

El glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus thynnus*) congelado y almacenado a -10°C

Sarahi Mena, Leonardo Rodríguez y Marinela Barrero

Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

RESUMEN. Numerosos estudios han sido enfocados a los ingredientes naturales para mantener la calidad y la vida útil de los alimentos. Los ingredientes biodegradables, tales como hidrocoloides y proteínas pueden ser utilizados para cubrir filetes de pescado con el objetivo de suprimir los cambios de calidad durante el almacenamiento en congelación. En la actualidad se han venido desarrollando empaques comestibles, como el glaseado con hidrocoloides, (gelatina, carragenina), que además de cumplir sus funciones como película protectora del alimento, son económicos, pueden ser ingeridos por el consumidor sin riesgo de toxicidad, ayudan a preservar las características organolépticas del producto, proporcionar características nutricionales y, por ser biodegradables contribuyen a la conservación del ambiente. El objetivo del presente estudio fue evaluar la incorporación de hidrocoloides al glaseado de lomos de atún como una alternativa de empaque. Cortes de atún fueron glaseados incorporándole soluciones de carragenina 0,05, y 0,15%, y gelatina al 0,5, 1%. Los cortes fueron de 15 cm³, congelados a -30°C y glaseados con los tratamientos mencionados sumergiéndose la muestra de atún en las soluciones a 0 °C por 30 segundos y luego almacenados a -10°C por 0, 15 y 30 días. Los resultados del análisis proximal, las proteínas solubles, rancidez oxidativa, y color mostraron que todas las muestras glaseadas con hidrocoloides mantienen sus características y protege al lomo de atún ante la pérdida de humedad y retrasa la degradación de las proteínas. De igual manera la carragenina mostró un mejor desempeño como empaque a concentraciones de 0,05% en comparación con la gelatina.

Palabras clave: Atún, empaques comestibles, proteínas, *Thunnus thynnus*, hidrocoloides.

INTRODUCCION

El empaque de los alimentos es uno de los principales factores para prevenir su deterioro además de facilitar su distribución y mercadeo. La industria de alimentos involucra gran variedad de materiales de empaque los cuales crean un

SUMMARY. Tuna (*Thunnus thynnus*) glazed with hydrocolloids as alternative of edible coatings and stored at -10°C. Numerous studies have been focused to natural ingredients to maintain the quality and shelf life of foods. Edibles coating, biodegradable ingredients, such as hydrocolloids and proteins can be used for coating fish with the purpose to suppress changes of quality during frozen storage. At the present time several developing of edibles packing, like glaze using hydrocolloids, (gelatin, carrageen, starch), that besides acts as protective film for food, they are economic, can be ingested by the consumer without toxicity risk, help to preserve organoleptics and nutritional characteristics of the product and, being biodegradable they contribute to the conservation of the atmosphere. The objective of the present study was to evaluate the incorporation of hydrocolloids in the glazing tuna process as alternative of packing, to enhance its physical and chemical characteristics. Samples of tuna was glazed incorporating to its solutions of carrageen at 0.05, 0,1 and 0.15%, and gelatin at 0.5, 1%. The samples were shaped as square (15 cm³), frozen al -30°C and glazed incorporating hydrocolloids submerging the sample its solutions at 0 °C by 30 seconds and storage at -10°C by 0, 15 and 30 days. Proximal analysis results, soluble proteins, TBA, and color showed that all the samples glazed with hydrocolloids decrease deterioration of the tuna products respect to samples glazed without hydrocolloids; concluding that glazing adding hydrocolloids protects tuna for loss humidity and delays degradation of proteins. Moreover, carrageen shows to a better performance at the concentrations of 0.05% compared with the gelatin and the starch.

Key words: *Thunnus thynnus*, proteins, edible coating, tuna, hydrocolloids.

problema en cuanto a volúmenes de desperdicios de desechos sólidos y por tanto problemas ambientales. El desarrollo de películas comestibles y/o biodegradables podría ser una alternativa para el reemplazo parcial de las películas poliméricas sintéticas ofreciendo un beneficio para el procesador y consumidor (1). Varios polímeros biodegradables, naturales tales como proteínas, y películas comestibles provenientes de polisacáridos podrían servir como potenciales materiales de empaque que contribuyan con la preservación del ambiente. Las películas comestibles poseen propiedades funcionales y de barrera a solutos y gases que ayudan a prolongar la vida útil de los alimentos. En la

Estudio enmarcado dentro del Proyecto de investigación titulado "El empaque del lomo de atún aleta azul (*Thunnus thynnus*) como alternativa para aumentar el tiempo de vida en el almacenamiento congelado" CDCH PG-03-6503-2006.

actualidad, se han venido desarrollando empaques alternativos; muestra de ellos, es el uso de empaques comestibles incorporando hidrocoloides, como la gelatina, la carragenina y el almidón, siendo utilizados en frutas, vegetales y carnes. Estos, además de cumplir sus funciones como película protectora del alimento, son más económicos, pueden ser ingeridos por el consumidor sin riesgo de toxicidad para el organismo y proporcionan un aporte nutricional, ya que son fuente de proteínas y carbohidratos. Además, por ser biodegradables, contribuyen a la conservación del ambiente, ayudan a preservar el olor y el sabor de los alimentos y proporcionan un aspecto más atractivo para el consumidor. A nivel mundial, es poco utilizada la tecnología de empaques comestibles, tampoco se conoce que poseen características beneficiosas, tanto por su capacidad de conservar los alimentos, como por los procesos de su obtención; de igual manera, se desconocen a nivel comercial los diferentes tipos que existen y sus características (2 y 3). Las principales propiedades de los hidrocoloides son su capacidad para producir soluciones altamente viscosas a bajas concentraciones por lo que se reducen los costos de producción; además, sus propiedades los hacen convenientes en una amplia variedad de aplicaciones en la industria de alimentos, ya que son de fácil disponibilidad y no son tóxicos. Los hidrocoloides no constituyen un producto entero y acabado, ya que a menudo son utilizados como aditivos para controlar, incrementar o modificar las propiedades de un sistema alimenticio (1,4,5).

