**CAPÍTULO 1**

1. **GENERALIDADES**
   1. **Materia prima: DORADO (Coryphaena hippurus)**

El Dorado es la variedad más representativa de la llamada Pesca Blanca(1) en el Ecuador. Pertenece a la familia Coryphaenidae (3). Se lo conoce comercialmente como Mahi-mahi. En la pesca artesanal se capturan ejemplares desde 42 cm. hasta 180 cm. (de largo) (3). Los Puertos principales de desembarque son: Esmeraldas, Manta, San Mateo, Puerto López, Santa Rosa y Anconcito (3).

La temporada de pesca es de Diciembre a Marzo de cada año (estación lluviosa). Cuando existe un evento “El Niño Oscilación del Sur” su disponibilidad se prolonga durante todo el año (3). El desembarque promedio anual en la pesca artesanal es de 12071 toneladas (3).

(1): Denominada a la captura de especies en mar abierto.

Producto de consumo masivo a nivel local. Su carne (cruda) es de color blanquecino tendiendo a rosada, de excelente calidad. Su piel sirve para la fabricación de cuero, con el cual se pueden elaborar carteras, correas, billeteras, monederos, llaveros y similares (3).

A nivel Industrial los tipos de procesamientos (fresco y congelado) son los siguientes (3):

* H & G: Tronco sin cabeza, vísceras, cola; con piel.
* Filetes: Filete con y sin piel, sin línea de sangre, sin espinas.
* Porciones (congelado): Sin piel y sin hueso.

Con sus respectivos tipos de empaques (3):

* H & G: Caja de cartón parafinado, empaque con aislamiento de poliestireno, envolturas de polietileno, con paquetes de gel congelado.
* Filetes: en el caso de fresco, en caja de cartón parafinado, con aislamiento de poliestireno; envolturas de polietileno, con y sin fundas especiales para empacar al vacío, con y sin paquetes de gel congelado.
* Porciones: caja de cartón, con y sin fundas especiales para empacar al vacío.

Producción

La exportación de Pesca Blanca en el Ecuador, representa una buena fuente de ingreso económico para las zonas costeras, tales como Manta, Esmeraldas, San Mateo, Puerto López, Santa Rosa y Anconcito. Actualmente, el Dorado ocupa el segundo lugar en las exportaciones de pesca blanca. Desde el punto de vista artesanal, el Dorado es el recurso más importante, por los volúmenes que se capturan y porque su pesca es ampliamente conocida (3). Al nivel Industrial o para las Empacadoras de pesca blanca, es difícil definir la importancia del Dorado o de cualquier otra especie, pero si se puede afirmar que el Dorado representa al menos el 50% de libras totales exportadas en el año (33).

Exportación

Una Empresa Exportadora de pesca blanca llegó a exportar en el 2004 alrededor de 2’000,000 de libras de dorado procesado (esta producción varía de temporada en temporada) (33). El principal consumidor de esta especie, es los Estados Unidos (99% de participación) y Países Europeos, tales como Francia (1% de participación). El producto va destinado a Comisariatos y Restaurantes de dichos países (33).

El volumen en ventas, no esta definido por el grado de aceptabilidad que ha tenido el Dorado en el mercado internacional, ya que el volumen es demasiado grande; más bien, dicho valor esta definido por la disponibilidad de esta especie (29). Teniendo en cuenta que se trata de una especie de un elevado volumen de producción, pero solo por ciertos meses del año, las Empresas procesadoras de Pesca Blanca, utilizan como principal método de conservación a la congelación (3). Con este método, las Empresas mantienen disponible todo el año a la especie en cuestión. A parte de que este método, demanda un alto gasto energético, las características organolépticas del producto se ven afectadas terriblemente (elevado grado de pérdida de textura y sabor).

1. **Causas y efectos del deterioro en porciones refrigeradas**

Una porción fresca de Dorado es una fracción estandarizada obtenida del lomo del pescado fresco. El pescado fresco es aquel que, desde su captura, no ha sufrido ninguna operación para su conservación, excepto la adición de hielo troceado y temperaturas de refrigeración (T° < 4 °C). No se considera proceso conservador el descabezado, el desangrado o eviscerado (28).

