

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

**“Estudio de la Aplicación de Tecnología de Barreras en
Trozos de Tilapia Roja (*Oreochromis sp.*)”**

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA DE ALIMENTOS

Presentada por:

Verónica Rafaela Guadalupe Moyano

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2004

AGRADECIMIENTO

A la M.Sc. Fabiola Cornejo, Directora de Tesis, por su invaluable ayuda, a la Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, a mi familia por el apoyo y la paciencia y, a todas las personas que de uno u otro modo colaboraron en la realización y culminación de este trabajo.

DEDICATORIA

A DIOS, POR ESTAR PRESENTE
SIEMPRE EN MI VIDA.

A MIS PADRES QUIENES HAN SIDO
EL EJEMPLO DE HUMILDAD, AMOR
Y SUPERACIÓN MÁS GRANDE Y A
QUIENES DEBO TODO LO QUE
SOY. NADA PUEDE SEPARARNOS.

A MIS HERMANOS, ALEGRÍA DE MI
VIDA.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ing. Francisco Andrade S.
SUBDECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

M.Sc. Fabiola Cornejo Z.
DIRECTORA DE TESIS

M.Sc. María Morales R.
VOCAL

Dr. Alfredo Barriga R.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”.

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

Verónica Rafaela Guadalupe Moyano

RESUMEN

El presente trabajo consiste en un estudio de aplicación del proceso de conservación denominado Tecnología de Barreras en trozos de tilapia con la finalidad de prolongar su tiempo de vida útil y de abrir una alternativa para conservación de alimentos todavía no explorada en nuestro país.

En el proceso, se alteró mínimamente ciertas propiedades del alimento, como son actividad de agua y pH, con lo cual se afectaron las condiciones en que los microorganismos causantes del deterioro pueden crecer. El método que se utilizó para lograr esto fue básicamente deshidratación osmótica, incluyendo ácido en la formulación de la correspondiente solución osmótica. De esta manera se redujo la actividad de agua del producto y el pH, y se acidificó el producto, en un mismo proceso. El estudio de estabilidad se realizó en producto almacenado a temperatura ambiente y en refrigeración ($8 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e incluyó estudio del deterioro de las características organolépticas de calidad, crecimiento microbiano y determinación de bases volátiles.

Los resultados demuestran que el proceso aplicado es eficaz ya que permite un aumento de la vida útil del producto de hasta un 1100% a temperatura de almacenamiento de $8 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 620% a temperatura de almacenamiento de 25°C . Las condiciones a las que se logró tal estabilidad fueron: actividad de agua en el rango 0.91-0.94, pH 5.45, 0.34% de ácido acético y 3% de sal.

En el primer capítulo de este trabajo se revisan las generalidades correspondientes a la materia prima, las causas del deterioro de pescado fresco y productos de pescado y los fundamentos de Tecnología de Barreras. En el segundo capítulo se encuentran los métodos seguidos en cada una de las etapas de este estudio, tanto los de aplicación de barreras como los del estudio de estabilidad. Finalmente en el capítulo tres se analizan los resultados de deshidratación osmótica, acidificación y estabilidad obtenidos.

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ABREVIATURAS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1	
1. GENERALIDADES.....	4
1.1 Materia Prima: Tilapia Roja (<i>Oreochromis sp.</i>).....	4
1.2 Causas y efectos de las alteraciones en el pescado fresco.....	7
1.3 Alteraciones en los productos de pescado.	13
1.4 Tecnología de Barreras.....	16
1.4.1 Principales barreras y sus efectos sobre los microorganismos.....	23
1.4.2 Ejemplos de experimentos realizados en pescados de diferentes especies.....	34
1.5 Selección de barreras.....	36

CAPÍTULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
2.1 Materia prima.....	40
2.2 Equipos e instrumentos.....	44
2.3 Reducción de Actividad de agua.....	47
2.4 Reducción de Ph.....	52
2.5 Empaque y almacenamiento.....	53
2.6 Estudio de Estabilidad.....	53

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	59
3.1 Reducción de actividad de agua.....	59
3.1.1. Isotherma de desorción.....	60
3.1.2. Reducción de humedad por deshidratación osmótica.....	62
3.1.3. Determinación del valor de actividad de agua.....	88
3.2 Pruebas de acidificación de la solución osmótica para reducción de pH.....	91
3.3 Estudio de estabilidad.....	95
3.4 Descripción del producto obtenido.....	107

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

APÉNDICES

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

A_w o a_w	Actividad de agua.
AOAC	Association of official agricultural chemists.
CT	Muestras con tratamiento.
CORPEI	Corporación de promoción de exportaciones e inversiones.
D.O.	Deshidratación osmótica.
E.coli	Escherichia coli.
g	gramo
HRE	Humedad relativa de equilibrio.
ICMSF	Comisión internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos.
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización.
MIC	Medición del Índice de calidad.
Min	Minutos
Mg	miligramo.
m.o.	microorganismo
NaCl	Cloruro de sodio o sal común.
NMP	Número más probable.
OTMA	Óxido de trimetilamina.
OED	Organismos específicos del deterioro
P	presión de agua del alimento a una temperatura t.
p_o	presión de agua pura a una temperatura t.
PCA	Plate count Agar.
PDA	Potato Dextrosa Agar.
pH	Potencial de Hidrógeno
PIDR	Proceso de impregnación y deshidratación por remojo.
S.O.	Solución osmótica.
ST	Muestras sin tratamiento.
TMA	Trimetilamina.
ucf /g	Unidades formadoras de colonias por gramo de alimento.

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1.1	Curva teórica de Crecimiento Bacteriano.....26
Figura 2.1	Proceso de Aplicación De Tecnología de Barreras en Tilapia.....39
Figura 2.2	Sistema usado en Método Gravimétrico para Construcción de Curva de Desorción.....49
Figura 3.1	Curva de Desorción de Carne de tilapia fresca obtenida por Método Gravimétrico.....61
Figura 3.2	Contenido de Agua en Muestras Finas Durante D.O. en tres Combinaciones de agentes Osmóticos Nacl/Sacarosa.....65
Figura 3.3	Pérdida de Agua en Muestras Finas durante D.O. en tres combinaciones de agentes osmóticos Nacl/Sacarosa.....66
Figura 3.4	Contenido de Agua en Muestras Gruesas durante D.O. en tres combinaciones de Agentes Osmóticos Nacl/Sacarosa.....67
Figura 3.5	Pérdida de Agua en Muestras Gruesas durante D.O. en tres Combinaciones de agentes osmóticos Nacl/Sacarosa.....68
Figura 3.6	Contenido de Sólidos Totales en Muestras Finas Sometidas a D.O. en tres combinaciones de agentes osmóticos Nacl/Sacarosa.....74
Figura 3.7	Ganancia de Solutos en Muestras Finas Durante D.O. En Tres Combinaciones de agentes osmóticos Nacl/Sacarosa.....75
Figura 3.8	Contenido de Sólidos Totales en Muestras Gruesas sometidas a D.O. en tres combinaciones de Agentes Osmóticos Nacl/Sacarosa.....76
Figura 3.9	Ganancia de Solutos en Muestras Gruesas durante D.O. en tres combinaciones de Agentes Osmóticos Nacl/Sacarosa.....77
Figura 3.10	Pérdida de Agua en Muestras Finas durante D.O. (10 Min De Proceso).....78

	Pag.
Figura 3.11 Pérdida de Agua en Muestras Gruesas durante D.O. (10 Min De Proceso).....	79
Figura 3.12 Ganancia de Solutos en Muestras Finas durante D.O. (10 Min De Proceso).....	82
Figura 3.13 Ganancia de Solutos en Muestras Gruesas durante D.O. (10 Min De Proceso).....	83
Figura 3.14 Contenido de Humedad Vs. Tiempo de Inmersión En Solución 20% Nacl /20% Sacarosa.....	89
Figura 3.15 Cambios sensoriales por Deterioro. Puntuación de Deméritos Respecto al tiempo de almacenamiento.....	97
Figura 3.16 Crecimiento De Bacterias: Recuento Total En Placa.....	99
Figura 3.17 Crecimiento De Mohos Y Levaduras.....	100
Figura 3.18 Contenido De Bases Volátiles Durante Almacenamiento.....	103

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1	Microflora Dominante y Organismos Específicos del deterioro en Pescado Blanco (Envasado Aeróbicamente)11
Tabla 2	Deterioro en Productos de Pescado.....13
Tabla 3	Principales Barreras para la preservación de alimentos.....21
Tabla 4	Efecto de la Reducción de Actividad de Agua en la Supervivencia de Los Microorganismos.....27
Tabla 5	Productos Conservados por Aplicación de Tecnología de Barreras.....35
Tabla 6	Espectro antimicrobiano en los Medios de Cultivo de Ácido Cítrico y Ácido Acético.....44
Tabla 7	Equipos e Instrumentos utilizados en las diferentes etapas experimentales.....45
Tabla 8	Actividades de Agua de Soluciones Salinas Sobresaturadas a 5°C.....50
Tabla 9	Esquema MIC empleado para identificar el Índice de Calidad Mediante Deméritos de Carne de Tilapia Fresca en Cuadros.....55
Tabla 10	Esquema MIC Empleado para Identificar el Índice de Calidad Mediante Deméritos de carne de Tilapia En Cuadros Sometida A Tecnología De Barreras.....56
Tabla 11	Calificación de las ventajas que ofrecen las Soluciones Osmóticas durante dos horas de proceso.....85
Tabla 12	Calificación de las Ventajas que Ofrecen las Soluciones Osmóticas durante 10 minutos de Proceso.....86
Tabla 13	Actividad de Agua de Tilapia en Trozos después de un proceso de deshidratación osmótica por 5 minutos Con Solución Osmótica 20% Nacl Y 20% Sacarosa.....90
Tabla 14	Variación de ph de la S.O. con la concentración de Ácido.....92
Tabla 15	ph del Producto Tras 5 minutos de Inmersión en S.O.....93
Tabla 16	Eficacia de los Ácidos usados a los phs escogidos.....94
Tabla 17	Comparación de la vida útil de producto sometido a Tecnología de Barreras y Producto sin Procesar.....107

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia el hombre ha tenido que idear métodos de preservación de alimentos para asegurar su abastecimiento durante toda época del año y en todo clima. Es así como han ido surgiendo procesos, ahora tan populares, como la reducción de temperaturas (congelación, refrigeración), la deshidratación (reducción de humedad), el curado (adición de sales), ahumado, esterilización (destrucción de microorganismos alterantes y patógenos), entre otros, con los cuales se ha logrado el objetivo de preservación. Sin embargo al avanzar el mundo, también aumentan las necesidades por ingerir alimentos nutritivos, sanos, y sabrosos que así mismo se puedan conservar por largos períodos. Las tecnologías de preservación convencionales muchas veces afectan las características nutricionales y/u organolépticas de los alimentos, pudiendo afectar su textura (congelación), destruir los nutrientes (deshidratación por calor, esterilización, etc) o cambiar sobremanera sus propiedades organolépticas originales (acidificación, reducción de pH). Es aquí donde otra vez el hombre en busca de cubrir sus requerimientos ha descubierto la posibilidad de aplicar todas estas tecnologías o algunas de ellas al mismo tiempo pero en menor grado de intensidad sobre un alimento para afectar conjuntamente todas o las más importantes causas del deterioro del mismo. Este proceso se denomina Tecnología de Barreras y su aplicación intencional en conservación de alimentos es reciente en los países desarrollados. Esta tecnología no solo

permite conservar el alimento, también permite que el mismo conserve sus características nutricionales y organolépticas. En los países en vías de desarrollo se han realizado investigaciones a nivel piloto desde 1995 y pocos productos han salido al mercado. Las técnicas que se pueden utilizar para formar el conjunto de barreras pueden ser de alta tecnología (aplicado en países desarrollados) o métodos artesanales (aplicable en países en vías de desarrollo). En nuestro país no se conocen trabajos investigativos en este ámbito, y su incursión en él es muy necesaria, ya que permitiría mejorar la calidad de productos que actualmente se comercializan interna y externamente, brindándole al consumidor mayor bienestar y al país la oportunidad de ser más competitivo a nivel internacional.

Uno de estos productos es la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) que en los últimos años ha tenido gran éxito en el mercado internacional. Las exportaciones crecen año a año (sólo del 2001 al 2002 las exportaciones a Estados Unidos aumentaron 33.8%) logrando llegar a ser el país productor / exportador líder en Latinoamérica (8). Es por esto que se ha querido realizar la investigación sobre este producto, ya que es muy necesario asegurar la posición que se ha ganado en el mercado y buscar continuamente mejoras de la calidad (competitividad).

El presente trabajo trata del “Estudio de la Aplicación de Tecnología de Barreras en Trozos de Tilapia Roja (*Oreochromis sp.*)” con el objetivo de

prolongar su vida útil a temperaturas superiores a las que actualmente se comercializa, sin alterar sus características nutricionales y organolépticas (obtención de un producto “como fresco”).

Este objetivo se puede lograr alterando mínimamente ciertas propiedades del alimento (las tecnologías convencionales causan efectos profundos), tales como la actividad de agua, pH, potencial redox, flora microbiana autóctona, etc. En este proyecto se alteró mínimamente la actividad de agua y el pH , por medio del proceso PIDR “Proceso de Inmersión y Deshidratación por Remojo” el cual se basa en una deshidratación osmótica que incluye acidificación. Una vez obtenido el producto se realizó un estudio de estabilidad a temperatura ambiente (25°C) y de refrigeración (8°C) para verificar la eficacia del proceso. Para esto, durante el almacenamiento se analizó el deterioro de las características organolépticas, crecimiento microbiano y aumento de las bases volátiles (como indicador químico del deterioro).

Todos los estudios se realizaron sobre trozos (cuadrados) de tilapia para facilitar las condiciones de los mismos. Por lo que, los logros obtenidos deben tomarse como una base para un posterior estudio de aplicación de tecnología de barreras en filete entero de tilapia, forma en la cual se comercializa actualmente.

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES

1.1. Materia Prima: Tilapia Roja (*Oreochromis sp.*)

La tilapia es la variedad más representativa de los cultivos acuícolas de agua dulce del Ecuador. Pertenece a la familia de las *Cichlidae*, que está muy extendida en las aguas de África intertropical (17).

Las tilapias son peces robustos con pocas exigencias respiratorias, soportan muy bien el calor, se reproducen con facilidad y son fáciles de transportar, además tienen una gran capacidad para adaptarse a adversas condiciones ambientales, razones por las cuales la convierten en uno de los géneros más apropiados para la acuicultura (17).

La variedad más conocida en el mercado es la tilapia roja, la cual es considerada como “pollo de mar” y es muy apetecida por los consumidores debido a que tiene un fresco y placentero sabor, textura firme, color blanco y pocos huesos intramusculares. También

es un producto atractivo desde el punto de vista nutricional ya que tiene un alto contenido de proteínas, vitaminas, minerales y poca grasa (pez magro). Ver apéndice A.

La tilapia roja es un tetra-híbrido, resultante del cruce de cuatro representantes del género *Oreochromis*: *O. mossambicus* (Mozambica), *O. niloticus* (Nilótica), *O. Hornorum* y *O. aureus* (Aurea) (8).

Desde el año 1996 el cultivo de tilapia ha tenido un gran crecimiento en el contexto nacional e internacional. En el Ecuador, el cultivo de tilapia surge como una alternativa para hacer frente al decline del camarón blanco (principal ítem de la economía ecuatoriana durante varias décadas) debido a la aparición del Síndrome de Taura (1992) y de la mancha blanca (1998-2000) aprovechando de esta manera la infraestructura ya existente para la producción acuícola (1).

Producción

El Ecuador ha alcanzado una posición muy importante como uno de los principales productores y exportadores de tilapia roja en el mundo, ocupando el primer lugar en Latinoamérica (1,8). El principal comprador es Estados Unidos, pero las demandas se están expandiendo en los países europeos. Según estudio de la CORPEI

(año 2001), más de 18 millones de toneladas métricas son producidas anualmente, esto equivale al 20% de los requerimientos mundiales de pescado (8).

La oferta exportable de este producto asciende a dos millones de libras por mes (8).

Exportación

La producción ecuatoriana de tilapia está destinada a 14 países entre europeos y americanos.

Estados Unidos es el principal comprador de tilapia con un consumo anual de 36.070 toneladas métricas. El 91% de la producción ecuatoriana está dirigida a este mercado (8). Las exportaciones a este país han ido evolucionando desde 1993 y han alcanzado un importante desarrollo (ver apéndice B). La tilapia es el tercer producto de acuicultura más importante dentro de las importaciones de Estados Unidos, después del camarón y del Salmón del Atlántico (1,8). Ecuador es el principal proveedor de este país en la presentación de filetes frescos (1,8).

Ecuador ha logrado posicionarse en la categoría “filetes frescos”, pero deberá explotar otros puntos de entrada en USA con este producto, lo que podría mejorar el precio y los volúmenes (1).

Esta es la razón por la cual se ha escogido a la tilapia roja para la realización de este estudio. Ha aparecido la necesidad de realizar cambios que vayan en pro de una mejora de la calidad de nuestro producto, que le permita ser más competitivo e incursionar en nuevos segmentos del mercado (1).

Esto se puede lograr con la aplicación de tecnología de barreras ya que se puede obtener un producto como fresco, es decir, sin alteraciones importantes en sus características organolépticas, pero con una vida útil mayor que la del fresco y conservando .

1.2. Causas y efectos del deterioro en pescado fresco.

Los pescados frescos son aquellos que, desde su captura , no han sufrido ninguna operación para su conservación, excepto la adición de hielo troceado, puro o mezclado con sal. No se considera proceso conservador el descabezado, el desangrado o eviscerado ni el mantenimiento en refrigeración (26).

Entre los elementos evidentes del deterioro en pescado se encuentran (18):

- 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 (7).

La pérdida inicial de frescura de las especies de pescado magras en su estado natural, con o sin refrigeración se debe a cambios autolíticos¹, mientras que el deterioro se debe principalmente a la acción bacteriana (18).

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 tanto, el control de la alteración es en gran parte, el control de los microorganismos (7).

Los microorganismos se encuentran en la superficie externa y en las vísceras del animal pero durante la vida no invaden la carne estéril debido a que está protegido por las defensas naturales (7,9).

Cuando el pez muere, los gérmenes o los enzimas segregados por ellos se difunden en la carne y empiezan a reaccionar con carbohidratos, nucleótidos, y moléculas de nitrógeno no proteico

¹ 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.

presentes en ella (19). 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 estado pútrido el carácter es amoniacal y fecal (7, 9, 26). Entre los compuestos volátiles producidos por la acción bacteriana y que son responsables de estos olores tenemos trimetilamina (TMA)², compuestos sulfurosos volátiles, aldehídos, cetonas, ésteres, hipoxantina y otros compuestos de bajo peso molecular (19). Los enzimas proteolíticos segregados por los microorganismos atacan a los componentes estructurales, las proteínas, ocasionando un ablandamiento gradual de la carne (7).

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 lozanía y la tersura, tornándose débil, pálida y desagradable al tacto (7, 9, 26).

² En tilapia no se ha comprobado la presencia de OTMA (esta se reduce y forma TMA). Generalmente solo especies marinas contienen esta sustancia (6).

La flora inicial del pescado es muy variada, aunque está dominada normalmente por las bacterias psicrotróficas Gram negativas. El pescado de aguas tropicales puede contener Gram positivas y bacterias entéricas. Dentro de la flora que se desarrolla durante el almacenamiento, sólo una parte corresponde a los organismos específicos del deterioro (OED) (18).

La mucosidad de la piel contiene, en general, bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina*, *Serratia*, *Vibrio*, *Bacillus*. Los peces de agua dulce tienen bacterias específicas de dichas aguas, entre las que se encuentran muchas representantes de los mismos géneros hallados en las aguas saladas, además de especies como: *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium*, *Streptococcus* y *Alcaligenes*. También se han encontrado en los intestinos de peces de cualquier origen especies de *Clostridium*, *Escherichia*, entre otros (9). Algunos peces de agua dulce y muchos de aguas tropicales se caracterizan por una alteración del tipo *Pseudomonas* durante el almacenamiento aeróbico refrigerado con hielo (18). Se ha identificado a las *Aeromonas* como el principal organismos del deterioro de salmón crudo y pescado de aguas tropicales, este organismos pertenece a la microflora autóctona del pescado de agua dulce (18). La putrefacción avanza muy

rápidamente cuando la carga de OED supera aproximadamente 10^7 ufc/g (18). Ver tabla 1.

TABLA 1
MICROFLORA DOMINANTE Y ORGANISMOS ESPECÍFICOS DEL
DETERIORO EN PESCADO BLANCO (ENVASADO
AERÓBICAMENTE)

Temperatura de almacenamiento	Microflora dominante	OED
0°C	Bacilos Gram negativos psicrotróficos, no fermentativos. (Pseudomonas sp., S. Putrefaciens, Moraxella, Acinetobacter.	<i>S. putrefaciens</i> <i>Pseudomonas</i>
5°C	Bacilos Gram negativos psicrotróficos (Vibrionaceae, S. Putrefaciens)	<i>Aeromonas sp.</i> <i>S. putrefaciens.</i>
20 – 30°C	Bacilos Gram negativos mesófilos fermentativos (Vibrionaceae, Enterobacteriaceae)	<i>Aeromonas sp.</i> <i>móvil</i> <i>(A. hydrophila)</i>

FUENTE: ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS PRODUCTOS PESQUEROS (18).

Las alteraciones no microbianas son de dos clases: enzimáticas y no enzimáticas.

Originalmente los enzimas presentes en la carne del pez tienen funciones de control en la elaboración de tejidos y la contracción y relajación muscular del pez, pero cuando este muere se ven implicadas en reacciones predominantemente degradativas (7, 19). Una de estas reacciones es la hidrólisis del glucógeno a ácido láctico que produce una caída del pH durante las primeras horas después de la muerte del pez con un posterior aumento debido a la producción de compuestos nitrogenados por la acción bacteriana (7).

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 (7,9 , 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 (7). Sin embargo, el pescado blanco, como la tilapia, 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 (7).