El Atún (*Thunnus sp*) representa una especie de gran importancia comercial a nivel mundial, siendo consumido fresco en productos como el sushi y el ceviche, o procesado en productos como el surimi y en conservas. Por ser el pescado un alimento con gran aporte proteico, y a la vez, muy perecedero, el procedimiento más comúnmente utilizado para su conservación fresco es la congelación, como medida preventiva del deterioro de origen microbiano y descomposición química, lo cual conlleva a la pérdida de humedad, la rancidez de lípidos y a la desnaturalización de proteínas. Otro método alternativo empleado en los procesos de conservación es el uso de empaques, los cuales deben garantizar la estabilidad y prolongar la vida útil del producto que contiene, actuando como barrera protectora de microorganismos, gases, agentes químicos y mecánicos (6-8). En el Atún, las proteínas miofibrilares se desnaturalizan entre 20% y un 30 % incluso estando frescos, lo que representa un descenso de la extractabilidad y una menor solubilidad de la proteína miofibrilar, la cual varía en función de la temperatura y el pH del músculo. Durante la congelación las propiedades del músculo, tales como la capacidad de emulsión, la capacidad de unión a lípidos, la capacidad de retención de agua y la capacidad de gelificación disminuyen, siendo mucho menores que en el pescado fresco. La causa principal de estos cambios de calidad del músculo puede encontrarse en la

desnaturalización de las proteínas, especialmente las miofibrilares. Los pescados grasos son más estables que los magros durante la conservación en congelación, dependiendo de la estación del año y las condiciones biológicas, tales como su composición química y sexual en el pescado (9-11). El almacenamiento inapropiado durante la congelación resulta en una desnaturalización de las proteínas, como la actina y la miosina, lo que se evidencia en cambios en la textura y el sabor (12-14). El proceso de congelación puede ser por inmersión o glaseado, el cual se conoce como la aplicación de una capa de hielo sobre la superficie de un producto congelado, por rocío o por inmersión en agua potable con o sin aditivos permitidos. Esta técnica es ampliamente aplicada para proteger el producto de la deshidratación y reducir la oxidación, y es una de las más utilizadas, a nivel mundial en la preservación de productos pesqueros. El glaseado constituye una barrera protectora que impide que el producto sufra las consecuencias de cualquier cambio de temperatura y humedad, a las cuales puede verse sometido durante la comercialización (15, 16). La duración del glaseado en el pescado dependerá, de la temperatura del pescado, el tamaño y la forma del producto, y de la frecuencia o veces de inmersión, así como el agua de glaseado y los agentes químicos como los hidrocoloides, los cuales son útiles para reducir la fragilidad o la tasa de evaporación del glaseado. (17). Los empaques en alimentos son uno de los factores principales para prevenir el deterioro de su calidad y facilitar la distribución. Los empaques o cambios en los materiales de empaque reducirán los efectos de estos sobre el ambiente (Han, 2005 citado por 18). El objetivo del presente estudio fue evaluar el glaseado incorporando hidrocoloides; carragenina, y gelatina como una alternativa de empaque en el lomo de Atún (*Thunnus sp*) congelado y almacenado a bajas temperaturas.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó la especie atún (*Thunnus sp*), el cual fue obtenido fresco en el Mercado Mayorista de Quinta Crespo, Caracas, durante los meses de marzo y septiembre. El mismo se trasladó en cavas con hielo hasta el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Central de Venezuela, en donde, los lomos adquiridos, fueron cortado en trozos de 15 cm³ congelados a -30°C en un congelador de placas marca Dole, modelo Freze-Cel. Luego los trozos fueron glaseados con los diferentes hidrocoloides. Las soluciones de glaseados con hidrocoloides fueron las siguientes: Carragenina, marca CP Kelco, type MB-151 F, soluciones de 0,05 y 0,15%; Gelatina comercial sin ningún sabor o aditivo, adquirido en un supermercado, al 0,5 y 1%. Las soluciones se elaboraron en caliente y luego de disueltas se enfriaron hasta a 0°C en un congelador de placas marca Dole, modelo Freeze-Cel. Las muestras de atún previamente congeladas se colocaron en la

solución de glaseado por 30 segundos. Luego fueron colocadas en bolsas con cierre hermético y almacenadas a -10°C durante 0, 15 y 30 días.

Métodos de análisis químico

Humedad: Por pérdida de peso en exposición en la estufa a $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ según el método 967.03 AOAC (19).

