



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

PRINCIPALES CAMBIOS FÍSICO-QUÍMICOS Y ORGANOLÉPTICOS DEL
ATÚN CONGELADO POR LAS EMPRESAS CANNAVO S.A., CUMANÁ,
ESTADO SUCRE. (Modalidad: Investigación)

YEINDRISK ISABEL SIMONOVIS MARCANO

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CUMANÁ 2009

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
LISTA DE TABLAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	7
1.- Origen de las muestras	7
2.- Muestras	7
3.- Extracción y tratamiento de las muestras	8
4.- Características organolépticas	9
5.-Análisis físico-químico	9
5.1.- pH	9
5.2.-Actividad de agua (Aw)	9
5.3.- Humedad	10
5.4.- Cloruro de Sodio (NaCl)	10
5.5.-Trimetil-Amina (TMA)	11
5.6.- Nitrógeno básico volátil total (NBVT)	12
5.7.- Histamina	12
6.- Análisis Estadístico	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
1.- Características organolépticas	14
2.- Análisis físico-químicos	15

2.1.- pH	15
2.2.- Aw	22
2.3.- Humedad	25
2.4.- NaCl	30
2.5.- Nitrógeno básico volátil total (NBTV) y trimetilamina (TMA)	34
2.6.- Histamina	42
CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXOS	54
Anexo 1.-Apreciación de frescura, según Comunidad Económica Europea. Consejo de regulación N°103/76 OJ N° L20 (1976)	54
Anexo 2.-Normas de calificación de atún entero o cortado destinado a procesamiento “Report of International Tuna Canning Workshop”: Department of Fisheries & Oceans (1987).	56
HOJA DE METADATOS	57

DEDICATORIA

-A Dios todopoderoso, que me ilumina todos los días de mi vida.

-A mis Padres, Tomás e Isabel, que me dieron apoyo y ánimos de continuar durante mi carrera.

-A mi esposo Javier Pérez, gracias por ayudarme, por ser parte de este logro, por estar a mi lado siempre y en todo momento.

-A mi hijo Roberto Javier, por ser la luz de mi vida.

-A mis hermanos: Ludwing, Beruska y Seguis, quienes de uno u otra manera me apoyaron.

-A mis sobrinas, María Fernanda, Junior, Sergio, Valeria y Wladimir, que esto le sirva de estímulo para alcanzar sus metas propuestas.

AGRADECIMIENTO

- A la Universidad de Oriente, por permitir mi preparación profesional.
- Al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación.
- A la empresa AVECAISA, especialmente a la TSU Gracia Guevara y todo el personal del laboratorio de Control de Calidad, por permitirme la realización del análisis de histamina en sus instalaciones.
- A las empresas Cannavo, S.A por donarme las unidades experimentales y algunos reactivos necesarios para los análisis.
- Al Ing. Manuel Pérez y la Lic. Rosita Cannavo, por su colaboración incondicional en la elaboración de este proyecto.
- A la Profa. Ana Mercedes Cabello, por brindarme su asesoría industrial, su apoyo y sus sabios consejos.
- A la Profa. Luz Bettina Villalobos, por su asesoría, sus consejos y su empeño en que culminara el manuscrito.
- A la Profa. Aracelis Torres, quien estuvo en todos los momentos de mi vida estudiantil y por presidir los análisis metodológicos y estadísticos de este trabajo.
- Al TSU Osmicar Vallenilla, quien guió mi desempeño en el laboratorio de planta piloto del INIA y me aportó grandes conocimientos sobre el área.
- A Henry Córdova, por su paciencia y colaboración en el momento de la transcripción del manuscrito; gracias por todo el tiempo que me dedicaste.
- A mis amigos Yeisy, Yorlen, Daniel, Siulmary y Rolando, con ellos compartí durante toda mi carrera.
- Y finalmente quiero agradecer a todas las personas que me ayudaron en la realización de este proyecto y no son nombrados en estos agradecimientos.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de evaluación sensorial, realizada a los dos lotes de túnidos, en el momento de su descarga y durante su almacenamiento a -18°C en el frigorífico. ___	15
Tabla 2. Resultados promedios de los análisis físico-químicos del 1 ^{er} lote de atún almacenado bajo congelación. _____	17
Tabla 3. Resultados promedios de los análisis físico-químicos del 2 ^{do} lote de atún almacenado bajo congelación. _____	18
Tabla 4. Resumen del Análisis de Varianza Doble para los valores de pH según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados. _____	19
Tabla 5. Resumen estadístico para los valores de pH según los días de almacenamiento. _____	20
Tabla 6. Resumen estadístico para valores de pH según los lotes de atún almacenado. _____	21
Tabla 7. Resumen de los índices de relación lineal simple entre las variables fisicoquímicas y el tiempo de almacenamiento en el primer lote de muestras de atún. _____	22
Tabla 8. Índices de relación lineal simple entre las variables fisicoquímicas y el tiempo de almacenamiento en el segundo lote de muestras de atún. _____	22
Tabla 9. Resumen del análisis de varianza doble para los valores de A_w según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluado. _____	24
Tabla 10. Resumen estadístico para los valores de A_w según los días de almacenamiento. _____	25
Tabla 11. Resumen del Análisis de Varianza Doble para el porcentaje de humedad según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados. _____	27
Tabla 12. Resumen estadístico para los porcentajes de humedad según los días de almacenamiento. _____	28

Tabla 13. Resumen del análisis de Varianza Doble para el porcentaje de NaCl según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluado. _____	32
Tabla 14. Resumen estadístico para el porcentaje de NaCl según los lotes de atún evaluado. _____	33
Tabla 15. Resumen del análisis de Varianza Doble para los niveles de NBVT (mg/100 g) según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluado. _____	37
Tabla 16. Resumen estadístico para los niveles de NBVT (mg/100 g) según los días de almacenamiento. _____	39
Tabla 17. Resumen del Análisis de Varianza Doble para los niveles de TMA (mg TMA/100g) según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados. _____	41
Tabla 18. Resumen estadístico para los niveles de TMA (mg TMA/100g) según los lotes de atún evaluados. _____	41
Tabla 19. Resumen del Análisis de Varianza Doble para los niveles de Histamina según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados. _____	47
Tabla 20. Resumen estadístico para los niveles de histamina según los días de almacenamiento. _____	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Valores promedios de pH obtenidos durante el tiempo de almacenamiento (días) de ambos lotes de atún. _____	18
Figura 2. Valores promedios de los niveles de Actividad de Agua (Aw) obtenidos durante todo el tiempo de almacenamiento de los dos lotes de atún. _____	23
Figura 3. Comportamiento de los valores promedios del porcentaje de humedad durante el almacenamiento de los dos lotes de atún. _____	27
Figura 4. Regresión lineal entre los días de almacenamiento y el porcentaje de humedad en el primer y segundo lote evaluado A y B respectivamente. _____	30
Figura 5. Comportamiento de los valores promedios del porcentaje de NaCl durante el almacenamiento de los dos lotes de atún. _____	32
Figura 6. Regresión lineal entre los días de almacenamiento y la concentración de NaCl de los atunes del 2 ^{do} lote evaluado. _____	34
Figura 7. Regresión lineal entre los días de almacenamiento y la concentración de NBVT del atún del 2 ^{do} lote evaluado. _____	39
Figura 8. Valores promedios de los niveles de TMA obtenidos durante todo el tiempo de almacenamiento de los dos lotes de atún. _____	42
Figura 9. Porcentaje de atunes que resultaron positivos al análisis de histamina en los 48 ejemplares almacenados. _____	44
Figura 10. Porcentaje de atunes que resultaron positivos al análisis de histamina en cada uno de los lotes almacenados. _____	44
Figura 11. Comportamiento de los valores promedios de los niveles de histamina durante el almacenamiento de los dos lotes de atún. _____	45
Figura 12. Regresión lineal entre los días de almacenamiento del atún y la concentración Histamina en el primer lote muestreado. _____	48

RESUMEN

Se evaluaron los cambios organolépticos y físico-químicos de 2 lotes de atún congelados por separado durante 78 días cada uno, tomándose muestras semanalmente. Para los cambios organolépticos se utilizó el criterio de la Comunidad Económica Europea presentado por Huss, 1991. Las determinaciones del cloruro de sodio (NaCl), humedad, actividad de agua (A_w) y trimetilamina (TMA) se realizaron por los métodos de la AOAC 1975 y 1980 respectivamente para el primero y los tres últimos. El pH y el nitrógeno básico volátil total (NBVT) se evaluaron por COVENIN 1315-79 y 1948-82, y la histamina se determinó por el método semiautomático veratox Elisa 1997. Los resultados del análisis organoléptico y físico-químico, mostraron que ambos lotes cumplieron con los límites establecidos para la comercialización. El Anova doble reveló diferencias significativas en el pH, A_w , Humedad, NBVT e Histamina, según los días de almacenamiento, mientras que según los lotes evaluados y los niveles de pH, NaCl y TMA se encontraron diferencias altamente significativas, producto de las labores de pesca y variaciones en la temperatura de almacenamiento dentro y fuera de la embarcación. El tiempo de almacenamiento afectó a los niveles de humedad, de ambos lotes causando una disminución en este parámetro producto de la desnaturalización de las proteínas musculares y la sublimación de los cristales de hielo. Los niveles de NaCl y TMA del 2^{do} lote aumentaron a lo largo del período de almacenamiento producto del tiempo de campaña y fluctuaciones en las temperaturas dentro de la embarcación y en el frigorífico.

INTRODUCCIÓN

Los túnidos pertenecen al grupo de los teléosteos, orden Perciformes, suborden Scombroidei, familia Scombridae, a la que pertenecen, además de los “atunes”, "bonitos", "cabañas", "albacoras", "carites" y otros. Son pelágicos oceánicos, alcanzando algunas tallas muy grandes y pesos considerables. Tienen una amplia distribución geográfica. Las especies más conocidas de atún son: *Thunnus albacores*, *Katsuwonus pelamis*, *Thunnus obesus*, *Thunnus alalunga* y *Thunnus thynnus*. Las características comunes de los túnidos son el cuerpo uniforme a secciones circulares, cubierto de pequeñas escamas cicloideas, aleta caudal bifurcada a menudo semilunar; dos aletas dorsales y una anal, la aleta ventral está ubicada en posición tórsica; poseen generalmente un color azul intenso o verde oscuro en el dorso y el vientre puede presentar matices y manchas (Giménez, 1990).

El atún se constituye como uno de los recursos pesqueros de mayor interés comercial a escala mundial. Es un recurso con características propias muy definidas que lo hacen diferente a los demás, entre estas características se pueden citar las siguientes: son peces veloces, de sangre caliente y tienen un alto índice metabólico, pueden nadar a diferentes temperaturas, a diferencia de otros peces para los cuales este factor constituye una barrera, pueden migrar rápidamente a grandes distancias y sumergirse a grandes profundidades (Chimpén, 2002).

La pesca industrial de atún constituía una de las actividades más importantes en la economía del país para el año 2001, los desembarques de la flota atunera venezolana fueron de 127 742 toneladas, provenientes mayoritariamente de embarcaciones cerqueras que operan principalmente en el océano Pacífico, siendo el atún aleta amarilla la especie predominante en las capturas (Marcano *et al.*, 2002).

El deterioro de los atunes, al igual que en otros alimentos de origen marino, se manifiesta a través de cambios en la apariencia, olor, color, sabor y textura, sin embargo, antes de que estos cambios puedan ser observados, ocurren en el pescado una serie de fenómenos que irremediablemente conducen a su descomposición si no se toman medidas necesarias para su preservación (Sánchez, 2002).

En el momento de la muerte, del pez dejan de funcionar sus sistemas normales de regulación y se inician una serie de procesos y cambios; entre los cuales se destacan: la autólisis y catabolismo de los nucleótidos, cambios autolíticos que involucran enzimas proteolíticas, la oxidación del óxido de trimetilamina (OTMA) o descomposición de éste último para formar dimetilamina (DMA), trimetilamina (TMA), formaldehído (FA). Otro cambio post-mortem sumamente importante es el agotamiento rápido del ATP, pues los peces tienen cantidades relativamente bajas de glucógeno comparado con el músculo de los mamíferos, por lo tanto, este agotamiento de ATP, luego de la muerte del pez, eleva el pH y esto hace que la carne del pescado sea más susceptible al ataque microbiano, el cual causa severos daños en la composición físico-química del atún (Huss, 1999).

Vinculando la definición de calidad del pescado al perfil de las aminas biógenas, se han estudiado principalmente a los peces escómbridos (bonitos, caballa, atún) sardina y otros como la materia prima ideal para la formación de estas aminas, sin embargo, los estudios disponibles sobre la intoxicación causada por éstas remiten exclusivamente a la histamina y se admite que el resto de las aminas (putrescina, cadaverina, entre otras) potencian su acción, aunque este efecto es de descripción bastante reciente y aún no se disponen de datos epidemiológicos (Larrañaga *et al.*, 1999).

En el atún y otros peces escómbridos, la histamina se forma por la acción de bacterias que tienen actividad histidina-descarboxilasa, capaces de transformar la

histidina libre del músculo en histamina. El atún contiene en su musculatura niveles muy altos de histidina por lo tanto bajo condiciones desfavorable de almacenamiento existe el riesgo de que las bacterias antes mencionadas proliferen y desarrollen en el músculo niveles tóxicos de esta amina. (Silva *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 1999).

Larrañanga *et al.*, 1999, reportan a *Klebsiella pneumoniae* como una de las principales bacterias productoras de histamina, sin embargo, Kanki *et al.*, 2002, señalan que 22 cepas identificadas como *K. pneumoniae* por sistemas comercializados como el API20E fueron más tarde identificadas correctamente como *Raoultella planticola*, mediante la realización de pruebas moleculares como el PCR.