1.3. Alteración en los productos de pescado

La actividad microbiológica también es la causa de la alteración de muchos productos pesqueros preservados y almacenados en refrigeración o congelación (18). La adición de pequeñas cantidades de sal y ácido cambia la microflora dominante de manera que pasa a estar formada principalmente por especies bacterianas Gram positivas (bacterias acidolácticas), y algunas de ella pueden actuar como OED. También *Enterobacteriaceas* y *Vibrionaceas* y hongos halofílicos pueden actuar como OED en estos productos (18).

En la tabla 2 se resumen los principales aspectos de la alteraciones en cuatro diferentes productos de pescado: pescado refrigerado para la venta directa, pescado salado, pescado desecado y escabeche.

TABLA 2
DETERIORO EN PRODUCTOS DE PESCADO

Producto	Método de conservación	Tipo de alteración	Comentario	Tiempo aproximado de vida útil.
Refrigerado	Mezcla íntima con hielo molido. Temperaturas de 0°C.	Las mismas que en fresco pero retardadas por las bajas temperaturas.	En medio aerobio y refrigeración por <i>Pseudomonas</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> . En medio anaerobio por bacterias lácticas.	3 días a 5°C y 6 días a 0°C.
Salado	Alta concentración salina y deshidratación.	Microbiológica	Producido por bacterias halófilas moderadas o halófilas extremas. Contaminación por superficies o por materia prima.	Ligeramente salado, mayor a una semana a 0°C.

Producto	Método de conservación	Tipo de alteración	Comentario	Tiempo aproximado de vida útil.
Desecado	Reducción del contenido de agua hasta un 15 a 20%.	Actividad enzimática Reacción de Maillard. Microbiológica	Colores amarillentos o parduscos y olores y sabores extraños. Producida por recuperación de humedad.	Varios años a temperatura ambiente y condiciones secas.
Escabeche	Acción combinada de ácido acético y sal.	Microorganismos resistentes a bajos pH y concentraciones altas de sal.	Depende del grado de contaminación inicial. Se presentan olores anormales, decoloración y ablandamiento.	Mayor a 1 año.
Pescado azucarado y salado	Reducción de a_w .	Microbiológica	Al vacío: <i>Bacterias acidolácticas</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Vibrionaceae</i> , <i>S. Putrefaciens</i> .	

FUENTES: CONTROL DE LA CALIDAD DEL PESCADO (7)

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS PRODUCTOS PESQUEROS (18).

1.4. Tecnología de Barreras

Reacciones de pérdida de calidad en los alimentos

La aplicación de tecnología de barreras tiene como objetivo la preservación de la calidad y la seguridad de alimentos durante extensos períodos de almacenamiento (27).

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)(27)*. Por lo tanto, las tecnologías de preservación se basan principalmente en la inactivación o prevención del crecimiento de microorganismos (ICMSF, 1980) (27).

Principio de la Tecnología de Barreras.

El “Efecto Barrera” o “Tecnología de Barreras” es una nueva tecnología que se está 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 (27). 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 (20, 27, 31).

La ventaja de la aplicación de tecnología de barreras es que el alimento no sufre cambios drásticos como cuando es sometido a una sola tecnología por lo cual se puede obtener un producto como fresco pero con una vida útil mayor que la del fresco, además, dependiendo de las barreras que se escojan, no requiere grandes cantidades de energía (altos costos de operación).

Para el caso del producto en estudio, la tilapia roja (en filetes), la principal tecnología que se ha aplicado a nivel mundial es la reducción de temperatura, ya sea por refrigeración o por congelación. La primera de estas ha sido la más utilizada en la exportación de filetes de tilapia en nuestro país y ha resultado ser efectiva ya que el producto llega en óptimas condiciones al país de destino. Sin embargo el tiempo de vida útil se limita aproximadamente a 3 días a 0°C, además presenta varias desventajas como el alto consumo de energía para el mantenimiento de las bajas temperaturas requeridas durante el transporte, almacenamiento y permanencia en percha; y pérdida de calidad ya que en pescado refrigerado se produce ablandamiento (12, 15), a temperatura de congelación se desnaturalizan las proteínas, lo cual causa cambios en las propiedades mecánicas de la carne (elasticidad, extensibilidad) y aumento de exudado (19). La congelación /descongelación generalmente causa interrupciones (roturas) en la membrana celular, permitiendo que las enzimas autolíticas actúen en las reacciones de deterioro (15).

Con la aplicación individual de las diversas tecnologías conocidas a través del tiempo, se ha logrado determinar los límites a los que pueden crecer los microorganismos del deterioro de los alimentos y

los causantes de enfermedades (patógenos). Ver en los apéndices C, D, E, F, las condiciones de crecimiento de los microorganismos. Sin embargo no siempre la aplicación de un solo factor de preservación asegura la estabilidad del alimento, sino que es con la acción sinérgica de varios factores que se logra este objetivo (16, 20, 27, 31).

Existe un fenómeno denominado homeostasis, el cual es un conjunto de mecanismos que las células microbianas ejecutan para mantener inalteradas las actividades fisiológicas normales cuando su ambiente ha sido alterado (27). 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” (27).

El efecto sinérgico de las barreras se puede lograr si estas tienen impacto en distintas partes de la célula (membrana, ADN, sistemas enzimáticos, pH, a_w , Eh³) afectando así la homeostasis de los

³ Potencial que un alimento tiene para que se produzcan procesos de migraciones electrónicas de oxidación y reducción.

microorganismos en varios sentidos (27). De esta manera, con una selección inteligente de barreras y con una efectiva operación del efecto barrera, se puede conseguir la preservación de alimentos interrumpiendo la homeostasis de los microorganismos, logrando un alimento estable y seguro.

Las barreras más comúnmente usadas en la preservación de alimentos, ya sean aplicadas como barreras de proceso o como aditivos, se muestran en la tabla 3.

TABLA 3
PRINCIPALES BARRERAS PARA LA PRESERVACIÓN DE ALIMENTOS

Objetivo	Factor	Método
1. Inhibición parcial o completa del crecimiento microbiano	Reducción de temperatura Reducción de a_w /incremento de la osmolalidad Restricción de oxígeno Aumento de CO_2 . Reducción de pH Restricción de nutrientes. Preservantes	Almacenamiento y distribución refrigerada. Deshidratación o adición de solutos. Envasado en nitrógeno o al vacío. Atmósferas controladas o modificadas. Adición de ácidos, Fermentación láctica o acética. Control de microestructura. Adición de preservantes inorgánicos, orgánicos, bactericidas y antimicóticos.

Objetivo	Factor	Método
2. Inactivación de microorganismos	Calor	Escaldado, pasteurización, esterilización.
3. Restricción del acceso de microorganismos al alimentos	Descontaminación Asepsia	Descontaminación de superficies de alimentos, descontaminación de ingredientes. Proceso térmico y empaque sin recontaminación.

FUENTE: HURDLE TECHNOLOGIES. COMBINATION TREATMENTS FOR FOOD STABILITY, SAFETY AND QUALITY (27)

1.4.1.Principales barreras y sus efectos sobre los microorganismos

Reducción de Actividad de Agua.-

La actividad de agua a_w de un alimento o solución se define como la relación entre la presión del agua del alimento (p) y la del agua pura (p_o) a la misma temperatura (5, 20).

$$a_w = p / p_o \quad (1.1)$$

La a_w también puede relacionarse con la humedad relativa en equilibrio (HRE) mediante la siguiente ecuación:

$$\text{HRE (\%)} = a_w \times 100 \quad (1.2)$$

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 (20). Ver apéndice C. Mientras más cercano sea el valor de a_w a 1, más disponibilidad de agua existe. En el pescado fresco se tienen valores de a_w es ≥ 0.98 (20, 25).

Las siguientes fórmulas son las más utilizadas para determinar actividad de agua en alimentos (5, 25):

Ecuación de Grover:

$$\text{HRE (\%)} = 104 - 10E^\circ + 0.45 (E^\circ)^2 \quad (1.3)$$

$$E^\circ = \sum(E_i / m_i)$$

Donde E_i es un valor equivalente al de la sacarosa ($E_i = 1$ para sacarosa) para los diferentes ingredientes ; m_i es el contenido de humedad del ingrediente en gramos de humedad por gramos de ingrediente.

Ecuación de Ross:

$$a_f = a_i \times a_{H1} \times a_{H2} \times \dots \times a_{Hi} \quad (1.4)$$

donde,

a_f = actividad de agua final del producto.

a_i = la actividad de agua inicial del producto antes de adicionar solutos i (para reducir a_w). Para alimentos complejos la ecuación de Grover debe ser usada.

a_{Hi} = la actividad de agua que el soluto podría tener si es disuelto en toda el agua.

La a_w de un alimento puede reducirse aumentando la concentración de solutos en la fase acuosa mediante la extracción de agua y/o mediante la adición de solutos, de esta manera se logra que el agua quede en forma menos reactiva

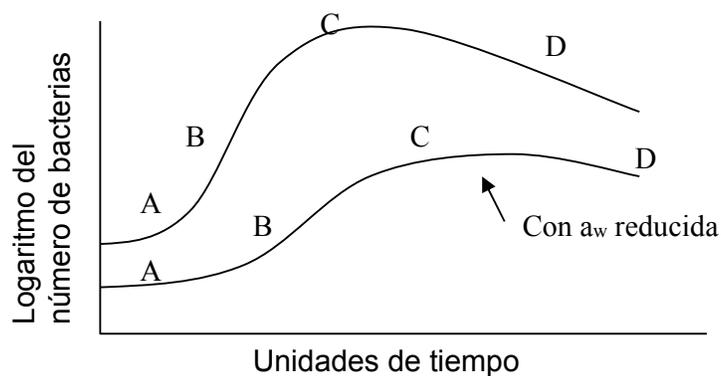
(5, 20). Si la reducción de a_w es sólo pequeña pero es potenciada por otros agentes, es posible evitar la alteración de los alimentos (20, 27).

La a_w se relaciona directamente con la humedad contenida en el alimento (a mayor humedad, mayor a_w) y con la temperatura del ambiente (a temperaturas de congelación disminuye la a_w).

Efectos de la reducción de actividad de agua sobre los microorganismos.

La mayoría de los microorganismos crecen más rápidamente a niveles de a_w entre 0.995 a 0.980 (5, 9, 20, 23, 27). A valores inferiores a éstos, la velocidad de crecimiento y la población estacionaria o la masa celular final disminuye y la fase de latencia aumenta (20). Así se puede observar en la figura 1.1, donde A corresponde a la fase de latencia o adaptación de los microorganismos al medio, B a la fase de crecimiento logarítmico, C es la fase estacionaria y D la fase de muerte.

FIGURA 1.1.
CURVA TEÓRICA DE CRECIMIENTO BACTERIANO



FUENTE: BARBOSA-CÁNOVAS Y VEGA-MERCADO (2000) (5)

El crecimiento de la mayoría de las bacterias y hongos tanto alterantes como patógenos ocurre a a_w mayores a 0.90, sin embargo existen algunos que resisten valores de a_w más bajos como son los microorganismos halófilos⁴, xerófilos⁵ y osmófilos⁶ (20, 25). Ver apéndice C. La siguiente tabla indica el efecto de la reducción de a_w en los microorganismos.

⁴ Microorganismos que no pueden crecer, en ausencia de sal. Con frecuencia son bacterias (19).

⁵ Capaces de multiplicarse a a_w inferiores a 0.85. Son los mohos y levaduras (19).

⁶ Microorganismos que crecen en altas presiones osmóticas. Habitualmente son las levaduras tolerantes al azúcar (19).

TABLA 4
EFFECTO DE LA REDUCCIÓN DE ACTIVIDAD DE AGUA EN
LA SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS.

Rango de a_w	M.Os. generalmente inhibidos por disminución de a_w en estos rangos.
1.00 – 0.95	<i>Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Shigella, Klebsiella, Bacillus, Clostridium perfringens, algunas levaduras.</i>
0.95 – 0.91	<i>Salmonella, Vibrio parahaemolyticus, C. botulinum, Serratia, Lactobacillus, Pediococcus, algunos mohos.</i>
0.91 – 0.87	Muchas levaduras (<i>Candida, Torulopsis, Hansenula</i>), <i>Micrococcus</i> .
0.97 – 0.80	La mayoría de los mohos, <i>Staphylococcus aureus, Sacharomyces spp., Debaryomyces.</i>
0.80 – 0.75	La mayoría de las bacterias halófilas, <i>Aspergilli micotoxigénico.</i>
0.75 – 0.65	Mohos xerófilos
0.65 – 0.60	Levaduras osmófilas.
Menos de 0.50	No hay proliferación microbiana.

FUENTE: MOISTURE SORPTION: PRACTICAL ASPECTS OF ISOTHERM MEASUREMENT AND USE (25)

Por lo visto en la tabla 4, es lógico afirmar que dependiendo de la magnitud en que se reduzca la actividad de agua de un alimento se alterará su flora microbiana, es decir, los microorganismos que en un principio representaban mayor importancia en el deterioro del producto pierden dicha importancia (por el efecto inhibitor de la reducción de a_w) y son otros (que primeramente no eran de significancia) los que pasan a ser punto de atención en el estudio de estabilidad del alimento.

Al ser el pescado un producto altamente perecedero, con una $a_w \geq 0.98$ (20, 25), una reducción de a_w , aunque sea pequeña, puede ocasionar un marcado efecto en la composición de su flora microbiana (20, 27).

Reducción de pH

El pH se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno (20).

$$\text{pH} = -\log_{10} \text{IHI} \quad (1.5)$$

El pH de un alimento es un factor importante que determina la supervivencia de microorganismos. 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 6.7, lo que se traduce en una predisposición para la alterabilidad, ya que a estos pH no se inhibe la proliferación bacteriana (20, 26). En el apéndice D se pueden observar los rangos de pH en que pueden crecer ciertos microorganismos.

El pH de la carne de tilapia es alrededor de 6.125⁷.

Efecto del pH sobre los microorganismos

Los microorganismos tienen métodos eficaces para mantener estable su pH interno. Sin embargo, se ha comprobado que el pH interior puede verse afectado por el pH del medio exterior (20).

Para acidificar medios se han usado ácidos orgánicos débiles y ácidos inorgánicos fuertes. Los más eficaces son los ácidos orgánicos débiles (20, 27, 31). La forma no disociada de estos ácidos 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 (20).

⁷ Valor obtenido con utilización de tirilla indicadora de pH.

Las células de diferentes especies microbianas muestran distinta tolerancia a la acidificación del medio o sus membranas presentan distintas características respecto a la permeabilidad de ácidos (20). Por eso, a partir de una flora diversa, la acidez del medio puede servir como un método de selección de uno o varios componentes de la flora inicial. En general, las levaduras y hongos son capaces de crecer a pHs mucho más bajos que las bacterias ($\text{pH} < 4$); sin embargo, tanto las levaduras como los hongos y las bacterias pueden crecer a similares valores máximos de pH (12, 20, 23). Ver en apéndice D.

Según el principio barrera, si aplicamos estas dos barreras descritas (la reducción de a_w y la reducción de pH) se puede lograr un efecto sobre la estabilidad del producto estudiado. Según un estudio realizado por los investigadores Leistner y Rodel en 1975 se puede considerar que un producto es estable si el pH es menor o igual que 5.2 más una a_w menor o igual a 0.965 o si solamente tiene un pH menor que 5 o sólo una a_w menor a 0.90, sin requerimiento de refrigeración (20).

Preservantes

Según el origen los preservantes pueden ser minerales u orgánicos. Dentro de los conservantes minerales tenemos los

cloruros, nitratos y nitritos de sodio y potasio, el anhídrido sulfuroso, los sulfitos, anhídrido carbónico y el peróxido de hidrógeno (31). Dentro de los conservantes orgánicos tenemos los ácidos grasos saturados como el ácido sórbico y los sorbatos de calcio, sodio y potasio; el ácido benzoico, ácido cítrico, ascórbico, tartárico y láctico; los antioxidantes fenólicos y los antibióticos (31).

Los conservantes o preservantes más utilizados en experimentos realizados de tecnología de barreras son: sorbato de potasio, ácido acético, atmósfera de anhídrido carbónico, sales de curado como nitrito de sodio y cloruro de sodio y otros (27).

Bajas temperaturas

La utilización de bajas temperaturas para la preservación de los alimentos ha sido uno de los métodos más antiguamente utilizados. Al reducir la temperatura de almacenamiento de un alimento también se reducen los tipos de microorganismo capaces de crecer en ese medio (ver apéndice E).

Algunos microorganismos del deterioro de alimentos pueden crecer a temperaturas de hasta -7°C , por lo que alimentos

conservados a estas temperaturas pueden deteriorarse lentamente por la acción microbiana. A -10°C probablemente ningún microorganismo puede crecer (27).

Bacterias patógenas como el *Clostridium perfringens* y *Cl. botulinum* dejan de crecer a temperaturas menores de 12°C (27). Otros microorganismos patógenos pueden crecer a temperaturas alrededor de 0°C tales como *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica* (20).

El congelamiento produce reducción de a_w en los alimentos y probablemente la inhibición de algunos microorganismos no se produzca por tal reducción de temperatura sino por la reducción de a_w . Como los mohos y las levaduras son más tolerantes a valores bajos de a_w que las bacterias, es más probable que crezcan en alimentos congelados; es por eso que el deterioro de alimentos congelados se debe a más a la acción de mohos y levaduras que de bacterias (15, 27).

Altas temperaturas

Los procesos de altas temperaturas son la pasteurización y la esterilización, los cuales son procesos en que se combinan

temperaturas y tiempos suficientes para inactivar microorganismos vegetativos en el primer caso y esporas bacterianas en el segundo caso (12, 20).

La termorresistencia que presentan los microorganismos depende de la especie y de si está en estado vegetativo o como espora (20). Ver apéndice F.

Empaque al vacío o de atmósferas modificadas

Esta técnica se basa en la remoción de oxígeno lo cual previene el crecimiento de aerobios estrictos y retarda el crecimiento de anaerobios facultativos⁸ (20, 27). En empaque de atmósferas modificadas en carne fresca y pescado suele utilizarse mezclas de oxígeno con dióxido de carbono. El crecimiento microbiano se ve más afectado por combinaciones de oxígeno con CO₂ que por la acción particular de cada gas (20).

La exclusión de oxígeno ayuda a prevenir la rancidez oxidativa de alimentos con altos contenido de ácidos grasos insaturados. Los alimentos menos grasos o con contenido de ácidos grasos saturados son más tolerantes a la presencia de oxígeno.

⁸ Bacteria que se desarrolla tanto en condiciones aerobias como anaerobias.

Además de la rancidez oxidativa el empaque a vacío también previene el crecimiento de mohos ya que son aerobios, permite una retención más prolongada del color y el sabor del alimentos (20).

Una desventaja de la aplicación de empaque con atmósferas modificadas es la alta inversión que requieren los equipos y el suministro del gas a utilizar.

1.4.2. Ejemplos de aplicaciones de Tecnología de Barreras en diferentes productos alimenticios

En la siguiente tabla se mencionan los logros obtenidos en conservación de alimentos con la aplicación de tecnología de barreras.

TABLA 5
PRODUCTOS CONSERVADOS POR APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA DE BARRERAS

Producto	Proceso aplicado	Estabilidad
Pan (29)	Reducción de a_w , ácidos orgánicos, preservantes, empaque, calor.	7 días
Puré de Papaya y Piña en rodajas (2)	Escaldado, reducción de a_w , reducción de pH, Sorbato de potasio.	4 meses
Sardina picada (27)	Lavado, reducción de a_w , (adición de sal), sorbato de potasio, reducción de pH, empaque, calor.	15 días a 15°C
Salmón en pedazos o en rodajas (27)	Reducción de a_w , (adición de sal), humo natural, vinagre, sorbato de potasio y empaque al vacío.	30 días a temperaturas de refrigeración.
Macarela (27)	Reducción de a_w , (adición de sal), vacío por 3 días. Sumergido en salmuera.	3 meses en refrigeración.

FUENTES: (2) MINIMALLY PROCESSED FRUITS BY COMBINED METHODS.
(27) HURDLE TECHNOLOGIES. COMBINATION TREATMENTS FOR FOOD STABILITY, SAFETY AND QUALITY.
(29) PRESERVATION OF SOUTH AFRICAN STEAMED BREAD USING HURDLE TECHNOLOGY.

1.5. Selección de las barreras a utilizar

Las barreras que se seleccionaron para su aplicación en el producto en estudio son:

1. Reducción de actividad de agua.
2. Reducción de pH
3. Bajas temperaturas

Estas barreras se escogieron debido a que la ejecución para su aplicación es relativamente sencilla y de bajo costo⁹. Además, se cuentan con varias referencias del uso de estas barreras en la conservación de pescado (tabla 5).

Procesos de bajas temperaturas como el congelamiento o enfriamiento corresponden a altos requerimientos energéticos lo cual es costoso; así mismo procesos que aplican altas temperaturas como la esterilización o pasteurización son también poco adecuadas para los países en vías de desarrollo como el nuestro por las altas inversiones y alto consumo de energía que implican.

Además de todo esto, la aplicación de estas barreras al ser en poca intensidad permite mantener el contenido de nutrientes

⁹ Reducir temperatura sí supone costo energético., sin embargo no se habla de temperatura de congelación sino de refrigeración leve (alrededor de 10°C).

original, y las características organolépticas similares a las del original, teniendo al mismo tiempo gran influencia sobre la supervivencia de los microorganismos causantes del deterioro.