Proteínas Solubles: Las proteínas solubles en solución salina se determinaron según la metodología señalada por Barrero y col. (20) y Montecchia y col. (21). Se homogeneizaron 8 g de músculo, por 1 minuto, en 160 ml de solución fría de Buffer 0,6 moles/L KCl y 0,003 moles/L NaHCO_3 , pH 7; se centrifugaron en frío a 5000 r.p.m durante 20 minutos, se extrajo el sobrenadante el cual contiene las proteínas solubles en solución salina. Este sobrenadante se utilizó en la determinación del contenido de proteínas totales por el método Mícrokjendahl (proteína total extraíble en solución salina) 955.04, 988, AOAC (10).

Líquido exprimible

Se colocó 10 g de muestra homogeneizada en un tubo de centrifuga de 25 mL y luego fue centrifugada a 5.000 rpm por 20 min., manteniendo la temperatura a 2°C , en un equipo "Sorvall", modelo RC2-B con un rotor SS-34 (Sorvall, Wilmington, DE). El volumen de líquido sobrenadante contenido en el tubo de centrifuga se midió en un cilindro graduado de 10 mL. El resultado se expresó como mL/100g.

Color: Fue medido mediante el uso de un Colorímetro marca Hunter Lab modelo Color Flex[®] CX1819 según CieLAB, con iluminantes de 10° y observador D65. Se midió en términos de L^* (luminosidad), a^* (rojo o verde), y b^* (amarillo o azul). Los valores de L^* varían desde 0 (negro) hasta 100 (blanco), si la diferencia en el valor de L^* entre la muestra fresca y la tratada es positiva, la muestra tratada es más clara que la fresca, y si es negativa indica que es más oscura. Si la diferencia en el valor de a^* entre la muestra fresca y la tratada es positiva, la muestra tratada es más roja (menos verde) que la fresca, y si es negativa indica que es menos roja. Si la diferencia en el valor de b^* entre la muestra fresca y la tratada es positiva, la muestra tratada es más amarilla (menos azul) que la fresca, y si es negativa indica que es menos amarilla.

Electroforesis: Se realizó mediante el método SDS-Page: electroforesis de gel de dodecilsulfato-poliacrilamida de sodio (SDS-Page) el cual fue llevada a cabo de acuerdo con Hashimoto y col. (22). La extracción de proteína se realizó de acuerdo al procedimiento citado por Ashie y col. (23): 0,01 g de músculo fueron homogeneizados con solución

amortiguadora de pH y la proteína extraída fue ajustada siguiendo el método de Bradford, adaptándolo a la electroforesis en poliácridamida 12 %. Las corridas electroforéticas se realizaron con un equipo Mini-Protean 3 marca Bio-Rad. Las condiciones electroforéticas fueron 160 voltios por 45 minutos. Las bandas de proteínas en los geles de poliácridamida, para la corrida electroforética en las muestras de atún glaseado a los 0,15 y 30 días, fueron teñidas con Coomassie brilliant blue, y desteñidas durante 24 horas con solución de ácido acético 10%, metanol 10% y agua 80%. Las bandas de las proteínas obtenidas fueron digitalizadas en un equipo Bio-Rad Multi-Analyst y analizadas con el programa Bio-Rad Multi Analyst versión 1.1. Las masas moleculares, y la densidad óptica, de las bandas obtenidas en cada uno de los geles, fueron estimadas por comparación de su movilidad con la del estándar 161-0317 SDS-PAGE Broad Range, bajo el método Doc 2000 Bio-Rad.

Rancidez oxidativa: Se determinó por el método del Ácido Tiobarbitúrico (TBA) según metodología señalada por Tarladgis y col. (24). Se homogenizaron 10 g de muestra con 50 ml de agua, durante 3 minutos a 10.000 rpm. Se transfirió a un matraz de destilación con 47 ml de agua y se añadió 5 ml de solución EDTA+ PG 25% más 2,5 ml de HCl (1:2), 1 ml de antiespumante y perlas de ebullición. El destilado recolectado se llevó a 100 ml en un balón aforado. Luego se tomó una alícuota de 5 ml y se colocó en un tubo de ensayo con tapa y luego se agregó 5 ml de solución 2-TBA (0,02 M de TBA en ácido acético 90%). Se preparó blanco con 5 ml de solución 2-TBA. Se calienta por 35 minutos en baño maría. Una vez enfriados los tubos durante 10 minutos, se midió la absorbancia contra el blanco a 538 nm. La concentración se obtiene de una curva de calibración de malonaldehído.

Análisis estadístico: Las determinaciones se realizaron por triplicado, en el músculo del pescado. Los resultados obtenidos fueron tabulados en Excel y analizados con el programa Statgraphics 5.1 mediante una prueba de ANOVA de una vía, con un nivel de significancia de $P < 0,05$, donde el tratamiento fue el glaseado, la variable dependiente el tipo de glaseado y el tiempo de almacenamiento. Las variables independientes fueron las evaluaciones físicas y químicas realizadas.