Entre los elementos evidentes del deterioro en filetes o lomos frescos de Dorado se encuentran (19):

* Detección de olores y sabores extraños
* Formación de exudados
* Producción de gases
* Pérdida de color
* Cambios de Textura

Las causas de la alteración del pescado fresco pueden ser de dos tipos: microbiológica y no microbiológica (9). La pérdida inicial de frescura de las especies de pescado magras (Dorado) en su estado natural, con o sin refrigeración se debe a cambios autolíticos(2), mientras que el deterioro se debe principalmente a la acción bacteriana (19).

Los microorganismos son los agentes más importantes en la alteración del pescado fresco ya que son los que originan los sabores particularmente indeseables ligados a la alteración. Por lo tanto, el control de la alteración es en gran parte, el control de los microorganismos (9).

(2): Cambios inducidos por enzimas propias del animal como la reducción de óxido de trimetilamina (OTMA) en dimetilamina (DMA) y formaldehído (FA). Puede ser la principal causa de algunas especies en almacenamiento refrigerado.

Esta acción microbiana acarrea una secuencia de cambios en las sustancias odoríferas y sápidas. Inicialmente se forman compuestos con olor y sabor ácido, a hierba o a fruta; más tarde aparecen sustancias amargas de aspecto gomoso y aroma sulfuroso y finalmente, en el pescado pútrido el carácter es amoniacal y fecal (9, 10, 28). Entre los compuestos volátiles producidos por la acción bacteriana y que son responsables de estos olores tenemos trimetilamina (TMA), compuestos sulfurosos volátiles, aldehídos, cetonas, ésteres, hipoxantina y otros compuestos de bajo peso molecular (18). Las enzimas proteolíticas segregadas por los microorganismos atacan a los componentes estructurales, las proteínas, ocasionando un ablandamiento gradual de la carne (9).

La acción continuada de los microorganismos afecta también a la apariencia y a las propiedades físicas. Las viscosidades existentes sobre la piel que originalmente son claras y acuosas, se transforman en oscuras y grumosas. La piel pierde su apariencia brillante, la tersura, tornándose débil, pálida y desagradable al tacto (9, 10, 28).

Población Microbiana del Dorado fresco

Los microorganismos encontrados pertenecen a los géneros *Acinetobacter,* *Flavobacterium, Moraxella, Shewanella* y *Pseudomonas*. También son frecuentes algunos géneros de las familias Vibrionaceae (*Vibrio y Photobacterium*) y Aeromonadaceae (*Aeromonas spp*.) mientras que, algunos microorganismos Gram positivos se encuentran en proporciones variables: *Bacillus, Micrococcus, Clostridium*, *Lactobacillus* y corineformes (17).

De lo descrito hasta ahora se puede extraer que hay una variedad muy amplia y diferente número de microorganismos en el pescado. Resulta de gran interés saber la importancia de éstos en el deterioro del Dorado y determinar cómo puede controlarse mediante tecnologías de conservación no convencionales (Tecnología de Barreras). Puesto que los microorganismos presentes en el pescado deteriorado no tienen un efecto directo en la degradación (Huss, 1995), es importante conocer cuáles son realmente las bacterias específicas del deterioro (16). Huss (1994) presentó un resumen (Ver Apéndice A) de las bacterias deteriorantes que prevalecían en la pesca blanca fresca cuando se conservaba en condiciones aerobias, al vacío a 0 y 5°C y cuando se almacenaba en condiciones aeróbicas a temperatura ambiente (17).

El principal y más específico microorganismo responsable del deterioro del Dorado procedente de aguas templadas, conservado con hielo en condiciones aeróbicas, es *Shewanella putrefaciens* (17).

