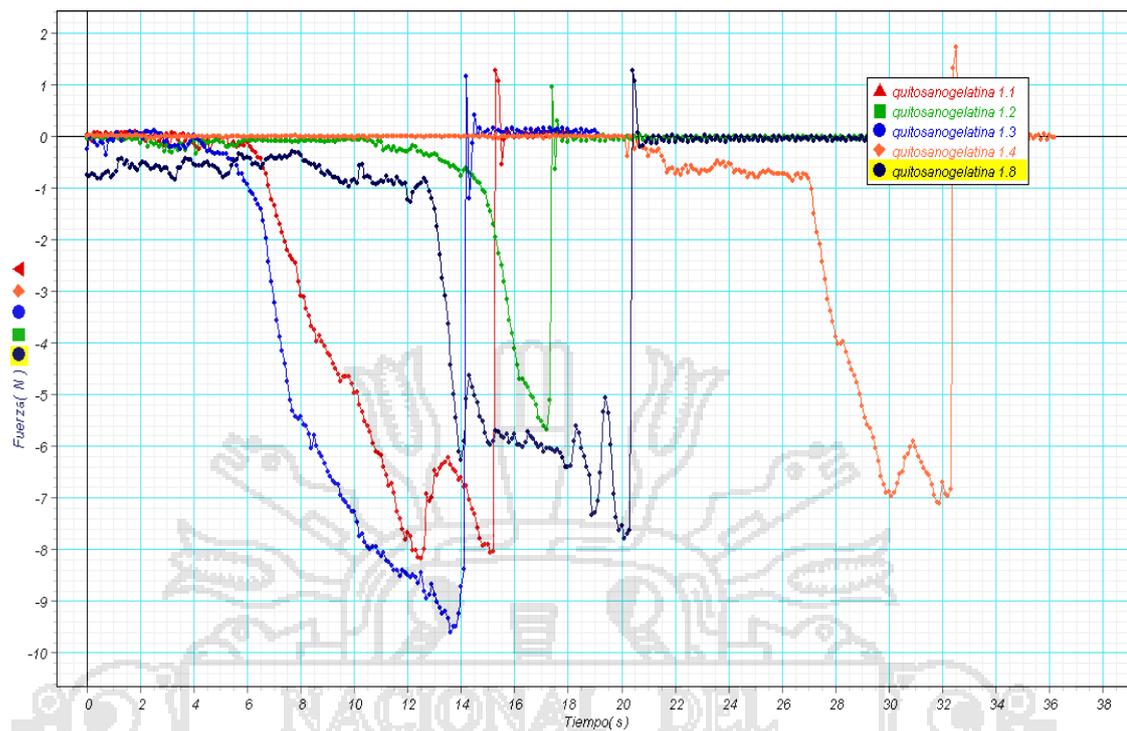
ANEXO 6



CURVAS DE ESFUERZO DE TRACCIÓN A LA RUPTURA DE LAS PELÍCULAS GELATINA

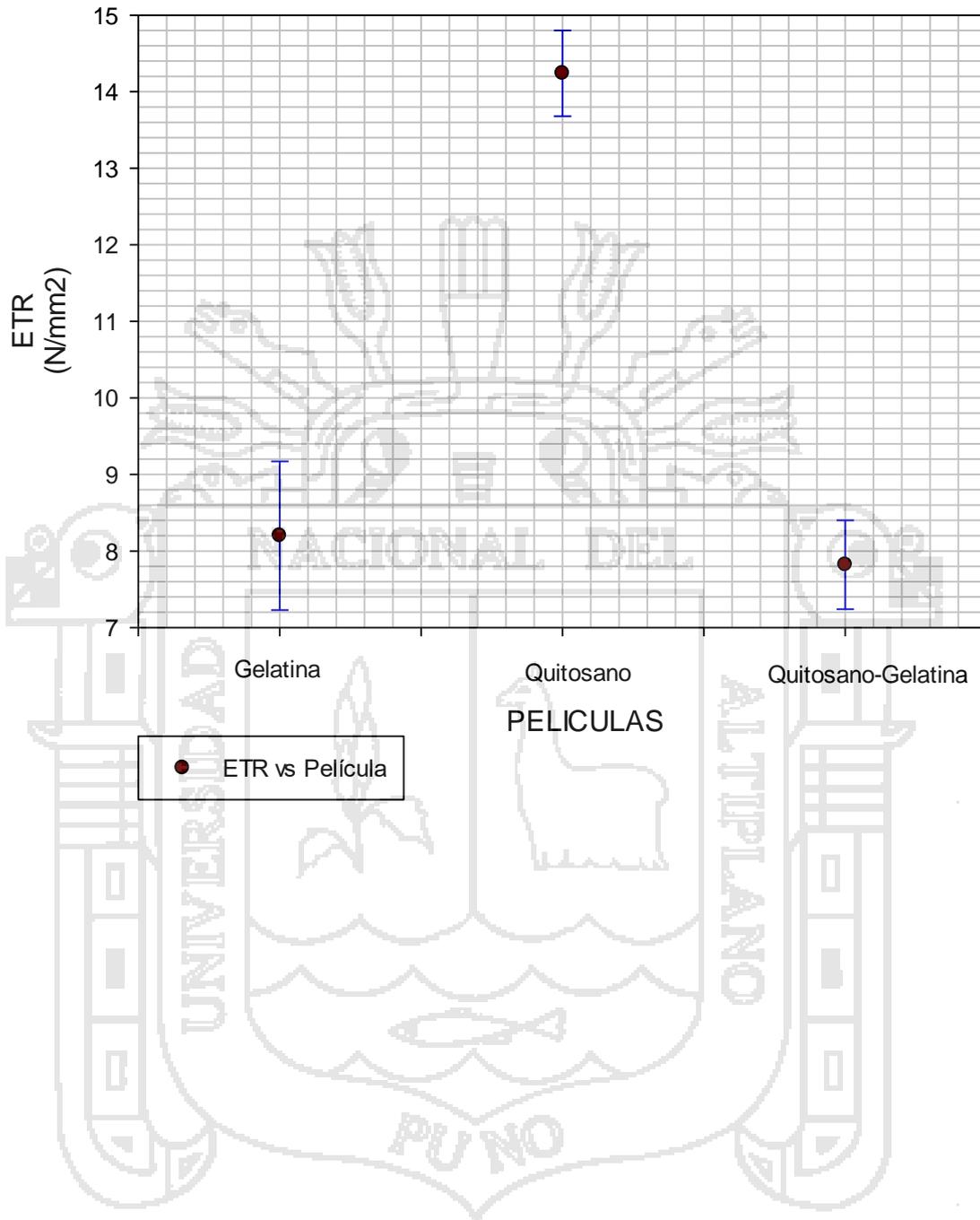


CURVAS DE ESFUERZO DE TRACCIÓN A LA RUPTURA DE LAS PELÍCULAS QUITOSANO

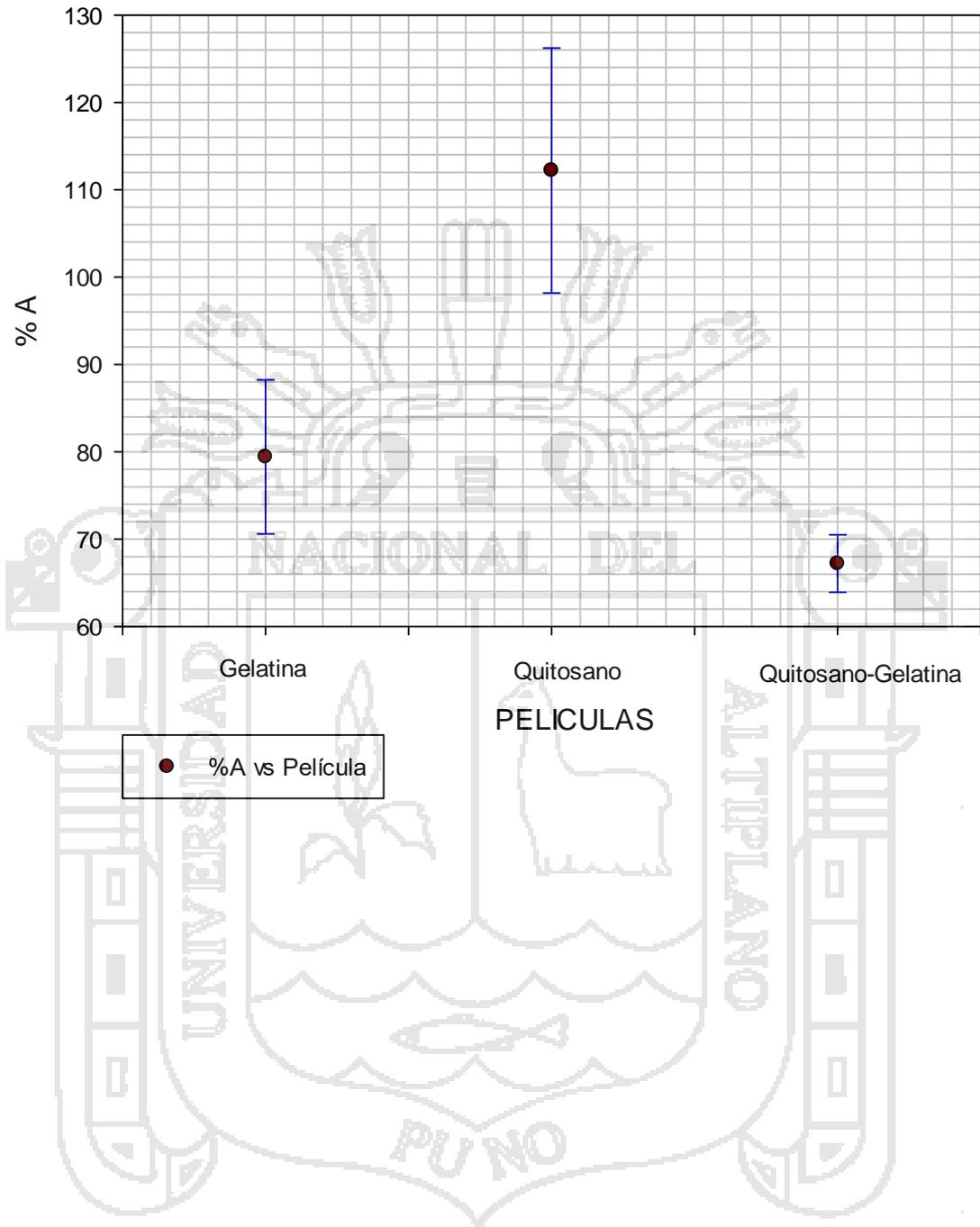


CURVAS DE ESFUERZO DE TRACCIÓN A LA RUPTURA DE LAS PELÍCULAS QUITOSANO - GELATINA