CAPÍTULO 2

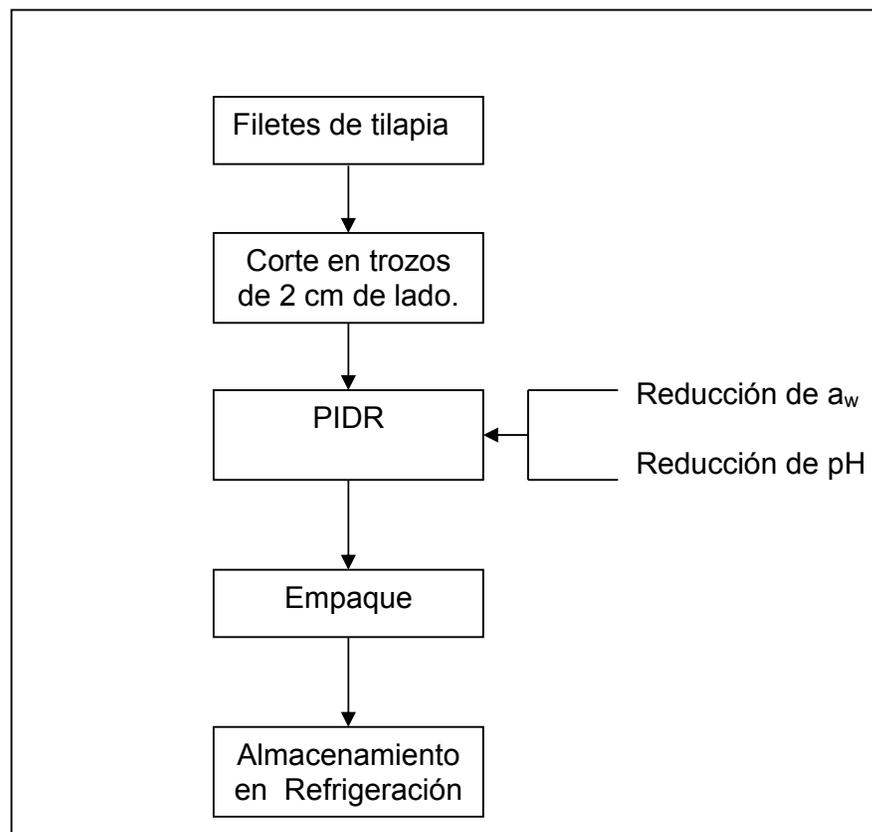
2. MATERIALES Y MÉTODOS

El método por medio del cual se aplicó las dos primeras barreras (reducción de a_w y de 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 (dependiendo de los ingredientes o aditivos que se agreguen en la solución osmótica) (16). 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.

Uno de los beneficios de este método es que permite conservar la textura e integridad del producto original (16).

En la figura 2.1 se presenta un esquema del proceso seguido para la aplicación de tecnología de barreras en trozos de tilapia a través de este método:

FIGURA 2.1
PROCESO DE APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA DE BARRERAS EN
TILAPIA.



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Para la reducción de a_w se utilizó soluciones ternarias compuestas con agua, sal (cloruro de sodio, NaCl) y azúcar (sacarosa). Al combinar estos 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 (34)), con lo cual

se pueden obtener buenos resultados en baja captación de solutos y alta reducción de actividad de agua (33, 34). El cloruro de sodio tiene alta capacidad de reducción de agua y causa una considerable impregnación del mismo (captación de solutos) en tejidos animales, pero tiene limitada capacidad para mejorar pérdida de peso y de reducción de contenido de humedad (30). Contrariamente, soluciones de sacarosa tienen alta capacidad de reducción de contenido de humedad. 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 (30).

Para la reducción de pH se realizaron pruebas con ácido acético y cítrico. Estos ácidos se escogieron por tener compatibilidad con el sabor del pescado y siguiendo referencias de experimentos ya realizados (27). El efecto inhibitorio sobre los microorganismos de estos ácidos orgánicos se debe al porcentaje de ácido no disociado, el cual es particular para cada tipo de ácido y para cada valor de pH al que se encuentre la solución (20). Ver apéndice G.

2.1. Materia Prima

Filetes de Tilapia Roja.- Los filetes de tilapia utilizados se adquirieron directamente de la Industrial Pesquera Santa Priscila en

la condición más fresca posible, sin haber pasado por el proceso de congelamiento. Como ya se dijo, los filetes se cortaron en cuadritos de 2 cm de ancho y 2 cm de largo pero con espesor variante entre 0.6 y 1.7 cm, correspondiente a la variación en el filete¹⁰. Esto facilitó el proceso de deshidratación osmótica.

Sacarosa o Azúcar Común.- Ingrediente comúnmente utilizado como agente osmótico. Los azúcares en general implican una disminución de la solubilidad del oxígeno y permiten también que el crecimiento de microorganismos aerobios sea más lento (31). La sacarosa tiene una masa molecular de 342.30 y su solubilidad es de 204 g por 100 g de agua a 20°C. No tiene acción antimicrobiana directa, su efecto sobre los microorganismos se debe únicamente al descenso de la A_w (31). Las soluciones de azúcar usadas como soluciones osmóticas permiten una alta reducción del contenido de humedad del producto sumergido en ella (30). El azúcar utilizado corresponde a la marca Valdez y se lo adquirió en un comisariato local (Guayaquil). No posee restricción de uso.

¹⁰ De no ser así hubiera habido gran desperdicio. El rendimiento de los cuadritos respecto al filete corresponde al 60%.

Cloruro de Sodio (NaCl) o Sal común .- No se lo considera como aditivo (31). El cloruro de sodio es un excelente agente osmótico (33). Su bajo peso molecular (de 58.44 g/gmol) permite un alto rate de pérdida de agua desde el producto hacia el jarabe (33) y gran solubilidad, pero también ocasiona alta impregnación en el tejido animal (30).

Además de ser un agente osmótico, es un agente antimicrobiano (conservante), esencialmente por su efecto depresor de la actividad de agua. Los alimentos a los que se les ha adicionado de 0.7 a 5%¹¹ de sal requieren otro método de conservación para garantizar su estabilidad microbiológica. El cloruro sódico se ha usado para estabilizar ciertos alimentos, entre ellos pescados con un 0.7 a 3% de sal en relación a la fase acuosa (31). Además de lograr la estabilidad de ciertos productos, ciertas concentraciones de cloruro sódico permiten inhibir microorganismos patógenos (alimento seguro). Ver apéndice H. (20).

El cloruro de sodio (Crisal – Guayaquil) se lo adquirió en un comisariato local (Guayaquil).

El cloruro de sodio no posee restricción de uso.

¹¹ Porcentaje en peso de sal en relación al agua del alimento.

Ácido acético.- El ácido acético es un ácido orgánico usado como preservante, acidulante y saborizante en varias conservas alimenticias (21). En la mayoría de los productos, el efecto conservante va de la mano con otros métodos de conservación como pasteurización, refrigeración, uso de otros aditivos, etc (31). El efecto del ácido acético es más marcado sobre las bacterias y levaduras que sobre los mohos (31). Únicamente las *Acetobacter*, algunas bacterias lácticas y algunos mohos y levaduras muestran cierto grado de resistencia a este compuesto (20). El efecto inhibitor del ácido acético va dirigido a muchas cepas dentro de las cuales se encuentran tanto microorganismos causantes del deterioro como patógenos (20).

Ácido Cítrico.- Ácido orgánico utilizado como acidulante y antioxidante (21). Tiene una actividad antimicrobiana moderada, son más eficaces a bajos valores de pH. Una concentración de ácido cítrico no disociado de 0.001% inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en anaerobiosis (20).

TABLA 6
ESPECTRO ANTIMICROBIANO EN LOS MEDIOS DE CULTIVO
DE ÁCIDO CÍTRICO Y ÁCIDO ACÉTICO

Ácido orgánico	Concentración de ácido no disociado precisas para la inhibición de crecimiento de la mayor parte de cepas				
	Levaduras	Mohos	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Micrococca-ceae</i>	<i>Bacillaceae</i>
Acético	0.5	0.1	0.05	0.05	0.1
Cítrico	>0.005	>0.005	>0.005	0.001	>0.005

Valores expresados como porcentaje en solución.

FUENTE: ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS (20).

2.2. Equipos e Instrumentos

La fase experimental se divide en varias etapas:

1. Obtención de la curva de desorción de carne de tilapia.
2. Deshidratación osmótica: Determinación de la combinación de agentes osmóticos sal y azúcar y del tiempo de retención del producto en la solución osmótica. Determinación de la cinética de deshidratación: pérdida de humedad y ganancia de sólidos.

3. Selección del ácido orgánico a utilizar y la concentración del mismo.
4. Estudio de estabilidad: crecimiento microbiano, determinación de bases volátiles, análisis sensorial.

En la siguiente tabla se indica el lugar donde fueron realizados estos experimentos, los equipos e instrumentos utilizados.

TABLA 7
EQUIPOS E INSTRUMENTOS UTILIZADOS EN LAS DIFERENTES ETAPAS EXPERIMENTALES.

Etapa experimental	Lugar	Equipos	Instrumentos
Obtención de la curva de desorción.	Laboratorio de análisis de alimentos PROTAL (ESPOL).	Refrigerador. Balanza analítica, d_{\pm} 0.0001	
Deshidratación osmótica (medición de pérdida de peso y de humedad).	Laboratorio de Microbiología de FIMCP (ESPOL).	Balanza digital marca Kern d_{\pm} 0.01 Estufa marca Memmert (30-220°C)	Calibrador Vernier de pantalla.

Etapa experimental	Lugar	Equipos	Instrumentos
Selección del ácido orgánico y la concentración.	Laboratorio de Química Analítica del ICQ (ESPOL).	PH-metro de electrodo, marca Accument \pm 0.001. Balanza digital marca Kern \pm 0.01.	Vasos de precipitación. Pipetas 5 ml. Probeta.
Determinación de acidez.	Laboratorio PROTAL (ESPOL)		
Crecimiento microbiológico.	Laboratorio de Microbiología de la FIMCP (ESPOL).	Estufas Memmert (30-220°C) Incubadora marca Binder Autoclave manual (max 25 psi) Baño maría, marca Fanem.	Vasos de precipitación. Pipetas 5 ml. Tubos de ensayo. Medios de cultivo.

Etapa experimental	Lugar	Equipos	Instrumentos
Bases Volátiles.	Laboratorio de Química de Alimentos del INP.		
Análisis Sensorial.	Sala de evaluación sensorial.	-	-

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

2.3. Reducción de Actividad de Agua

Obtención de la isoterma de desorción¹² de carne de tilapia fresca.

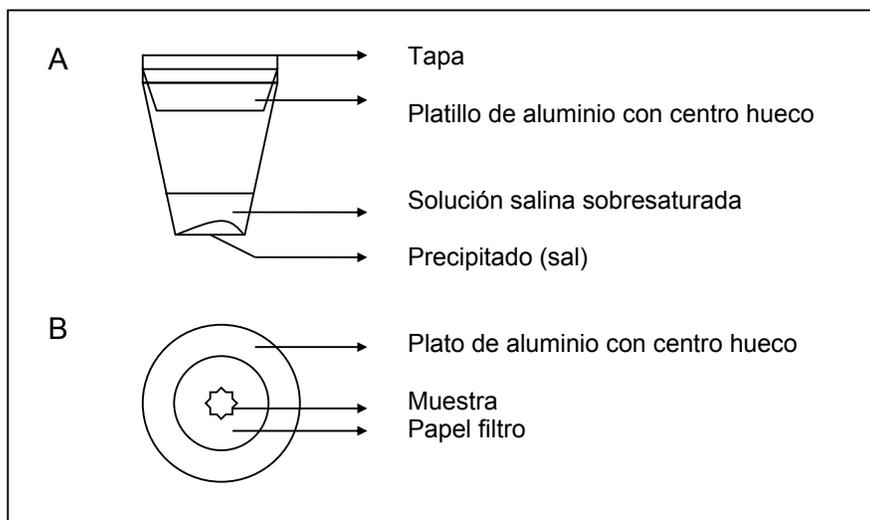
La isoterma de desorción es un gráfico que relaciona el contenido total de humedad y la correspondiente actividad de agua de un producto en un intervalo de valores a una temperatura constante (5). Si el agua migra desde el ambiente hacia el producto (material completamente seco) se obtiene una isoterma de adsorción, si la migración del agua va desde el producto hacia el ambiente (material

¹² Movilidad del agua del interior del producto hacia el medio ambiente por un gradiente de humedades relativas.

inicialmente húmedo) se obtiene una isoterma de desorción (10). Se realizó la construcción de este gráfico con el objetivo de determinar el nivel al que se reduce la a_w después del proceso de deshidratación (reducción de humedad) al que es sometido el producto.

Para la construcción de la isoterma de desorción se siguió el método gravimétrico o isopiástico (10). Dentro de un recipiente herméticamente cerrado se coloca una solución salina sobresaturada, lo cual origina en el espacio libre un ambiente de humedad relativa conocida (y por lo tanto de a_w conocida) para cada sal y que depende únicamente de la temperatura. Al colocar una muestra de alimento en este espacio tenderá a perder (desorción) o ganar (adsorción) humedad hasta alcanzar un contenido de humedad en equilibrio con la humedad relativa del ambiente a la temperatura constante a la que se realiza la experiencia (5, 10, 25). El sistema armado para la realización del método gravimétrico se puede observar en la figura 2.2.

FIGURA 2.2
SISTEMA USADO EN METODO GRAVIMÉTRICO PARA
CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA DE DESORCIÓN: A. SISTEMA
COMPLETO; B. PLATO Y FILTRO, VISTA SUPERIOR.



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

El experimento se realizó en un período de tres semanas a una temperatura de 5°C y se utilizaron las siguientes soluciones salinas sobresaturadas:

TABLA 8
ACTIVIDADES DE AGUA DE SOLUCIONES SALINAS
SOBRESATURADAS A 5°C

Solución salina sobresaturada	Aw a 5°C
Cloruro de magnesio hexahidratado	0.336
Carbonato de potasio	0.4313
Cloruro de sodio	0.7565
Cromato de potasio	0.88
Sulfato de potasio	0.9848

FUENTE: MOISTURE SORPTION: PRACTICAL ASPECTS OF ISOTHERM MEASUREMENT AND USE (25).

La humedad inicial se determinó siguiendo la técnica AOAC 24003.

Se realizaron mediciones periódicas de pérdida de peso de las muestras hasta llegar a peso constante. El experimento se realizó por duplicado obteniendo un valor promedio de los resultados obtenidos.

Deshidratación osmótica

El método seguido para reducir la actividad de agua del producto estudiado fue la deshidratación osmótica. La ósmosis consiste en el

movimiento molecular de ciertos componentes de una solución a través de una membrana semipermeable¹³ hacia la solución de menor concentración de cierto tipo de moléculas (2, 5,13).

Durante la deshidratación osmótica ocurren dos transferencias de masa: agua se transfiere desde el producto hacia la solución osmótica (S.O., solución hipertónica¹⁴) y solutos se transfieren desde la S.O. hacia el producto. (2, 5, 16).

Para el proceso de deshidratación osmótica se utilizó S.O. ternaria conformada por agua, sal y azúcar (aprovechando las ventajas que estos solutos ofrecen en solución (30)), en tres diferentes porcentajes de participación de cada soluto pero manteniendo constante el porcentaje de solutos totales de 40%; este porcentaje se tomó como referencia de los experimentos realizados por Donsi, et al, en deshidratación osmótica de camarones (11). Los porcentajes de participación fueron 25% de NaCl y 15% de sacarosa, 20% de NaCl y 20% de sacarosa y, 15% de NaCl y 25% de sacarosa (todos los porcentajes respecto al peso total de la solución). La relación solución / producto fue de 3/1. Fue necesaria

¹³ Las paredes o membranas biológicas de las células vegetales y animales constituyen membranas semipermeables (32).

¹⁴ Solución de azúcar, sal, glicerol u otros, que tiene una presión osmótica superior a la de la fase acuosa del interior del producto.

la utilización de malla en la superficie de la solución para asegurar que todas las áreas del producto (que tiende a flotar) se encontraran rodeadas con S.O. asegurando de esta manera una uniforme transferencia de masa. Se realizaron agitaciones periódicas (cada 5 min) para ayudar a que el agua expulsada por el producto se difundiera en la S.O. y evitar que se alterara considerablemente su concentración (32). La temperatura de trabajo fue la ambiental (25°C).

Durante el proceso de deshidratación osmótica se midió la cinética de deshidratación que consta del cálculo de: pérdida de humedad y ganancia de solutos, basados en la pérdida de peso. Para las determinaciones de humedad se siguió la técnica AOAC 24003.

2.4. Reducción de pH

Este paso se realizó una vez determinado el tiempo adecuado de permanencia del producto en la S.O. (capítulo 3) ya que el ácido orgánico utilizado para reducir el pH se debe incluir dentro de los ingredientes que componen la S.O. (con el objetivo de llevar a cabo el proceso PIDR explicado al inicio de este capítulo).

Se realizaron mediciones de pH en soluciones de ácido acético y soluciones de ácido cítrico a diferentes concentraciones, con la utilización del pH-metro de electrodo. Para medir el pH en la carne

de tilapia se realizó lectura directa con tirillas de papel tornasol, realizando la medición con réplica y duplicado.

En lo posterior se realizaron mediciones de acidez con el método de acidez titulable, norma AOAC 17th 925.53.

2.5. Empaque y almacenamiento

El empaque del producto procesado se realizó en fundas de polietileno de alta densidad con cierre hermético, marca Ziploc. Se almacenó en dos condiciones: a temperatura ambiente (25°C) y a $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

2.6. Estudio de estabilidad

Los indicadores del deterioro escogidos para determinar estabilidad del producto fueron: análisis sensorial, crecimiento microbiano, determinación de bases volátiles.

Análisis sensorial.-

Para la determinación de grado de frescura del pescado se recurrió al método de medición del índice de calidad (MIC). Este método, desarrollado en Tasmania y que actualmente se utiliza en varios países europeos, se basa en los parámetros sensoriales significativos del pescado crudo y un sistema de puntuación por

deméritos del 0 al 4 (19, 22). El pescado se inspecciona y se registran los deméritos correspondientes. En el MIC se asigna la puntuación de cero al pescado muy fresco; así, la mayor puntuación corresponde al deterioro del pescado (19,22).

En la actualidad existen esquemas MIC para bacalao, arenque, carbonero, gallineta, sardina y lenguado (19). Para objeto de este estudio se elaboró un esquema MIC para carne de tilapia fresca y otro para el producto obtenido basándose en observaciones durante almacenamiento de ambos. Las características de deterioro son un tanto diferentes en uno y otro producto (sin procesar y procesado), el proceso en sí ocasiona cambio de color de la carne tornándola un tanto amarillenta, los olores que se presentan en el producto a través del deterioro son correspondientes a la presencia de mohos (olor a tierra) lo cual no se percibe en el producto fresco donde prevalecen olores sulfurosos. Es por esta razón que se elaboraron dos tablas diferentes pero se ponderaron a la misma calificación (10 máximo y 0 mínimo) para someter a comparación. Las puntuaciones asignadas a cada característica de calidad se presentan en las tablas 9 y 10.

TABLA 9
ESQUEMA MIC EMPLEADO PARA IDENTIFICAR EL ÍNDICE DE
CALIDAD MEDIANTE DEMÉRITOS DE CARNE DE TILAPIA
FRESCA EN CUADROS

Característica	Puntuación
Color	0 Blanca, ligeramente rosada. 1 Blanco crema, el rosado se intensifica. 2 Tonalidades amarillenta y café. 3 Colores amarillo y rojo.
Olor	0 A pescado fresco. Intensidad: leve. 1 Más acentuado, no desagradable. 2 Olor dulzón, desagradable, descompuesto. 3 Fuerte olor putrefacto. Muy desagradable.
Mucosidad	0 No hay. 1 Presencia de mucosidad transparente. 2 Mucosidad amarillenta y viscosa.

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

TABLA 10
ESQUEMA MIC EMPLEADO PARA IDENTIFICAR EL ÍNDICE DE CALIDAD MEDIANTE DEMÉRITOS DE CARNE DE TILAPIA EN CUADROS SOMETIDA A TECNOLOGÍA DE BARRERAS.

Característica	Puntuación
Color	0 Blanco 1 Blanco pálido, un poco amarillento 2 Amarillento. 3 Blanco pálido con fondo oscuro.
Olor	0 A pescado fresco con vinagre. 1 Neutral, casi inodoro. El olor a vinagre se ha perdido y queda un olor vegetal. 2 A pescado intenso. 3 Fermentado. 4 Putrefacto picante.
Mucosidad	0 No hay. 1 Presencia de mucosidad transparente. 2 Líquido lechoso, viscoso y de apariencia harinosa. 3 Mucosidad espesa y gomosa.

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

El método MIC es una prueba descriptiva. Un panel de jueces entrenados para pruebas descriptivas de este tipo debe ser mínimo de 5 personas (23).

El período de entrenamiento de los jueces fue de una semana, tiempo durante el cual se les hizo ver, oler y analizar las diferentes etapas de descomposición del pescado sin procesar y del producto procesado. Se siguieron las recomendaciones de Anzaldúa – Morales (3), según los cuales es necesario que los jueces analicen los alimentos y apliquen el uso de las escalas o instrumentos de evaluación que utilizarán en las pruebas reales, pero también es necesario realizar comprobación del entrenamiento de cada juez. Dicha comprobación se realizó por análisis de varianza de las respuestas de cada juez para verificar la concordancia entre sus resultados y así determinar si el juez estaba bien entrenado. En el apéndice I se encuentran las pruebas estadísticas realizadas con esta finalidad.

Determinación de Bases Volátiles.- Bases volátiles por destilaciones. Norma INEN 457.

Crecimiento microbiano.- Como indicador de la calidad, se midió el crecimiento de aerobios totales en recuento total en placa (de

psicrotróficos para el material almacenado en refrigeradora y mesófilos para el material almacenado al ambiente) y mohos y levaduras. Los mohos y levaduras constituyen un indicador del deterioro del producto en estudio ya que al haber sido sometido a tecnología de barreras estos microorganismos son aptos para sobrevivir y desarrollarse y por lo tanto para deteriorar el producto.

Los métodos ICMSF que se siguieron fueron:

- Contaje de aerobios Recuento en placa. Diluciones seriadas en Agar PCA
- Mohos y Levaduras Diluciones seriadas Agar PDA
- Coliformes totales Número más probable. Caldo lauril sulfato triptona.
- Coliformes fecales. Número más probable. Caldo bilis verde brillante.
- *Escherichia coli* Prueba de Indol

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

En el presente capítulo se mostrarán los resultados obtenidos en las diferentes etapas experimentales que se realizaron con el afán de aplicar la tecnología de barreras en el producto estudiado y de evaluar la eficacia de este proceso en la prolongación del tiempo de vida útil respecto al producto sin procesar.