Las alteraciones no microbianas son de dos clases: enzimáticas y no enzimáticas. Existen también enzimas alterantes del sabor. Los componentes responsables de los sabores característicos del pescado se ven alterados por la acción enzimática que en primera instancia produce compuestos de sabor neutro, presentando el pescado un sabor insípido y en lo posterior sustancias degradativas como la hipoxantina que produce un sabor amargo característico del pescado descompuesto (9, 10, 19).

De las alteraciones no enzimáticas la más significativa es el enranciamiento no enzimático. Esta alteración se debe a la oxidación de las superficies lipídicas con ácidos grasos insaturados que existen en la carne y otros tejidos, produciendo olores y sabores desagradables (9). Sin embargo, el pescado blanco, como el Dorado, tiene un contenido de lípidos muy bajo, por lo que si se desarrolla oxidación lipídica no es fácilmente detectable en las piezas frescas debido a que se enmascara con otros sabores y olores que aparecen durante la alteración (9).

1. **Tecnología de Barreras**

El deterioro de la calidad de los alimentos es causado por reacciones físicas (tal como la movilidad de agua desde o hacia el alimento), químicas (rancidez oxidativa), enzimáticas (rancidez lipolítica, pérdida de sabor, ablandamiento, etc.) y microbiológicas (crecimiento o presencia de microorganismos infecciosos, toxigénicos o del deterioro, productos del metabolismo (14). Sin embargo, aunque una efectiva preservación apunta a todas las formas del deterioro de la calidad siempre es la principal prioridad minimizar la potencial presencia y crecimiento de microorganismos patógenos y del deterioro (ICMSF, 1996) (14). Por lo tanto, las tecnologías de preservación se basan principalmente en la inactivación o prevención del crecimiento de microorganismos (ICMSF, 1980) (14).

**1.3.1. Definición y Principios**

El “Efecto Barrera” o “Tecnología de Barreras” es una nueva tecnología que se esta aplicando en la preservación de alimentos. Su objetivo es la obtención de productos estables, microbiológicamente seguros, de características organolépticas aceptables y sin afectar las características nutricionales del producto original (13). Se basa en la combinación de varias tecnologías que por muchos años se han aplicado individualmente para la conservación de los alimentos, tales como: altas temperaturas, bajas temperaturas, reducción de agua, acidificación, utilización de conservantes, agregación de sales y otros. Estas tecnologías individuales, al ser aplicadas en conjunto a un alimento, tienen un efecto sinérgico que permite que cada una de ellas sea aplicada en menor intensidad que cuando se las aplica independientemente. (13, 25, 29).

La ventaja de Tecnología de Barreras consiste en que el alimento no sufre cambios drásticos como es en el caso en donde se utiliza una sola tecnología; debido a este principio se puede obtener un producto muy similar al natural pero con una vida en percha mayor que la del producto sin procesar, incluso la idea de esta tecnología es que con una adecuada combinación de barreras no se requiera invertir en procesos que demanden grandes cantidades de energías y equipos sofisticados, en resumen al hablar de Tecnología de Barreras consiste en una combinación inteligente de diferentes tecnologías de preservación de alimentos que no demanden un mayor costo de inversión.

**1.3.2. Efectos**

Existe un fenómeno denominado homeostasis, el cual es un conjunto de mecanismos que las células microbianas ejecutan para mantener inalterables las actividades fisiológicas normales cuando su ambiente ha sido alterado (28). Si la homeostasis es interrumpida por las barreras aplicadas, los microorganismos no se multiplican (la fase de latencia se prolonga) o incluso mueren antes de que su homeostasis se restablezca, ya que al ser hostil el medio en el que se encuentran gastan todas las energías posibles para mantener sus mecanismos homeostáticos y mueren. Este efecto se denomina “Agotamiento Metabólico” (28).

En el Apéndice B se nombran aquellas barreras más comúnmente usadas en la preservación de alimentos, ya sean aplicadas como barreras de proceso o como aditivos, las cuales tienen como objetivo la Inhibición parcial o completa del crecimiento microbiano.