A medida que avanza la descomposición, por acción de las bacterias, los compuestos de naturaleza no proteica, que contienen nitrógeno, como el amoníaco, la úrea, el óxido de trimetilamina, la creatinina y otros, comienzan a degradarse originando las llamadas bases volátiles, siendo la más importante de ellas la trimetilamina (TMA). Se ha encontrado que en los atunes, los niveles de nitrógeno básico volátil total (NBVT) aumentan al inicio muy rápidamente, pudiéndose encontrar lotes con calidad organoléptica muy buena que presentan concentraciones promedios de más de 25,0 mg de NBVT/100 g de muestra (Sánchez, 2002).

Emplear un método de refrigeración o congelación luego de la captura del pescado hasta el momento de su comercialización, es la estrategia ideal para mantener la calidad del mismo. Todas las alteraciones que ocurren en éste son reacciones biológicas bioquímicas o químicas que se dan con más rapidez a temperaturas altas, un incremento en la temperatura por pequeño que sea, aumenta la velocidad de alteración del alimento. (Stockwell y Mc Loughling, 1999; Chimpén, 2002).

La congelación es un excelente método de preservación de alimentos que ha tenido una amplia difusión a nivel internacional. Inhibe el desarrollo de

microorganismos deteriorativos y patógenos; las bajas temperaturas retardan las reacciones bioquímicas y enzimáticas que ocurren en los alimentos no congelados. La congelación logra estos objetivos a través del descenso de la temperatura del alimento, pero principalmente, por conversión del agua en hielo (Zaritzky, 1999).

La congelación no restaura las alteraciones que hayan ocurrido previamente. Si el pescado antes de ser congelado tiene cierto grado de alteración, esta se mantendrá durante la congelación, el almacenamiento y la descongelación. De aquí que para obtener un pescado congelado de excelente calidad se hace necesario, seleccionar materia prima fresca de óptima calidad y controlar las operaciones preparativas previas a la congelación (Connell, 1978).

Se ha demostrado que una temperatura de -18°C es un nivel adecuado y seguro para conservar los alimentos congelados. Generalmente, ningún microorganismo puede crecer a esta temperatura y la acción de las enzimas es insignificante. Si el pescado se congela y se almacena con las condiciones apropiadas puede conservarse por meses inclusive hasta por un año o más, por cuanto los procesos bioquímicos del mismo, una vez extraídos de sus hábitat son controlados, detenidos y evitados a través de las diferentes operaciones practicadas y tratadas debidamente antes, durante y después de la congelación (Cox, 1987; Rivas, 1990).

La congelación es uno de los mejores métodos para la preservación del pescado y ha sido empleado en las embarcaciones con red de cerco para darle al atún una congelación rápida e inmediata luego de su captura, facilitando así un producto que pueda ser conservado en muy buen estado por largo período de tiempo. Sin embargo, en algunos casos ocurren fallas en este proceso que dañan la calidad del pescado y entre la más frecuente está una incorrecta preparación de la salmuera (variación en la concentración de sal) la cual puede hacer que el atún no se congele uniformemente. Cuando la concentración de sal es muy alta el pescado adquiere gran cantidad de sal,

lo que dificulta su posterior uso (Sánchez, 2002).

Las mediciones de los cambios físicos, químicos y sensoriales han demostrado que el deterioro de la calidad del pescado continúa durante el almacenamiento congelado, una baja calidad del atún durante el almacenaje en congelación se produce debido a cambios en los lípidos que ocurren a través de la hidrólisis y mecanismos de oxidación. Las proteínas del músculo del pescado pueden sufrir desnaturalización durante el almacenaje congelado debido a la formación y disposición de cristales de hielo resultantes de la deshidratación, incrementando la concentración de sal y cambios de pH, seguidos de la remoción de agua a través de la formación de hielo. La hidrólisis y/o oxidación de lípidos así como la formación de formaldehído por el óxido de trimetilamina (OTMA) también contribuye a la desnaturalización de las proteínas musculares (Ben-Gigirey *et al.*, 1999).

Resultados recientes reportan que el contenido de histamina es insignificante en muestras frescas y que éste aumenta rápidamente a temperaturas de almacenamiento iguales a 10 y 22°C, alcanzándose niveles tóxicos de esta amina biogénica, mientras que a temperaturas de 0°C los niveles de histamina no excedieron los 2 mg / 100 g de muestra de atún (Du *et al.*, 2002).

Cabello *et al.*, (2002 a y b) señalaron la importancia de Venezuela como productor de atún, pues su flota faena en el Océano Pacífico y Atlántico aportando 80 000 TM/ año. Esta producción se distribuye en 65% para la exportación, 20% a la industria conservera nacional y 15% al consumo fresco. El atún es uno de los peces con mayor demanda por parte de los consumidores, por tal motivo en esta investigación se evaluarán varios aspectos necesarios para mantener una comercialización exitosa del mismo.

Por lo antes expuesto y considerando que en el estado Sucre operan imperan

empresas dedicadas a la pesca, procesamiento y comercialización del atún, en esta investigación se evaluaron los principales cambios físico-químicos y organolépticos en lotes de atún almacenados en congelación en las instalaciones de un de las empresas comercializadoras del atún en nuestro estado, con la finalidad de comparar estos resultados con los valores recomendados por las normas nacionales e internacionales.

METODOLOGÍA

1.- Origen de las muestras

El número de muestras se obtuvo por la fórmula planteada por Morales y Pino (1978).

$$n = (t).(c.v/f)^2 = n = 48,$$

donde:

t: es el valor leído en la tabla de distribución de t de student con n-1 grados de libertad y un nivel de confianza

c. v: es el coeficiente de variación de donde

c. v: = $(s/x) \cdot 100$; s: es la varianza y x: la media aritmética.

f: es el porcentaje de variación en torno a la media, tolerado o fijado por el investigador, n = 48 número total de muestras utilizadas

Los datos utilizados para la resolución de esta fórmula fueron obtenidos a partir de un muestreo piloto donde se tomaron 5 atunes y se le realizaron análisis de humedad, pH, NaCl, Aw y NBVT, tomándose estos últimos valores para resolver la fórmula, esto debido a que este parámetro es frecuentemente empleado para el control de calidad de los productos pesqueros, pues este generalmente tiende a aumentar durante el deterioro del pescado.

2.- Muestras

Las muestras fueron facilitadas por las empresas CANNAVO, S.A, la cual permitió tomar ejemplares de la última captura realizada por la embarcación cañera

“Santa María”, esto con el propósito de trabajar con ejemplares cuyo tiempo de almacenamiento dentro de la embarcación fuera el menor posible y así utilizar ejemplares relativamente frescos para el momento de la descarga.

Se tomaron dos muestras de 24 atunes cada una, cada una fue colocada en una paleta numerada y debidamente rotulada para luego someterlas a un proceso de congelación a -18°C , almacenado en el frigorífico de la empresa. A partir de cada muestra se tomaron 12 submuestras de 2 atunes cada una, la primera submuestra fue al momento de la descarga y correspondió a un tiempo 0 de almacenamiento, mientras que las restantes se tomaron a los 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 y 84 días de almacenamiento.

El procedimiento se repitió a los 84 días del primer período de congelación. Se tomó una segunda muestra proveniente de la misma embarcación y sometida al mismo tiempo y temperatura de almacenamiento que la primera, e igualmente fue dividida en 12 submuestras, para tener entonces un total de 24 submuestras, representadas en 48 atunes, y un tiempo de almacenamiento de 6 meses aproximadamente.

3.- Extracción y tratamiento de las muestras

Las muestras fueron tomadas de la parte anterior y posterior de cada ejemplar, es decir se tomaron aproximadamente 200 g de músculo en cada ejemplar y se homogeneizaron en una licuadora, es importante señalar que el músculo que se homogeneizó estaba libre de piel y espinas. Se extrajo la muestra de esta manera para disminuir los daños a los ejemplares ya que son de alto valor comercial. Todo esto se realizó luego de analizar cada ejemplar organolépticamente.

Además de los parámetros organolépticos se determinaron parámetros físico-

químicos como pH, humedad (Hm), actividad de agua (AW), nitrógeno básico volátil total (NBVT), trimetil-amina (TMA), sal (%NaCl) e histamina. Todos estos análisis se realizaron inicialmente a ejemplares recién descargados (1^{ra} submuestra a tiempo 0) y posteriormente a los atunes almacenados bajo congelación. Todos los parámetros se determinaron por duplicado y los resultados obtenidos fueron promediaron.

4.- Características organolépticas

Esta apreciación se realizó según el criterio de la Comunidad Económica Europea (1976) en su Consejo de Regulación N°103/76OJN N°L20 y presentado por Huss (1999). Ver Tabla I del Anexo.

5.-Análisis físico-químico

La mayoría de estos análisis se realizaron siguiendo la metodología planteada por las normas de la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) y la Asociación Oficial de Análisis Químicos (AOAC).

5.1.- pH

Para la determinación del pH se siguieron las instrucciones de las normas COVENIN 1315-79.

Se obtuvo un homogeneizado, utilizando 10 g de muestra y 90 ml de agua destilada, el cual luego del filtrado se llevó a un pHmeter digital, previamente calibrado y finalmente se reportó la lectura obtenida.

5.2-Actividad de agua (Aw)

Se empleó el método de la AOAC (1980).

Se pesaron 10 g de muestra, se colocó en un platillo de aluminio y llevaron a un medidor de rocío, trascurrido el tiempo necesario se tomó la lectura directamente del equipo, obteniéndose así el resultado.

5.3.- Humedad

Se empleó el método de la AOAC (1980).

Se pesaron 10 g de muestra, la cual se extendió en un platillo de aluminio y se colocó en una balanza de OHAUS, para medir humedad, luego de 35 min se tomo la lectura del equipo.

5.4.- Cloruro de Sodio (NaCl)

Se empleó el método de Mohr adoptado por la AOAC (1975).

Se hirvieron 10 g de muestra con 100 ml de agua destilada, durante 10 min, luego ésta mezcla se dejó enfriar y se transfirió cuantitativamente a un balón de 250 ml, del cual se tomaron 2,5 ml, luego estos se neutralizaron con bicarbonato de sodio y se le agregó 1 ml de dicromato de potasio, para luego titular con nitrato de plata hasta la aparición de un color rojo ladrillo.

El cálculo del % de NaCl se realizó por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de NaCl} = \frac{\text{ml AgNO}_3 \times 0,00585 \times 250 \times 100}{B \times C}$$

Cada ml de solución de nitrato de plata (AgNO_3) equivale a 0,00585 de sal.

ml= mililitros gastados de AgNO_3 en la titulación de la muestra.

250= volumen del balón.

B= alícuota tomada para titular.

C= masa de la muestra

5.5.-Trimetil-Amina (TMA)

Se empleó la metodología de la AOAC 1980.

Se preparó un homogeneizado con 25 g de muestra y 75 ml de ácido tricloroacético, del extracto obtenido, se tomó una alícuota, y se diluyó con agua destilada, líquidamente se añadió 1 ml de formalina, 10 ml tolueno y 8 ml de hidróxido de potasio (KOH) al 25%, respectivamente se agitó manualmente hasta obtener 2 capas. Luego de la capa superior se transfirieron 7 ml a otro tubo de ensayo con 0,3 g de sulfato de sodio (NaSO₄) anhidro.

Por último en un tubo de ensayo nuevo que contenía 5 ml de ácido pícrico reactivo, se colocaron 5 ml de la mezcla del tubo anterior, luego se transfirieron a un tubo de espectrofotómetro y se leyó la absorbancia a 410 nm contra un blanco preparado con 4 ml de agua destilada.

Los resultados se expresaron empleando la siguiente fórmula:

$$\text{mg de TMA/100 g de muestra} = \frac{3,3 \times 8 \times AB}{4}$$

donde:

3,31= Factor promedio obtenido por la curva de calibración.

4 = Volumen en ml del extracto o patrón.

8= Valor constante.

AB = Lectura de la muestra – lectura del blanco.

5.6.- Nitrógeno básico volátil total (NBVT)

Para esta determinación se utilizaron los métodos de COVENIN 1982, 1948-82.

En un matraz de destilación se colocaron 10 g de muestra, 300 ml de agua destilada, 10 ml de alcohol absoluto y 25 g de magnesia calcificada. Realizado esto, inmediatamente se conectó a un refrigerante para iniciar el proceso de destilación. Luego el destilado fue recogido en una fiola que contenía 10 ml de ácido sulfúrico al 0,1 N, 30 ml de agua destilada y 5 gotas de rojo de metilo; posteriormente este destilado fue titulado con hidróxido de sodio 0,1 N hasta obtener un cambio de color.

El contenido de nitrógeno se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{mg de N.B.V.T/100 g de muestra} = 14 \times \frac{(N_1 \times V_1) - (N_2 \times V_2)}{m} \times 100,$$

donde:

N_1 = 0,05 mol.l de ácido sulfúrico

V_1 = Volumen de la solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) empleada para recoger el destilado de la muestra, en ml (10 ml).

N_2 = 0,01 mol.l de hidróxido de sodio

V_2 = Volumen de la solución de hidróxido de sodio (NaOH) empleada en la titulación de la muestra, en ml.

m = Masa de la muestra, en gramos.

5.7.- Histamina

Se determinó por el método semiautomático Elisa Veratox Histamina # 500220, correlacionado con las pruebas de AOAC presentado por la Neogen Corporation (2001).

Se preparó un homogenizado con 90 ml de agua desionizada + 10 g de muestra, se esperó que la muestra sedimentará, para extraer 100 μ l del sobrenadante y añadirlo en un envase nuevo que contenía 10 ml de un extracto diluyente mezclado suavemente.

Nota: El paso anterior se repitió para todas las muestras, pero no para los controles o patrones de histamina, pues estos estaban listos para usar.