ETR -Películas



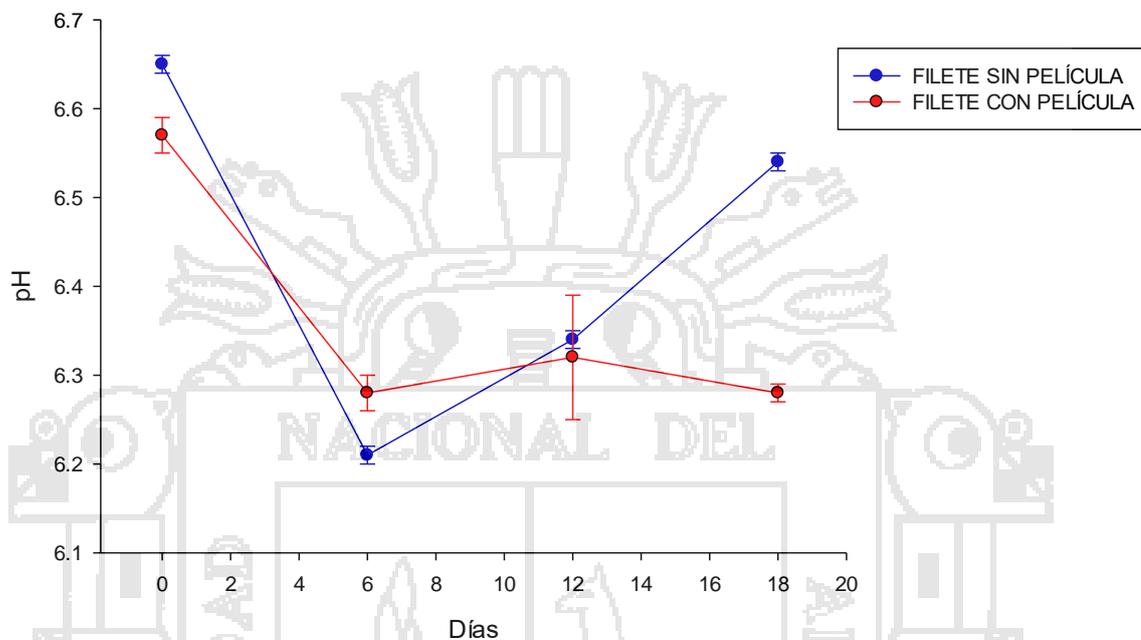
%A -Películas



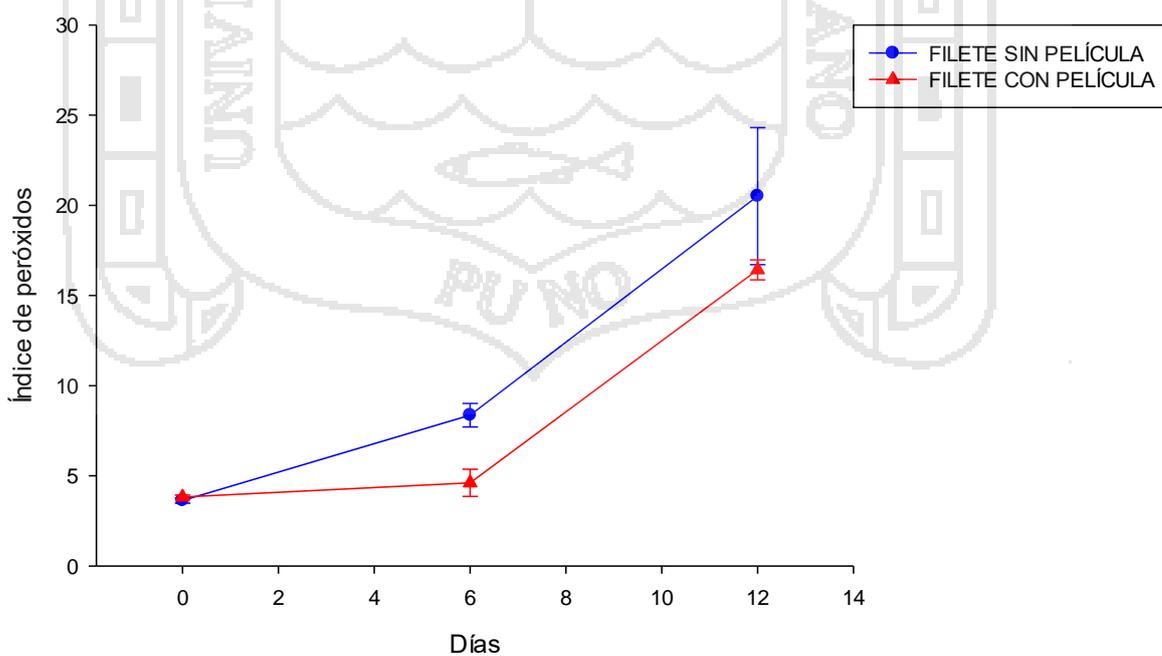
ANEXO 7

FIGURAS DE PRUEBAS QUÍMICAS

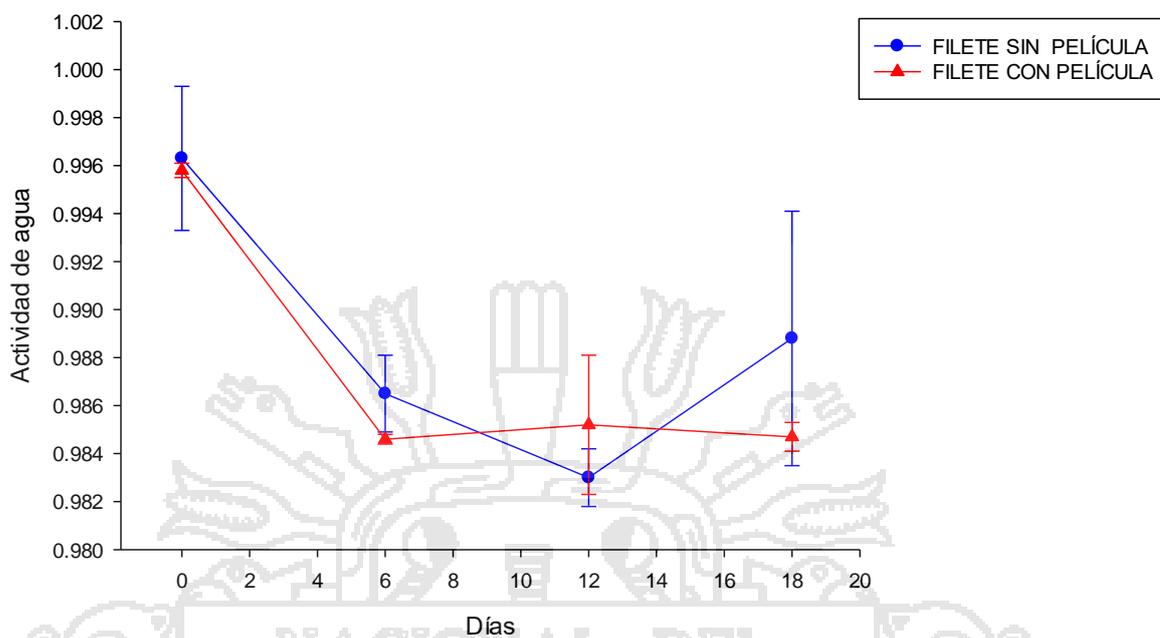
pH - TIEMPO



ÍNDICE DE PERÓXIDOS - TIEMPO



Actividad de agua - Tiempo



ANEXO 08**VALORES DEL ESFUERZO DE TRACCIÓN EN LA RUPTURA DE LA PELÍCULA BIODEGRADABLE DE GELATINA**