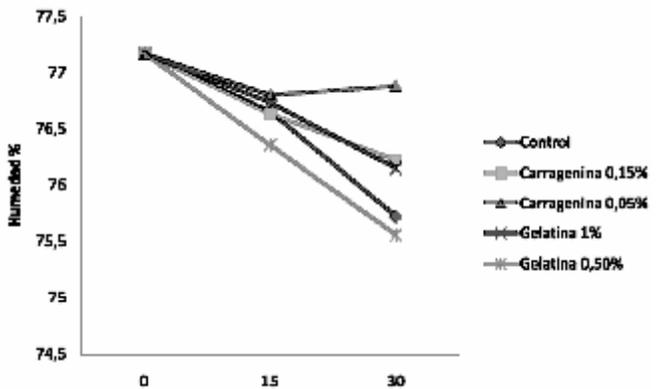
RESULTADOS

El contenido de humedad para las muestras de lomo de atún con los diferentes tratamientos de glaseado y almacenados en congelación a -10°C durante 0, 15 y 30 días, se muestran en la Figura 1. A los 15 días, los tratamientos con carragenina 0,05% y gelatina 0,50% mostraron diferencias

significativas, mientras que entre el control, carragenina 0,15%, y gelatina 1% no se observaron diferencias significativas. A los 30 días de almacenamiento a -10°C, se observaron diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento y entre los tratamientos; sin embargo no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos con carragenina 0,15% y gelatina 0,50%. Las muestras que presentaron una menor diferencia en el contenido de humedad fueron las muestras glaseadas con carragenina al 0,05%.

FIGURA 1

Contenido de humedad (%±DE) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados adicionando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C



Tratamiento %	Tiempo (días)		
	0	15	30
Control	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,66±0,39 ^{aa}	75,72±0,20 ^{ab}
Carragenina 0,15	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,64±0,11 ^{ab}	76,22±0,21 ^{bc}
Carragenina 0,05	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,80±0,19 ^{ba}	76,88±0,54 ^{cb}
Gelatina 1	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,74±0,11 ^{ab}	76,15±0,15 ^{dc}
Gelatina 0,5	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,36±0,20 ^{cb}	75,56±0,45 ^{bc}

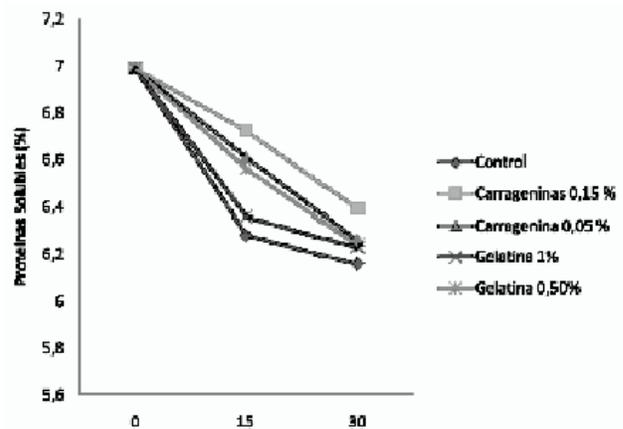
Media ± DS n=3. Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas. Primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo ($P < 0.05$).

El contenido de proteínas solubles en solución salina para las muestras de lomo de atún con los diferentes tratamientos de glaseado y almacenados en congelación a -10 °C durante 0, 15 y 30 días, se muestran en la Figura 2. Se observa, un mejor desempeño, o mantenimiento de la solubilidad de las proteínas en el tiempo, en el tratamiento con carragenina

0,15%, seguido por el tratamiento carragenina 0,05%. A los 0 días, los tratamientos de glaseado con soluciones de carragenina al 0,15% y 0,05% y Gelatina 1% y 0,50% y control (glaseado sin hidrocoloides) no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre sí. A los 15 días todos los tratamientos presentaron una disminución significativa en proteínas solubles en comparación con tiempo cero, siendo esta disminución menor para las muestras glaseadas e incorporando carragenina. Entre los tratamientos de carragenina 0,05 % y gelatina 1% no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$), mientras que entre los tratamientos y el control se observaron diferencias significativas entre sí.

FIGURA 2

Contenido de proteínas solubles (% ± DE) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados incorporando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C



Tratamiento %	Tiempo (días)		
	0	15	30
Control	6,99± 0,02 ^{aa}	6,28±0,03 ^{ab}	6,16±0,01 ^{ac}
Carragenina 0,15	6,99± 0,02 ^{aa}	6,72±0,17 ^{bb}	6,39±0,09 ^{bc}
Carragenina 0,05	6,99± 0,02 ^{aa}	6,61±0,04 ^{cb}	6,26±0,02 ^{cc}
Gelatina 1	6,99± 0,02 ^{aa}	6,36±0,07 ^{cb}	6,23±0,03 ^{ac}
Gelatina 0,5	6,99± 0,02 ^{aa}	6,56±0,32 ^{db}	6,24±0,10 ^{bc}

Media ± DS n=3. Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas. Primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo ($P < 0.05$).

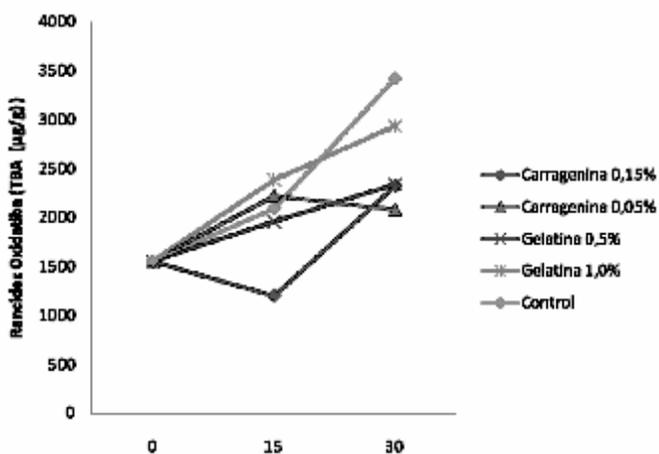
A los 30 días de almacenamiento a -10°C, se observaron diferencias significativas respecto al tiempo en todos los

tratamientos. Se observaron diferencias significativa entre el control y carragenina 0,15%, 0,05%, gelatina 1% y 0,50%; no se observaron diferencias significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos control y gelatina 1%.