Se transfirieron 100 μ l de las muestras ya diluidas y los respectivos controles a una bandeja provista de 12 pozos (5 pozos para los controles y los 7 restantes para las muestras diluidas, cada pozo con 100 μ l de conjugado). Posteriormente empleando una pipeta multicanal se transfirieron 100 μ l de la mezcla de cada pozo anterior a pozos nuevos que contenían el anticuerpo para determinar la histamina, transcurridos 7 min se descartó el contenido de estos pozos, una vez secos se le añadieron 100 μ l de sustrato, finalmente transcurrido el lapso de tiempo determinado se colocaron 100 μ l de solución stock y se transfirieron al equipo, con el fin de tomar la lectura, la cual expresó los resultados.

6.- Análisis Estadístico

Para establecer la diferencia entre los índices de frescura (Humedad, pH, A_w , NBVT, % NaCl, TMA e histamina) antes y durante la congelación así como entre los dos lotes de atún almacenados, se realizó un análisis de varianza doble y una prueba a *posteriori* de Duncan, cuando existieron diferencias significativas.

Para relacionar cada uno de los índices de frescura con el tiempo de almacenamiento se realizó una regresión lineal simple.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.- Características organolépticas

El pescado fresco se define, como aquel ejemplar recién capturado, que no ha recibido tratamientos conservadores, que no se ha sometido a cocción y que se ha preservado solo enfriándolo. El estado de frescura es básico para la calidad de muchos productos, por lo que es recomendable la evaluación sensorial de la materia prima antes y después de su procesamiento (FAO, 1976; Connell, 1978; FAO, 2000).

La evaluación sensorial del pescado crudo en el mercado y sitios de desembarque, se efectúa mediante la evaluación de la apariencia, textura y olor. Estos cambios característicos en el pescado post-mortem varían considerablemente dependiendo de la especie, método y temperatura de almacenamiento, por lo tanto se recomienda emplear métodos de refrigeración o congelación para la preservación y conservación de alimentos frescos (Maza, 1996; Huss, 1999).

Para evaluar el grado de frescura o descomposición del pescado y por ende la calidad del mismo, se deben aplicar técnicas de evaluación sensorial. Las cuales juegan un papel importante en cualquier programa de calidad, debido a que el criterio final de aceptación de un producto viene dado por la respuesta humana, ayudando esta técnica a complementar los análisis físico-químicos. En la evaluación sensorial se sugiere emplear gráficas y tabla apropiadas, para verificar la aceptación del pescado fresco y eliminar aquel que presente una merma con respecto a la disponibilidades esenciales de calidad (FAO, 2000; Valls, 2004). Una metodología similar fue planteada por la Unión Europea, la cual proporciona una descripción general de frescura, en la guía para la evaluación de la calidad del pescado (anexo I), donde 3 es el nivel de máxima calidad y 0 es el nivel de rechazo (Huss, 1999).

En la Tabla 1, se presentan los resultados obtenidos en la evaluación sensorial u organoléptica realizada antes y durante el almacenamiento, donde el 100% de los atunes evaluados en ambos lotes coincidieron en sus características con el nivel 2 de lo establecido por el criterio para determinar frescura de la Unión Europea (1976) y presentado por Huss (1999). (anexo I) y con el nivel 3 de las normas de clasificación del atún entero o cortado destinado a procesamiento (Sim y Leslie 1987; Department of fisheries and Oceans, 1987) (anexo II). Ambos criterios confirman la buena calidad de los túnidos para el momento de su descarga y durante los 78 días de congelación, en pocas muestras se observaron leves aberturas en el área de la cabeza y algunas decoloraciones en la piel como consecuencia del método de captura y la congelación respectivamente.

Resultados similares fueron obtenidos por Gómez (1994) y Fernández (2004), atribuyendo las características observadas a algunas fallas en los métodos de captura, almacenamiento a bordo y el posterior desembarque de los mismos, el cual causa daños superficiales en el atún.

Tabla 1. Resultados de evaluación sensorial, realizada a los dos lotes de túnidos, en el momento de su descarga y durante su almacenamiento a -18°C en el frigorífico.

Lotes	Nº de muestras	Porcentaje (%)	Nivel de frescura según CEE
Lote I	24	100	2
Lote II	24	100	2

2.- Análisis físico-químicos

2.1.- pH

Cuando un organismo muere deja de funcionar los sistemas normales de

regulación, se detiene el suministro de oxígeno y la producción de energía y se inicia la descomposición del glucógeno, el cual ocurre en condiciones anaeróbicas. Esta glucólisis postmortem resulta en la acumulación de ácido láctico con una concomitante disminución del pH en el músculo (Valls, 1991; Huss, 1988).

En general el músculo del pescado contiene menores cantidades de glucógeno en comparación que los mamíferos lo que trae como consecuencia que el pH postmortem en los peces sea mayor haciéndolos más susceptibles al ataque microbiano.

La determinación del pH mostró un comportamiento relativamente estable observándose pequeñas fluctuaciones en ambos lotes. Para el primero este osciló entre 5,40 y 6,51 mientras que para el segundo los valores fueron un poco mayores, fluctuando entre 5,89 y 6,51, (Tabla 2 y 3 y Figura 1). Resultados similares fueron obtenidos por Narváez (1999), quien encontró valores de pH de 5,57 a 6,79 y 5,36 a 6,84 para atún listado y aleta amarilla respectivamente. Así mismo Gómez (1994) y Fernández (2004) reportaron valores de 5,43 y 5,63 para cada uno.

Tabla 2. Resultados promedios de los análisis físico-químicos del 1^{er} lote de atún almacenado bajo congelación.

Días	Temp (°C)	pH	Aw	Humedad (%)	NaCl (%)	TMA (mg N/100g)	NBVT (mg N/100g)	Histmina (ppm)
0	-15	5,40	0,99	69,90	1,38	0,09	9,20	0,35
8	-16	5,46	0,99	70,30	1,58	0,26	14,00	0,45
15	-14	6,17	0,99	70,70	1,43	0,24	15,05	0,10
22	-17	5,74	0,99	68,90	1,59	0,28	17,15	0,10
29	-14	5,36	0,98	70,10	1,32	0,25	14,70	0,00
36	-18	5,34	0,99	69,80	1,89	0,22	14,70	0,05
43	-15	5,52	0,98	69,70	1,85	0,21	13,65	0,00
50	-17	5,72	0,97	69,30	2,20	0,17	15,50	0,00
57	-14	5,54	0,98	69,20	2,23	0,17	17,15	0,00
64	-15	5,63	0,99	70,10	1,89	0,19	13,65	0,00
71	-18	5,87	0,99	68,80	1,88	0,13	12,65	0,00
78	-16	5,73	0,99	68,60	2,02	0,14	13,65	0,00

Tabla 3. Resultados promedios de los análisis físico-químicos del 2^{do} lote de atún almacenado bajo congelación.

Días	Temp (°C)	pH	Aw	Humedad (%)	NaCl (%)	TMA (mg N/100g)	NBVT (mg N/100g)	Histmina (ppm)
0	-16	6,29	0,99	70,7	2,40	0,297	11,20	0
8	-15	6,02	0,99	71,0	2,12	0,358	9,80	0
15	-17	6,15	0,99	70,2	2,22	0,264	10,59	0
22	-15	6,41	0,99	70,3	2,71	0,255	12,25	0
29	-18	6,14	0,99	70,2	2,67	0,281	20,70	0,05
36	-14	6,41	0,99	69,7	2,52	0,030	15,40	0,70
43	-16	6,38	0,99	70,8	1,86	0,348	14,70	0,20
50	-13	6,51	0,98	68,0	2,38	0,454	17,50	0,05
57	-14	5,89	0,98	69,3	2,17	0,394	19,60	0
64	-17	6,20	0,99	70,3	2,32	0,414	15,80	0,05
71	-15	6,17	0,98	69,4	2,46	0,271	18,20	0
78	-16	6,38	0,99	67,9	2,31	0,258	17,85	0

Los resultados del análisis de varianza doble realizados mostraron la existencia de diferencias significativas (fs 5,76*) para los valores de pH según los días de almacenamientos, los lotes de atún evaluados (fs 290,84*) y para la interacción de ambos factores (5,57*) (Tabla 4).

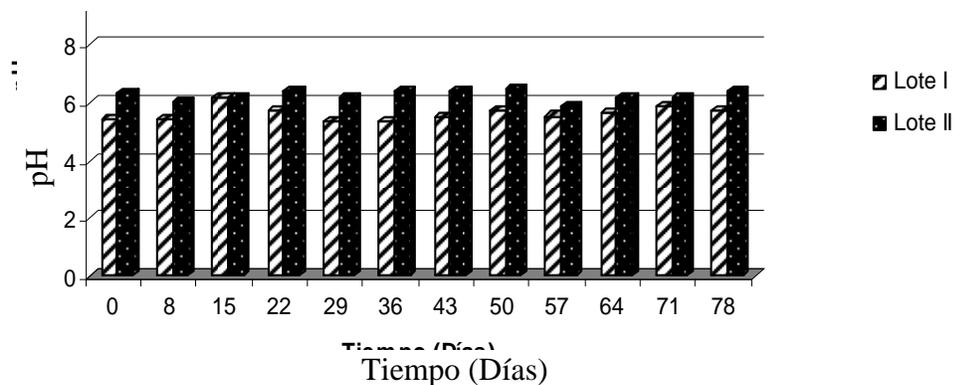


Figura 1. Valores promedios de pH obtenidos durante el tiempo de almacenamiento (días) de ambos lotes de atún.

Tabla 4. Resumen del Análisis de Varianza Doble para los valores de pH según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
EFFECTOS PRINCIPALES				
A: lote	4,63763	1	4,63763	290,84*
B: Días	1,01034	11	0,0918492	5,76*
INTERACCIONES				
AB	0,977117	11	0,0888288	5,57*
RESIDUOS	0,3827	24	0,0159458	
TOTAL (CORREGIDO)	7,00779	47		

La prueba *a posteriori* realizada para los valores de pH según los días de almacenamiento evidenció la formación de seis grupos heterogéneos parcialmente sobrepuestos, comportamiento que se repite en parámetros como la humedad y NBVT. El primer grupo estuvo conformado por ejemplares con un promedio de pH entre 5,715 y 5,915; en el segundo grupo se ubicaron atunes con pH entre 5,750 y 5,940; en el tercer grupo están los que poseen promedio de 5,842 y 6,040 y en el cuarto grupo formado están los ejemplares cuyo pH se ubicó entre 5,870 y 6,070, en el quinto grupo los niveles estuvieron entre 5,915 y 6,112 y en el sexto grupo formado se encuentran los ejemplares con un pH de 6,017 y 6,157 (Tabla 5), lo que indica un comportamiento similar entre los grupos.

Es importante acotar que la heterogeneidad de los grupos formados puede deberse al número de muestras tomadas y a las posibles variaciones en la temperatura y duración de las campañas, ya que el tiempo de captura del segundo lote fue mayor que el del primero; además la temperatura del frigorífico no fue estable durante el almacenamiento de los lotes, ya que fluctuó de -14 a -18°C y de -13 a -18°C respectivamente para cada lote. Por otro lado, el pescado capturado suele permanecer durante un período más o menos prolongado bajo condiciones de temperaturas relativamente altas, siendo ésta una de las fallas más comunes en la faena de pesca,

muchas veces en algunos lances quedan cubas a medio llenar y en este caso no se procede a congelar el atún hasta que se realice otro lance donde se complete la cuba (Morales, 1993; Sánchez, 2002).

Tabla 5. Resumen estadístico para los valores de pH según los días de almacenamiento.

Días	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
57	4	5,715	
8	4	5,740	
29	4	5,750	
0	4	5,843	
36	4	5,870	
64	4	5,915	
43	4	5,948	
71	4	6,018	
78	4	6,048	
22	4	6,070	
50	4	6,113	
15	4	6,158	

Es probable que una de estas fallas sucediera durante la captura de los lotes de atún, reflejándose esto en la variabilidad de los niveles de pH, humedad y NBVT a lo largo de todo el período de congelación. Otra razón que podría explicar la variación del pH en ambos lotes es la acumulación de ácido láctico en el músculo del pescado producto de la glicólisis post mortem la cual hace que los niveles de pH descieran hasta niveles de 5.4, 5.7 aproximadamente, para luego al final del rigor mortis incrementar gradualmente (Huss, 1999).

En la Prueba *a posteriori* realizada para los niveles de pH según el lote de atún se observó la formación de dos grupos bien definidos ubicándose en el primer grupo

los ejemplares del lote II y en el segundo los ejemplares del lote I (Tabla 6).

Tabla 6. Resumen estadístico para valores de pH según los lotes de atún almacenado.

Lotes	N	LS	D
lote 1	24	6,243	I
lote 2	24	5,625	I

Las diferencias que se observan en este análisis estadístico quizás se deba a la duración de la campaña en la que se capturaron los ejemplares del segundo lote, pues el tiempo de captura fue mayor que en el primer lote. Esto aunado a la falla de la faena de pesca anteriormente mencionada, favorecieron que los niveles de pH fueran mayores en los ejemplares de este lote, producto de la acumulación de bases volátiles como el NBVT y la TMA.

El patrón de las relaciones lineales mostró que no existía relación entre los niveles de pH y los días de almacenamiento en ninguno de los dos lotes $P > 0,05$ (Tabla 7 y 8). Un comportamiento igual obtuvo Ben Gigirey (1999) y Valls (2004) al congelar atún y sardina, notando que los túnidos almacenados presentaban buena calidad. El pH siempre estuvo cerca de 6.5.

Tabla 7. Resumen de los índices de relación lineal simple entre las variables fisicoquímicas y el tiempo de almacenamiento en el primer lote de muestras de atún.