Repeticiones	Espesor (mm)	Ancho(mm)	AR	Carga (N)	ETR (N/mm ²)
1	0.05	10	0.5	3.77	7.540
2	0.05	10	0.5	3.83	7.660
3	0.06	10	0.6	4.39	7.317
4	0.07	10	0.7	6.31	9.014
5	0.07	10	0.7	6.63	9.471

VALORES DEL ESFUERZO DE TRACCIÓN EN LA RUPTURA DE LA PELÍCULA BIODEGRADABLE DE QUITOSANO

Repeticiones	Espesor (mm)	Ancho(mm)	AR	Carga (N)	ETR (N/mm ²)
1	0.05	10	0.5	7.17	14.34
2	0.05	10	0.5	6.63	13.26
3	0.05	10	0.5	7.31	14.62
4	0.05	10	0.5	7.21	14.42
5	0.05	10	0.5	7.27	14.54

VALORES DEL ESFUERZO DE TRACCIÓN EN LA RUPTURA DE LA PELÍCULA BIODEGRADABLE DE GELATINA - QUITOSANO

Repeticiones	Espesor (mm)	Ancho(mm)	AR	Carga (N)	ETR (N/mm ²)
1	0.183	10	1.83	8.61	4.705
2	0.12	10	1.2	7.10	5.917
3	0.067	10	0.67	5.67	8.463
4	0.153	10	1.53	7.78	5.085
5	0.06	10	0.6	4.76	7.933

VALORES DEL ALARGAMIENTO PORCENTUAL DE LA PELÍCULA BIODEGRADABLE DE GELATINA

Repeticiones	Df	Di	Df - Di	Df - Di/Di	%A
1	5.02	3	2.02	0.67	67.48
2	5.29	3	2.29	0.76	76.32
3	5.32	3	2.32	0.77	77.47
4	5.57	3	2.57	0.86	85.61
5	5.71	3	2.71	0.90	90.22