**1.3.3. Aplicaciones**

**PRODUCTOS CONSERVADOS POR APLICACIÓN**

**DE TECNOLOGÍA DE BARRERAS**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Producto** | **Proceso Aplicado** | **Estabilidad** |
| Pan (16) | Reducción de aw, (ácidos orgánicos, preservantes, empaque, calor | 7 días |
| Puré de Papaya y Piña en rodajas (16) | Escaldado, reducción de aw, reducción de pH, Sorbato de potasio | 4 meses |
| Sardina Picada (9) | Lavado, reducción de aw (adición de sal), sorbato de potasio, reducción de pH, empaque , calor | 15 días a 15°C |
| Salmón en pedazos o en rodajas (9) | Reducción de aw (adición de sal), humo natural, vinagre, sorbato de potasio y empaque al vacío | 30 días a temperatura de refrigeración |
| Macarela (9) | Reducción de aw (adición de sal), vacío por 3 días. Sumergido en salmuera | 3 meses en refrigeración |

**FUENTE:** HURDLE TECHNOLOGIES. COMBINATION TREATMENTS FOR FOOD STABILITY, SAFETY AND QUALITY (29).

1. **Selección de Barreras**

Tomando en cuenta, que con el presente estudio lo que se busca es la aplicación de un método de conservación no convencional de alimentos (Tecnología de Barreras) en uno de los productos de importancia comercial para las Empresas Exportadoras de pesca fresca, como lo son las porciones de Dorado (Coryphaena Hippurus); se ha tomado como estudio previo, el proyecto de investigación de Tecnología de Barreras realizado por la ESPOL en trozos de Tilapia Roja (Oreochromis sp.) (15).

En primera instancia la decisión de tomar este estudio como antecedente, fue basado en que el Dorado tiene similares características con la Tilapia Roja (Oreochromis sp.), ya que ambas especies son magras (Ver Composición química en Apéndice C); además las barreras utilizadas en dicho estudio son comunes y básicas para los productos de origen pesquero. Los resultados del estudio en trozos de Tilapia, indican que la solución osmótica apropiada para especies de pescado magro, es aquella formada por: Sacarosa (20 %), Cloruro de Sodio (20 %) y ácido Acético (1%) (15).

El método por medio del cual se aplicaron las barreras (disminución de aw y pH) es el denominado “Proceso de Impregnación y Deshidratación por Remojo” (PIDR) (16). Este proceso se basa principalmente en deshidratación por ósmosis pero también con reducción de pH (en nuestro caso, ácido acético que se agrega a la solución osmótica). El objetivo de este método es formular directamente un producto “formulación directa” para lograr estabilidad del mismo en un plazo mayor al del producto original (16).

Una tercera barrera, sería las bajas temperaturas (T° refrigeración), debido a que el procesamiento y la comercialización de las especies pertenecientes a la pesca blanca fresca exigen la cadena de frío desde su captura (33).

**1.4.1. Reducción de aw**

La actividad de agua es un valor que expresa la disponibilidad de agua reactiva dentro del alimento (5). Los microorganismos requieren la presencia de agua, en una forma disponible, para que puedan crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas (22) (Ver Apéndice D). Mientras más cercano sea el valor de aw a 1, más disponibilidad de agua existe. En el pescado fresco se tienen valores de aw >= 0.98 (22, 25).

Al observar el Apéndice D, los microorganismos que inicialmente representaban mayor importancia en el deterioro del producto pierden dicha categoría (debido al efecto inhibidor de la reducción de aw) y son otros (que inicialmente no eran de significancia) los que pasan a ser punto de atención en el estudio de estabilidad del alimento (19).

Importancia de la reducción de aw

La deshidratación es un método de conservación de los alimentos basado en la reducción de la aw, lo que se consigue eliminando el agua de los productos. Al sumergir las porciones frescas en la solución osmótica (azúcar, sal) se produce una deshidratación y son estos solutos los que, al ser añadidos, descienden la aw.