VARIABLES RELACIONADAS	N	Corr(r)	R ²	a	b	Fs	p	Sig
Días-Hist,	12	-0,75	57,56 %	0,2671	-0,004557	13,56	0,0042	**
Días- Hum,	12	-0,63	40,12%	70,260	-0,016342	6,70	0,0270	*
Días-pH	12	0,20	4,04 %	5,5481	0,001908	0,42	0,5307	-
Días-NBVT	12	0,19	3,82%	13,646	0,016055	0,40	0,5424	-
Días-Aw	12	-0,17	2,92 %	0,9876	-0,000045	0,30	0,5951	-
Días -NaCl	12	-0,07	0,61 %	2,3737	-0,000729	0,06	0,8099	-
Días-TMA	12	0,02	0,07 %	0,3055	0,000121	0,01	0,9326	-

** muy significativo (P< 0.001); * significativo (P<0.05); (-) no hay relación (P>0.05)

Tabla 8. Índices de relación lineal simple entre las variables fisicoquímicas y el tiempo de almacenamiento en el segundo lote de muestras de atún.

VARIABLES RELACIONADAS	N	Corr(r)	R ²	a	b	Fs	P	Sig,
Días – NaCl	12	0,76	58,93 %	1,4041	0,009322	14,35	0,0036	**
Días-NBVT	12	0,73	53,44%	11,154	0,105145	11,48	0,0069	**
Días - Hum,	12	-0,65	42,38 %	70,831	-0,025962	7,35	0,0219	*
Días – Aw	12	-0,47	22,39 %	0,9908	-0,000084	2,89	0,1202	-
Días – pH	12	0,07	0,63 %	6,2233	0,000571	0,06	0,8063	-
Días- Histamina	12	-0,01	0,01%	0,0899	-0,000061	0,00	0,9800	-
Días – TMA	12	-0,36	13,04%	0,2273	-0,000822	1,50	0,2488	-

** muy significativo (P< 0.001); * significativo (P< 0.05); (-) no hay relación (P>0.05)

2.2.- Aw

El agua es el factor que influye en la alterabilidad de los alimentos, algunos de éstos con el mismo contenido de agua se alteran de forma distinta, como consecuencia de esto surgió el concepto Aw. La cual define como la relación existente entre la presión de vapor de una alimento con respecto a la presión de vapor

del agua fuera del alimento a la misma temperatura, siendo esta última uno de los factores de los que depende la Aw. El aumento de la temperatura hace que la Aw se incremente, por el contrario las bajas temperaturas empleadas en los procesos de congelación disminuyen el valor de este parámetro físico-químico, lo que permite la conservación de los alimentos durante períodos de tiempo bastante largos (Cambero *et al.*, 1998)

En las Tablas 2 y 3 y en la Figura 2, se muestra el comportamiento de la Aw a lo largo de todo el período de congelación, para el 1^{er} lote se mantuvieron entre 0,97 y 0,99, mientras que para el 2^{do} lote se mantuvieron entre 0,98 y 0,99. Lupin (1992) reportó que los niveles de actividad de agua en alimentos congelados no son lo suficientemente bajos como para prevenir reacciones catalizadas enzimáticamente, oscurecimiento no enzimático o autooxidación. Sin embargo, las temperaturas entre -18°C y -30°C son aceptables para fines comerciales con el fin de disminuir la velocidad de deterioro, es por ello que aunque los valores de Aw se ubicaron en ambos lotes muy cercanos a los valores máximos de la misma, los procesos deteriorativos como el desarrollo de TMA e histamina no se vieron acelerados durante el almacenamiento.

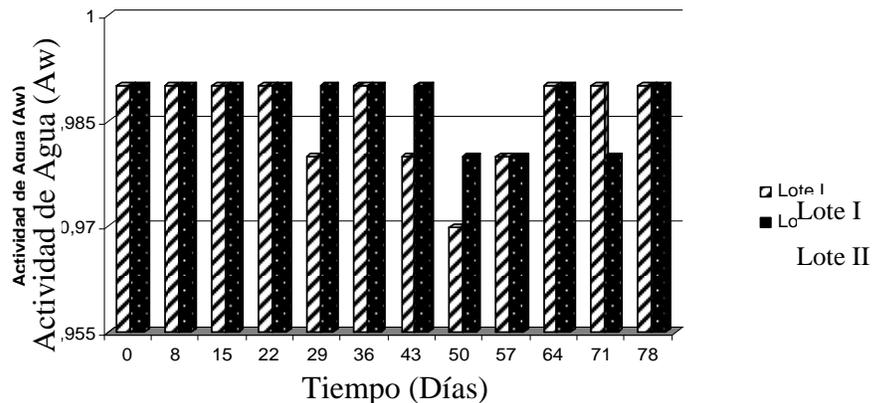


Figura 2. Valores promedio de los niveles de Actividad de Agua (Aw) obtenidos durante todo el tiempo de almacenamiento de los dos lotes de atún.

Los resultados del análisis de varianza doble realizado para el contenido de Aw entre los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados revelaron que entre estos últimos no existieron diferencias ($f_s=0,40ns$), mientras que para los días de almacenamiento existieron diferencias muy significativas ($f_s= 3,13^{**}$), mientras que para la interacción de los lotes y los días no se observaron diferencias ($f_s= 1,49ns$) (Tabla 9).

Tabla 9. Resumen del análisis de varianza doble para los valores de Aw según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluado.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
EFEKTOS PRINCIPALES				
A: lote	0,00000833333	1	0,00000833333	0,40
B: Días	0,00071666700	11	0,0000651515	3,13**
INTERACCIONES				
AB	0,00034166700	11	0,0000310606	1,49
RESIDUOS	0,00050000000	24	0,0000208333	
TOTAL (CORREGIDO)	0,00156667000	47		

En los resultados de la prueba *a posteriori* de Duncan, (Tabla 10) se formaron dos grupos: un 1^{er} grupo que incluye a los ejemplares con una actividad de agua promedio de 0,97, un 2^{do} grupo que involucro a ejemplares cuyo promedio de Aw estuvo en 0,98 y 0,99, lo que indica un comportamiento similar en el nivel de Aw en los ejemplares de éste último grupo.

Tabla 10. Resumen estadístico para los valores de Aw según los días de almacenamiento.

Días	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
50	4	0,9750	I
57	4	0,9825	
43	4	0,9850	
64	4	0,9850	
8	4	0,9850	
15	4	0,9875	
36	4	0,9875	
29	4	0,9875	
22	4	0,9875	
71	4	0,9875	
0	4	0,9900	
78	4	0,9900	

Los resultados del análisis de regresión simple realizado para verificar la posible relación entre los niveles de Aw y el tiempo de almacenamiento de ambos lotes, mostraron que no existió relación, $p = 0,595$ y $p = 0,102$ respectivamente para el lote 1 y lote 2 (Tabla 7 y 8).

2.3.- Humedad

En productos frescos el contenido de humedad constituye uno de los factores que más influye en el deterioro, ya que la mayoría del agua esta disponible para reacciones químicas y el crecimiento microbial. El contenido de agua en un tejido fresco es máxima y se va perdiendo a medida que las proteínas se van desnaturalizando especialmente cuando se someten a un proceso inadecuado de congelación (Ayala, 1996).

La carne del pescado contiene proteínas miofibrilares como la actina, la miosina y la actimiosina, estas dos últimas son las más importantes por su cantidad y propiedades funcionales que tienen una marcada influencia sobre la calidad de los productos congelados, pues estas son muy inestables durante el almacenamiento en congelación, ya que pueden alterarse rápidamente sus propiedades funcionales afectando la textura, jugosidad y capacidad de retención de agua (Ayala, 1996, Huss, 1999).

En las Tabla 2 y 3, se observan los valores promedios del porcentaje de humedad a la largo de todo el período de almacenamiento de los 2 lotes de atunes evaluados. Estos promedios mostraron un comportamiento similar en ambos lotes (Figura 3), el máximo valor en el % de humedad se obtuvo al inicio del almacenamiento, para el 1^{er} lote 70,7% y para el 2^{do} lote 70,8%, estos valores experimentaron pequeñas fluctuaciones, para luego disminuir al final de la congelación, alcanzando 68,6% y 67,9% respectivamente para cada lote. La variación en el porcentaje de humedad se debió al proceso de congelación al que fueron sometidos los túnidos. Resultados similares fueron obtenidos por Gómez (1994), quien obtuvo un promedio en atún crudo de 71,8% de humedad, así mismo Narváez (1999) reportó niveles de humedad en atún listado entre 69,35 y 72,55% y en atún aleta amarilla entre 69,9% y 72,7%.

Bermúdez y Miraval (1983), en su informe para el Instituto Nacional de Nutrición, estableció que el porcentaje de humedad del atún fresco debe estar cerca de 71,9% mientras que Huss (1988) y Sánchez (2002), reportan que el atún fresco debe tener un máximo de 71% de humedad.

El análisis de varianza aplicado para determinar las diferencias del contenido de humedad en los días de almacenamiento y entre los lotes evaluados afianzó los resultados anteriores. Este análisis reveló que no existían diferencias entre los lotes

estudiados ($f_s = 1,53$ ns), existiendo diferencias muy significativas entre los días de almacenamiento ($f_s = 4,56$ ***) y la interacción de ambos factores no presento diferencias tal como se observa en la Tabla 11.

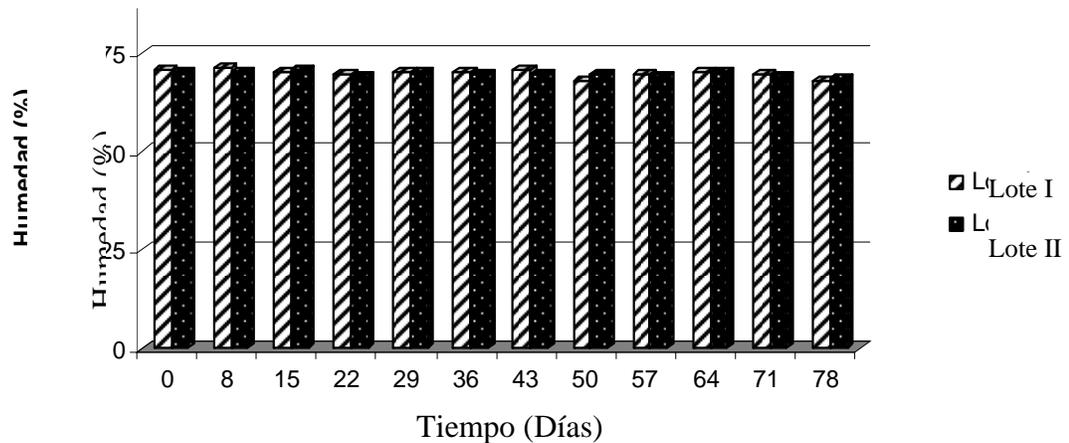


Figura 3. Comportamiento de los valores promedios del porcentaje de humedad durante el almacenamiento de los dos lotes de atún.

Tabla 11. Resumen del Análisis de Varianza Doble para el porcentaje de humedad según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
EFFECTOS PRINCIPALES				
A: lote	0,80083	1	0,800833	1,53
B: Días	26,2792	11	2,38902	4,56***
INTERACCIONES				
AB	6,95917	11	0,632652	1,21
RESIDUOS	12,5600	24	0,523333	
TOTAL (CORREGIDO)	46,5992	47		

Estos resultados llevaron a la aplicación de una prueba *a posteriori* donde se formaron 5 grupos heterogéneos parcialmente sobrepuestos (Tabla 12), situación que se repite en el análisis de varianza de los niveles de pH y NBVT. El primer grupo formado incluye a los ejemplares con menor contenido de humedad (68,225 a 68,225%); el cual comparte valores con el segundo, tercer y cuarto grupo formado,

encontrándose en el quinto grupo los ejemplares con mayor porcentaje de humedad (69,550% a 70,650%).

Es importante acotar que la heterogeneidad de los grupos puede deberse al número de muestras utilizadas y a las fluctuaciones de la temperatura de almacenamiento en el frigorífico; esta no se mantuvo estable a -18°C . Connell (1978) señala temperaturas aun más bajas que -18°C , como por ejemplo -40°C para que el atún no cambie durante la congelación, es decir, se evita de manera la pérdida de agua producto de la desnaturalización de las proteínas. Ben Gigirey (1999) reafirmó esta versión al no encontrar pérdida de humedad en muestras de atún almacenado a -25°C durante 12 meses.

Tabla 12. Resumen estadístico para los porcentajes de humedad según los días de almacenamiento.

Días	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
78	4	68,225	
50	4	68,625	
71	4	69,100	
57	4	69,225	
22	4	69,550	
36	4	70,000	
29	4	70,050	
64	4	70,150	
43	4	70,250	
0	4	70,400	
15	4	70,425	
8	4	70,650	

El patrón de las relaciones lineales entre el contenido de humedad y el tiempo de almacenamiento fue igual en ambos lotes, el porcentaje de humedad presentó una

relación lineal-estadísticamente significativa con el tiempo de congelación $p= 0,0270$; $p<0,05$ y $p= 0,0219$; $p<0,05$) respectivamente para el lote I y II (Tabla 7 y 8) y Figura 4. Esta disminución en el contenido de este parámetro físico-químico, fue reportado igualmente por Ben-Gingirey (1999) quien obtuvo pequeñas variaciones en el contenido de humedad los primeros meses de almacenamiento a -18°C seguidos de una disminución significativa luego de 12 meses.

La pérdida de humedad se debe principalmente a la desnaturalización de la proteína y a la sublimación de los cristales de hielo formados durante la congelación (Maza, 1996). Valores de pH entre 4,5 - 5,5 como los obtenidos en nuestro estudio son considerados como el punto isoeléctrico de las proteínas del pescado, en este pH las proteínas son menos hidrófilas, lo que reduce su capacidad de retener agua (Ayala, 1996). Trayendo esto como consecuencia una deshidratación en las fibras musculares del pescado y por consiguiente una pérdida en el peso y en la textura del mismo.