3.1. Reducción de Actividad de Agua

Al reducir la actividad de agua de productos altamente perecederos como el pescado, con $a_w \geq 0.98$, se obtiene gran efecto en la estabilidad con pequeñas variaciones (20). Si se reduce la actividad de agua hasta un valor superior a 0.90 el producto se sigue manteniendo dentro de la clasificación de “alta humedad” ; si la a_w se encasilla en el rango de 0.60 – 0.90 el producto obtenido corresponde a los de “humedad intermedia” (27). En ambos casos se ha conseguido mejorar la estabilidad en experimentos ya

realizados en otras investigaciones (pescados, carne, etc), lo importante es escoger inteligentemente las otras barreras para poder obtener un producto microbiológicamente estable. (27). En los alimentos de alta humedad las características originales de textura y sabor se conservan mejor que en los de humedad intermedia ya que para disminuir más la actividad de agua se requiere mayor eliminación de agua o mayor incorporación de solutos o ambas.

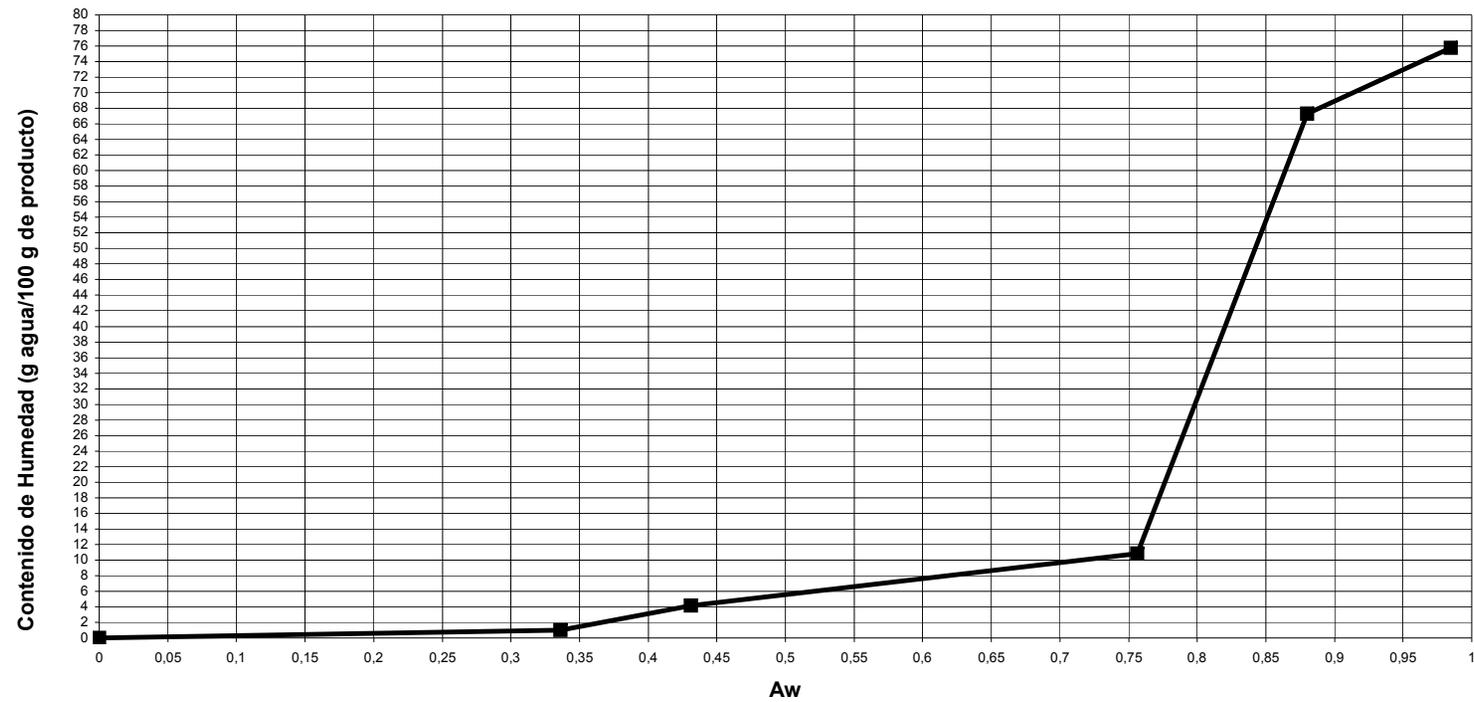
El medio utilizado para reducir actividad de agua fue la reducción de humedad a través de deshidratación osmótica. Por esto, fue necesario determinar una relación entre el contenido de humedad y a_w del producto, para lo cual se construyó la curva de desorción.

3.1.1. Isotherma de Desorción

En la figura 3.1 se encuentra la isoterma de desorción obtenida experimentalmente para carne de tilapia fresca sin procesar por medio del método gravimétrico.

FIGURA 3.1.

CURVA DE DESORCIÓN DE CARNE DE TILAPIA FRESCA OBTENIDA POR EL MÉTODO GRAVIMÉTRICO



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

3.1.2. Reducción de humedad por deshidratación osmótica

La humedad inicial obtenida por triplicado en materia prima fue de 79.9 g de agua/ 100g de producto.

El estudio de deshidratación osmótica se basó en la utilización de soluciones osmóticas de 40% de sólidos totales y 60% de agua, en tres combinaciones de los agentes osmóticos cloruro de sodio (NaCl o sal común) y sacarosa (azúcar): 20% NaCl / 20% sacarosa, 25% NaCl / 15% sacarosa y, 15% NaCl / 25% sacarosa, con las actividades de agua de 0.76, 0.71 y 0.81 respectivamente, obtenidas por la ecuación de Grover (25). Para cada combinación de agente osmótico se realizaron mediciones por triplicado cada 15 minutos hasta completar dos horas. Las variables de respuesta fueron pérdida de agua y ganancia de solutos, tanto para piezas finas (grosor entre 0.6 a 1.15 cm de espesor) como para piezas gruesas (1.15 a 1.7 cm de espesor).

Las fórmulas utilizadas para calcular pérdida de agua, ganancia de solutos y pérdida de peso fueron (4):

Pérdida de agua :

$$\Delta M_w^t = \frac{(M_0^0 x_w^0 - M_0^t x_w^t)}{M_0^0} \times 100$$

Con esta fórmula se obtiene el porcentaje que corresponden los gramos de agua reducida respecto a los gramos de la masa inicial de la muestra sin deshidratar, o en otras palabras, qué porcentaje de la masa inicial constituye una pérdida de agua en un tiempo t.

Ganancia de solutos:

$$\Delta M_{ss}^t = \frac{(M_0^t x_{ss}^t - M_0^0 x_{ss}^0)}{M_0^0} \times 100 \quad (3.2)$$

(3.3)

Donde,

ΔM_w^t : Pérdida de agua a un tiempo t (%)

M_0^t : Masa en el tiempo t (g).

X_w^t : Fracción de agua en el tiempo t.

ΔM_{ss}^t : Ganancia de solutos a un tiempo t (%).

X_{ss}^t : Fracción de contenido de sólidos a un tiempo t.

Resultados y Análisis

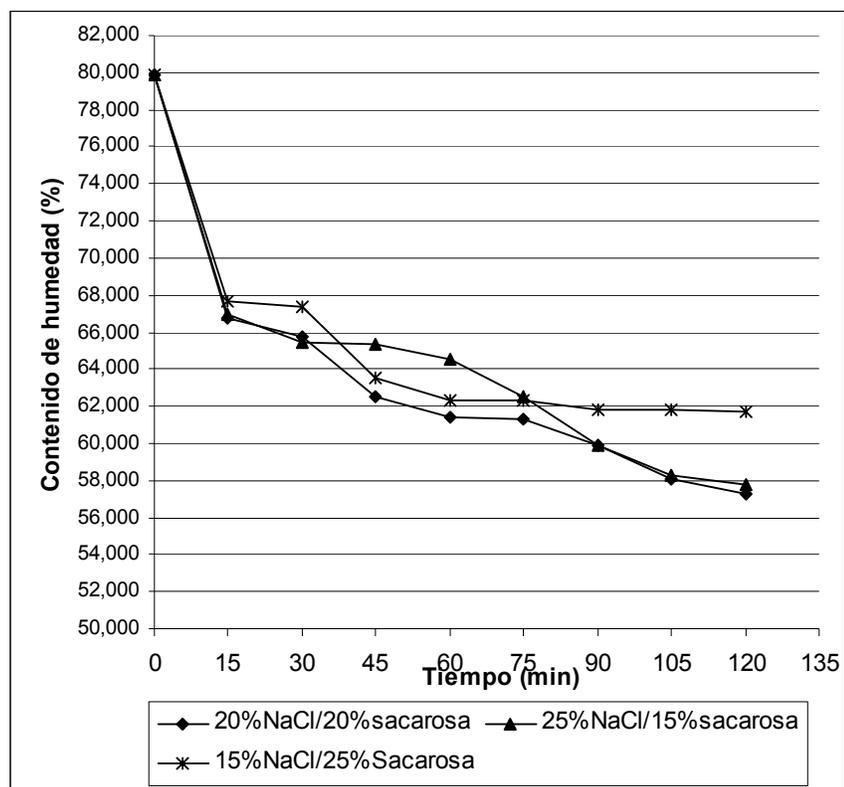
La diferencia de actividades de agua entre un lado y otro de la membrana semipermeable que forma el tejido animal constituye la fuerza impulsora de las dos transferencias de materia que ocurren: salida de agua desde el producto hacia la solución (a_w producto $>$ a_w solución) y entrada de solutos desde la solución al producto, hasta alcanzar el equilibrio, es decir hasta que las actividades de agua se igualan (5, 25, 30).

La actividad de agua de la tilapia es ≥ 0.98 (20, 25)¹⁵, por lo que existe un diferencial de actividades de agua entre este producto y las soluciones osmóticas mencionadas, lo que ocasionará que cada capa del producto tenga una actividad de agua diferente que irá de mayor a menor desde el centro hacia fuera. Considerando las actividades de agua de cada solución ternaria, el diferencial de actividad de agua es mayor con la solución 25% NaCl y 15% sacarosa ($a_w = 0.71$) que con la solución 20% NaCl y 20% sacarosa ($a_w = 0.76$) y éste es mayor que con la solución 15% NaCl y 25% sacarosa ($a_w = 0.81$). El efecto de la diferencia de a_w entre el producto y la solución

¹⁵ Con la ecuación de Grover se obtiene un valor de 0.998.

osmótica sobre la pérdida de agua se puede observar en las figuras 3.2, 3.3, 3.4 y 3.5.

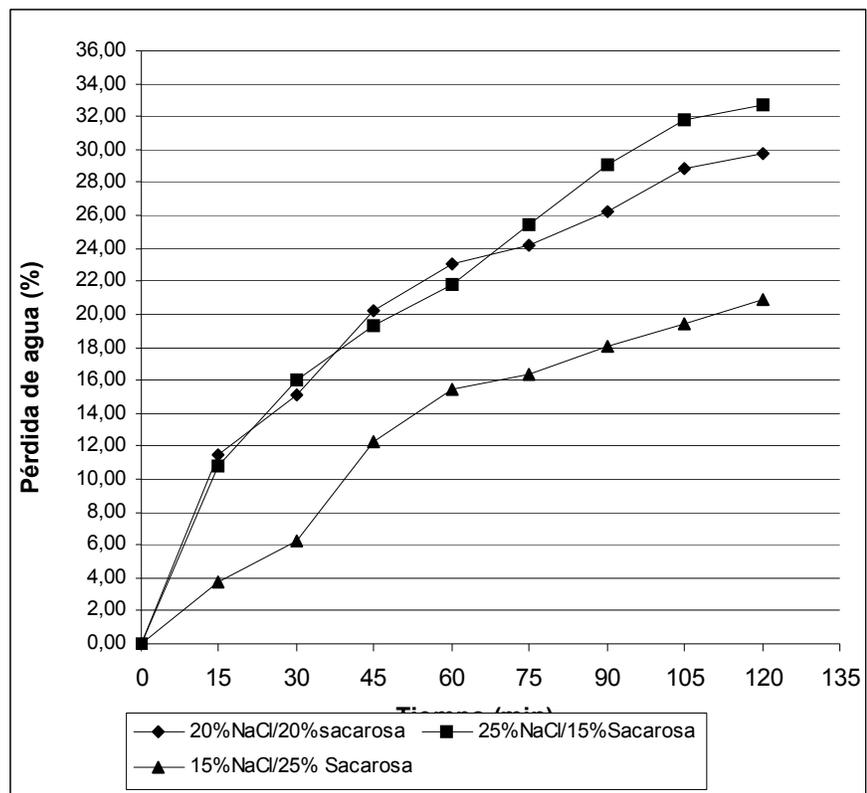
FIGURA 3.2
CONTENIDO DE AGUA EN MUESTRAS FINAS DURANTE
D.O. EN TRES COMBINACIONES DE AGENTES
OSMÓTICOS NaCl/SACAROSA



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

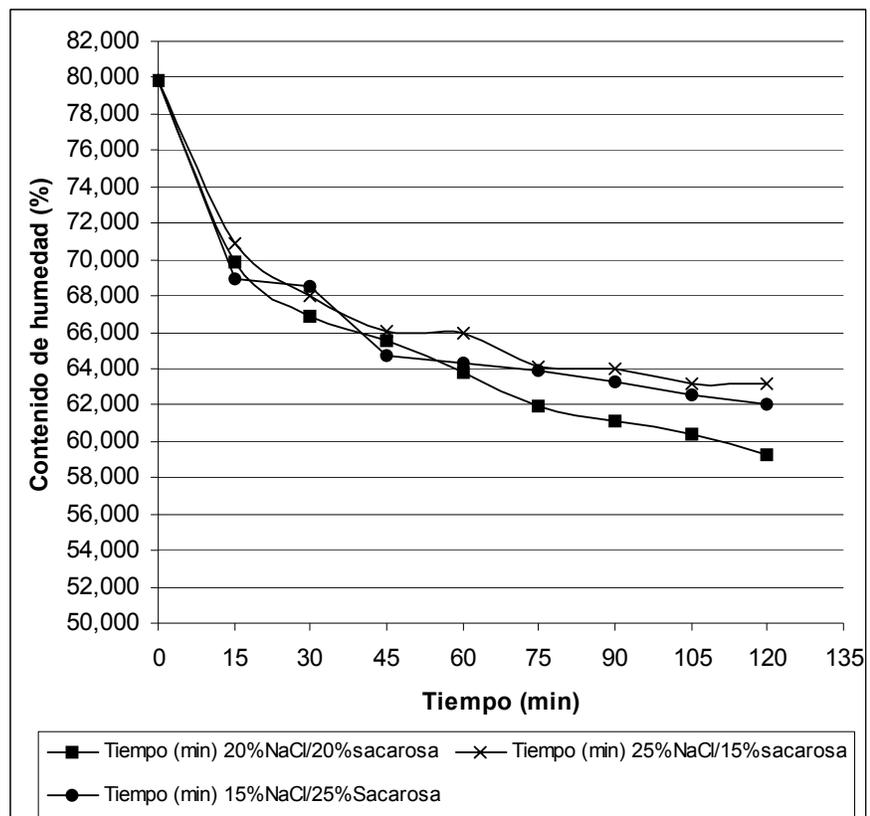
FIGURA 3.3

**PÉRDIDA DE AGUA EN MUESTRAS FINAS DURANTE D.O.
EN TRES COMBINACIONES DE AGENTES OSMÓTICOS
NaCl/SACAROSA**



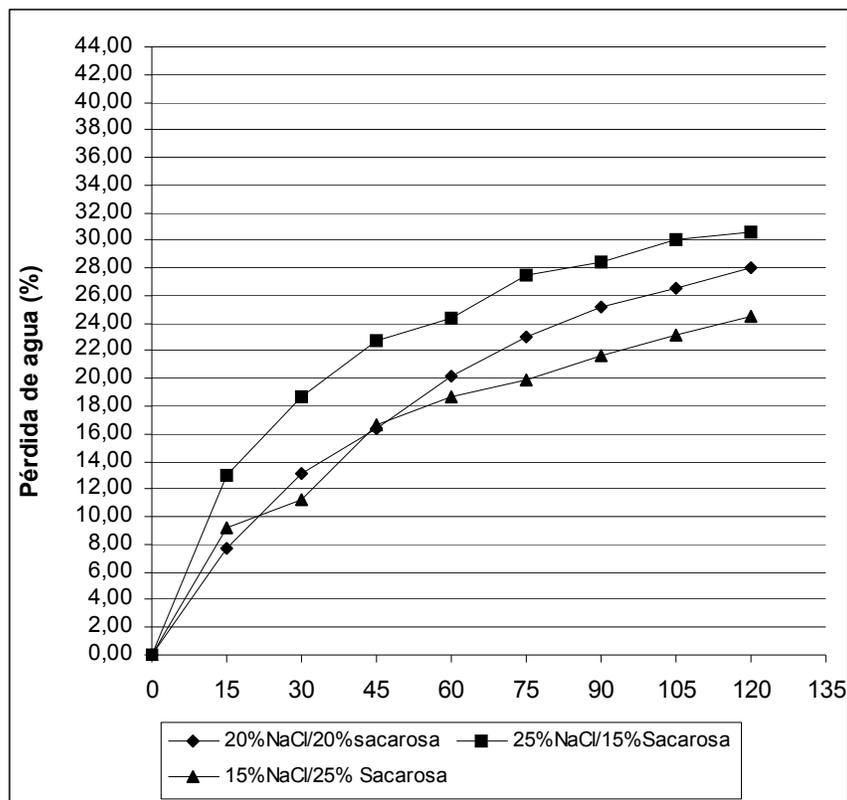
FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

FIGURA 3.4
CONTENIDO DE AGUA EN MUESTRAS GRUESAS
DURANTE D.O. EN TRES COMBINACIONES DE AGENTES
OSMÓTICOS NaCl/SACAROSA



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

FIGURA 3.5
PÉRDIDA DE AGUA EN MUESTRAS GRUESAS DURANTE
D.O. EN TRES COMBINACIONES DE AGENTES
OSMÓTICOS NaCl/SACAROSA



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

En las tres soluciones osmóticas no existe diferencia significativa (análisis de significancia con el 95% de confianza) en la reducción del contenido de humedad en los 15 primeros

minutos. Esto también se demuestra gráficamente en las figuras 3.2 y 3.4.

Para muestras finas (fig 3.2), con la solución 15% NaCl y 25% sacarosa se alcanza un nivel de 62% de humedad a los 60 minutos para después mantenerse casi constante. Con la solución 25% NaCl y 15% sacarosa demora un poco más para llegar a este nivel (75 minutos) pero después de alcanzarlo observamos que sigue reduciéndose el contenido de agua. La solución con 20% NaCl y 20% sacarosa alcanza este nivel a los 45 minutos y en adelante sigue produciéndose reducción del contenido de agua. Analizándolo desde el punto de vista de diferencial de a_w entre producto y solución, cuando existe un mayor diferencial la tendencia será una eliminación mayor de agua en busca del equilibrio (diferencial de a_w como fuerza impulsora (5)). Las muestras finas sometidas a la solución 15% de NaCl y 25% sacarosa con a_w de 0.81 alcanzan un pseudo equilibrio osmótico a los 60 minutos al alcanzar un valor casi constante de contenido de humedad (fig 3.2) y de contenido de sólidos (fig 3.6). mientras que las demás muestras siguen cambiando. En muestras gruesas (fig 3.4) no se logra llegar a un equilibrio, el contenido de humedad sigue disminuyendo

para las tres soluciones; con esto se evidencia la influencia del grosor en la velocidad de deshidratación osmótica (32).

En muestras finas y gruesas se observó que a mayor diferencial de a_w existe una mayor pérdida de agua (figuras 3.3 y 3.5), comprobando que la fuerza impulsora de la transferencia de agua es el diferencial de a_w . Sin embargo también se confirma influencia de la concentración de los agentes osmóticos. Una mayor participación de azúcar favorece la eliminación de agua (34). Esto se puede observar en muestras finas sometidas a s.o. 20% NaCl / 20% sacarosa donde la pérdida de agua es semejante (no hubo diferencia significativa) a la de muestras sometidas a s.o. 25% NaCl / 15% sacarosa, teniendo en cuenta que el diferencial de a_w es mayor en esta última (figura 3.3).

El grosor también influye en la pérdida de agua, en general, muestras finas presentan mayores pérdidas de agua que muestras gruesas, tal como se muestra en figuras 3.3 y 3.5 para muestras sometidas a s.o. 20% NaCl / 20% sacarosa y s.o. 25% NaCl / 15% sacarosa. Sin embargo en muestras sometidas a s.o. 15% NaCl / 25% sacarosa, se observa una pérdida de agua significativamente mayor en muestras gruesas

que en finas (comprobado por análisis de significancia con 95% de confianza). Al parecer, las muestras gruesas requieren una mayor eliminación de agua debido a que la sal, que reduce la actividad de agua, tarda más en llegar al centro en las muestras gruesas que en las finas debido a que el recorrido de la partícula es más largo y también porque en la s.o. 15% NaCl / 25% sacarosa la difusividad de la sal es menor que en las demás soluciones debido a la baja concentración de sal y alta concentración de sacarosa (34).