Al combinar los dos solutos se obtiene una reducción de las respectivas difusividades (a mayor concentración de sacarosa, menor difusividad de la sal y a mayor concentración de sal, menor difusividad de la sacarosa (22)), con lo cual se pueden obtener buenos resultados en baja captación de solutos y alta reducción de aw (22, 23). El cloruro de sodio tiene una alta capacidad depresora de aw y causa una considerable impregnación del mismo (captación de solutos) en tejidos animales. En general, si el peso molecular de los solutos en una solución osmótica es ligeramente elevado, es posible disminuir la ganancia de solutos por una equivalente pérdida de agua. La combinación de ambas soluciones permite aprovechar las ventajas de cada una (32).

Un pequeño descenso de aw es a menudo suficiente para evitar la alteración de los alimentos siempre que esta reducción sea potenciada por otros agentes tal como ocurre en el presente estudio, es decir factores tales como: pH-acidez, baja temperatura (29).

Deshidratación Osmótica

D.O. se utiliza en Tecnología de Barreras para dar origen a productos donde sus características finales sean muy similares al producto fresco, guardando una estabilidad microbiológica mayor al del producto natural o sin procesar (16).

Durante la deshidratación Osmótica ocurren dos tipos diferentes de flujos de transferencia de masa: agua se transfiere desde el producto hacia la solución osmótica (S.O.) y solutos se transfieren desde la S.O. hacia el producto (1, 5, 16). El gradiente de potencial químico que participa como fuerza impulsora de los dos flujos de transferencia de materia es la diferencia de actividades de agua entre un lado y otro de la membrana semipermeable que forma el tejido animal (5, 25, 29).

Para entender el proceso de Deshidratación Osmótica, se muestra en la figura 1.1., un esquema didáctico de lo que ocurre durante este proceso.

**ESQUEMA DE TRANSFERENCIA DE MATERIA DURANTE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA**



**FUENTE:** ELABORADO POR OMAR UVIDIA A.

**1.4.2. Reducción de pH**

El pH de un alimento es uno de los principales factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el procesado, el almacenaje y la distribución (34).

Efectos del pH sobre los microorganismos

En alimentos crudos (sin procesar), el descenso del pH aumenta la estabilidad microbiológica. Esto se logra naturalmente por fermentación o artificialmente por adición de acidulantes como ácidos orgánicos débiles (ácido acético). La mayoría de los microorganismos no crecen por debajo de un pH mínimo especificado (Ver Apéndice E), pero un pH tan bajo como para que no crezcan microorganismos produce perdida de la calidad del alimento (22).

Para acidificar medios se han usado ácidos orgánicos débiles y ácidos inorgánicos fuertes. Los más eficaces son los ácidos orgánicos débiles (22, 29, 30). La forma no disociada de estos ácidos (Ver Apéndice F) se difunde libremente a través de la membrana celular e ioniza dentro de la célula, dando lugar a protones que acidifican el medio interno del organismo e inhiben el transporte de nutrientes (22).

Importancia

En estado natural la carne de pescado es ligeramente ácida. Después de muerto el animal, el glucógeno se transforma en ácido láctico, lo que provoca un descenso de pH, el cual luego asciende hasta valores de 6 a 7, lo que se traduce en una predisposición para la alterabilidad, ya que a estos valores de pH no se inhibe la proliferación bacteriana (22, 25).

El ácido acético es apropiado para productos de origen pesquero, debido a su compatibilidad con el sabor del pescado (9). La ventaja de bajar el pH para la conservación de alimentos por métodos combinados es el aumento de la actividad de agua limitante de las bacterias y el descenso de la resistencia térmica de las bacterias, mientras se potencian los efectos antimicrobianos (19)

Según el principio de Tecnología de Barreras, si aplicamos las dos barreras descritas (reducción de aw y pH) se puede lograr un efecto sinérgico para la prolongación de la fase de latencia de los Microorganismos de Deterioro, aspecto que se traduce con la prolongación de vida en percha del producto en estudio.