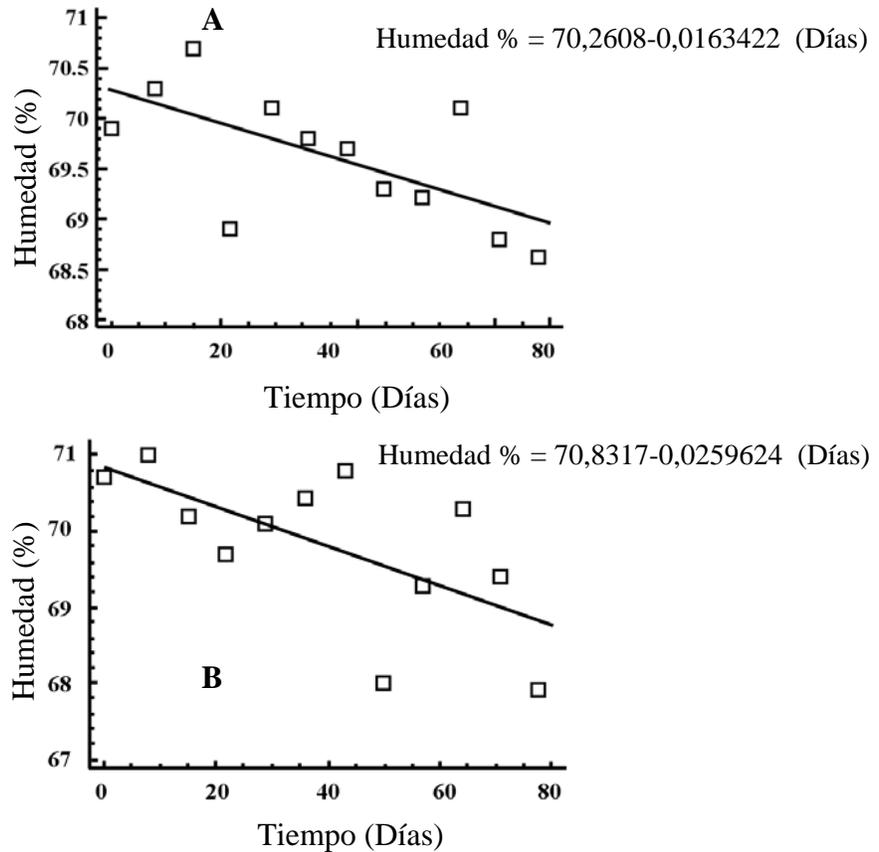


Figura 4. Regresión lineal entre los días de almacenamiento y el porcentaje de humedad en el primer y segundo lote evaluado A y B respectivamente.

2.4.- NaCl

El atún vivo contiene de 0,16 a 0,19% de sal en el músculo, aunque la sal del ambiente marino no tiende a penetrar en el pez; mientras éste está vivo tiene mecanismos que ayudan a mantener el balance osmótico bombeando la sal fuera de las branquias en el agua, una vez que el pez muere estas "bombas" dejan de funcionar. La sal comienza a dispersarse y acumularse en el pescado (Strockwell y Mc Loughlin, 1999). En especies marinas refrigeradas o congeladas con agua de mar el contenido de sal se va incrementando naturalmente por la sal del agua de mar

(Ayala, 1996).

El atún una vez capturado es pasado a tanques con agua de mar refrigerado para luego utilizar un sistema de congelación por inmersión que consiste en sumergir el atún entero en salmuera de CaCl_2 a -32°C (Maza, 1996). El agua de mar refrigerada representa una ventaja práctica respecto a la mejora y normalización de la calidad del pescado congelado en alta mar, aunque posee la desventaja de que el pescado no puede pasar mucho tiempo en ella pues en este medio puede adquirir un sabor extremadamente salado (Connell, 1978).

La penetración de sal ocurre como resultado de la diferencia entre la salinidad del atún y la del agua de mar refrigerada o salmuera en la cual esta almacenada. Esta penetración suele aumentar con un incremento en la temperatura del agua de mar, un aumento en la salinidad de la salmuera, una disminución en la cantidad de agua congelada dentro del pescado o cualquier corte o raspadura en la piel del pescado (Franchesquí, 2000).

El comportamiento del contenido de sal en ambos lotes fue diferente (Figura 5). Para el 2^{do} lote, los valores oscilaron entre 1,86% y 2,71%; mín. a los 57 días de almacenamiento y máximo a los 22 días respectivamente, observándose pequeñas fluctuaciones, pero con una tendencia relativamente estable a lo largo de todo el período de almacenamiento. Para el 1^{er} lote los valores fueron menores con una leve tendencia a aumentar durante la congelación, obteniéndose un mínimo de 1,32% alcanzado a los 29 días de almacenamiento y un máximo de 2,23% a los 57 días de almacenamiento (Tabla 2 y 3).

Los resultados del análisis de varianza doble realizado para los valores de sal, según los días almacenamiento, los lotes de atún correspondiente y la interacción de ambos factores, revelaron que no existieron diferencias en el contenido de sal a lo

largo de todo el período de almacenamiento ($fs=1,99$ ns) mientras que existieron diferencias significativas ($fs = 72,31^*$) en los lotes de túnidos evaluados y en la interacción de ambos factores ($fs= 3,52^*$) (Tabla 13).

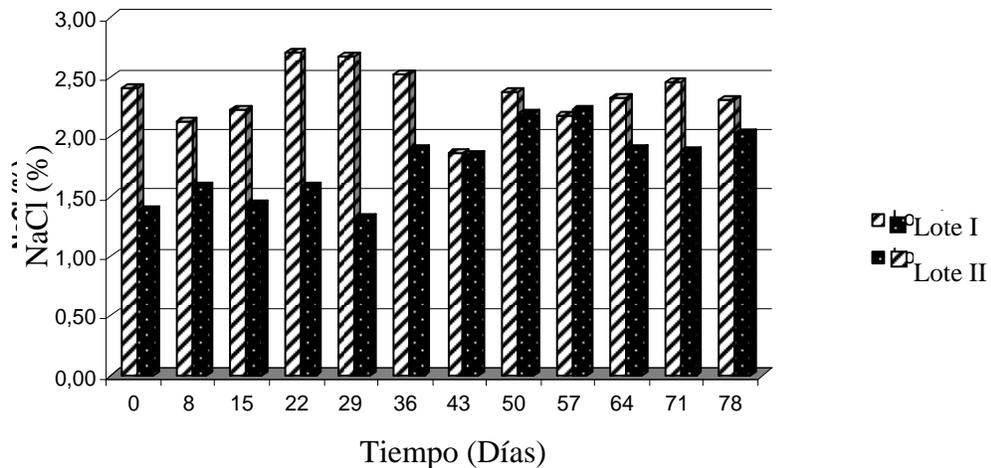


Figura 5. Comportamiento de los valores promedios del porcentaje de NaCl durante el almacenamiento de los dos lotes de atún.

Tabla 13. Resumen del análisis de Varianza Doble para el porcentaje de NaCl según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluado.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
EFFECTOS PRINCIPALES				
A: lote	3,9675	1	3,9675	72,31*
B: Días	1,20268	11	0,109334	1,99
INTERACCIONES				
AB	2,12605	11	0,193277	3,52*
RESIDUOS	1,3169	24	0,0548708	
TOTAL (CORREGIDO)	8,61313	47		

Tras estos resultados se realizó una prueba *a posteriori* de Duncan, la cual mostró la formación de dos grupos bien definidos, un primer grupo que abarca los ejemplares del 1^{er} lote con un porcentaje promedio de sal menor, 1,77% y un segundo

grupo conformado por los ejemplares del 2^{do} lote con un mayor contenido de sal 2,344% (Tabla 14). Probablemente las diferencias en el nivel de sal se deban a que los lotes fueron obtenidos en 2 campañas diferentes por lo tanto el agua de mar refrigerada y la salmuera empleadas para la congelación de los atunes contenían diferentes temperaturas y niveles de salinidad lo que hizo que los ejemplares del 1^{er} lote tuvieran mayor porcentaje de sal sin embargo, en los dos lotes evaluados, el contenido de sal no excedió el 3% de sal permitido por COVENIN (1766-95). Resultados similares fueron obtenidos por Gómez (1994), quien obtuvo niveles de sal entre 1,66 y 1,77 en ambas muestras analizadas. Por otro lado Narváez (1999), encontró niveles de sal entre 1,87 a 6,72 y 1,78 a 4,21 respectivamente para atún listado y aleta amarilla atribuyendo la variabilidad obtenida, a la diferencia en la talla de las especies y a que los túnidos empleados fueron capturados por embarcaciones diferentes y por lo tanto utilizaron cantidades diferentes para la preparación de la salmuera. Sánchez (2002), encontró lotes de atún que sobrepasaban el 5,5% de sal, lo que dificultó su consumo.

Tabla 14. Resumen estadístico para el porcentaje de NaCl según los lotes de atún evaluado.

Lote	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
lote 1	24	1,76875	I
lote 2	24	2,34375	I

El patrón de la relación lineal entre el contenido de sal y los días de almacenamiento fue diferente en ambos lotes. En el primer lote no existió relación ($P > 0,05$) entre estas 2 variables, por el contrario para el segundo lote existió una relación muy significativa ($P < 0,001$) (Tabla 7 y 8) estadísticamente positiva lo que indicó que el contenido de sal aumentó con los días de almacenamiento (Figura 6), posiblemente este incremento se debió a un aumento en la temperatura de la salmuera y el tiempo que permanecieron los ejemplares en contacto con ésta, pues como ya se

ha dicho el tiempo de campaña de los ejemplares del 2^{do} lote fue mayor que el del 1^{er} lote. En la absorción de sal la temperatura tiene mayor efecto que el diferencial de salinidad, de manera que limitando el incremento de la temperatura de la salmuera, la cantidad de sal absorbida es reducida dramáticamente cuando el tejido del músculo está congelado, pues la sal no puede diluirse rápidamente en el hielo (Santos, 1996).

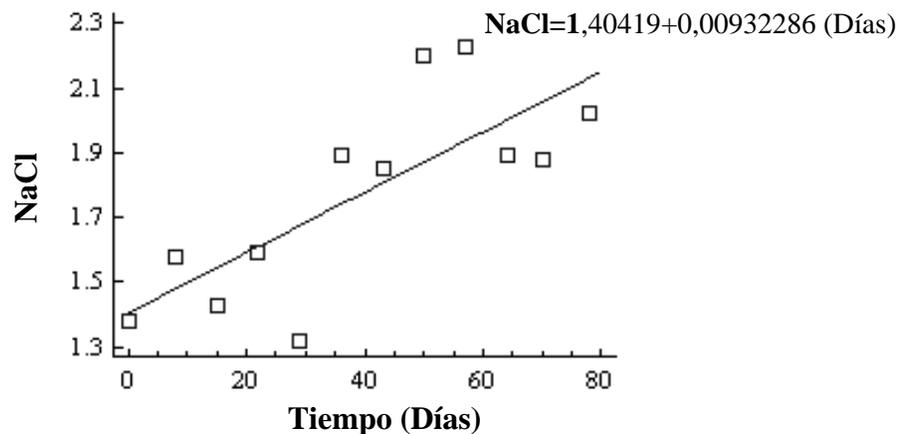


Figura 6. Regresión lineal entre los días de almacenamiento y la concentración de NaCl de los atunes del 2^{do} lote evaluado.

La variación de la temperatura del frigorífico (-13 a -17°C) favoreció a la penetración de la sal en el músculo del pez, debido a la cantidad de agua sin congelar presente en la carne del mismo. En la medida que el grado de congelación sea rápido y estable en cuanto a su temperatura, la cantidad de sal al final será manejable, la lenta congelación puede causar altas concentraciones de sal en el pescado (Stockwell y Mc Loughing, 1999).

2.5.- Nitrógeno básico volátil total (NBTV) y trimetilamina (TMA)

La tasa del NBVT y la estimación de la TMA, fueron los primeros índices químicos propuestos para determinar frescura y el grado de alteración de los productos pesqueros, utilizándose aun como parámetro representativos en

combinación con otros análisis en estudios de descomposición y calidad.

Valls (1991) y Huss (1998), señalaron que el nitrógeno básico volátil total (NBVT) incluye a los compuestos nitrogenados no proteicos del pescado fresco. En teleósteos estas sustancias constituyen del 9 al 18% del nitrógeno muscular, lo que los hace compuestos minoritarios cuando el pescado está en óptima calidad, no obstante cuando éste está cercano al rechazo el contenido del NBVT aumenta dramáticamente. COVENIN (1948-82), define a estos compuestos nitrogenados como el conjunto de sustancias integradas por el amoníaco (NH_3), la monoetilamina (MDA), la dimetilamina (DMA) y la trimetilamina (TMA), provenientes de la acción de los microorganismos sobre compuestos como el óxido de trimetilamina (OTMA) creatina y aminoácidos.

Cambero (1998), señala que uno de los principales cambios en los compuestos nitrogenados no proteicos, a parte de la descarboxilación de la histidina en histamina, es reducción del óxido de trimetilamina (OTMA) a trimetilamina (TMA), este óxido ($\text{CH}_3)_3\text{NO}$, es relativamente abundante en especies de pescado de origen marino, pero ausente en especies dulceacuícolas y se reduce por acción enzimática y bacteriana a TMA ($\text{CH}_3)_3\text{N}$, la cual junto con la DMA origina el olor característico del pescado alterado, por ello las tasas de TMA o la relación TMA/OTMA se han empleado junto con el índice de NBVT como indicadores de alteraciones en el pescado que no ha sido almacenado correctamente.

Connell (1978) y Huss (1998), señalaron que los peces frescos y congelados con una frescura satisfactoria deben tener un contenido de NBVT menor a 35 mg N/100g de muestra, sin embargo Cambero (1999) reportó que el máximo tolerable es de 30-35 mg NBVT/100 g.