VALORES DEL ALARGAMIENTO PORCENTUAL DE LA PELÍCULA
BIODEGRADABLE DE QUITOSANO

Repeticiones	Df	Di	Df - Di	Df - Di/Di	%A
1	6.01	3	3.01	1.00	100.46
2	6.09	3	3.09	1.03	102.92
3	6.10	3	3.10	1.03	103.45
4	6.68	3	3.68	1.23	122.55
5	6.95	3	3.95	1.32	131.65

VALORES DEL ALARGAMIENTO PORCENTUAL DE LA PELÍCULA
BIODEGRADABLE DE GELATINA - QUITOSANO

Repeticiones	Df	Di	Df - Di	Df - Di/Di	%A
1	4.86	3	1.86	0.62	61.98
2	4.98	3	1.98	0.66	66.11
3	5.05	3	2.05	0.68	68.44
4	5.08	3	2.08	0.69	69.40
5	5.10	3	2.10	0.70	70.10

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE PROPIEDADES MECÁNICAS DE
LAS PELÍCULAS

FORMULACIÓN	ETR (N/mm ²)	%A
GELATINA	7.317	67.48
	7.540	76.32
	7.660	77.47
	9.014	85.61
	9.471	90.22
QUITOSANO	13.26	100.46
	14.34	102.92
	14.42	103.45
	14.54	122.55
	14.62	131.65
GELATINA/QUITOSANO	4.705	61.98
	5.085	66.11
	5.917	68.44
	7.933	69.40
	8.463	70.10

ANEXO 09

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE pH

MUESTRA TIEMPO (Días)	FILETE CON PELÍCULA				FILETE SIN PELÍCULA			
	0	6	12	18	0	6	12	18
1	6.59	6.28	6.40	6.28	6.64	6.21	6.34	6.55
2	6.55	6.26	6.30	6.28	6.65	6.22	6.33	6.53
3	6.57	6.29	6.27	6.27	6.66	6.20	6.35	6.54
PROMEDIO	6.57	6.28	6.32	6.28	6.65	6.21	6.34	6.54

PRUEBA DE COMPARACIÓN DE DUNCAN DEL pH CON RESPECTO A LOS
TRATAMIENTO

Tratamientos	Promedio	Sig. ≤ 0.01
Sin película	6.42	a
Con película	6.36	b

PRUEBA DE COMPARACIÓN DE DUNCAN DEL pH CON RESPECTO AL
TIEMPO

Orden de merito	Tiempo (días)	Promedio	Sig. ≤ 0.01
1	0	6.61	a
2	18	6.41	b
3	12	6.33	c
4	6	6.24	d

ANEXO 10

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS

MUESTRA TIEMPO (Días)	FILETE CON PELÍCULA			FILETE SIN PELÍCULA		
	0	6	12	0	6	12
1	3.75	4.17	16	3.47	8.75	16.80
2	3.75	5.48	16.21	3.72	8.73	20.33
3	3.95	4.19	17.05	3.71	7.61	24.39
PROMEDIO	3.82	4.61	16.42	3.63	8.36	20.51



ANEXO 11

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD DE AGUA

MUESTRA TIEMPO (Días)	FILETE CON PELÍCULA				FILETE SIN PELÍCULA			
	0	6	12	18	0	6	12	18
1	0.9958	0.9844	0.982	0.9848	0.9966	0.9874	0.9826	0.9934
2	0.9955	0.9846	0.9859	0.9853	0.9961	0.9874	0.9844	0.9899
3	0.9961	0.9847	0.9877	0.9841	0.9962	0.9846	0.9821	0.9830
PROMEDIO	0.9958	0.9846	0.9852	0.9847	0.9963	0.9865	0.9830	0.9888



ANEXO 12**RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DE LAS MUESTRAS DE TRUCHA POR PANELISTAS SEMIENTRENADOS****Aspecto**

MUESTRA	Con Película		Sin Película	
	0	18	0	18
TIEMPO(Días)	0	18	0	18
1	0	1	1	2
2	1	1	0	1
3	1	1	1	3
4	2	0	2	2
5	2	1	0	1
6	2	1	1	2
7	2	2	2	1
8	0	1	0	1
9	1	2	1	3
10	0	1	2	2