La ganancia de solutos depende de la concentración de agentes osmóticos, del diferencial de actividad de agua entre el producto y la solución y del grosor. Cuando el diferencial de actividad de agua es pequeño se produce una mayor captación de solutos; al parecer, la pérdida de agua al ser baja permite un mayor paso de solutos a través de la membrana; esto se comprueba para las muestras sometidas a solución 15% NaCl / 25% sacarosa ($a_w = 0.81$) donde se observa la menor pérdida de agua y la mayor ganancia de solutos en muestras finas (fig 3.7), sin embargo en muestras gruesas se observa que hay mayor ganancia de solutos al usar 20% NaCl / 20% sacarosa, la diferencia no es significativa con muestras 15 %NaCl / 25%

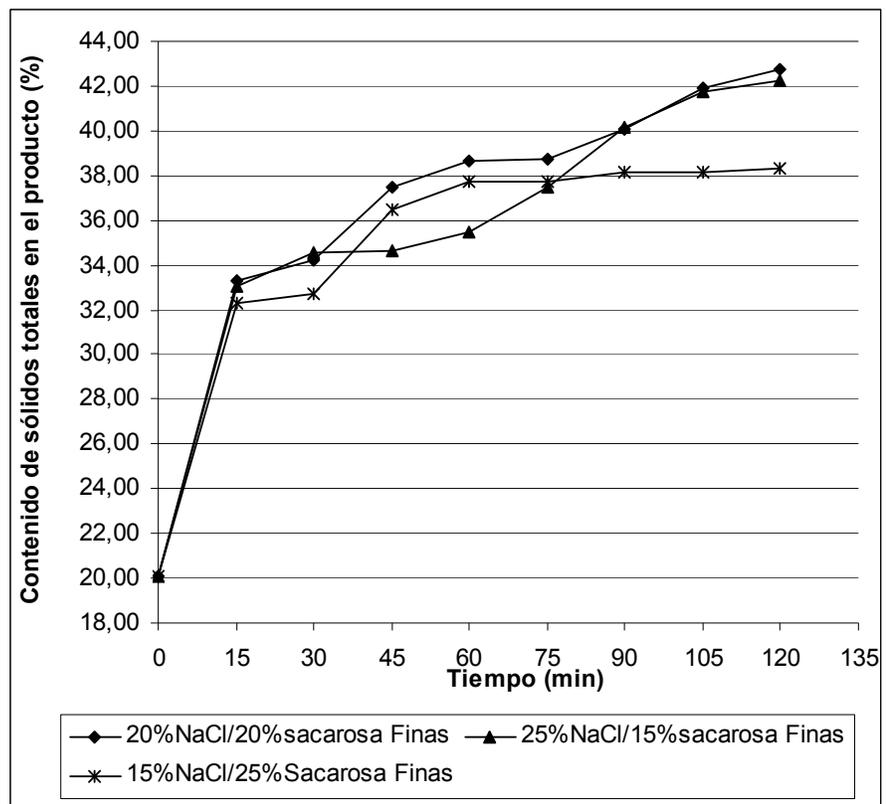
sacarosa, esto se explicaría por el hecho de que la difusividad de la sal es mayor en la solución 20% NaCl / 20% sacarosa que en la solución 15% NaCl / 25% sacarosa (al disminuir la concentración del azúcar la difusividad de la sal aumenta (34)). Como se puede observar en el gráfico 3.9 para las muestras sometidas a 15% NaCl /25% sacarosa se llega a una valor casi constante de ganancia de sólidos a los 60 minutos debido al bajo diferencial de a_w , en cambio las muestras sometidas a s.o. 20% NaCl / 20% sacarosa (cuya a_w es menor que para la s.o. 15% NaCl / 25% sacarosa) tienen una ganancia de solutos menor que muestras sometidas a s.o. 15% NaCl / 25% sacarosa durante los 60 primeros minutos (como es normal según lo explicado de diferencial de a_w), pero después de los 60 minutos sigue captando solutos debido a que debe seguir reduciendo la a_w del producto. Por análisis de varianza no se detectó diferencia significativa entre la ganancia de solutos de muestras sometidas a 20% NaCl / 20% sacarosa y 15% NaCl / 25% sacarosa.

Cuando el diferencial de a_w es grande, se produce la menor ganancia de solutos (fig 3.7 y 3.9 para las muestras sometidas a solución 25% NaCl / 15% sacarosa). Esto indica que al haber

alta eliminación de agua (promovido por un alto diferencial de a_w) la captación de solutos a través de la membrana se ve desfavorecida. Sin embargo también influye el porcentaje de participación de agentes osmóticos, como en el caso de la alta captación de soluto que existe en las muestras sometidas a solución 20% NaCl / 20% sacarosa, donde la difusividad de la sal aumenta debido a que su porcentaje de participación es mayor mientras que el de sacarosa es menor comparando con los porcentajes de participación de la solución 15% NaCl / 25% sacarosa. Esto comprueba que una mayor proporción de azúcar en la solución disminuye la difusividad de la sal.

La influencia del grosor en la ganancia de solutos es bien definida. Las muestras finas ganan más solutos que las muestras gruesas dentro de las dos horas de tratamiento en los tres casos (fig 3.7 y 3.9). Los sólidos pueden llegar más rápidamente al centro del producto en muestras finas por ser menor el camino a recorrer que en las muestras gruesas y llegar al equilibrio más rápido, por esto, en dos horas el porcentaje de solutos captados será mayor en las muestras finas que en las gruesas (ver fórmula 3.2).

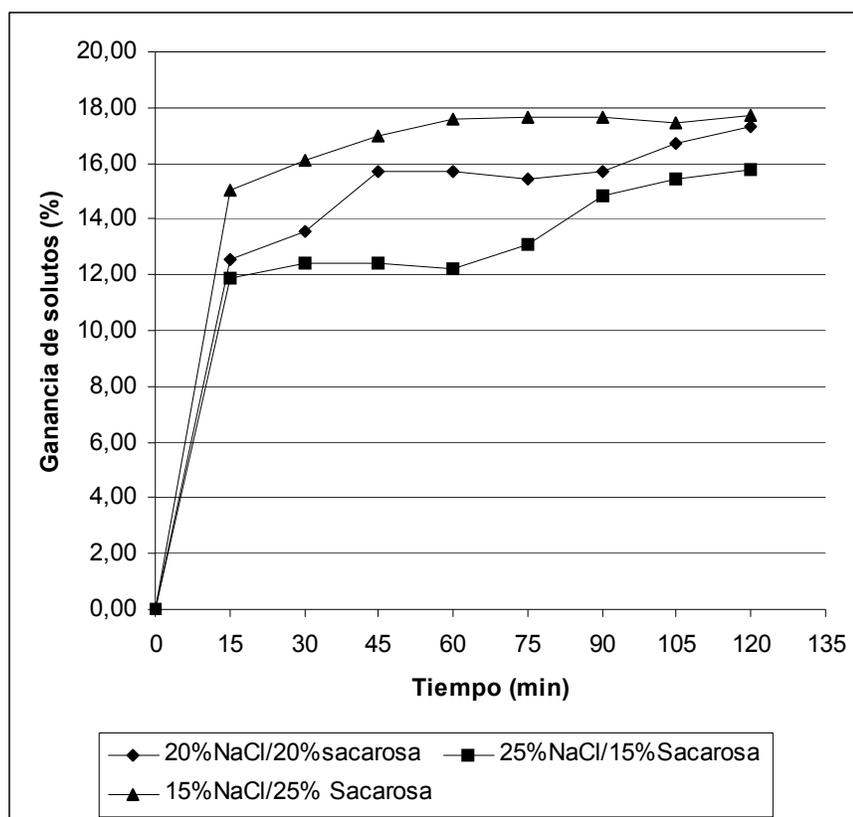
FIGURA 3.6
CONTENIDO DE SÓLIDOS TOTALES EN MUESTRAS FINAS
SOMETIDAS A D.O. EN TRES COMBINACIONES DE
AGENTES OSMÓTICOS NaCl/SACAROSA



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

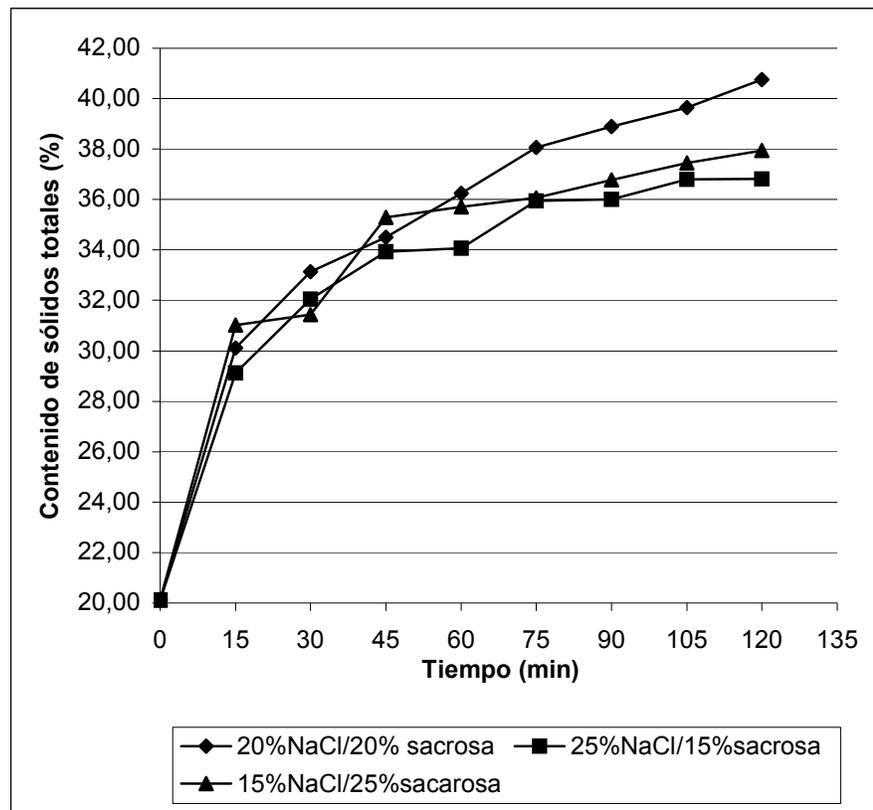
FIGURA 3.7

**GANANCIA DE SOLUTOS EN MUESTRAS FINAS DURANTE
D.O. EN TRES COMBINACIONES DE AGENTES
OSMÓTICOS NaCl/SACAROSA**



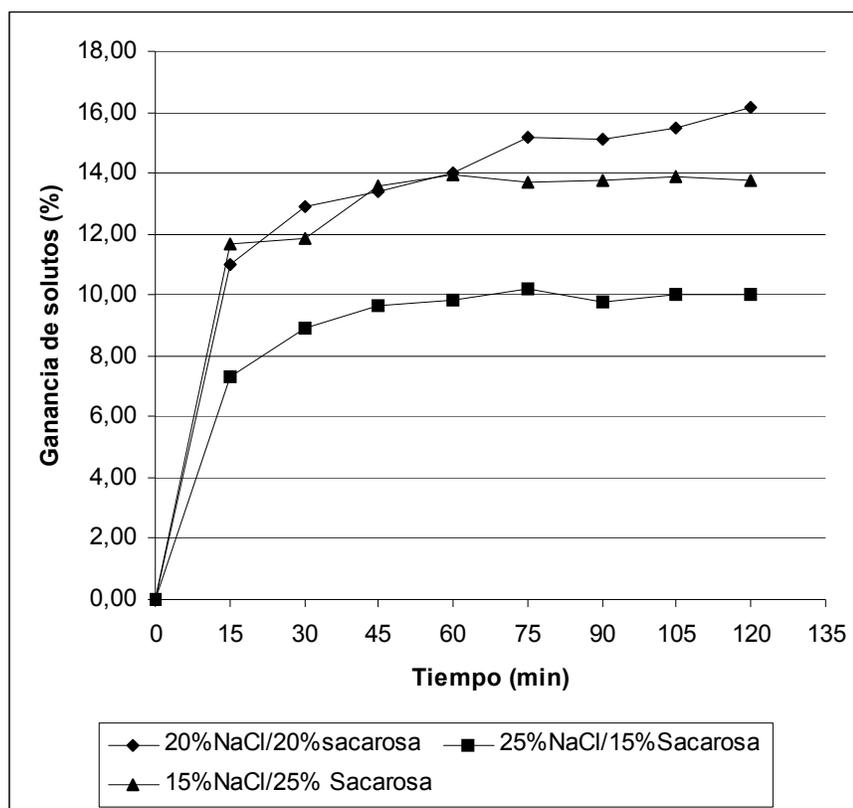
FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

FIGURA 3.8
CONTENIDO DE SÓLIDOS TOTALES EN MUESTRAS
GRUESAS SOMETIDAS A D.O. EN TRES COMBINACIONES
DE AGENTES OSMÓTICOS NaCl/SACAROSA



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

FIGURA 3.9
GANANCIA DE SOLUTOS EN MUESTRAS GRUESAS
DURANTE D.O. EN TRES COMBINACIONES DE AGENTES
OSMÓTICOS NaCl/SACAROSA



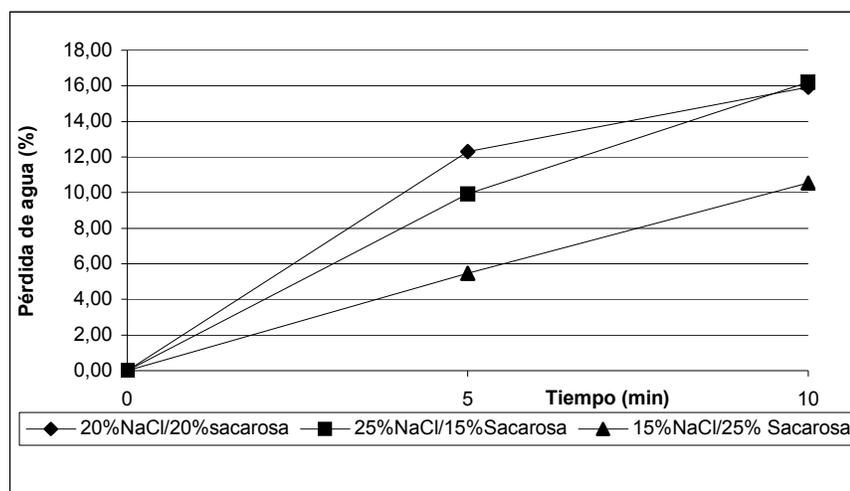
FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Como pudimos observar en todos los gráficos los cambios más importantes se dan en los primeros 15 minutos. A este punto el producto se tornó demasiado salado para los tres

tratamientos¹⁶. Por esta razón se realizaron nuevas observaciones para tiempos de deshidratación de 10 minutos.

FIGURA 3.10

**PÉRDIDA DE AGUA EN MUESTRAS FINAS DURANTE D.O.
(10 MIN DE PROCESO)**

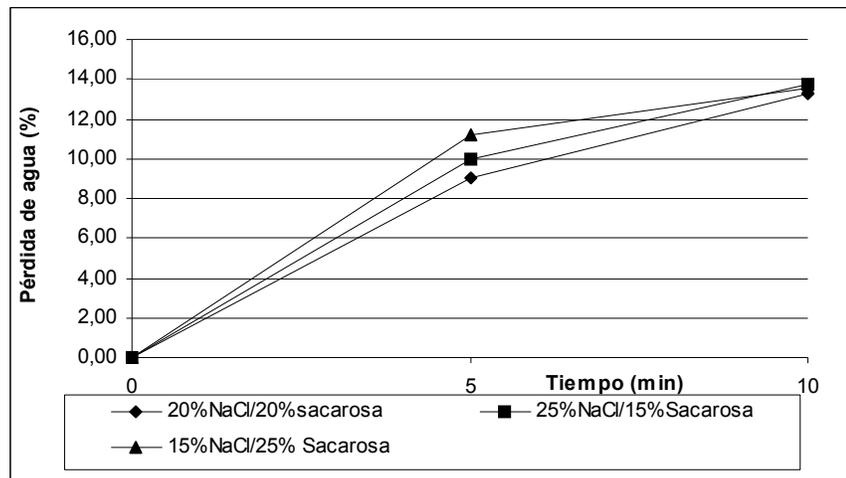


FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

¹⁶ Se realizó una prueba de degustación informal sólo con el objetivo de sondear el grado de aceptabilidad o rechazo de las muestras tras 15 minutos de inmersión en las soluciones osmóticas.

FIGURA 3.11

**PÉRDIDA DE AGUA EN MUESTRAS GRUESAS DURANTE
D.O. (10 MIN DE PROCESO)**



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Para muestras finas, cuando el diferencial de a_w es menor se pierde poco agua que cuando el diferencial es mayor, sin embargo también tiene un efecto importante la participación de sal y azúcar en la solución osmótica, ya que aunque con la combinación 25% NaCl / 15% sacarosa se tiene un mayor diferencial de a_w que con la S.O. 20% NaCl / 20% sacarosa con esta última se obtienen mayores valores de pérdida de agua

debido a que un mayor contenido de azúcar mejora las propiedades de eliminación de agua de la solución (el azúcar tiene mayor capacidad de eliminación de agua que la sal (30)).

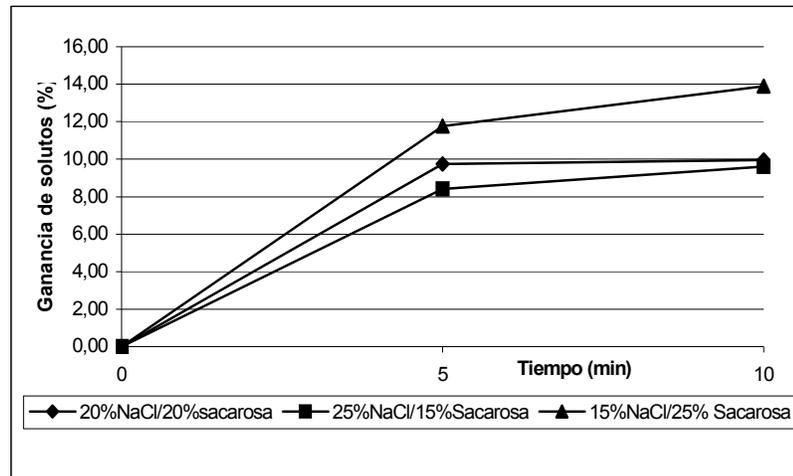
El comportamiento de pérdida de agua producido en muestras gruesas es diferente en este caso se observan mayores pérdidas de agua en las muestras sometidas a la S.O. con mayor actividad de agua, es decir con la que el diferencial de a_w es menor (S.O. 15% NaCl / 25% sacarosa) sin embargo la diferencia entre las pérdidas de agua en las muestras de las tres soluciones no es significativa ni a los 5 ni a los 10 minutos. En todo caso este hecho se podría explicar teniendo en cuenta que a mayor contenido de azúcar de la S.O. mayor capacidad de extraer agua del producto sometido y esto es visible solo en muestras gruesas porque requiere eliminar más agua hasta que el centro del producto llegue al equilibrio con la solución osmótica las otras muestras de las otras soluciones de menores a_w (y mayores diferenciales de a_w con el producto) permiten eliminar agua rápidamente (pero en menor cantidad) y además la difusividad de la sal (que es mayor mientras mayor es su concentración y por el peso molecular que es menor que el del azúcar) le permite penetrar y ayudar a que la a_w del producto disminuya.

A menor diferencial de a_w la captación de solutos es mayor, como en el caso de las muestras finas y gruesas sometidas a 15% NaCl / 25% sacarosa (fig 3.15 y 3.17). Al haber un bajo diferencial de a_w la fuerza impulsora de la salida de agua es baja por lo que la pérdida de agua es poca (en relación con las otras soluciones) lo que parece ser que permite una mayor paso de solutos a través de la membrana tal como se analizó para las muestras finas sometidas a la misma solución (fig 3.7).

No existe diferencia significativa entre la ganancia de solutos de muestras sometidas a solución 25% NaCl / 15% sacarosa y las muestras sometidas a solución 20% NaCl / 20% sacarosa; aunque en las primeras sí se verificó mayor ganancia sobre todo en muestras finas. Con esto se vuelve a comprobar que al haber mayor pérdida de agua hay menor ganancia de solutos.

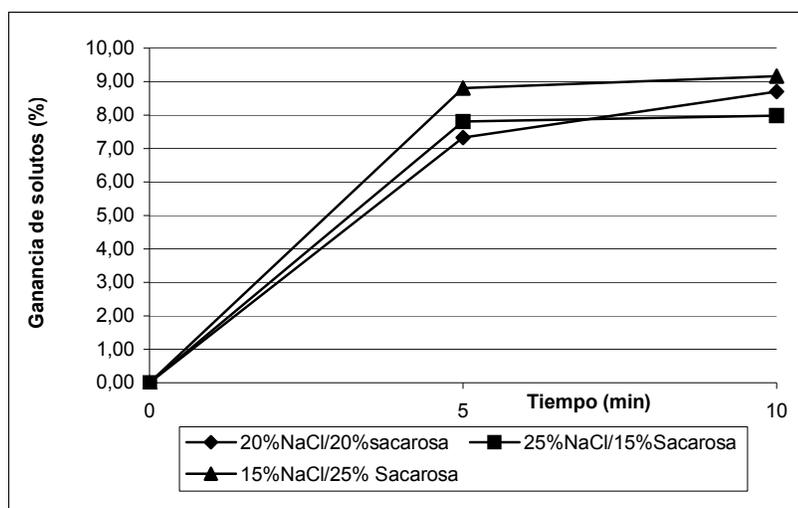
FIGURA 3.12

**GANANCIA DE SOLUTOS EN MUESTRAS FINAS DURANTE
D.O. (10 MIN DE PROCESO)**



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

FIGURA 3.13
GANANCIA DE SOLUTOS EN MUESTRAS GRUESAS
DURANTE D.O. (10 MIN DE
PROCESO)



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

La ganancia de solutos fue mayor en las muestras finas que en las gruesas en las tres S.O., comprobándose nuevamente la influencia del grosor en la transferencia de materia ocurrida a través de la membrana (5).

Con este análisis llegamos a la conclusión de que la pérdida de agua y la ganancia de solutos dependen de varios factores que actúan simultáneamente como son la actividad de agua de la

solución osmótica, el porcentaje de participación de sal y azúcar en las soluciones y el grosor de la muestra. Es decir, dependiendo de las condiciones en que se realice la deshidratación osmótica se obtendrán diferentes relaciones entre pérdida de agua y ganancia de solutos para los mismos tiempos de proceso. Lerici et al (1985), llegaron a la misma conclusiones similares; ellos expresaron que la a_w final de un producto depende no solamente de la a_w de la solución osmótica, sino también de la ganancia de solutos lo cual es determinado por muchos otros factores como son composición química de la s.o., naturaleza y forma de la muestra (28).