Los resultados promedios del NBVT en ambos lotes, durante todo el período de

almacenamiento, no excedieron los límites establecidos. Para el primer lote este índice osciló entre 9,20 y 15,50, mientras que en el segundo lote, los valores fueron un poco mayor, ubicándose entre 9,80 y 20,70 mg NBVT/100 g. El mínimo valor del 1^{er} lote se obtuvo al momento de la descarga, este fue incrementando hasta los 22 días de almacenamiento para luego experimentar un descenso con pequeñas fluctuaciones; por el contrario en el 2^{do} lote el mínimo valor fue alcanzado a los 8 días de almacenamiento, seguido de un aumento continuo de éste con pequeños descensos. Sin embargo todos los ejemplares evaluados reportaron valores de NBVT < a 30 mg NBVT/100 g de muestra, lo que indicó la buena calidad de los túnidos antes y durante el congelamiento de ambos lotes (Tabla 2 y 3). Resultados similares fueron obtenidos por (Ben-Gigirey *et al.*, 1999) al almacenar bajo congelación atunes a -18 y -25 °C, reportando igualmente que en nuestro estudio valores de NBVT inferiores a los 30 mg/100 g de muestra. De manera similar Narváez (1999), encontró en muestras de atún listado y aleta amarilla niveles de NBVT entre 8,40 y 33,7 y 9,08 y 35,47 mg NBVT/100 g respectivamente para cada especie, señalando además que las muestras donde se superó el límite establecido de 30 mg NBVT/100 g, tenían una calidad aceptable para el consumo humano, atribuyendo estos incrementos a la duración de las campañas de pesca (2 a 3 meses aproximadamente) y a fallas en el sistema de frío en las cubas del barco. Silva., *et al* (1998) al estudiar el efecto de las temperaturas de almacenamiento (0, 4, 10 y 22°C) en 2 especies de atún, obtuvieron niveles de hasta 151 mg/100 g de muestra cuando los túnidos eran almacenados a 10 y 22°C, lo que evidenció el efecto de la temperatura de almacenamiento.

Los resultados del análisis de varianza, para el contenido de NBVT, mostrados en la Tabla 15, no revelaron diferencias significativas entre los lotes de túnidos evaluados ($f_s = 1,55$ ns) mientras que entre los días de almacenamiento y el contenido NBVT se hallaron diferencias significativas ($f_s = 2,74^*$) y la interacción de ambos factores no reporto mayores cambios ($f_s = 1,73$ ns).

Tabla 15. Resumen del análisis de Varianza Doble para los niveles de NBVT (mg/100 g) según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluado.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
EFFECTOS PRINCIPALES				
A: lote	12,2715	1	12,2715	1,55
B: Días	237,64	11	21,6036	2,74*
INTERACCIONES				
AB	149,925	11	13,6295	1,73
RESIDUOS	189,411	24	7,89214	
TOTAL (CORREGIDO)	589,248	47		

La prueba *a posteriori* de Duncan aplicada al contenido de NBVT en el atún durante los diferentes días de almacenamiento dió como resultado, la formación de 4 grupos heterogéneos y parcialmente sobrepuestos, encontrándose en el 1^{er} grupo los ejemplares con menor contenido de NBVT a los primeros días de almacenamiento (0, 8, 15, 43, 22, 64, 36). El 4^{to} grupo formado involucra a los ejemplares con mayor contenido de NBVT (Días, 43, 22, 64, 36, 71, 78, 50, 29, 57). Sin embargo, estos 2 grupos comparten a los ejemplares evaluados en los días 43, 22, 64, 36 (Tabla 16). Lo que hace inferir que según sean las condiciones de la captura y la temperatura de almacenamiento, éstos podrían comportarse como ejemplares con mayor o menor contenido de NBVT. Es importante señalar que la heterogeneidad de los grupos formados se debe al tiempo de captura de muestras utilizadas y a las posibles variaciones en la temperatura y duración de las campañas ya que los ejemplares del 2^{do} lote tenían un tiempo de captura mayor que los del 1^{er} lote, además que la temperatura del frigorífico en ambos lotes no fue estable a -18 °C y fluctuó entre -14 y -18 °C y -13 a 17 °C respectivamente para cada lote.

Vietes (1991) concluyó que el incremento del NBVT es dependiente de la temperatura del almacenamiento, opinión que fue reafirmada por Ben-Gigirey *et al* (1999) al reportar que los valores del NBVT pueden ser utilizados en peces

congelados como un indicador de calidad antes y durante el almacenamiento mientras no ocurran cambios en la temperatura de este proceso, señalando además, que los niveles del NBVT estaban relacionados negativamente ($P < 0,001$) con el tiempo de almacenamiento luego de 3 meses de congelamiento a -18°C , atribuyendo la disminución en los niveles de este parámetro a la constancia de la temperatura durante todo el período de almacenamiento, lo que hizo mantener la óptima calidad de los ejemplares. Por el contrario, en nuestro estudio la temperatura de congelación no permaneció estable como anteriormente se mencionó, trayendo esto como consecuencia que los patrones de las relaciones lineales realizadas entre el contenido de NBVT y el tiempo de almacenamiento en ambos lotes fueran diferentes. Para el 1^{er} lote no se obtuvo relación mientras que en el 2^{do} lote se observó una relación lineal estadísticamente positiva muy significativa ($P < 0,001$) (Figura 7), no obstante, aunque el contenido de NBVT se incrementó durante el almacenamiento del 2^{do} lote, las variaciones en la temperatura no fueron suficientes como para que se desarrollaran niveles tóxicos de NBVT en ninguno de los 2 lotes.

Tabla 16. Resumen estadístico para los niveles de NBVT (mg/100 g) según los días de almacenamiento.

Días	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
0	4	10,2000	
8	4	11,9000	
15	4	12,8175	
43	4	14,1750	
64	4	14,7000	
22	4	14,7000	
36	4	15,0500	
71	4	15,5750	
78	4	15,7500	
50	4	16,5000	
29	4	17,6750	
57	4	18,3750	

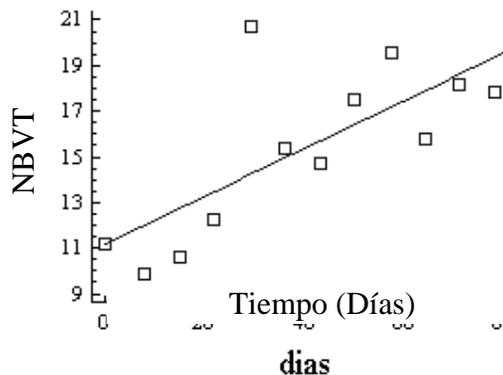


Figura 7. Regresión lineal entre los días de almacenamiento y la concentración de NBVT del atún del 2^{do} lote evaluado.

El comportamiento de los niveles de TMA, en ambos lotes fue diferente (Figura 8). En el 1^{er} lote se obtuvieron valores entre 0,089 y 0,279 mínimo y máximo respectivamente, el primero fue obtenido para el momento de la descarga, para luego ir aumentando a lo largo del período de almacenamiento hasta alcanzar al máximo

valor de 0,279 a los 22 días de almacenamiento, seguido de un comportamiento relativamente estable hasta el final del estudio. Eso quizás se deba a que en los atunes los niveles de TMA suelen aumentar durante los primeros días de almacenamiento aún en congelación sin alcanzar niveles tóxicos. Ben-Gigirey *et al.*, (1999) obtuvieron resultados similares, los niveles de TMA oscilaron entre 0,190 y 0,350 mg / 100 g de muestra para el momento de la captura y luego de un año de congelamiento a -18°C y -25°C respectivamente.

En cuanto al segundo lote, los niveles de TMA, fueron relativamente mayores que los obtenidos en el primer lote. Para el momento de la descarga se obtuvo un promedio de 0,397 mg TMA / 100 g de muestra, el cual fue descendiendo hasta llegar a 0,030 mg TMA/100g, este fue el valor mínimo obtenido. Luego este valor experimentó un aumento progresivo, con pequeñas fluctuaciones hasta culminar el almacenamiento. La variación en los niveles de TMA en ambos lotes, posiblemente se deba a los factores anteriormente mencionados para el aumento del contenido del NBVT. En el 2^{do} lote de atún almacenado los niveles de TMA mostraron estar dentro de los límites permitidos para la comercialización. Se ha reportado que el pescado de agua fría, como el atún de buena calidad contiene menos de 1,5 mg TMA / 100 g de pescado, considerándose como límite de aceptabilidad para el consumo humano de 10-15 mg TMA / 100 g (Connell, 1978; Huss, 1999).

Los resultados del análisis de varianza doble aplicado (Tabla 17) mostraron que no existían diferencias en el contenido de TMA entre los días de almacenamiento ($F_s = 1,02$ ns), mientras que entre los lotes evaluados el contenido de TMA mostró diferencias altamente significativas ($F_s 13,18$ ***). Resultado que llevó a la aplicación de la prueba a posteriori de Duncan en la cual se observó la formación de 2 grupos claramente definidos (Tabla 18), el primer grupo conformado por los ejemplares del 1^{er} lote, los cuales contenían menos índice de TMA con una valor promedio de 0,195 y un segundo grupo formado por los ejemplares del 2^{do} lote con

un promedio de 0,310 mg TMA / 100 g. Esos resultados indicaron que los atunes procesados en ambos lotes, mostraban diferencias en cuanto al contenido de TMA. Coincidiendo con lo obtenido inicialmente en los niveles de esta base en los 2 lotes.

Tabla 17. Resumen del Análisis de Varianza Doble para los niveles de TMA (mg TMA/100g) según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
EFFECTOS PRINCIPALES				
A: lote	0,158470	1	0,1584700	18,54*
B: Días	0,134164	11	0,0121967	1,43
INTERACCIONES				
AB	0,215683	11	0,0196076	2,29*
RESIDUOS	0,205094	24	0,00854558	
TOTAL (CORREGIDO)	0,713412	47		

Tabla 18. Resumen estadístico para los niveles de TMA (mg TMA/100g) según los lotes de atún evaluados.

Días	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
lote 1	24	0,195125	I
lote 2	24	0,310042	I

Según Sánchez (2002) la TMA es la más importante de las llamadas bases volátiles que componen el NBVT, a lo que puede deberse el hecho que los niveles de TMA y de NBVT fueran mayores en el 2^{do} lote de túnidos evaluados que en los del 1^{er} lote.

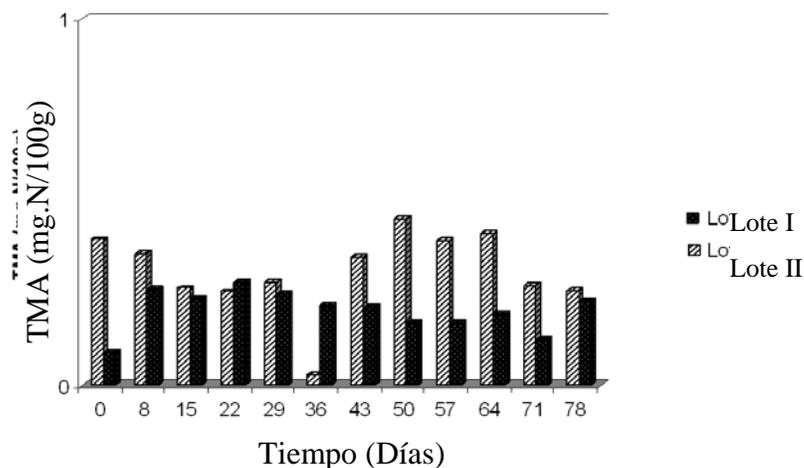


Figura 8. Valores promedio de los niveles de TMA obtenidos durante todo el tiempo de almacenamiento de los dos lotes de atún.

Los resultados del análisis de regresión simple mostraron que no existe relación lineal entre los niveles de TMA y el tiempo de almacenamiento en ninguno de los casos; $P = 0,933$ y $P = 0,9201$ respectivamente el 1^{er} y 2^{do} lote (Tabla 7 y 8). Según lo anteriormente planteado, en los ejemplares del 2^{do} lote debió existir una relación lineal positiva entre las 2 variables antes mencionadas tal como ocurrió con los niveles del NBVT. Huss (1999) señala la importancia de la TMA como componente del NBVT, y los niveles de éste último pueden seguir incrementándose, luego que el suministro de OTMA decaiga y la TMA alcance su máximo nivel debido a la formación de amoníaco (NH_3) y otras bases volátiles, producto de la proteólisis que se inicia cuando algunos aminoácidos libres han sido utilizados.

2.6.- Histamina

La histamina es una de las aminas biogénicas más importantes en caso de salud pública debido a que ha estado ampliamente involucrada en brotes alimenticios. Esta amina se forma en los alimentos por acción de las bacterias poseedoras de la enzima histamina-descarboxilasa, la cual es capaz de descarboxilar el aminoácido α -histidina

libre en el músculo de algunos peces, transformándolo en histamina (Pan, 1985; Vietes *et al.*, 1991).

En la intoxicación escombroida, denominada muchas veces envenenamiento histamínico se produce histamina, con un rango de temperatura favorable (15 a 20 °C) y con una buena cantidad de histidina libre y disponible en el músculo (Stockweel y Mc Loughling, 1999). Esta última condición la presentaron los peces de la familia Scombridae, como el atún, la caballa, la sardina y el bonito, especies que han estado involucradas con numerosas ETA (Valls, 1991). Fernández *et al.*, (2001) reportaron que la escombroid intoxicación aparece en el 50 a 100% de las personas que ingieren especímenes con niveles elevados de histamina, donde el período de latencia es de 1 minuto a horas, ya que los síntomas clínicos más frecuentes son eritema, prurito, cefalea, náuseas, vómitos y diarrea. El distrés respiratorio y el shock aparecen con mayor frecuencia en pacientes con cardiopatía o neumatopatía previas.