**1.4.3. Temperatura de Refrigeración**

Temperaturas de refrigeración son aquellas próximas, pero superiores, al punto de congelación de los alimentos, habitualmente se consideran como tales las incluidas en el rango -1 a 7°C. El efecto de la refrigeración sobre la microflora del pescado fresco depende de la temperatura y el tiempo de almacenamiento, así como de las características fisiológicas de los microorganismos implicados. A medida que la temperatura desciende por debajo del óptimo, el crecimiento se hace más lento y finalmente se detiene (22).

Las bajas temperaturas tienen una importante acción selectiva sobre las floras mixtas constituidas por mesófilos (°T óptima: °T ambiente) y psicrotrofos (mesófilos amantes del frío).

Efectos sobre los microorganismos de alteración

El procesamiento y comercialización de porciones frescas de Dorado se da a temperaturas de refrigeración adecuadas (inferiores a 7 °C). Con esto, la alteración sólo será causada por los psicrotrofos. Aunque los tiempos de generación de los psicrotrofos parezcan muy prolongados, los largos periodos de almacenamiento a refrigeración utilizados en muchas especies de pescados permiten que la población psicrotrófica alcance tasas de muchos millones por gramo en unos pocos días, lo que frecuentemente resulta en la aparición de alteraciones desagradables en el olor, el gusto y la textura. Deben evitarse las fluctuaciones en la temperatura de almacenamiento porque la velocidad de crecimiento aumenta rápidamente con ella (11).

Efectos sobre los microorganismos patógenos e indicadores

La mayor parte de los patógenos son mesófilos y, con pocas excepciones, su crecimiento no constituye un problema en los alimentos refrigerados. Las *salmonelas* no crecen a temperaturas inferiores a unos 6 °C (Matches y Liston, 1968) (22). *Vibrio parahaemolyticus* es sensible a las bajas temperaturas (22).

El efecto de la refrigeración sobre los microorganismos considerados como indicadores de polución fecal también tiene considerable interés. Su multiplicación durante el almacenamiento de los alimentos puede conducir al decomiso aunque originalmente tales microorganismos no sobrepasaran una tasa aceptable. *Escherichia coli* y *Streptococcus faecalis* tienen mínimos de crecimiento similares, unos 8-10°C (22).

Barreras para la Comercialización

La temperatura de refrigeración (T° < 4°C) en comercialización de pesca fresca es la primera y más importante barrera, ya que ofrece una protección para el alimento contra el desarrollo de gérmenes patógenos y de deterioro. Dicha barrera es exigida por normas internacionales (33).

Debido a que el objetivo del presente estudio es prolongar la vida útil de un producto comercialmente importante en pesca blanca, se ha decidido que el estudio va a partir con la limitación de que el producto experimental tendrá las mismas condiciones de almacenamiento (T° y empaque) exigidas internacionalmente para productos frescos de origen marino.

Para la mayoría de los alimentos, el envasado es necesario para preservar su calidad y protegerlos contra el daño durante el almacenamiento y la distribución. Actúa como barrera para prevenir la entrada de microorganismos, insectos, suciedad, etc., e incluso contra la transferencia o pasaje de vapor de agua, gases y aroma (22).

**1.4.4. Interacción entre las barreras seleccionadas**

Las limitaciones de las actividades microbianas en relación con cada barrera (aw, pH, T° refrigeración)se han establecido en medios donde los demás factores son óptimos. Cuando uno de estos factores se desvía del valor óptimo, se estrecha el intervalo de barrerafavorable para el crecimiento (22).

Lo que se busca con Tecnología de Barreras es utilizar la combinación adecuada e inteligente de temperaturas bajas, pH, y aw,considerando que la finalidad es alcanzar la extensión de la vida útil de las porciones de Dorado, conservando su calidad fresca, y no la obtención de un producto microbiológicamente estable, como se da en el caso de la aplicación de Esterilización, Pasteurización, y otros procesos intensos que disminuyen la calidad del alimento (29).