Para seleccionar la solución a utilizar es necesario tomar en cuenta las ventajas que ofrece para la deshidratación osmótica del producto y los cambios de sabor que le vaya a conferir. Uno de los objetivos de deshidratación osmótica es obtener alta eliminación de agua y poca ganancia de solutos (30). Las bondades ofrecidas por cada una de las soluciones osmóticas utilizadas, en los proceso de dos horas y de diez minutos, se presentan en las tablas 11 y 12.

TABLA 11

CALIFICACIÓN DE LAS VENTAJAS QUE OFRECEN LAS SOLUCIONES OSMÓTICAS DURANTE DOS HORAS DE PROCESO.

	20% NaCl / 20% sacarosa		25% NaCl / 15% sacarosa		15% NaCl / 25% sacarosa	
	Finas	Gruesa	Finas	Gruesa	Finas	Gruesa
Alta pérdida de agua	2	1	2	2	0	0
Poca ganancia de solutos	1	0	2	2	0	0
Sumatoria	3	1	4	4	0	0

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

TABLA 12

CALIFICACIÓN DE LAS VENTAJAS QUE OFRECEN LAS SOLUCIONES OSMÓTICAS DURANTE 10 MINUTOS DE PROCESO.

	20% NaCl / 20% sacarosa		25% NaCl / 15% sacarosa		15% NaCl / 25% sacarosa	
	Finas	Gruesa	Finas	Gruesa	Finas	Gruesa
Alta pérdida de agua	2	0	1	1	0	2
Poca ganancia de solutos	1	2	2	2	0	0
Sumatoria	3	2	3	3	0	2

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Las calificaciones se han realizado comparando los resultados obtenidos con las tres soluciones para muestras finas y para muestras gruesas por separado (no son comparaciones entre muestras finas y gruesas de la misma solución). El valor de 2

corresponde a la mejor calificación y 0 la peor (según figuras 3.3, 3.5, 3.7, 3.9, 3.10, 3.11, 3.12 y 3.13). Tanto en el proceso de 2 horas como en el de 10 minutos, las sumatorias nos demuestran que la s.o. 25% NaCl / 15% sacarosa es la que presenta más ventajas para la deshidratación osmótica, siguiéndole la s.o. 20% NaCl / 20% sacarosa. La solución 15% NaCl / 25% sacarosa se presenta como la menos adecuada para el proceso de deshidratación osmótica.

Se sometió a degustación¹⁷ muestras procesadas con las tres soluciones tras 5 y 10 minutos de deshidratación osmótica. Los resultados fueron que a los 10 minutos las muestras sometidas a S.O. 25% NaCl / 15% sacarosa y 20% NaCl / 20% sacarosa estuvieron muy saladas, esto se debe a que la sal tiene mayor difusividad que el azúcar (30, 34) por lo que penetra más en el tejido. Para las muestras sometidas a S.O. 15% NaCl y 25% sacarosa a los 10 minutos el sabor dulce es notorio y un tanto desagradable. Entre las muestras sometidas a soluciones osmóticas de 20% NaCl y 20% sacarosa y de 15% NaCl y 25% sacarosa tras 5 minutos de inmersión, las más aceptadas

¹⁷ Se realizó una prueba de degustación informal, sólo con el objetivo de sondear el grado de aceptabilidad o rechazo de las muestras a diferentes tiempos de inmersión en las soluciones osmóticas.

fueron las primeras.

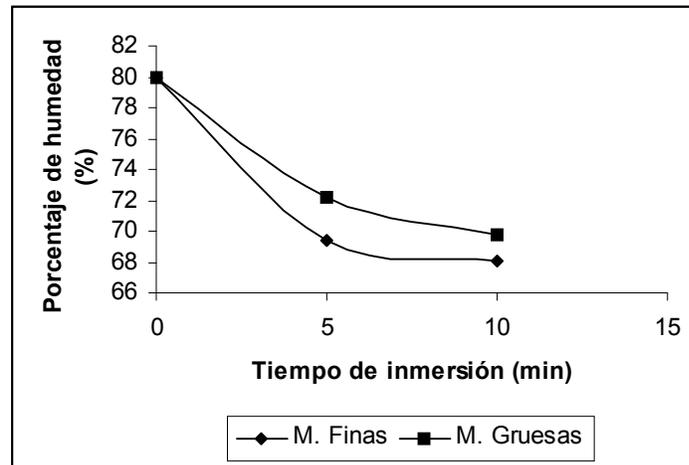
Por esta razón y por las ventajas que presenta para la deshidratación osmótica (buena eliminación de agua y baja captación de solutos), la solución osmótica escogida es la compuesta por 20% de cloruro de sodio y 20% de sacarosa y el tiempo de inmersión es 5 minutos.

3.1.3. Determinación del valor de actividad de agua

Al determinar la S.O. a utilizar y el tiempo de inmersión es posible determinar el nivel de actividad de agua del producto después del proceso. En la figura 3.14 se encuentra la relación Contenido de humedad del producto (%) vs. Tiempo de inmersión en la solución osmótica escogida, como podemos observar, a los 5 minutos se obtiene una disminución del contenido de humedad desde 79.889% hasta 69.35% en muestras finas y 72.15% en muestras gruesas. Al relacionar estos valores de humedad con los de actividad de agua en la figura 3.1 obtenemos los valores de 0.94 y 0.90 para muestras gruesas y finas respectivamente.

FIGURA 3.14

CONTENIDO DE HUMEDAD VS. TIEMPO DE INMERSIÓN EN
SOLUCIÓN 20% NaCl /20% Sacarosa



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Los valores obtenidos con las ecuaciones de Grover y de Ross para muestras finas y gruesas se muestran en la siguiente tabla:

TABLA 13

ACTIVIDAD DE AGUA DE TILAPIA EN TROZOS DESPUÉS DE UN PROCESO DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA POR 5 MINUTOS CON SOLUCIÓN OSMÓTICA 20% NaCl Y 20% SACAROSA.

Muestras	Isoterma de desorción	Ecuación de Grover	Ecuación de Ross
Finas	0.90	0.96	0.91
Gruesas	0.94	0.96	0.94

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

La ecuación de Ross es la que mejor predice actividad de agua en alimentos (25). Como podemos observar estos resultados coinciden con los obtenidos por medio de la isoterma de desorción, por lo tanto estos serán los valores que se tomarán como los de actividad de agua de muestras finas y gruesas tras cinco minutos de inmersión en solución osmótica compuesta por 20% NaCl y 20% sacarosa. Cabe recalcar que la isoterma de desorción sólo toma en cuenta el contenido de humedad de la tilapia mientras que las ecuación de Grover y Ross también

toman los sólidos que contiene el producto, en este caso proteína, grasa, sal y azúcar. En el apéndice K se encuentran los cálculos para determinación de actividad de agua por medio de la utilización de estas fórmulas.

3.2. Pruebas de acidificación de la solución osmótica

Para la acidificación de la solución osmótica se utilizó ácido cítrico y ácido acético en diferentes concentraciones. El objetivo de este paso es determinar cuál ácido debe usarse, en qué porcentaje y a qué pH se reducirá el producto para tener un efecto barrera en el producto tras una inmersión durante 5 minutos en la solución 20% sal, 20% azúcar y X% de ácido. El pH del producto deberá estar entre 5 y 6 ya que si es menor que 5 podría haber rechazo por parte del consumidor por ser muy ácido y si es mayor que 6 no habría un efecto importante contra los microorganismos para ninguno de los dos ácidos (ver apéndice A) (20). Se trabajó a través de un diseño experimental $2^1 \times 10^1$.

TABLA 14
VARIACIÓN DE PH DE LA S.O. CON LA CONCENTRACIÓN DE
ÁCIDO

Concentración de ácido en la S.O.	PH de la solución de:	
	Ácido acético	Ácido cítrico
2.00	2.603	1.44
1.50	2.69	1.52
1.00	2.755	1.644
0.9	2.814	1.698
0.8	2.848	1.724
0.6	2.918	1.83
0.5	2.973	1.906
0.25	3.195	2.177
0.20	3.283	2.274
0.11	3.49	2.553
0.05	3.861	2.98
0.02	4.15	3.55
0.01	4.383	4.19

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

De todos estos valores de concentración de ácido se tomaron los más representativos de los diferentes valores de pH para proceder a la medición del pH del producto tras inmersión en la S.O. durante 5 minutos.

TABLA 15

PH DEL PRODUCTO TRAS 5 MINUTOS DE INMERSIÓN EN S.O.

Concentración en S.O.	PH del producto tras 5 min de inmersión en S.O ¹⁸ .	
	Ácido Acético	Ácido Cítrico
0	6.175	pescado sin procesar ←
0.1%	6.1	6.125
0.5%	5.775	6.0
1%	5.45	5.4
2%	5.0	5.15

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

El pH del pescado sin procesar es de 6.175 (promedio de los cuatro resultados).

¹⁸ Mediciones realizadas por duplicado y con réplica. Se muestran valores promedio. Medición con tirilla tornasol.

Los pH escogidos para continuar con la prueba de acidez son los correspondientes a las concentraciones 1% y 0.5% para ambos ácidos. Los demás fueron descartados por presentar valores fuera del rango 5 – 6 por lo explicado anteriormente.

Para saber el efecto antimicrobiano de estos ácidos a estos valores de pH escogidos es necesario determinar el porcentaje de ácido no disociado en el producto.

TABLA 16

EFICACIA DE LOS ÁCIDOS USADOS A LOS PHs ESCOGIDOS

Tratamiento	PH del producto	% Acidez del producto	Proporción de ácido no disociado para ese pH (20).	% de ácido no disociado en el producto a ese pH.
A. Acético (1% en S.O.)	5.45	0.34	0.21	0.0714
A. Acético (0.5% en S.O.)	5.78	0.19	0.115	0.0219
Cítrico (1% en S.O.)	5.4	0.30	0.0025	0.00075
Cítrico (0.5% en S.O.)	6	0.18	0.00006	0.0000108

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Al comparar con los valores de la tabla 6 del espectro antimicrobiano de soluciones de ácidos orgánicos podemos ver que los valores de porcentaje de ácido no disociado son muy bajos con el ácido cítrico a ese pH como para tener algún efecto antimicrobiano; también es bajo para el ácido acético cuando su contenido es del 0.19% en el producto, sin embargo cuando su contenido corresponde al 0.34% ya se obtienen valores que sí tienen efecto antimicrobiano, principalmente sobre las familias *Enterobacteriaceae* y *Micrococcaceae* (familias en las que se encuentran varios m.o. causantes del deterioro y patógenos), también podría estar teniendo un efecto barrera sobre la familia *Bacillaceae* y los mohos (recordemos que el efecto barrera no requiere que se alcancen los límites intolerables por los microorganismos), pero se encuentra lejos de tener efecto sobre levaduras.

Entonces, el ácido escogido para el proceso PIDR es el ácido acético a una concentración de 1% en la solución osmótica y de 0.34% en el producto.

3.3. Estudio de Estabilidad

Esta sección se divide en dos partes: primero se realizó una comparación de las velocidades de deterioro del producto sin

procesar y del procesado a las condiciones de temperatura ambiental (25°C) y de refrigeración ($8 \pm 2^\circ\text{C}$), con el objetivo de comprobar si es eficaz el proceso de tecnología de barreras aplicado. Luego, se determinó el tiempo de vida útil del producto procesado.

Se tomó como indicadores de vida útil la evaluación sensorial directa del alimento (apreciación del olor, color, presencia de mucosidad), recuento de microorganismos (recuento total en placa y mohos y levaduras) y medición de bases volátiles (como indicador químico del deterioro) (6). Estos indicadores sirvieron para medir la velocidad de deterioro tanto del producto sin procesar como del producto procesado.

La vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo durante el cual el producto envasado y almacenado no se percibe significativamente distinto al producto inicial (6). Durante el lapso de vida útil se puede considerar que el alimento ha sufrido una disminución tolerable de su calidad, sin llegar a un nivel de objetabilidad (fin de la vida útil) (6). La determinación de dicho punto se puede establecer rigiéndose por normas legales establecidas para el producto o con análisis sensorial cuando el consumidor (juez)

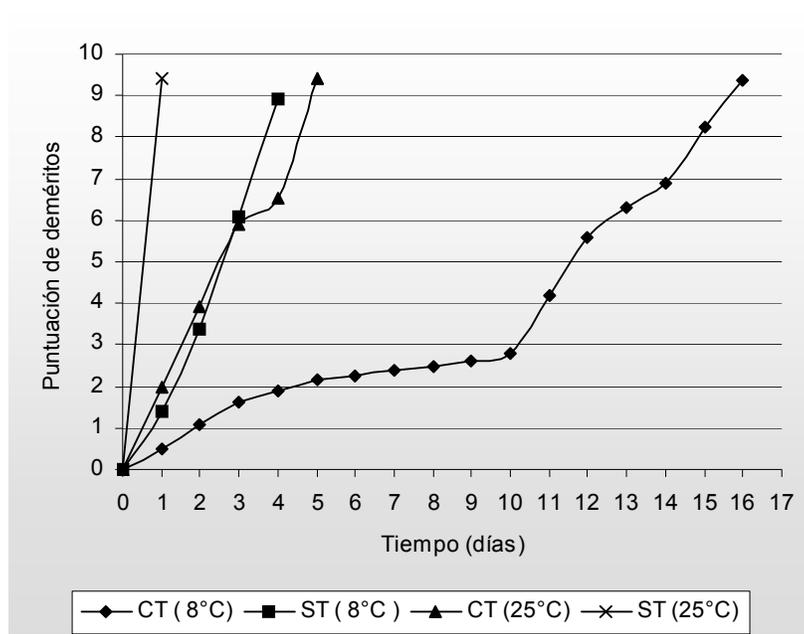
juzga que el alimento se encuentra en el límite de aceptabilidad o ha perdido su excelencia (6).

Medición de los cambios sensoriales.

Los gráficos construidos corresponden al método MIC (explicado en el capítulo 2). Cada punto representa el promedio de las calificaciones del índice de calidad otorgada por cinco jueces entrenados en un tiempo dentro del tiempo total de almacenamiento.

FIGURA 3.15

CAMBIOS SENSORIALES POR DETERIORO. PUNTUACIÓN DE DEMÉRITOS RESPECTO AL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO.



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Donde CT corresponde al producto con tratamiento a 8°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) o 25°C y ST sin tratamiento a 8°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) o 25°C. La mayor calificación para el producto sometido a tecnología de barreras es 10 (mayor deterioro) y la menor calificación es 0 (mayor frescura). Para el caso de pescado sin procesar, el mayor valor es 9 y el menor es 0. Con el objeto de comparar las respuestas del producto tratado y del no tratado gráficamente se ponderó los resultados obtenidos para el producto fresco a 10.

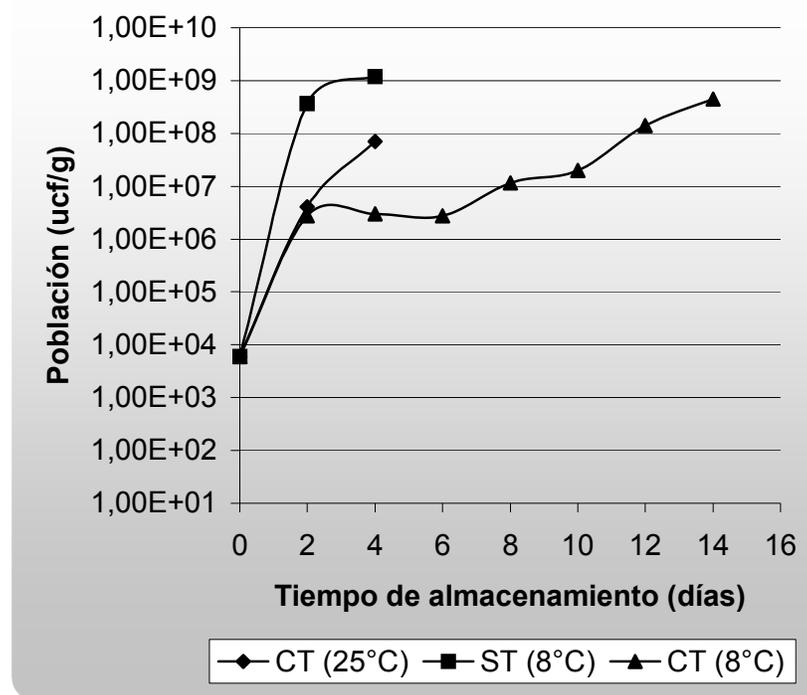
En la figura 3.15 se observa claramente que las muestras con tratamiento de tecnología de barreras almacenado a 8°C (± 2) tiene un tiempo de deterioro mucho mayor que el de muestras no tratadas a la misma temperatura: las primeras llegan al deterioro completo a los 16 días y las segundas a los 4 días. Las muestras con tratamiento de tecnología de barreras almacenadas al ambiente (25°C) tienen un tiempo de deterioro de 5 días mientras que las no tratadas de un día y medio.

Crecimiento microbiano

Se midió el crecimiento de microorganismos en recuento total en placa (aerobios totales) y de mohos y levaduras.

FIGURA 3.16

CRECIMIENTO DE BACTERIAS: RECUENTO TOTAL EN PLACA



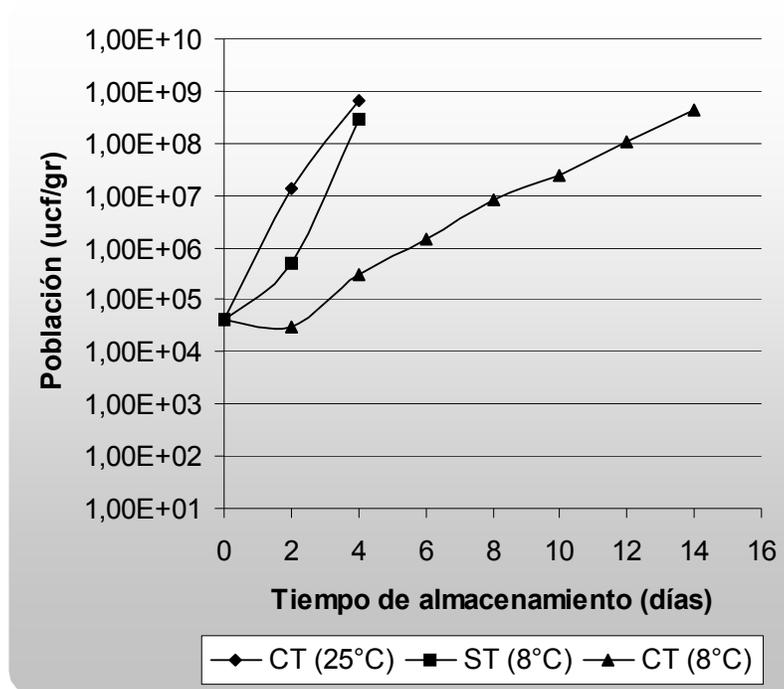
FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Observamos que aunque las muestras sin tratamiento se encuentra a 8°C el crecimiento de microorganismos aerobios es mayor que en el producto tratado almacenado a 25°C (CTA) con lo cual se constata la eficacia del proceso. Más aún comparándolo con el producto tratado almacenado a 8°C (CTR) donde vemos que el tiempo de crecimiento microbiano es mucho mayor para alcanzar un

nivel de 10^9 unidades formadoras de colonias. Este retraso observado en el crecimiento microbiano se debe al denominado “agotamiento metabólico” de los microorganismos, según el cual el crecimiento se puede prevenir (retrasar el crecimiento e incluso provocar la desaparición de una cepa microbiana), dependiendo del grado de intensidad en que sean utilizadas las barreras de preservación (27).

FIGURA 3.17

CRECIMIENTO DE MOHOS Y LEVADURAS.



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Comparando el crecimiento de mohos y levaduras en las muestras tratadas y no tratadas almacenadas a $8 \pm 2^\circ\text{C}$ observamos que el tiempo requerido para llegar a un nivel de 10^9 ufc/g es de 14 días en las primeras y de 4 días en las segundas.

El producto tratado almacenado a 25°C llega a este nivel a los 4 días.

También se realizó determinación de coliformes totales, fecales y presencia de *E.coli* en la materia prima y el producto procesado descompuesto (3 días de almacenamiento a 25°C).

Materia Prima:

Coliformes totales: 1100 bacterias / g

Coliformes fecales: 7 bacterias / g

E.coli: Negativo.

Producto procesado (3 de almacenamiento a 25°C).

Coliformes totales: 21 bacterias / g

Coliformes fecales: 7 bacterias / g

E.coli: Negativo.

Producción de Bases volátiles

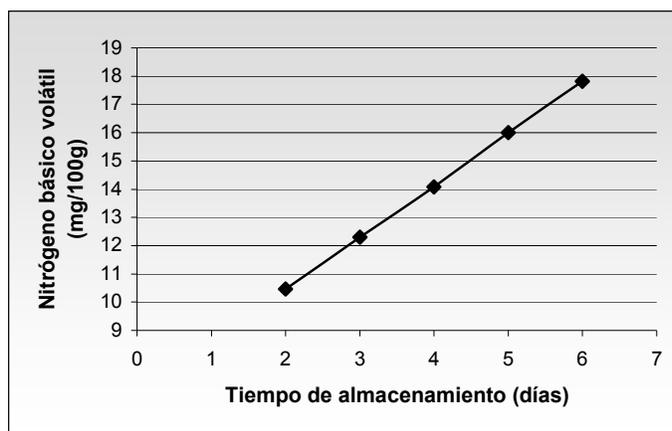
Los resultados obtenidos en la medición de bases volátiles muestran que nunca se llegó al límite superior impuesto por el INEN para pescado fresco refrigerado que es 49.5 mg Nitrógeno Básico Volátiles / 100gr de producto. Lo cual indica que en ninguno de los casos se llegó a los últimos estadios de deterioro.