La determinación cuantitativa de la histamina constituye un índice de calidad sanitario, siendo útil su determinación tanto en productos frescos como en conservas ya que se ha demostrado que este compuesto orgánico es termoestable, incluso a tratamientos de 116 °C durante 90 min. (Cambero *et al.*, 1998).

Es importante señalar que de los 48 atunes evaluados en ambos lotes, 15 resultaron positivos (Figura 10), lo que equivale a un 33,33% para el 1^{er} lote y un 16,67% para el 2^{do} lote (Figura 11). Esto quizás se deba a que el pescado antes de ser congelado en la embarcación permaneció durante un intervalo de tiempo a temperaturas elevadas en la cubierta del barco, lo que lo hizo desarrollar estas concentraciones de histamina (Vietes *et al.*, 1991).

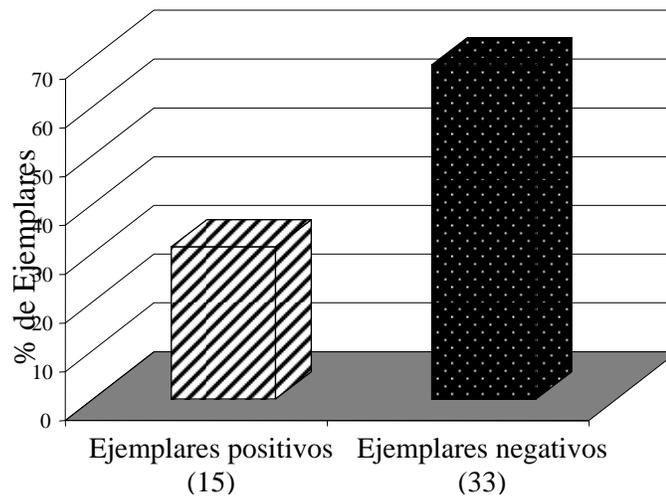


Figura 9. Porcentaje de atunes que resultaron positivos al análisis de histamina en los 48 ejemplares almacenados.

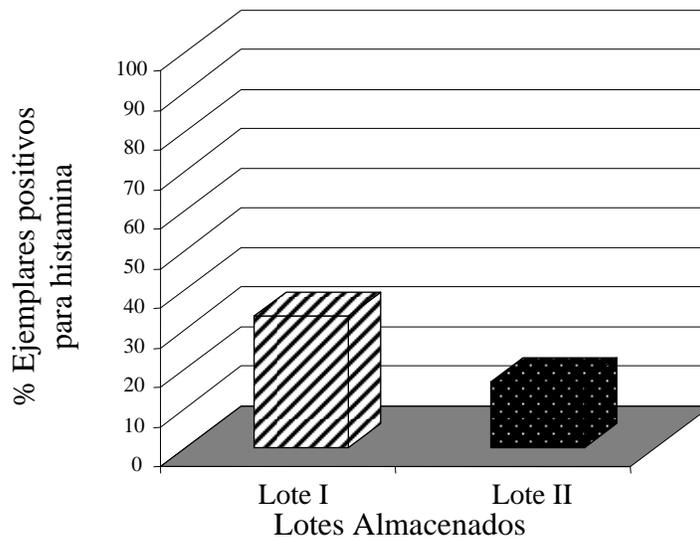


Figura 10. Porcentaje de atunes que resultaron positivos al análisis de histamina en cada uno de los lotes almacenados.

El análisis de los resultados de todas las muestras de atún evaluados en ambos lotes, mostrados en la Figura 9, revelaron que para el momento de la descarga y a lo largo de todo el período de almacenamiento, la concentración de histamina osciló entre 0 y 1 mg Hist / 100 g de muestra. Resultados similares fueron obtenidos por Du *et al* (1998), quienes encontraron en muestras frescas de atún niveles de histamina

inferiores a 1 mg / 100 g, el cual aumentó progresivamente alcanzando éstos niveles tóxicos, al almacenarlos por más de 3 días a 22 °C, mientras que cuando eran colocadas a 0 °C no se excedieron los límites. Silva *et al.*, (1998) estudiaron el efecto de la temperatura de almacenamiento en atún listado y ojo gordo y reafirmaron que el contenido de histamina a bajas temperaturas (0 °C) en ambas especies fue < 0,1 mg Hist / 100 g, notándose entonces que la producción de histamina en muestras investigadas y en la de los autores anteriormente citadas, dependió fundamentalmente de la temperatura de almacenamiento, aunado a la histidina libre en el músculo y a la actividad histidin-descarboxilasa de las bacterias formadoras de histamina.

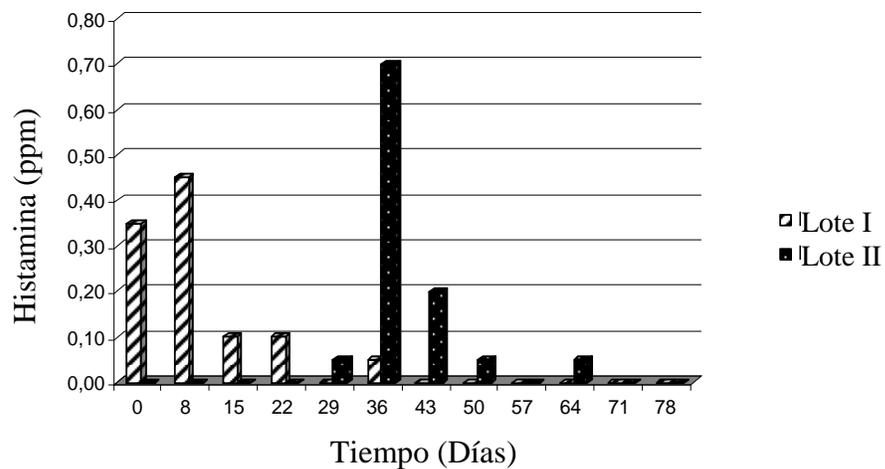


Figura 11. Comportamiento de los valores promedio de los niveles de histamina durante el almacenamiento de los dos lotes de atún.

En líneas generales se considera que un pescado fresco contiene niveles de histamina de 0,1mg/100 g, no obstante valores entre 8 y 10 mg/100 g, son concentraciones inofensivas. La Food and Drugs Administration (FDA, 1996) considera que una concentración de 20 mg / 100 g implica evidencia de alteración. Por otro lado la Comunidad Económica Europea (CEE, 1990) planteó en el consejo relativo a las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de productos, documento N° 10.584/90-415, un contenido máximo permisible de

histamina igual a 20 mg / 100 g para pescados de la familia Scombridae. Según lo establecido por estos 2 organismos ninguna de las muestras pasaron los valores permitidos, resaltándose que la temperatura de almacenamiento luego de la captura y durante el almacenamiento en el frigorífico fue la indicada para mantener a los ejemplares con un buen nivel de frescura, catalogándoles como óptimos para la comercialización en fresco o para el procesamiento.

Los resultados de la análisis de varianza doble aplicado mostraron que existían diferencias en la concentración de histamina entre los días de almacenamiento ($f_s = 9,17 *$), sin embargo, no existieron diferencias entre los lotes evaluados ($f_s = 0,15$ ns) (Tabla 19). Esto nos indicó que el comportamiento de ambos lotes fue similar a lo largo de los días de almacenamiento.

Los resultados de la prueba a *Posteriori* aplicada al contenido de histamina, según los días de almacenamiento, dio como resultado la formación de cuatro grupos, un primer grupo que incluye a los ejemplares con mayor nivel de histamina y un segundo, tercer y cuarto grupo con menor número de ejemplares con un contenido menor de esta amina biogénica.

Tabla 19. Resumen del Análisis de Varianza Doble para los niveles de Histamina según los días de almacenamiento y los lotes de atún evaluados.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
EFFECTOS PRINCIPALES				
A: lote	0,000833333	1	0,000833333	0,15
B: Días	0,546667	11	0,049697	9,17*
INTERACCIONES				
AB	0,749167	11	0,0681061	12,57*
RESIDUOS	0,13	24	0,00541667	
TOTAL (CORREGIDO)	1,42667	47		

Tabla 20. Resumen estadístico para los niveles de histamina según los días de almacenamiento.

Días	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
50	4	0,000	
57	4	0,000	
71	4	0,000	
78	4	0,000	
64	4	0,025	
29	4	0,025	
15	4	0,050	
22	4	0,050	
43	4	0,100	
0	4	0,175	
8	4	0,225	
36	4	0,350	

Al aplicar el análisis de regresión simple se encontró que las muestras del 1^{er} lote mostraron una relación negativa muy significativa ($P < 0,001$) (Figura 12) entre el tiempo de almacenamiento del atún y la concentración de histamina, mientras que las muestras del 2^{do} lote no estuvieron relacionadas (Tabla 7 y 8). Estos resultados se

deben a que los ejemplares tomados al azar al momento de la descarga del 1^{er} lote, fueron positivos para la histamina, pero esto no significa que esta disminuyó a lo largo del almacenamiento pues la toma de muestras siguiente se realizó de ejemplares diferentes. Valls (2004) reporta que la histamina es termo estable y que una vez formada en el músculo no se puede destruir. Sin embargo, periodos de congelación (bajas temperaturas) son capaces de inhibir la actividad histidin-descarboxilasa de las bacterias formadoras de histamina por el músculo, evitando así que esta amina se siga formando.

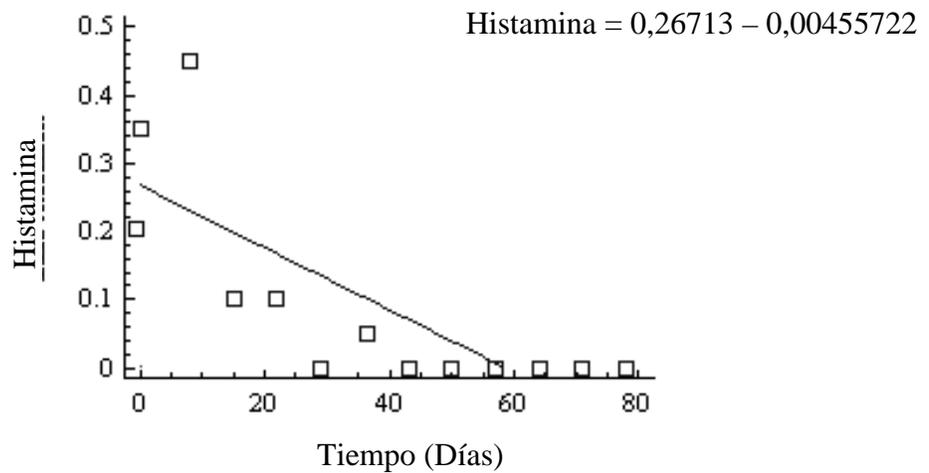


Figura 12. Regresión lineal entre los días de almacenamiento del atún y la concentración Histamina en el primer lote muestreado.

En líneas generales el análisis organoléptico y físico-químico de los dos lotes de atún evaluados indicaron que la calidad del mismo luego de 88 días de almacenamiento en congelado fue óptima, para el consumo humano, los parámetros evaluados no excedieron los límites establecidos por los entes reguladores de la calidad, mostrando así un nivel de frescura aceptable para su posterior comercialización.

CONCLUSIONES

- El 100% de los ejemplares de atún evaluado en ambos lotes, presentaron un grado de frescura aceptable organolépticamente.
- Los niveles de los parámetros físico-químico, no excedieron los límites permitidos para la comercialización.
- Los valores de pH, Aw, humedad, y NBVT mostraron diferencias significativas en los días de almacenamiento.
- Los niveles de NaCl, TMA y pH, revelaron diferencias altamente significativas con respecto a los lotes de atún evaluados.
- Las labores de pesca que incluyen tiempo de campaña, tipo de embarcación y temperatura de almacenamiento, varían entre las caladas, lo que influyó en diferencias encontradas en el análisis estadístico.
- La humedad de ambos lotes experimentó una relación negativa con el tiempo de almacenamiento producto de la desnaturalización de las proteínas musculares.
- Los niveles de NaCl y NBVT del 2^{do} lote se relacionaron positivamente con el tiempo de almacenamiento debido a las variaciones de temperatura.