La rancidez oxidativa en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados con los distintos tratamientos de hidrocoloides se muestran en la Figura 3. Se observaron aumentos significativos durante los 15 y 30 días de almacenamiento respecto a los 0 días de almacenamiento. El tratamiento más eficiente fue el tratamiento de carragenina 0,15% el cual mostró sin variación de la rancidez oxidativa hasta los 15 días de almacenamiento, luego a los 30 días se observó un aumento de ésta en 33%, los otros dos tratamientos mostraron significativamente mayores niveles de rancidez oxidativa durante los 15 y 30 días en almacenamiento.

FIGURA 3

Rancidez oxidativa como TBA ($\mu\text{g/g} \pm \text{DE}$) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados incorporando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C



Tratamiento (%)	Tiempo (días)		
Gelatina	0	15	30
0,50	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	1959,80 ± 270,75 ^{ab}	2335,28 ± 44,22 ^{ab}
1,00	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	2382,28 ± 137,64 ^{bb}	2933,06 ± 185,01 ^{bb}
Carragenina			
0,05	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	2221,15 ± 424,26 ^{ab}	2081,42 ± 75,16 ^{ab}
0,15	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	1201,5 ± 113,85 ^{bc}	2326,48 ± 28,64 ^{bb}
Control	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	2092,94 ± 101,20 ^{ab}	3422,03 ± 154,03 ^{bb}

Media \pm DS, n=3. Letras iguales en una misma fila indican que no existe diferencia significativa, primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo ($P < 0,05$).

En los resultados obtenidos en la evaluación del color de las muestras de los lomos de atún (Tabla 1) se observaron cambios significativos ($p < 0,05$) en los parámetros L^* (luminosidad), a^* (rojo o verde), y b^* (menos amarillo o azul), con respecto a la muestra fresca de lomo de atún (control). En las muestras glaseadas con carragenina y gelatina se observó una tendencia a disminuir los valores L^* y a^* observándose una diferencia significativa entre el atún fresco y el atún con 30 días de almacenamiento; mientras que en b^* no hubo diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento.

Los resultados obtenidos en la electroforesis y los diagramas de bandas de las proteínas estudiadas fueron estimadas por comparación de movilidad y altura entre las masas moleculares del estándar (Miosina 200KDa; β -galactosidasa 116,25; Fosforilasa b 97,4 KDa; Albumina 66,2 KDa; Ovoalbúmina 45 KDa; Anhidrasa carbónica 31 KDa; Inhibidor de tripsina 21,5 KDa; Lisosyma 14,4 KDa; Aprotinin KDa 6,5), y las bandas de proteínas obtenidas en las corridas electroforéticas (SDS-PAGE) de las diferentes porciones. Los cambios observados se estudiaron de forma cualitativa observándose los perfiles electroforéticos con un aumento o disminución en la intensidad de las bandas, que pondría de manifiesto la presencia de agregados proteicos y el grado de estabilidad proteica en función del tiempo de almacenamiento y el tipo de glaseado. En la Figura 4 se observan los resultados de movilidad, altura y peso molecular obtenidos de las electroforesis.

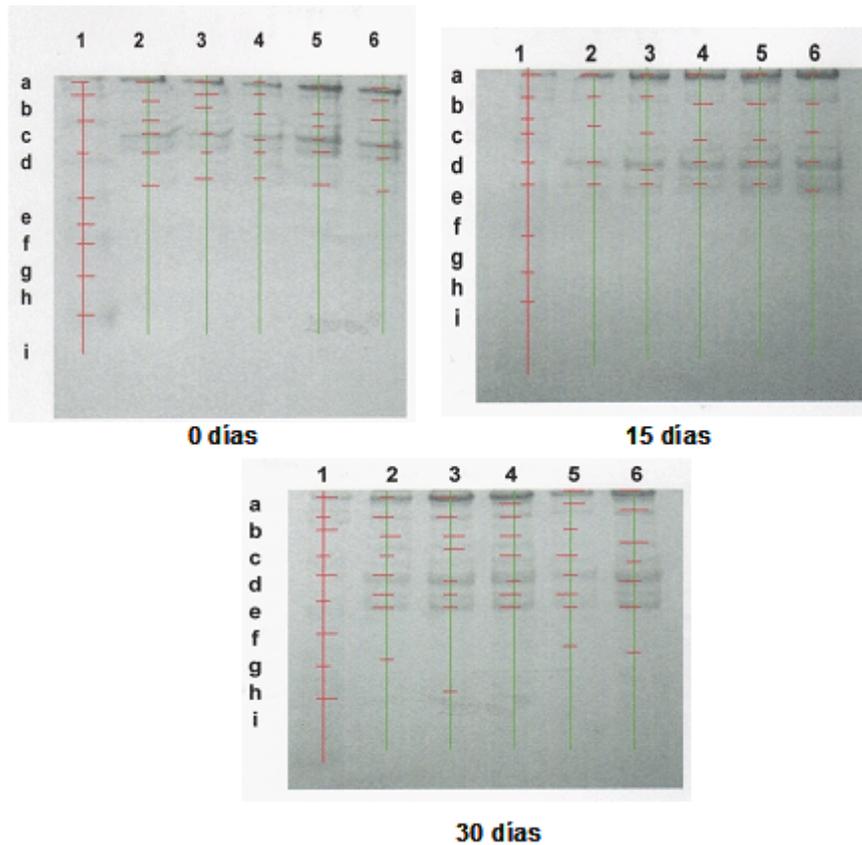
En los resultados del patrón electroforético a los 0 y 15 días de almacenamiento, con diferentes empaques (control, carragenina 0,15 %, carragenina 0,05%, gelatina 1% y gelatina 0,50%), se identificaron bandas de proteínas con altos pesos moleculares del tipo Miosina 200KDa; β -galactosidasa 116,25; Fosforilasa b 97,4 KDa; Albumina 66,2 KDa; Ovoalbúmina 45 KDa; Anhidrasa carbónica 31 KDa. con ausencia de bandas relativas a Inhibidor de tripsina 21,5 KDa; Lisosyma 14,4 KDa; Aprotinin KDa 6,5 lo cual indica que a los 0 y 15 días de almacenamiento existe una poca o no degradación de las proteínas del musculo de atún glaseado con hidrocoloides. A los 30 días se identificaron bandas de proteínas con altos pesos moleculares del tipo Miosina 200KDa; β -galactosidasa 116,25; Fosforilasa b 97,4 KDa; Albumina 66,2 KDa; Ovoalbúmina 45 KDa; Anhidrasa carbónica 31 KDa en todos los tratamientos y se encontraron bandas relativas al tipo Inhibidor de tripsina 21,5 KDa; Lisosyma 14,4 KDa; Aprotinin KDa 6,5 en los tratamientos control, carragenina 0,15% y gelatina 1%.