En los resultados correspondientes al producto tratado refrigerado a $8 \pm 2^{\circ}\text{C}$ se observa un decline del contenido de bases volátiles, este valor se puede explicar porque en ciertos casos se obtienen valores negativos falsos, es decir que por la presencia de ciertos metabolitos producidos por los microorganismos existentes se puede enmascarar la presencia de bases volátiles. Para determinar si esto es cierto, sería necesario determinar qué tipo de microorganismos se están desarrollando en el producto y qué metabolitos producen.

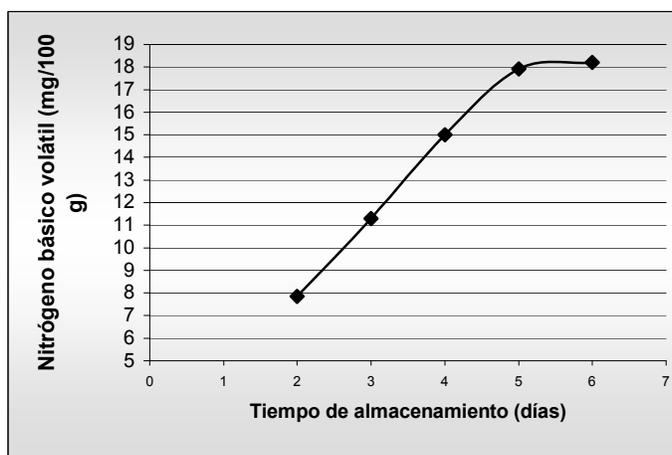
FIGURA 3.18.

**CONTENIDO DE BASES VOLÁTILES DURANTE
ALMACENAMIENTO.**

A: SIN TRATAMIENTO, ALMACENADO A 8°C



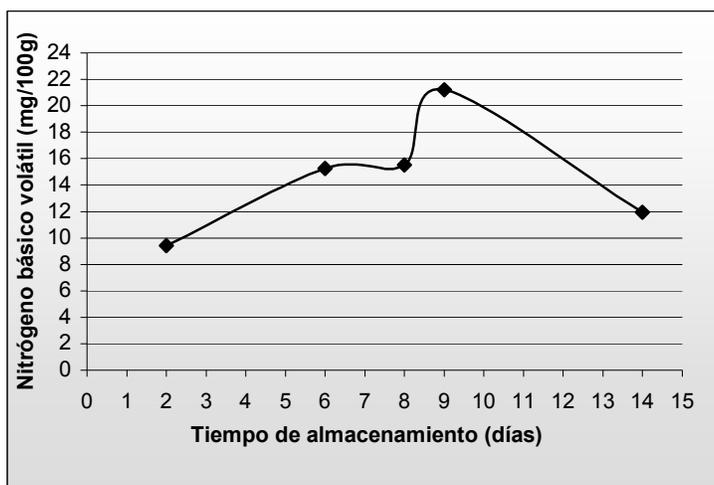
B: CON TRATAMIENTO, ALMACENADO A 25°C



Continuación: FIGURA 3.18.

**CONTENIDO DE BASES VOLÁTILES DURANTE
ALMACENAMIENTO.**

C: CON TRATAMIENTO, ALMACENADO A 8°C.



FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

Determinación del tiempo de vida útil

El tiempo de vida útil se determinó tomando en cuenta los indicadores del deterioro anteriormente analizados.

El estado de deterioro total se alcanza a los 16 días (por análisis sensorial) como se indicó anteriormente, pero el nivel de aceptabilidad, que determina en sí el tiempo de vida útil, se alcanza antes.

Como ya se dijo para determinar el nivel de aceptabilidad se deben acoger parámetros límite establecidos como pueden ser microbiológicos, físicos o químicos (6).

La vida útil del producto sin tratar tiene parámetros establecidos por la ICMSF que establece como límite microbiológico para pescado fresco una población de 10^7 ufc/g de producto (18). Con esto, según al gráfico 3.16 observamos que se alcanza este nivel en el primer día de almacenamiento por el producto sin tratar a $8\pm 2^\circ\text{C}$ (correspondiente a una calificación de 2.5 en la escala de deméritos, figura 3.15) y alrededor de 10 horas para las muestras a 25°C , lo cual pone fin a su vida útil. Por otro lado, el producto tratado refrigerado a $8\pm 2^\circ\text{C}$ tarda 8 días y el almacenado a 25°C lo alcanza a los 2 días.

Sin embargo no se puede concluir que la vida útil del producto tratado refrigerado sea 8 días y del no refrigerado sea 2 días, ya que estos límites corresponden al pescado fresco. No existe un límite establecido por organismos nacionales o internacionales para el producto obtenido en esta tesis. Tampoco se puede comparar con los límites establecidos para otros productos ya que ninguno posee características comparables con el producto obtenido. Por esta

razón se determinó el nivel de rechazo a través del criterio de los jueces entrenados que indicaron el momento en el que el pescado presenta características no aceptables para ser consumido (18), poniéndose fin a la vida útil del producto (6). Dentro de las calificaciones asignadas a cada característica organoléptica estudiada, olor, color y mucosidad, las calificaciones en las que se consideró que el producto llega al nivel de objetabilidad fueron (ver escala de calificaciones para el producto en tabla 10):

Para el color: Calificación 2

Para el olor: Calificación 2

Para presencia de mucosidad: Calificación 2

Por lo tanto el nivel de rechazo es 6.

Observando la figura 3.15 podemos determinar que este nivel de rechazo corresponde a un tiempo de 3 días para el producto procesado almacenado al ambiente (25°C) y de 12 días para el producto procesado almacenado a $8 \pm 2^\circ\text{C}$. A continuación se reúnen los resultados de tiempo vida útil para producto tratado y sin tratar. El rango microbiológico para el producto procesado corresponde al valor obtenido de la figura 3.16 para el producto obtenido, almacenado a temperatura ambiente (límite mínimo =

3.7×10^7 ufc/g) y almacenado a temperatura de $8 \pm 2^\circ\text{C}$ (límite máximo= 1.41×10^8 ufc/g).

TABLA 17

COMPARACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE PRODUCTO SOMETIDO A TECNOLOGÍA DE BARRERAS Y PRODUCTO SIN PROCESAR.

Muestra	Vida útil		Límite microbiológico (Recuento total en placa)
	$8 \pm 2^\circ\text{C}$	25°C	
Sin tratamiento	1 día	10 horas	10^7 ufc / g (18)
Con tratamiento	12 días	3 días	$3.7 \times 10^7 - 1.41 \times 10^8$ ufc / g

FUENTE: ELABORADO POR VERÓNICA GUADALUPE M.

3.4. Descripción del producto obtenido

El producto obtenido se clasifica dentro de los alimentos de alta humedad con un valor de actividad de agua de 0.91 para muestras con espesor variante entre 0.6 y 1.15 cm y 0.94 para muestras con espesor variante entre 1.15 y 1.7 cm con 2 cm de largo y ancho. Según Documento técnico de pesca 334 de la FAO se considera un producto ligeramente preservado (es decir, $\text{NaCl} < 6\%$ (p/p) en la

fase acuosa, pH > 5,0) (18), ya que su contenido de sal es de 4% (respecto a la fase acuosa) y su pH es de 5.45 y un contenido de acidez expresada en ácido acético de 0.34%.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Con los resultados obtenidos se puede concluir que:

1. Muchos factores afectan la deshidratación osmótica. La eliminación de agua no solamente depende de la actividad de agua de la solución osmótica sino también de la captación de solutos, lo cual a su vez depende del porcentaje de participación de cloruro de sodio y sacarosa en la solución (lo cual afecta la difusividad de ambos solutos y el rate de eliminación de agua) y del grosor. Dependiendo de las condiciones en que se realice la deshidratación osmótica se obtendrán diferentes relaciones entre pérdida de agua y ganancia de solutos para los mismos tiempos de proceso. En general las soluciones con menor actividad de agua permiten mayor eliminación de agua y menor ganancia de solutos.

2. El paso de solutos se ve afectado por la salida de agua a través de la membrana. Cuando existe mayor eliminación de agua, la ganancia de solutos es menor y viceversa.
3. La solución osmótica compuesta por 20% de cloruro de sodio y 20% de sacarosa presenta las mejores características para ser usada en deshidratación osmótica de tilapia, ya que permite alta eliminación de agua y baja captación de solutos y, además, el producto mantiene un sabor aceptable.
4. El proceso de deshidratación osmótica permite reducir la actividad de agua de muestras finas (espesor 0.6 – 1.15 cm) a 0.91 y de muestras gruesas (espesor de 1.15 - 1.7 cm) a 0.94 en cinco minutos de proceso, lo cual lo encasilla dentro de los productos de alta humedad, permitiendo que mantenga excelentes características de textura y de sabor.
5. La vida útil de tilapia en trozos de 2 cm de largo y ancho y con espesor variante entre 0.6 y 1.7 cm cuyas características se han modificado por un proceso de tecnología de barreras que permitió una reducción de actividad de agua en el rango 0.91 – 0.94, agregación de 3% de sal y de 0.34% de ácido acético y reducción de pH hasta 5.45, es mayor en un 620% al producto original cuando se almacenan a temperatura ambiente (25°C) y en un 1100% cuando se almacenan a $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

6. El retardo de crecimiento microbiano observado durante el almacenamiento de muestras tratadas con tecnología de barreras se debe al agotamiento metabólico de los microorganismos debido a las condiciones desfavorables que presenta el alimento para su crecimiento.
7. El uso inteligente de tecnología de barreras permite una preservación suave pero eficiente de trozos de tilapia, permitiendo obtener un producto estable, nutritivo y de buen sabor.
8. Los logros obtenidos con aplicación de tecnología de barreras en conservación de tilapia en trozos pueden permitirle al industrial transportar este producto a temperaturas mayores a las que se manufactura y distribuye actualmente el pescado fresco (0-3°C con una durabilidad de 3 días) permitiéndole un ahorro de costos energéticos. El proceso de tecnología de barreras requiere de mínima energía y el transporte puede realizarse a temperaturas mayores.
9. También el comerciante se vería beneficiado por este proceso, ya que le permitiría tener un plazo más largo de tiempo para vender el producto y con requerimientos menores de refrigeración para la permanencia en percha.

Recomendaciones

El trabajo presentado en este documento puede tomarse como un pre estudio de la aplicabilidad de tecnología de barreras en filete entero de tilapia, que es la forma como se lo comercializa actualmente; por lo que se recomienda realizar todos los estudios referentes al respecto: estudio de transferencia de masa durante la deshidratación osmótica del filete entero, relaciones de reducción de actividad de agua y tiempo de inmersión en solución osmótica, agregación de ácido, reducción de pH y otras más que se deseen aplicar. De esta manera sería posible economizar el actual proceso de manufactura, distribución y comercialización de filete de tilapia. Este estudio también puede tomarse como una base para investigaciones en otras especies de pescado e incluso para otros tipos de producto.

Es necesario que el Ecuador realice más investigación en el campo de la conservación y del mejoramiento de procesos de alimentos con el objeto de producir de una manera más económica obteniendo un producto de mejores características. La aplicación de tecnología de barreras ha sido estudiada en algunos países latinoamericanos en vías de desarrollo (Perú, Argentina) en pro de alcanzar estos objetivos.

Para aplicación a escala industrial sería útil realizar un estudio de reutilización de la solución osmótica por un sistema de reconstitución de la misma y que, de esta manera, el proceso de aplicación de tecnología de barreras en tilapia a nivel de planta procesadora sea más viable.

APÉNDICE A
COMPOSICIÓN QUÍMICA APROXIMADA DE LA TILAPIA

	Contenido
Proteínas ¹⁹ (19)	19.6%
Lípidos ¹⁷ (19)	1.29%
Carbohidratos ¹⁹ (26)	<1%
Agua ²⁰	79.89%
Vitaminas (mg/100g) ²¹ (19)	0.08-0.1
B ₁	0.08-0.12
B ₂	5-6
B ₃	
Minerales (mg/100g) ²² (19)	
Sodio	72
Potasio	278
Calcio	79
Magnesio	38
Fósforo	190
Fracción de Nitrógeno no Proteico (mg/100g) ²³ (19)	
Total	1200
Aminoácidos libres	75
Creatina	400
Betaína	0
Óxido de	150-200
Trimetilamina (OTMA) ²⁴	
Anserina	150
Canserina	0
Úrea	0

FUENTES: ACUACULTURA DEL ECUADOR (1)

EL PESCADO FRESCO: SU CALIDAD Y CAMBIOS EN SU CLUIDAD (19)

¹⁹ Para tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).

²⁰ Valor obtenido por experimentación personal para tilapia roja (*Oreochromis sp*). Determinación de humedad AOAC # 24003.

²¹ Rango para especies magras. Tomar como valores de referencia.

²² Valor promedio para varias especies de pescado.

²³ Valores correspondientes al bacalao, pez magro. Tomar como valores de referencia.

²⁴ No es común que peces de agua dulce contengan OTMA. Descubrimiento realizado por Gram et al; 1989. Todavía no comprobado.

APÉNDICE B

IMPORTACIONES ESTADOUNIDENSES DE TILAPIA

ECUATORIANA 1999 – 2001(Kg y Dólares) (8)

		1999	2000	2001*
Filetes	Kg	1,805,993.00	3,252,514.00	1,836,479.00
Frescos	USD	9,291,048.00	21,831,348.00	12,017,414.00
Filetes	Kg	56,179.00	170,448.00	64,660.00
Congelados	USD	272,007.00	849,799.00	295,944.00
Enteros	Kg	149,375.00	24,233.00	52,909.00
congelados	USD	538,637.00	120,703.00	129,676.00
Total	Kg	2,011,547.00	3,447,195.00	1,954,048.00
	USD	10,101,692.00	22,801,850.00	12,443,034.00

* Hasta abril del 2001.

FUENTE: CORPEI – CNI PROJECT. TILAPIA: PERFIL DEL PRODUCTO. SEPTIEMBRE
2001 (8)

APÉNDICE C

NIVELES MÍNIMOS DE ACTIVIDAD DE AGUA QUE PERMITEN CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS

	a_w
Mohos	
<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Aspergillus candidus</i>	0.75
<i>A. flavus</i>	0.78
<i>A. niger</i>	0.77
<i>Chrysosporum fastidium</i>	0.69
<i>C. xerophilum</i>	0.71
<i>Emericella nidulans</i>	0.78
<i>Errotum echinulatum</i>	0.62
<i>Penicillium expansum</i>	0.83
<i>P. viridicatum</i>	0.81
<i>Rhizopus nigricans</i>	0.93
Levaduras	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	0.83
<i>Saccharomyces bailii</i>	0.80
<i>S. cerevisiae</i>	0.90
<i>S. rouxii</i>	0.62
Bacteria	
<i>Bacillus cereus</i>	0.95
<i>B. megaterium</i>	0.95
<i>B. stearothermophilus</i>	0.93
<i>B. subtilis</i>	0.90
<i>Clostridium botulinum</i> tipo A	0.95
<i>C. botulinum</i> tipo B	0.94
<i>C. botulinum</i> tipo E	0.97
<i>C. perfringens</i>	0.95
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.94
<i>Escherichia coli</i>	0.95
<i>Halobacterium halobium</i>	0.75
<i>Lactobacillus viridescens</i>	0.95
<i>L. plantarum</i>	0.94
<i>Microbacterium</i> sp.	0.94
<i>Paracoccus halodenitrificans</i>	0.86

Micrococcus luteus	0.93
Pediococcus cerevisiae	0.94
Pseudomonas fluorescens	0.97
Salmonella sp.	0.95
Staphylococcus aureus	0.86
Vibrio costicolus	0.86
V. parahaemolyticus	0.94

FUENTE: ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS (20)

APÉNDICE D

LÍMITES DE PH QUE PERMITEN EL CRECIMIENTO DE DIVERSOS MICROORGANISMOS

	pH mínimo	pH máximo
Bacterias gram-negativas		
Acetobacter acidophilum	2.8	4.3
Alcaligenes faecalis	6.4	9.7
Escheherichia coli	4.4	9.0
Klebsiella pneumoniae	4.4	9.0
Proteus vulgaris	4.4	9.2
Pseudomona aeruginosa	5.6	8.0
Salmonella paratyphi	4.5	7.8
Salmonella schottmuelleri	4.5	8.0
Salmonella typhi	1.0 – 4.05	8.0-9.6
Thiobacillus thiooxidans	1.0	9.8
Vibrio parahaemolyticus	4.8	11.0
Bacterias gram-positivas		
Bacillus cereus	4.9	9.3
B. subtilis	4.5	8.5
B. stearothermophilus	5.2	9.2
Clostridium botulinum	4.7	8.5
Clostridium sporogenes	5.0	9.0
Enterococcus spp.	4.8	10.6
Bifidobacterium bifidum	3.8	7.2
Lactobacillus spp.	3.8-4.4	7.2
Serratia marcescens	4.0	9.0
Micrococcus sp.	5.6	8.1
Staphylococcus aureus	4.0	9.8
Streptococcus faecium	4.4-4.7	9.2
S. lactis	4.3-4.8	9.2
S. pyogenes	6.35	9.2
Levaduras		
Candida pseudotropicalis	2.3	8.8
Hansenula canadensis	2.15	8.6
Saccharomyces cerevisiae	2.35	8.6
S. fragilis	2.4	9.05
S. microellipsoides	2.2	8.8
S. pastori	2.1	8.8

S. exiguus	1.5	-
Candida krusei	1.5	-
Hanseniaspora melligeri	1.5	-
Rhodotorula mucilaginosa	1.5	-
Mohos		
Aspergillus oryzae	1.6	9.3
Penicillium italicum	1.9	9.3
Penicillium variable	1.6	11.1
Fusarium oxysporum	1.8	11.1
Morasmius foetidus	2	6.8
Phycomyces blakesleeanus	3.0	7.5

FUENTE: ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS (20).

APENDICE E

MÍNIMOS VALORES DE TEMPERATURA PARA EL CRECIMIENTO DE

MICROORGANISMOS SELECTOS

Microorganismo	Crece en anaerobiosis	Temp. mínima para crecimiento (°C)
Patógenos		
Salmonella	Sí	7
Staphylococcus aureus	Sí	6 (10 para toxina)
Bacillus cereus	Sí	< 4
Clostridium botulinum		
Proteolítico A, B, F	Sí	10
No proteolítico B, E, F	Sí	3.3
Listeria monocytogenes	Sí	0
Escherichia coli	Sí	7.0
Vibrio parahaemolyticus	Sí	5
Yersinia enterocolitica	Sí	-2
E. coli 0157	Sí	-6.5
Alterantes		
Pseudomonas	No	<0
Enterobacter aerogenes	Si	2
Bacterias acidolácticas	Si	4
Micrococos	No	4
Levaduras	Sí	-5
Mohos	No	<0

FUENTE: ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS (20).

APÉNDICE F

RESISTENCIA AL CALOR DE BACTERIAS Y ESPOROS BACTERIANOS

Microorganismo	Temperatura (°C)	Valor D (min)
Brucella spp.	65.5	0.1-0.2
Salmonella senftenberg 775 W	65.5	0.8-1.0
Salmonella spp.	65.5	0.02-0.25
Staphylococcus aureus	65.5	0.2-2.0
Levaduras, mohos y bacterias alterantes	65.5	0.5-3.0
Esporos de aerobios mesófilos		
Bacillus cereus	100	5.0
B. subtilis.	100	11.0
B. polimyxa	100	0.1-0.5
Esporos de anaerobios mesófilos		
Clostridium butyricum	100	0.1-0.5
Cl. perfringens	100	0.3-20.0
Cl. botulinum		
Cepas proteolíticas de los tipos A y B.	100	50.0
Tipos B y tipos B y F no Proteolíticos	80	1.0
Esporos de aerobios termófilos		
Bacillus coagulans	120	0.1
B. stearothermophilus	120	4.0-5.0
Esporos de anaerobios termófilos		
Cl. thermosaccharolyticum	120	3-4
Desulfotomaculum nigricans	120	2-3

FUENTE: ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS (20).

APÉNDICE G

PROPORCIÓN DE ÁCIDO NO DISOCIADO A DIFERENTES VALORES DE PH (VALORES EXPRESADOS EN %) (20)

Ácido orgánico	Valores de pH				
	3	4	5	6	7
Acético	98.5	84.5	34.9	5.1	0.54
Cítrico	53.0	18.9	0.41	0.006	<0.001
Benzoico	93.5	59.3	12.8	1.44	0.144
Láctico	86.6	39.2	6.05	0.64	0.064
Metil, etil y propil parabens	>99.99	99.99	99.96	99.66	96.72
Propiónico	98.5	87.6	41.7	6.67	0.71
Sórbico	97.4	82.0	30.0	4.1	0.48

FUENTE: ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS (20).

APÉNDICE H

CONCENTRACIONES DE CLORURO SÓDICO INHIBIDORAS DE LOS MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE TOXIINFECCIONES ALIMENTARIAS (20).

Especie	Número de estirpes estudiadas	Concentración inhibidora de NaCl (%)
Clostridium botulinum tipo A y B (proteolítico)	45	>6.0
Clostridium botulinum tipos A y B	7	<10.5
Clostridium botulinum tipo E y tipo B no proteolítico.	70	<4.5
Clostridium perfringens	18	>4.0-<8.0
Clostridium putrificum	2	4.9-10.5
Clostridium sporogenes	3	8.7-9.5
Staphylococcus aureus	-	16-18
Salmonella sp.	-	8

FUENTE: ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS ALIMENTOS (20).

APÉNDICE I

COMPROBACIÓN DEL ENTRENAMIENTO DE LOS JUECES.

Una vez entrenados los jueces se evaluó el desempeño de los mismos a través de análisis de varianza de los resultados, con prueba F.

Se le presentó a cada juez tres muestras del mismo nivel de calidad (mismo tiempo de almacenamiento) para determinar si existía diferencia significativa entre las puntuaciones de deméritos asignadas por ellos. En el caso de haber encontrado diferencia significativa entre los resultados de las tres muestras, la persona no calificaba para participar como juez de calidad del producto estudiado.

Procedimiento de Análisis de Varianza para Experimentos de Evaluación Sensorial con una Variable y Repeticiones.

m = número de columnas.

n = número de filas.