BIBLIOGRAFÍA

- Association. Official Analytical (AOAC). 1980. *Oficial methods of analysis*. 14th. Chemistry. Virginia. USA.
- Association. Official Analytical (AOAC). 1975. *Oficial methods of analysis*. 19th. Washington DC. USA.
- Ayala, M. 1996. *Estructura y composición química del pescado*. Curso internacional sobre el procesamiento pesquero para la seguridad alimentaria, Callao-Perú.
- Ben-Gigirey, B.; Vieites, J.; Villa, T. y Barros-Velásquez, J. 1999. Chemical changes and visual appearance of Albacore tuna as related to frozen storage. *Journal of Food Science*, 64 (1): 20-24.
- Bermúdez, C. y Miraval, O. 1983. Informe N° 42. Instituto Nacional de Nutrición, Caracas Venezuela.
- Cabello, A; Figuera, B; Marcano, J y Vallenilla, O. 2002 (a). *Utilización de atún y otros grandes pelágicos*. Curso-Taller sobre el aprovechamiento e industrialización de atún y otros grandes pelágicos”. Cumaná, Venezuela.
- Cabello, A.; Marcano, J.; Narváez, M.; Silva, O.; Gómez, A.; Figuera, B.; Vallenilla, O.; y Salazar, H. 2002 (b). *Manejo del Recurso Atunero en Venezuela*. III Congreso venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Cumaná, Venezuela.
- Cambero, M.; Fernández, L.; García, M.; García, G.; De la Hoz, L.; Selgas, M. 1998 (a). *Tecnología de los alimentos. Componentes y procesos de los alimentos*. Volumen I. Editorial Ordoñez, Madrid, España.
- Cambero, M.; Fernández, L.; García, M.; García, G.; De la Hoz, L.; Selgas, M. 1998 (b). *Tecnología de los alimentos. Alimentos de origen animal*. Volumen II. Editorial Ordoñez, Madrid, España.
- Chimpén, L. 2002. *Captura, manipulación, preservación y transporte aéreo de atún fresco-refrigerado*. Curso Taller sobre el aprovechamiento e industrialización de atún y otros grandes pelágicos. Cumaná, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1979. *Determinación de*

- pH (acidez iónica)*. 1315-79. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1982. *Determinación del nitrógeno básico volátil total (N.B.V.T)*. 1948-82. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). *Atún en Conserva*. 1766-95). Caracas Venezuela.
- Comunidad Económica Europea. 1990. *Normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de productos pesqueros*. Documento N° 10584/90-415.
- Connel, J. 1978. *Control de la calidad del pescado*. Editorial Acribia, España.
- Cox, P. 1987. *Ultracongelación de Alimentos*. Editorial Acribia, España.
- Du, W.; Lin, C.; Phu, A.; Cornell, J.; Marshall, M. y Wei, C. 2002. Development of Biogeni Amines in yellow tuna (*Thunnus albacores*): effect of storage and correlation with discarboxylase. Positive bacterial flora. *Journal of Food Science*, 67 (1) : 293-301.
- Franchesqui, J. 2000. *Manual de normas para la congelación en embarcaciones atuneras*. México.
- Fernández, J. 2004. Contenido de histamina en el atún aleta amarilla *Thunnus albacores* (Bonnterra, 1788) en diferentes etapas del proceso de elaboración de conservas. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Fernández, M.; Bravo, J.; Fernández, S.; Goffaux, O.; y García, L. 2001. Escombrointoxicación por consumo de Bonito. *Nota Clínica*. (13) 132-135.
- Food and Drug Administration (FDA). 1996. *Scombrototoxin (histamine) formation (a chemical hazard)*. Ch.7, in fish and fishery products hazards and controls guide. first edition. 69-81.
- Giménez, C. 1990. *El atún: Base cierta de una actividad industrial*. Editorial Italgráfica, Venezuela.
- Gómez, A. 1994. Determinación de nitrógeno básico volátil total (NBVT) en los tunidos procesados industrialmente en Alimentos Margarita, C.A. Mariguitar Edo. Sucre. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

- Huss, H. 1999. *El pescado fresco, su calidad y cambios de calidad*. Colección FAO. Roma.
- Huss, H. 1988. *El pescado fresco, su calidad y cambios de calidad*. Programa de capacitación FAO/DANIDA en tecnología pesquera y control de calidad. Roma.
- Kanki, M.; Yoda.; Fsukamoto, F. y Shibata, F. 2002. *Klebsiella pneumoniae* produces no histamine. *Raoutella planticola* and *Raoutella ornithinolytica* strains are histamina producers. *Applied and Eviornmental Microbiology*, 68 (7): 3462-3466.
- Kim, S.; An, H. y Price, R. 1999. Histamine formation and bacterial spoilage of Albacore harvested off the U.S. northwest coast. *Journal of Food Sciencie*, 64 (2): 340-343.
- Larrañanga, I.; Carballo, J.; Rodríguez, M. y Fernández, J. 1999. *Control e Higiene de los Alimentos*. Editorial Mc Graw Hill, Interamericana. España.
- Lupin, H. 1992. *Actividad de agua en producto pesqueros curados*. Curso Nacinal FAO/DANIDA Sobre procesamiento y aseguramiento de la calidad de productos pesqueros Cumaná, Venezuela.
- Marcano, J; Gutiérrez, H; Salazar, H y Márquez, M. 2002. *Pesquería Industrial de túnidos*. Curso Taller sobre Aprovechamiento e industrialización de atún y otros grandes pelágicos. Cumaná, Venezuela.
- Maza, S. 1996. *Procesamiento de productos pesqueros congelados curso internacional sobre el procesamiento pesquero para la seguridad alimentaria*, Callao-Perú.
- Morales, G. y Pino, L. 1978. *Parasitología cuantitativa*. Editorial Acta Científica Venezolana. Caracas, Venezuela.
- Morales, J. 1983. *Aprovechamiento del pescado en la alimentación humana*. Visión general de las tecnologías aplicadas. Suplemento FAO. Caracas, Venezuela.
- Narváez, M. 1999. *Caracterización físico-química del músculo del atún listado (Katsuwonus pelamis) y de aleta amarilla (Thunnus albacares) de los Océanos Atlántico y Pacifico*. Trabajo de grado. Departamento de Biología Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Neogen Corporation. 2001. Veratox for Histamine. *Product Catalog. Food Safety Solutions*. U.S.A.

- Department of fisheries and Oceans. 1987. *Normas de Calificación de atún entero o cortado destinado a procesamiento*. Report of International tuna canning Workshop. Halifax, Canada.
- Rivas, H. 1990. *Procesamiento General del Pescado y Productos Pesqueros Congelados*. VI Curso Internacional de Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros. Perú.
- Sánchez, D. 2002. *El atún, su calidad química y alteraciones más frecuentes*. Curso Taller Sobre el Aprovechamiento e industrialización del atún y otros grandes pelágicos. Venezuela. Cumaná, Venezuela.
- Silva, C.; Duarte, J. y Enes, M. 1998. Storage temperature effect on histamina formation in big eye tuna and skipjack. *Journal of Food Science*, 63 (4).
- Sim, G y Leslie, H. 1987. Preliminary report on the internacional tuna canning workshop. Halifax. Canada.
- Stockwell, E. y Mc Loughlin, B. 1999. *La calidad del atún y problemas de seguridad alimentaria*. Taller sobre la calidad del atún. Guayaquil, Ecuador.
- The food and agriculture organization of the united nations/World health organization (FAO/WHO). 1976. Commission de Codex Alimentarius. Código Internacional recomendado de Prácticas para el pescado fresco. Canadá.
- The food and agriculture organization of the united nation/ Word health organization (FAO/WHO). 2000. Comision del codex alimentarius. Normas alimentarias del Codex sobre pescados y productos pesqueros. Noruega.
- Valls, J. 1991. Métodos fisicoquímicos para evaluar la calidad del pescado. Cursos-Taller sobre tecnología de productos marinos en conserva. Venezuela.
- Valls, J.; Gonzáles, D. y González, A. 2004. Evaluación físico-química y sensorial de tronquitos de sardinas (*Sardinilla aurita*) durante su almacenamiento congelado a -18°C. *Revista de la Universidad del Zulia*. 32-36.
- Víetes, B. y Maroño, M. 1991. *Las aminas biogenas como medida de la calidad de productos de la pesca*. Alimentaria: Revista de Tecnología de Alimentos. 51-58.
- Zaritzky, N. 1999. Congelación de alimentos. *En Temas en Tecnología de los Alimentos*. Aguilera, J. (Edit.), Instituto Polémica Nacional. 81-94.

ANEXOS

Anexo 1.-Apreciación de frescura, según Comunidad Económica Europea. Consejo de regulación N°103/76 OJ N° L20 (1976)

Partes del pescado inspeccionadas	Criterios			
	Puntajes			
	3	2	1	0
Apariencia				
Piel	Pigmentación brillante e iridiscente, decoloraciones ausentes. Mucus transparente y acuoso.	Pigmentación menos brillante Mucus ligeramente opalescente	Pigmentación en vías de decolorarse y empañarse Mucus lechoso	Pigmentación empañada Mucus opaco
Ojos	Convexos (salientes) Cornea transparente Pupila negra y brillante	Convexos y ligeramente hundidos Córnea ligeramente opalescente Pupila negra y empañada	Planos Córnea opalescente Pupila opaca	Cóncavo en el centro Córnea lechosa Pupila gris
Branquias	Color brillante Mucus ausente	Menos coloradas ligeras trazas de mucus claro	Decolorándose Mucus opaco	Amarillentas Mucus lechoso
Carne (cortada del abdomen)	Azulada translúcida, brillo uniforme Sin cambios en el color original	Aterciopelada cerosa, empañada Ligeros cambios en el color	Ligeramente opaca	Opaca
Color (a lo largo de la columna vertebral)	No coloreada	Ligeramente rosa	Rosa	Rojo

Continuación anexo 1

Órganos	Riñones y residuos de otros órganos deberían ser rojo brillante, así como también la sangre dentro la aorta	Riñones y residuos de otros órganos deberían ser rojo empañado; la sangre se decolora	Riñones residuos de otros órganos y sangre deberían ser rojo pálido	Riñones, residuos de otros órganos y sangre deberían ser de un color amarronado
Condición				
Carnes	Firme y elástica Superficie uniforme	Menos elástica	Ligeramente blanda (flácida) Menos elástica	Blanda (flácida) Las escamas se separan fácilmente de la piel, la superficie es bastante surcada tiende a desmenuzarse
	3	2	1	0
Apariencia				
Columna vertebral	Se quiebra en lugar de separarse de la carne	Adherente	Ligeramente adherente	No adherente
Peritoneo	Se en lugar de separarse de la carne	Adherente	Ligeramente adherente	No adherente
Olor				
Branquias, piel, cavidad abdominal	A algas marinas	Olor a algas marinas u otro mal olor, ausentes	Ligeramente ácido	Ácido

Anexo 2.-Normas de calificación de atún entero o cortado destinado a procesamiento “Report of International Tuna Canning Workshop”: Department of Fisheries & Oceans (1987).

PARÁMETROS A EVALUAR	GRADO			
	A	B	C	D
Aspecto de los ojos	Claros, brillantes	Blancos nublados	Blancos opacos	No asignado
Color de las branquias	Apariencia rojo sangre	Color que va del rojo pálido al rojo oscuro	Color que va del pardo oscuro al amarillo pardusco	Color blanco amarillento y apariencia mucosa Decoloración masiva de la piel,
Aspecto de la piel	Color claro y brillante	Color opaco, sin brillo	Ausencia de color; ruptura de la piel	descompuesta y rota
Olor	Olores frescos	Olores característicos de las especies	Olores no asociados con descomposición o pescado manido	Cualquier olor asociado con pescado manido o descompuesto
Consistencia de la carne	Firme y elástica	Ligeramente floja (Firme pero con elasticidad)	Floja	Excesivamente floja y pastosa
Daños físicos	Sin evidencia de mutilación o	Ligera mutilaciones	Ligera rasgadura, menos del 10%	Más del 10% del pescado

HOJA DE METADATOS

Título Principales Cambios Físico-Químicos Y Organolépticos Del Atún Congelado Por Las Empresas Cannavo S.A., Cumaná, Estado Sucre. (Modalidad: Investigación)

Autor (es):

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail
	CVLAC 14.431.845
Simonovis M, Yeindrisk	e-mail

Palabras o frases claves:

cambios organolépticos del atún, Cambios físicos químicos del congelamiento del atún

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJO DE ASCENSO- 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstracto):

Se evaluaron los cambios organolépticos y físico-químicos de 2 lotes de atún congelados por separado durante 78 días cada uno, tomándose muestras semanalmente. Para los cambios organolépticos se utilizó el criterio de la Comunidad Económica Europea presentado por Huss, 1991. Las determinaciones del cloruro de sodio (NaCl), humedad, actividad de agua (Aw) y trimetilamina (TMA) se realizaron por los métodos de la AOAC 1975 y 1980 respectivamente para el primero y los tres últimos. El pH y el nitrógeno básico volátil total (NBVT) se evaluaron por COVENIN 1315-79 y 1948-82, y la histamina se determinó por el método semiautomático veratox Elisa 1997. Los resultados del análisis organoléptico y físico-químico, mostraron que ambos lotes cumplieron con los límites establecidos para la comercialización. El Anova doble reveló diferencias significativas en el pH, Aw, Humedad, NBVT e Histamina, según los días de almacenamiento, mientras que según los lotes evaluados y los niveles de pH, NaCl y TMA se encontraron diferencias altamente significativas, producto de las labores de pesca y variaciones en la temperatura de almacenamiento dentro y fuera de la embarcación. El tiempo de almacenamiento afectó a los niveles de humedad, de ambos lotes causando una disminución en este parámetro producto de la desnaturalización de las proteínas musculares y la sublimación de los cristales de hielo. Los niveles de NaCl y TMA del 2^{do} lote aumentaron a lo largo del período de almacenamiento producto del tiempo de campaña y fluctuaciones en las temperaturas dentro de la embarcación y en el frigorífico.

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJO DE ASCENSO- 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres

Rol / Código CVLAC / e-mail

Cabello Ana	Rol CVLA e-mail e-mail	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> 3.872.035
Villalobos, Luzbetina	Rol CVLA e-mail e-mail	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> 5.162.987
Figuera Bertha	Rol CVLA e-mail e-mail	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> 9.273.830
Marquez, Yunilde	Rol CVLA e-mail e-mail	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> 8.425.078

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2009 06 15

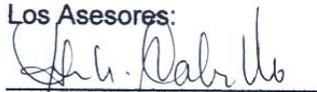
Lenguaje: Spa

Derechos:

le doy a la Universidad de derecho a divulgar este conocimiento me reservo los derechos de industria comercio y patente

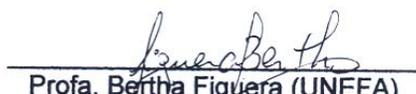

AUTOR 1

Los Asesores:

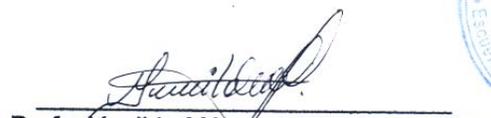

Profra. Ana M. Cabello


Profra. Luz Bettina Villalobos

Jurado Principal:


Profra. Bertha Figuera (UNEFA)

Jurado Principal:


Profra. Yunilde Márquez (IUT-Carúpano),