TABLA 1
Parámetros de Color (L, a y b \pm DE) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados incorporando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C

Tratamiento (%)	0 días			15 días			30 días		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Gelatina									
0,50	24,93 \pm 4,48aa	8,83 \pm 2,20aa	7,75 \pm 2,31aa	26,24 \pm 3,86cb	6,45 \pm 1,2bb	6,74 \pm 1,09bb	22,10 \pm 2,31ab	5,83 \pm 0,92bc	6,37 \pm 0,92ab
1,00	24,93 \pm 4,48aa	8,83 \pm 2,20aa	7,75 \pm 2,31aa	24,85 \pm 3,21ba	6,18 \pm 1,57ab	6,48 \pm 0,87ab	22,66 \pm 5,68ab	3,18 \pm 0,71ac	6,08 \pm 1,32bb
Carragenina									
0,05	24,93 \pm 4,48aa	8,83 \pm 2,20aa	7,75 \pm 2,31aa	23,34 \pm 3,91ab	7,17 \pm 1,33bb	6,48 \pm 1,18bb	24,58 \pm 1,88ba	3,96 \pm 1,54ac	5,41 \pm 0,79cc
0,15	24,93 \pm 4,48aa	8,83 \pm 2,20aa	7,75 \pm 2,31aa	25,78 \pm 4,59ab	5,66 \pm 1,14ac	6,40 \pm 1,54cb	21,40 \pm 3,75cb	7,07 \pm 1,06bb	6,12 \pm 1,12bb
Control	24,93 \pm 4,48aa	8,83 \pm 2,20aa	7,75 \pm 2,31aa	28,40 \pm 3,75cb	5,61 \pm 0,61ab	7,81 \pm 1,15ca	25,33 \pm 4,78ba	5,81 \pm 1,10bb	7,74 \pm 1,27ab

Media \pm DS n=3. Letras iguales en una misma fila indican que no existe diferencia significativa, primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo ($P < 0.05$).

FIGURA 4



Electroforesis SDS-PAGE de músculo de atún (*Thunnus thynnus*). Glaseado con hidrocoloides y almacenado a -10°C . Líneas verticales indican el tipo de tratamiento. Estándar (1); control (2); carragenina 0,15 % (3); carragenina 0,05% (4); gelatina 1% (5) y gelatina 0,50% (6). Líneas horizontales indican las bandas de proteínas del estándar: Miosina 200KDa(a); β -galactosidasa 116,25(b); Fosforilasa b 97,4 KDa(c); Albumina 66,2 KDa (d); Ovoalbúmina 45 Da (e); Anhidrasa carbónica 31 KDa (f); Inhibidor de tripsina 21,5 KDa (g); Lisosyma 14,4(k) KDa; Aprotinin KDa 6,5 (i).

DISCUSION

El glaseado es importante en la conservación de los alimentos ya que actúa como barrera protectora que mantiene estable la humedad, disminuye los cambios deteriorativos a los cuales puede estar sometido el alimento durante su comercialización y almacenamiento (16). Al observar los valores de desviación estándar, (Figura 1), se puede inferir que la humedad se mantiene dentro del margen de error a los 15 y 30 días en las muestras glaseadas con hidrocoloides, a pesar de obtenerse diferencias significativas entre algunos tratamientos y el control, lo que indica el papel de la carragenina y la gelatina como películas protectoras, evitando la pérdida de humedad hacia el ambiente. La pérdida de humedad en los alimentos se ve reflejada en cambios en la textura, ya que al haber pérdida de las moléculas de vapor de agua, hay disminución de la calidad del pescado, tornándose seca y dura (11). El glaseado con hidrocoloides incrementa el efecto de barrera evitando que exista una pérdida de humedad en el músculo del atún al ambiente. Durante la congelación del músculo, las moléculas de agua localizadas en las zonas más frías comienzan a cristalizar. El agua contenida en el sistema muscular migra hacia la superficie de los cristales de hielo aumentando su tamaño. Se considera que este fenómeno induce la pérdida de agua hacia el ambiente, produciéndose pérdida de humedad, por exudación y en algunos casos por deshidratación o pérdida de agua por evaporación, o por la ausencia de una película protectora o empaque adecuado (2,14). El corte del músculo de pescado acelera el proceso desnaturalización de las proteínas, disminuyendo la solubilidad de las mismas en solución salina (25).