GL_c = Grados de libertad de columnas = m - 1

GL_f = Grados de libertad de filas = n - 1

GL_t = Grados de libertad totales = (n)(m) - 1

GL_r = Grados de libertad del residual = $GL_t - GL_c - GL_f$

FC = Factor de correlación = $TT^2 / (n \cdot m)$

$TT = \sum X_{cf}$

SC_c = suma de cuadrados de las columnas

$$= \{ [(T_{c1})^2 + (T_{c2})^2 + \dots + (T_{cm})^2] / n \} - FC$$

donde, T_{cj} son los totales de cada columna, j = 1, 2, 3, ..., m

SC_f = suma de cuadrados de las filas

$$= \{ [(T_{f1})^2 + (T_{f2})^2 + \dots + (T_{fn})^2] / m \} - FC$$

donde, T_{fi} son los totales de cada fila, i = 1, 2, 3, ..., n

SC_t = suma de cuadrados totales.

$$= [(X_{11})^2 + (X_{12})^2 + \dots + (X_{mn})^2] - FC$$

donde, T_{cj} son los totales de cada columna, j = 1, 2, 3, ..., m

SC_r = suma de cuadrados de residual = $SC_t - SC_c - SC_f$

Después se calcula la varianza, la cual se obtiene dividiendo la suma de cuadrados entre los grados de libertad correspondientes:

V_c = Varianza debida a las columnas = SC_c / GL_c

V_f = Varianza debida a las filas = SC_f / GL_f

$$V_r = \text{Varianza de residual} = SC_r / GL_r$$

Finalmente el valor de F calculadas (F):

$$F_v = V_v / V_r$$

$$F_f = V_f / V_f$$

Y se compara con la F de la tabla (F_t) (apéndice J), correspondiente a un nivel de significancia de 5%, con los grados de libertad de la fuente de variación bajo consideración (en este caso las calificaciones de las tres muestras de cada juez, GL_f) como grados de libertad del numerador, y GL_r como grados de libertad del denominador. Si $F_f < F_t$, entonces no hay diferencia significativa entre los resultados de un juez, por lo cual se considera que está bien entrenado.

JUEZ A

Muestra	Color	Olor	Mucosidad	Sumatoria
1	2	2	3	7
2	2	2	3	7
3	2	2	2	6
Sumatoria	6	6	8	20

GLV=	m - 1	m=	3
		m-1=	2
GLJ=	n - 1	n=	3
		n-1=	2
GLT=	(n)(m)-1	8	
GLR=	4		
TT=	20		
TT2=	400		
FC=	44,44		
SCV=	0,89	Vv=	0,44444444
SCJ=	0,22	Vj=	0,11111111
SCT=	1,56		
SCR=	0,44	Vr=	0,11111111
Fj=	1		
F tabla=	6,94		

Conclusión= El juez está bien entrenado

JUEZ B

Muestra	Color	Olor	Mucosidad	Sumatoria
1	2	2	2	6
2	1	2	2	5
3	2	2	1	5
Sumatoria	5	6	5	16

GLV=	$m - 1$	$m =$	3
		$m-1 =$	2
GLJ=	$n - 1$	$n =$	3
		$n-1 =$	2
GLT=	$(n)(m)-1$	8	
GLR=	4		
TT=	16		
TT2=	256		
FC=	28,44		
SCV=	0,22	Vv=	0,11111111
SCJ=	0,22	Vj=	0,11111111
SCT=	1,56		
SCR=	1,11	Vr=	0,27777778

Fj= 0,4

F tabla= 6,94

Conclusión= El juez está bien entrenado.

JUEZ C

Muestra	Color	Olor	Mucosidad	Sumatoria
1	2	2	3	7
2	2	2	3	7
3	2	2	3	7
Sumatoria	6	6	9	21

GLV=	$m - 1$	$m =$	3
		$m-1 =$	2
GLJ=	$n - 1$	$n =$	3
		$n-1 =$	2
GLT=	$(n)(m)-1$	8	
GLR=	4		
TT=	21		
TT2=	441		
FC=	49,00		
SCV=	2,00	Vv=	1
SCJ=	0,00	Vj=	0

SCT= 2,00
 SCR= 0,00 Vr= 0

Fj= 0
 F tabla= 6,94

Conclusión= El juez está bien entrenado

JUEZ D

Muestra	Color	Olor	Mucosidad	Sumatoria
1	2	2	3	7
2	2	2	2	6
3	3	2	3	8
Sumatoria	7	6	8	21

GLV= $m - 1$ m= 3
 m-1= 2
 GLJ= $n - 1$ n= 3
 n-1= 2
 GLT= $(n)(m)-1$ 8
 GLR= 4
 TT= 21
 TT2= 441
 FC= 49,00
 SCV= 0,67 Vv= 0,33333333
 SCJ= 0,67 Vj= 0,33333333
 SCT= 2,00
 SCR= 0,67 Vr= 0,16666667

Fj= 2
 F tabla= 6,94
 Conclusión= El juez está bien entrenado

JUEZ E

Muestra	Color	Olor	Mucosidad	Sumatoria
1	2	2	3	7
2	2	3	2	7
3	1	2	3	6
Sumatoria	5	7	8	20

GLV= $m - 1$ m= 3
 m-1= 2
 GLJ= $n - 1$ n= 3
 n-1= 2
 GLT= $(n)(m)-1$ 8

GLR= 4
 TT= 20
 TT2= 400
 FC= 44,44
 SCV= 1,56 Vv= 0,77777778
 SCJ= 0,22 Vj= 0,11111111
 SCT= 3,56
 SCR= 1,78 Vr= 0,44444444
 Fj= 0,25
 F tabla= 6,94
 Conclusión= El juez está bien entrenado

TODO EL GRUPO

JUEZ	Color	Olor	Mucosidad	Sumatoria
A	2,0	2,0	2,7	6,7
B	1,7	2,0	1,7	5,3
C	2,0	2,0	3,0	7,0
D	2,3	2,0	2,7	7,0
E	1,7	2,3	2,7	6,7
Sumatoria	9,7	10,3	12,7	32,7

GLV= $m - 1$ m= 3
 m-1= 2
 GLJ= $n - 1$ n= 5
 n-1= 4
 GLT= $(n)(m)-1$ 14
 GLR= 8
 TT= 32,7
 TT2= 1067,11111
 FC= 71,14
 SCV= 0,99 Vv= 0,4962963
 SCJ= 0,64 Vj= 0,15925926
 SCT= 2,41
 SCR= 0,79 Vr= 0,09814815
 Fj= 1,62264151
 F tabla= 6,04

Por lo tanto, no hay diferencia significativa entre los resultados de los 5 jueces.

APÉNDICE J
TABLAS DE DISTRIBUCIÓN F

n_1 = grados de libertad para el numerador
 n_2 = grados de libertad para el denominador

Tabla 1. Valores de F para un nivel de significancia del 5%

n_1	1	2	3	4	5	6	8	12	24	∞
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234	238,9	243,9	249	255
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,37	19,41	19,45	19,5
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,84	8,74	8,64	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,04	5,91	5,77	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,82	4,68	4,53	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,15	4,00	3,84	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,73	3,57	3,41	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,41	3,28	3,12	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,23	3,07	2,90	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,07	2,91	2,74	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	2,95	2,79	2,61	2,40
12	4,75	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,85	2,69	2,50	2,30
13	4,67	3,80	3,41	3,18	3,02	2,92	2,77	2,60	2,42	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,70	2,53	2,35	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,64	2,48	2,29	2,07

FUENTE: ANZALDÚA – MORALES (3).

APÉNDICE K

CÁLCULO DEL VALOR DE ACTIVIDAD DE AGUA DE PRODUCTO SIN PROCESAR Y PROCESADO

1. PRODUCTO FRESCO

Ecuación de Grover:

$$Aw \times 100 = 104 - 10E^\circ + 0.45(E^\circ)^2$$

Componentes	gramos	(g agua/g sólido)		Ei	Ei/mi
		Mi	*		
Agua	80,00	*	*		
Proteína	19,00	3,63		1,30	35797101
Grasa	1,00	69,00		0	0
					E°=0,35797101
					E°²=0,12814325
					Aw= 1,00477954

El máximo valor para actividad de agua es 1 para el agua, por lo que esta ecuación tiene cierto margen de error. En la literatura el valor de Aw para pescado en general es ≥ 0.98 .

2. PRODUCTO DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE DESHIDRATACIÓN

OSMÓTICA EN SOLUCIÓN 20% DE NaCl Y 20% SACAROSA

Muestras Finas:

2.1 Balance de Materia

	Inicio		Final	
	%	gramos	%	gramos
peso total	100	3,49	100	3,4
Agua	80	2,792	69	2,346
proteína	19	0,6631	19,50	0,6631
Grasa	1	0,0349	1,03	0,0349
Sal	0	0	3,13	0,10642
Azúcar	0	0	7,34	0,24958

2.2 Ecuación de Grover:

$$A_w \times 100 = 104 - 10E^\circ + 0.45(E^\circ)^2$$

Componentes	gramos	mi (g agua /g sólido)	Ei	Ei/mi
agua	69,00	*	*	
proteína	19,50	3,54	1,3	0,36744672
grasa	1,03	67,22	0	0
sal	3,13	22,04	9	0,40826087
azúcar	7,34	9,40	1	0,10638534
			E=	0,88209292
			E^2=	0,77808793
			A _w =	0,9552921

2.3 Ecuación de Ross

$$a_f = a_i \times a_{sal} \times a_{azúcar}$$

a_i = actividad de agua del producto antes de añadirle solutos (obtenido por ecuación de Grover):

Componentes	gramos	Mi (g agua/g sólido)	Ei	Ei/mi
agua	69	*	*	
proteína	29,45	2,34	1,3	0,5548
grasa	1,55	44,51	0	0
			E°=	0,5548
			E°²=	0,3078
			a _i =	0,9858

m sal= 69 g H₂O / 3,13 g sal
m sal = 2204,47284 g H₂O / 100 g sal

viendo en la isoterma de la sal, a_{sal}= 0,95

m azúcar=69 g H₂O / 7,34 g azúcar
m azúcar= 940,054496 g H₂O / 100 g azúcar
viendo en la isoterma de la azúcar, a_{azúcar}= 0,975

Ecuación de Ross: a_r= 0,9859 * 0,95*0,975
0,91318977 finas

Las isotermas para solutos se encuentra en el apéndice L.

Muestras Gruesas:

2.1 Balance de Materia

	Inicio		Final	
	%	Gramos	%	gramos
Peso total	100	5,59	100	5,53
agua	80	4,472	72,15	3,98963746
proteína	19	1,0621	19,2061483	1,0621
grasa	1	0,0559	1,01084991	0,0559
sal	0	0	3	0,1659
azúcar	0	0	4,63765887	0,25646254

2.2 Ecuación de Grover:

$$A_w \times 100 = 104 - 10E^\circ + 0.45(E^\circ)^2$$

Componentes	gramos	mi (g agua /g sólido)	Ei	Ei/mi
agua	69	*	*	
proteína	19,2061483	3,59259957	1,3	0,3618
grasa	1,01084991	68,2593918	0	0
sal	3	23	9	0,3913
azúcar	4,63765887	14,8781965	1	0,0672
			E°=	0,8203
			E°²=	0,6730
			A _w =	0,9609

2.3 Ecuación de Ross

Componentes	gramos	mi (g agua/g sólido)	Ei	Ei/mi
agua	72	*	*	
proteína	26,6	2,70676692	1,3	0,48027778
grasa	1,39	51,7985612	0	0
			E°=	0,48027778
			E°²=	0,23066674
			a _i =	0,99301022

m sal= 72 g H₂O / 3 g sal

m sal = 2400g H₂O / 100 g sal

viendo en la isoterma de la sal, a_{sal}= 0,97

m azúcar=72 g H₂O / 4,47 g azúcar

m azúcar= 1610,73826g H₂O / 100 g azúcar

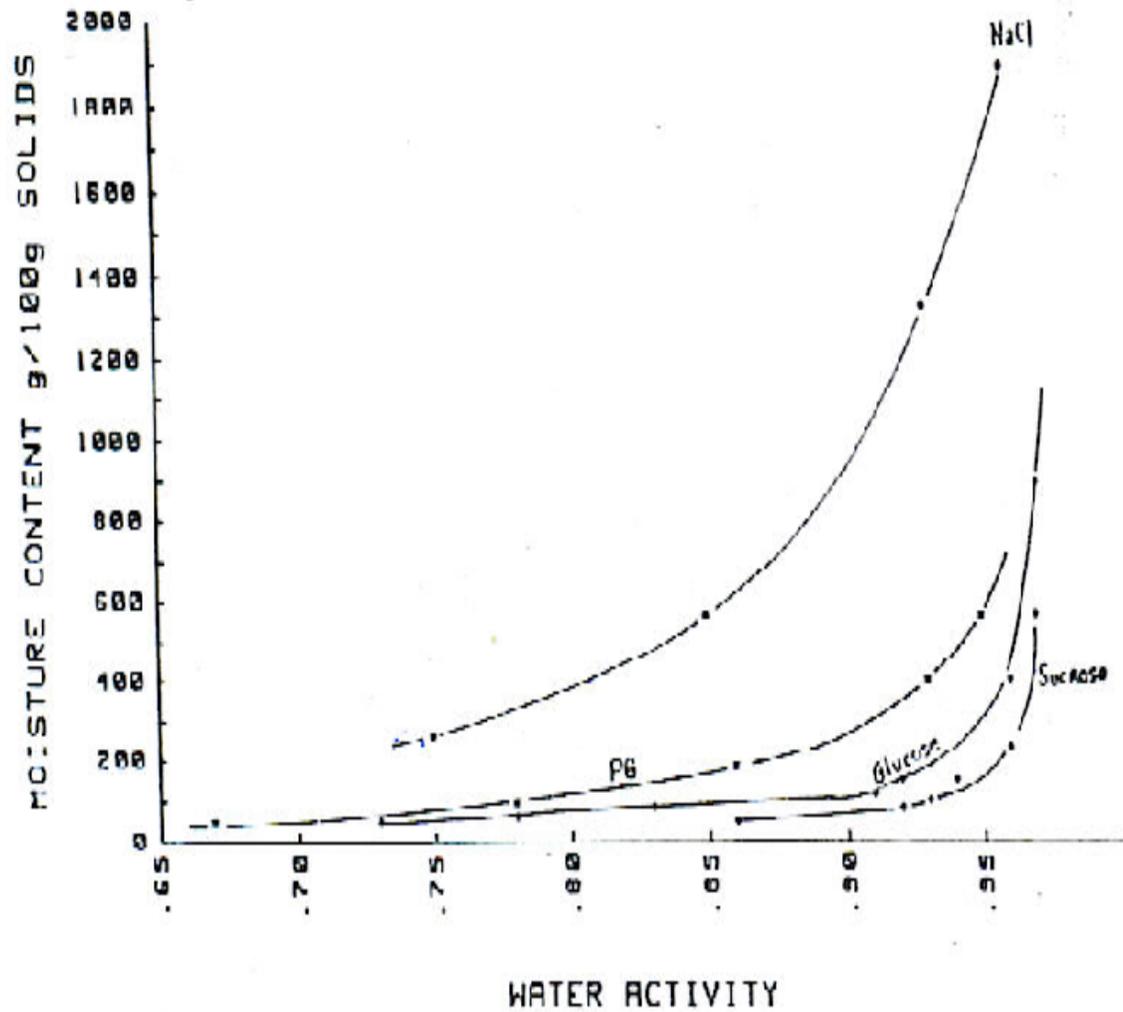
viendo en la isoterma de la azúcar, a_{azúcar}= 0,975

Ecuación de Ross: a_f= 0,99 * 0,97 * 0,975

0,93913942

APÉNDICE L

ISOTERMAS DE HUMEDAD DE VARIOS SOLUTOS



FUENTE: MOISTURE SORPTION: PRACTICAL ASPECTS OF ISOTHERM MEASUREMENT AND USE (25).

BIBLIOGRAFÍA

1. ACUACULTURA DEL ECUADOR. Estudio del Mercado de USA para Tilapia. Enero-Febrero 2000.
2. ALZAMORA, S.; CERRUTTI, P.; GUERRERO, S.; LOPEZ-MALO, A.; Minimally processed fruits by Combined Methods. Pags 463-483.
3. ANZALDÚA- MORALES, La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España, 1994.
4. BARAT, CHIRALT, FITO; Equilibrium in cellular food osmotic solution systems as related to Structure. Journal of Food Science, Volumen 63, pag 836-840, 1998.
5. BARBOSA-CÁNOVAS Y VEGA-MERCADO, Deshidratación de Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza – España, 2000.
6. BARREIRO JOSÉ, Tercer taller Iberoamericano sobre envases y embalajes para alimentos. Vida útil de alimentos envasados. Valencia-España, 16 – 18 de Octubre 1995.

7. CONNELL,J, Control de la calidad del pescado. Editorial Acribia, Zaragoza – España, 1978.
8. CORPEI-CBI PROJECT, Tilapia: Perfil del Producto. Septiembre 2001.
9. Conservación de Pescado y Barcos.
<http://www.atexport.com/pagesp/info/pescado.htm>
10. CHIRALT, A.; SERRANO, C.; et al. Prácticas de Físico-Química de alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos; Universidad Politécnica de Valencia, 1999.
11. DONSI, G., FERRARI, G., Y MATTEO, P, Utilization of combined processes in freeze-drying of Shrimps. Trans IchemE, Volumen 79, Parte C, Pags 152 – 159. Universidad de Salerno, Departamento de química e ingeniería en alimentos, Fisciano, Italia, 2001.
12. DESROSIER, NORMAN; Conservación de Alimentos. Editorial Continental. México, 2000.

13. FITO, P., CHIRALT, A, An Update on Vacuum Osmotic Dehydration, pags 351 – 373. Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología en Alimentos. Valencia, España.
14. GOULD, G.W. Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures, Londres: Elsevier Applied Science, 1989.
15. GRUDA, Z; POSTOLSKI, J; Tecnología de la Congelación de los Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza – España, 1998.
16. GUILBERT, S.; GONTARD, N; RAOULT-WACK; Superficial Edible Films and Osmotic Dehydration: Application of Hurdle Technology without Affecting the Food Integrity, pags 305 – 319. Francia.
17. HUET, MARCEL. Tratado de Piscicultura. Tercera edición. Editorial Mundiprensa. Madrid – España, 1983
18. HUSS, H., Aseguramiento de la Calidad de los Productos Pesqueros. FAO Documento Técnico de Pesca N° 334. Roma, FAO. 1997.
19. HUSS, H., El pescado fresco: Su calidad y cambios en su calidad. FAO Documento Técnico de Pesca N° 348. Roma, FAO. 1998.
<http://www.fao.org/DOCREP/V7180S/v7180s/v7180s00.htm#Contents>

20. ICMSF, Ecología Microbiana de los Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza – España, 1980.
21. IGOE, ROBERT, Dictionary of Food Ingredients.
22. JONSDOTTIR, S. Quality Issues in the Fish Industry.- Quality index method and TQM system. Editores: R. Olafsson y A.H. Ingthorsson. Oficina de Investigación, Universidad del Iceland.
23. KILCAST, DAVID; SUBRAMANIAM, PERSIS. The Stability and Shelf-Life of Food. Woodhead Publishing Limited, Cambridge-England, 2000.
24. KRAMER, A.; TWIGG, B.; Quality Control for the Food Industry, Volumen 1. The AVI Publishing Company, Inc. Conecticut, 1980.
25. LABUSA, THEODORE, Moisture Sorption: Practical aspects of isotherm measurement and use. American Association of Cereal Chemists. Minnesota, 1984.

26. LARRAÑAGA, I.; CARBALLO, J.; Control e Higiene de los Alimentos. Editorial Mc. Graw Hill. España, 1998.
27. LEINSTER, L.; GOULD, G.; Hurdle Technologies. Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality. Kluwer Academic/Plenum Publisher. New York – USA, 2002.
28. LERICI, C.R.; PINNAVALA, G.; DALLA, M.; BARTOLUCCI, L.; Osmotic Dehydration of Fruits: Influence of Osmotic Agents on Drying Behavior and Product Quality. Journal of food science, Volumen 50, pags 1217 – 1219, 1985.
29. LOMBARD, G.; WEINERT, A.; MINNAAR, A.; TAYLOR, J.; Preservation of South African Steamed Bread Using Hurdle Technology, Pags 112 – 118. Pretoria – Suráfrica, 1999.
30. MEDINA, VIVANCO, SOBRAL, HUBINGER, Osmotic dehydration of tilapia fillets in limited volume of ternary solutions. Chemical Engineering Journal, Volumen 86, pags 199 – 205, 2002.

31. MULTON, J.; LEPATRE, F, Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias. Editorial Acribia. Zaragoza – España, 1988.

32. Obtención de fruta deshidratada.
<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/71180/teoria/obfrudes/p1.htm>.

33. SHARMA, MULVANY, RIZVI; Ingeniería de Alimentos. Operaciones Unitarias y prácticas de laboratorio. Editorial Limusa Wiley.

34. TELSIS, MURARI, YAMASHITA; Diffusion coefficients during osmotic dehydration of tomatoes in ternary solutions. Chemical Engineering Journal of Food Science, volumen 86, pags 199 – 205, 2004.

Recomendaciones para tesis.

1. Desarrollar un diseño experimental con programa computarizado (Minitab) para el estudio de estabilidad de carne de tilapia tratada con tecnología de barreras, teniendo como variable de respuesta los días de vida útil y como factores A_w , pH y temperatura, cada uno a varios niveles.
2. Identificar organismos específicos del deterioro en carne de tilapia tratada con tecnología de barreras. Determinar qué metabolitos

producen para poder establecer la influencia de estos en el decline producido en bases volátiles.

3. Estudiar la supervivencia de microorganismos patógenos en las condiciones adversas en que se encuentra un producto sometido a tecnología de barreras. Estudiar a partir de la tilapia formulada en esta tesis. Se recomienda inoculación de Bacillus, Staphylococcus, E.coli, etc.
4. Realizar un estudio de costos de proceso y de transporte y distribución comparativamente con el proceso de comercialización actual para demostrar viabilidad de la aplicación de tecnología de barreras en conservación de tilapia.