Textura

MUESTRA	Con Película		Sin Película	
	0	18	0	18
TIEMPO(Días)	0	18	0	18
1	0	1	1	2
2	1	2	1	1
3	1	1	1	1
4	2	2	3	2
5	2	1	1	2
6	2	2	0	2
7	2	1	1	3
8	0	1	0	2
9	1	2	1	2
10	0	2	0	2

Olor

MUESTRA	Con Película		Sin Película	
	0	18	0	18
1	1	1	1	2
2	0	1	1	3
3	1	0	0	2
4	0	2	1	2
5	1	1	1	3
6	2	0	1	2
7	1	1	0	2
8	1	0	0	3
9	0	1	0	2
10	0	1	1	3

Día 0**Lugar :** Lab. de Pastas y Harinas**Fecha:** 20/11/13**Hora :** 3 p.m**Día 18****Lugar :** Lab. de Pastas y Harinas**Fecha:** 09/12/13**Hora :** 3 p.m

ANEXO 13**PRUEBA DE COMPARACIÓN DE DUNCAN DE LA TEXTURA CON
RESPECTO AL TIEMPO**

Tiempo	Promedio	Nivel de significancia
0	1.0	a
21	1.7	b

**PRUEBA DE COMPARACIÓN DE DUNCAN DEL OLOR CON RESPECTO A
LOS TRATAMIENTO**

Tratamientos	Promedio	Nivel de significancia
Con película	0.75	a
Sin película	1.15	b

**PRUEBA DE COMPARACIÓN DE DUNCAN DEL OLOR CON RESPECTO AL
TIEMPO**

Tiempo	Promedio	Nivel de significancia
0	0.61	a
21	1.6	b

ANEXO 14

La Norma Técnica Sanitaria N°071 dispuesta por la DIGESA (Dirección General de Salud Ambiental) establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. dispone parámetros para los productos hidrobiológicos crudos (frescos. refrigerados. salpessos o ahumados en frio) como se observa en el siguiente cuadro.

Agentes microbianos	Categoría	Clase	N	C	Límites	
					M	Por g
A. mesofilos (30°)	1	3	5	3	$5 * 10^5$	10^6
<i>E. coli</i>	4	3	5	3	10	10^2
<i>Saphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10^2	10^3
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g

Fuente: Norma Sanitaria – DIGESA.

ANEXO 15

Formato de Evaluación Sensorial

FICHA DE EVALUACION SENSORIAL: Identificación del Índice de Calidad mediante deméritos

Nombre: _____ Fecha: _____

Por favor pruebe las muestras, e indique su nivel de agrado marcando con un círculo en la escala que mejor describa su reacción para cada uno de los atributos.

Parámetro de calidad	Característica	Puntuación
Aspecto	Brillante resplandeciente	0
	Brillante	1
	Color natural	2
	Opaco	3
Textura	Firme	0
	Elástica	1
	Blanda	2
	Plástica	3
Olor	Fresco	0
	Neutro	1
	Agrio	2
	Descompuesto	3

Comentarios:

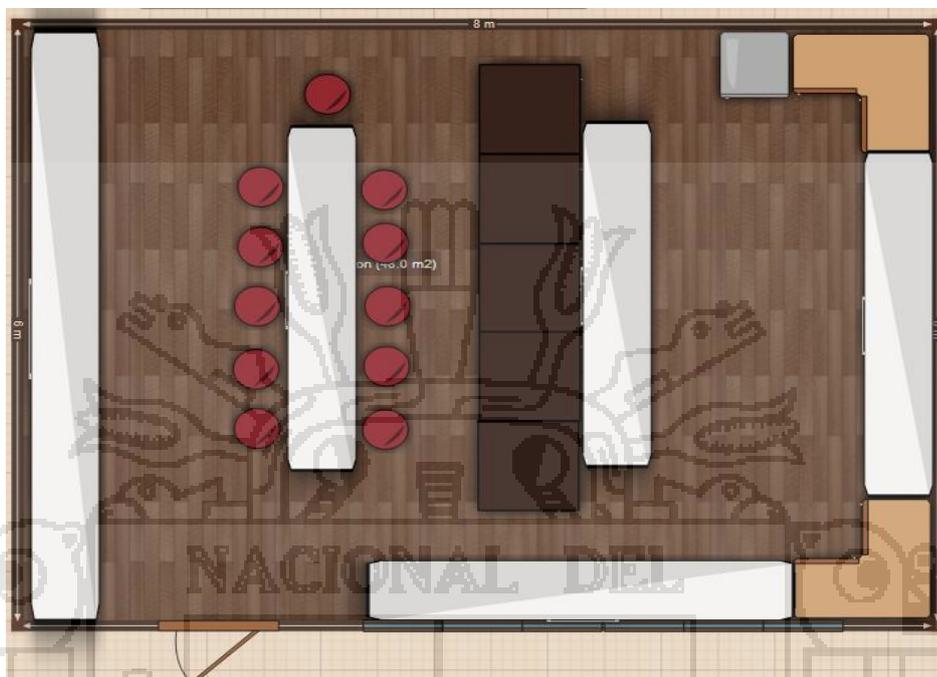
.....