Las moléculas de carragenina poseen una estructura conformacional de doble hélice, con grupos sulfatos, que al ser disuelta en agua forma una estructura lineal, de naturaleza hidrofílica produciendo una inmovilización de las moléculas de agua que se encuentran a su alrededor e induciendo la formación de geles altamente estables formando una red o malla (11,26). Altas concentraciones de carragenina, al entrar en contacto con moléculas de proteínas, pueden ocasionar una reacción de precipitación de los grupos sulfatos con moléculas de proteínas (11). Es por esto que las concentraciones de carragenina utilizadas para el glaseado en esta investigación son tan bajas, de no ser así se formaría un precipitado proteína sulfato el cual afectaría la estabilidad del glaseado, disminuyéndose el porcentaje de humedad y la calidad del producto.

Cuando el pescado es almacenado en congelación, hay una disminución de la cantidad de proteína extraíble en soluciones salinas y, por ello, se deduce la existencia de una asociación entre la desnaturalización proteica y el endurecimiento del músculo de pescado durante el almacenamiento en congelación (27). La desnaturalización de las proteínas ha sido definida

como un cambio en su estructura que conlleva a la pérdida de sus propiedades funcionales, entre ellas la solubilidad. Se ha señalado que durante las etapas iniciales de la congelación, la actina y la miosina, aparentemente, forman una fracción insoluble que disminuye la solubilización de las proteínas (15). En general se observó que a las muestras que se le incorporó hidrocoloides, la pérdida de proteína soluble fue menor, lo cual indica la capacidad de las soluciones de carragenina y la gelatina de actuar como película protectora influyendo sobre el mantenimiento de la calidad del lomo de atún en el tiempo. La disminución de la degradación de las proteínas puede ser debido a que las soluciones de carragenina y gelatina son muy estables en cuanto a su estructura, lo cual impide el paso de oxígeno, la pérdida de humedad y con ello la degradación de las proteínas. En especies como la tilapia, el carite y el pargo sin empacar se reportan valores donde la disminución de las proteínas solubles en 60 días alcanzaron 36%, 29 % y 40% (28-30). El tiempo de almacenamiento afecta significativamente la solubilidad de las proteínas; A medida que se incrementa el tiempo de almacenamiento, disminuye la solubilidad de las proteínas. En filetes de bagre almacenado a -20°C durante 3 meses Suvanich y col. (30) observaron una disminución de las proteínas solubles en solución salina en un 37%. López (25) almacenó, durante 6 meses a -12 y -25°C, porciones de pescado empacadas con polietileno y glaseado, realizando una comparación entre los dos tipos de empaques y observó una disminución progresiva de la solubilidad en las proteínas solubles en solución salina, obteniendo, una mayor solubilización en el empaque de polietileno, con respecto al glaseado. Estos resultados coinciden con los encontrados en la presente investigación en la cual se observó una disminución progresiva de la solubilidad en las proteínas solubles en solución salina, obteniéndose una mayor solubilización en las muestras glaseadas con hidrocoloides, con respecto al control.

Al estudiarse los cambios que se suceden cuando la miosina obtenida de *Tilapia nilotica* fue solubilizada (solución salina de alta fuerza iónica) o suspendida (solución salina de baja fuerza iónica) antes de congelar, Ramírez y col. (31) y González (32), señalaron que la congelación provoca agregación de la miosina dependiendo de su estado fisicoquímico inicial. Cuando ésta se encuentra en un medio de alta fuerza iónica observaron la agregación proteica con participación de enlaces disulfuro y una mayor desnaturalización de la proteína, por el contrario, en un medio de baja fuerza iónica, observaron una menor interacción de grupos sulfhidrilo, y por consiguiente una menor desnaturalización, lo cual les permitió concluir que una de las causas de la desnaturalización de proteínas está relacionada con la interacción de grupos sulfhidrilos de las proteínas. Durante el almacenamiento congelado durante periodos de tiempo prolongados, existe una disminución en la

extractabilidad de las proteínas (32) al estudiar los cambios en proteínas en filetes de bagre *Tachysurus dussumieri*) durante 300 días de almacenamiento a -20°C . Por otra parte, Suvanich y col. (30) encontraron una disminución de las proteínas solubles en solución salina en pulpa de bagre sometida al proceso de lavado y sin lavar almacenada a -20°C durante 3 meses.

Los cambios en los lípidos del pescado son un parámetro muy importante a estudiar, pues sus ácidos grasos son altamente insaturados, haciéndose susceptibles al ataque por el oxígeno, produciendo rancidez y reduciendo el período de almacenamiento y aceptabilidad en los productos pesqueros. En la pulpa de pescado, estos cambios se hacen más significativos debido a la mayor exposición del oxígeno (33,34).