.....

.....

GRACIAS.

ANEXO 16

DISPOSICIÓN - *LAYOUT* EN 2D DEL LABORATORIO PARA EL
DESARROLLO DEL ANÁLISIS SENSORIALDISPOSICIÓN - *LAYOUT* EN 3D DEL LABORATORIO PARA EL
DESARROLLO DEL ANÁLISIS SENSORIAL



Universidad Nacional del Altiplano - Puno
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Ciudad Universitaria, Av. Sesquicentenario N° 1150, Telf.: (051)599430 / IP. 10301 / (051) 366080



LABORATORIO DE EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE ALIMENTOS

INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS
Nro. 0002-2014

SOLICITANTE : LISBET CCOPA MAMANI
 TESIS : E.P. INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
 PRODUCTO : FILETE DE TRUCHA
 ANALISIS SOLICITADO : -I. PEROXIDOS
 -ACTIVIDAD D'AGUA
 FECHA DE RECEPCION : 22 de Noviembre del 2013
 FECHA DE ENSAYO : 22 de Noviembre del 2013 al 07 de Enero del 2014
 FECHA DE EMISION : 08 de Enero del 2014

RESULTADOS:

De acuerdo al Informe de los Análisis de Laboratorio que obra en los archivos los resultados son:

1. **RESULTADOS DE: INDICE DE PEROXIDOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LOS FILETES DE TRUCHA EN REFRIGERACION.**

MUESTRAS	0 DIAS	6 DIAS	12 DIAS
	Meq/kg	Meq/kg	Meq/kg
FILETE SIN PELICULA	3,63	8,36	20,51
FILETE CON PELICULA	3,82	4,61	16,42

2. **RESULTADOS DE: EVALUACION DE INDICE DE PEROXIDOS.**

MUESTRA	FILETE CON PELICULA			FILETE SIN PELICULA		
	0 DIAS Meq/kg	6 DIAS Meq/kg	12 DIAS Meq/kg	0 DIAS Meq/kg	6 DIAS Meq/kg	12 DIAS Meq/kg
1	3,75	4,17	16,00	3,47	8,75	16,8
2	3,75	5,48	16,21	3,72	8,73	20,33
3	3,95	4,19	17,05	3,71	7,61	24,39

3. **RESULTADOS DE: EVALUACION DE ACTIVIDAD DE AGUA.**

MUESTRA	FILETE CON PELICULA				FILETE SIN PELICULA			
	0 DIAS	6 DIAS	12 DIAS	18 DIAS	0 DIAS	6 DIAS	12 DIAS	18 DIAS
1	0,9958	0,9844	0,9820	0,9848	0,9966	0,9874	0,9826	0,9934
2	0,9955	0,9846	0,9859	0,9853	0,9961	0,9874	0,9844	0,9899
3	0,9961	0,9847	0,9877	0,9841	0,9962	0,9846	0,9821	0,9830

CONCLUSIÓN : Los resultados de los ensayos están conformes.

Puno, C. U. 08 de Enero del 2014



Ing. OSWALDO ANAS ALCA
 Central de Calidad de Alimentos
 ANALISIS LABORATORIO



Ph.D. Juan Marcos Aro Aro
 Director
 E.P. Ingeniería Agroindustrial

E-mail: direccion.epiai@unap.edu.pe