La oxidación de lípidos es un factor limitante en el almacenamiento en congelación, particularmente en los pescados grasos como es el caso del atún ya que causa cambios en el olor, sabor y otros atributos de calidad. Varios métodos son utilizados para retardar o prevenir la oxidación o el nivel de rancidez oxidativa en la carne de pescado incluyendo almacenamiento a bajas concentraciones, empacamiento apropiado, glaseado con otros químicos y la incorporación de antioxidantes (33). En general, la oxidación de lípidos de los lomos de atún con los tratamientos de carragenina son menores al compararse con los tratamientos de gelatina y el control, se asume que la entrada de oxígeno al lomo de atún fue limitada debido a que la mezcla de agua con la carragenina fue lo suficientemente estable debido a la estructura tridimensional que se produce en estas soluciones proporcionando estabilidad a la solución mejorando la impermeabilidad en el lomo de atún, evitando la migración de las moléculas de vapor de agua y la entrada de las moléculas de oxígeno. Respecto al control si se compara con los distintos tratamientos realizados se observa que la rancidez oxidativa aumenta significativamente ($p < 0,05$) a los 15 días, y 30 días. Una vez más se puede inferir que los hidrocoloides contribuyen a la estabilidad de los lípidos en el atún glaseado con hidrocoloides.

El color es la característica más importante que afecte la decisión del consumidor en el momento de aceptar la carne o los productos cárnicos. Rojas y cols. (3), reportaron que el 74% de los consumidores indicaron que el color era importante al momento de decidir la compra de los productos, ya que los consumidores asocian el color rojo brillante con la frescura de las carnes rojas. El color se puede determinar sensorialmente o por métodos instrumentales en términos de luminosidad y combinaciones de los colores verde, rojo, amarillo y azul. El método instrumental es el método más simple y se ha determinado su aplicabilidad para el control de calidad en productos alimenticios.

La oxidación de la deoximioglobina y oximioglobina a metmioglobina resultan en un cambio evidente de color en

las carnes. Massa (9) reportó un incremento lineal en el rechazo de los consumidores en la carne descolorada, cuando la metmioglobina aumenta en la carne fresca. Los consumidores discriminan la carne cuando ya la metmioglobina a aumentado a un 20%. En el pescado fresco, la cantidad total de metmioglobina es afectada principalmente por el oxígeno y la temperatura (31). Sin embargo en este estudio los cambios de color durante 30 días estuvieron por debajo del 20%.

Diversos autores señalan la utilización del método de electroforesis SDS-PAGE, como una técnica que permite detectar cambios moleculares en el tejido muscular del pescado durante el almacenamiento congelado como un índice del grado de desnaturalización (35-37). La aparición de bandas de proteínas de bajo peso molecular pudo deberse a la desnaturalización de las proteínas durante el tiempo de almacenamiento congelado. A los 30 con los tratamientos de carragenina 0,05% y con gelatina 0,50% no se observaron bandas de bajo peso molecular lo cual podría indicar que el glaseado incorporando estos hidrocoloides evita la desnaturalización de las proteínas del músculo de atún almacenado durante este tiempo. A medida que transcurre el tiempo de almacenamiento se observa como algunas bandas, correspondientes a masas moleculares entre 31-6,5 KDa o zona de bajo peso molecular aparecen o aumentan de intensidad y altura. Este cambio, puede deberse al deterioro y agregación de las proteínas miofibrilares las cuales cambian su conformación y se desnaturalizan, influenciadas por la temperatura, la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento.

Rodríguez, (38) observó el incremento de las bandas electroforéticas de bajo peso molecular a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento lo cual es atribuido a la desnaturalización de las proteínas, en concordancia con los resultados obtenidos para esta investigación. Careche y col. (39) concluyeron que en muestras de pescado se pueden encontrar agregados formados durante el almacenamiento congelado que están compuestos principalmente de miosina y actina unidas por interacciones secundarias y puentes disulfuros los cuales están influenciados por la temperatura de almacenamiento. Estos agregados, tienden a crecer en número y tamaño a medida que progresa el almacenamiento, llegando a ser insolubles en solución salina, pero extraíbles con SDS o SDS-Mercaptoetanol (ME). Similar a lo obtenido en esta investigación, se observó la disminución de la solubilidad de la proteína producto, probablemente, de la presencia de agregados de miosina que a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento, se mantuvieron en número y tamaño en el gel de electroforesis.

La estabilidad de las proteínas durante el almacenamiento en congelación ha sido estudiada en diferentes especies de pescado y se ha reconocido que varía con la especie y con las

condiciones de almacenamiento (34). En filetes de locha roja (*Urophycis chuss*) almacenados a -7 y -80°C, se reportó una disminución en la solubilidad de proteínas solubles en agua y proteínas solubles en solución salina, señalando que esta desnaturalización fue mayor en proteínas miofibrilares del tipo; miosina de cadena pesada, M-proteínas y C-proteínas, siendo esta disminución más acentuada a -7°C.

Del Mazo y col. (40), aplicando las técnicas electroforéticas evaluaron el efecto de dos temperaturas (-20 y -30°C) de almacenamiento congelado en la extractabilidad de la actomiosina natural (NAM) en 0,6 NaCl mol/L durante el almacenamiento de filetes de merluza, y las modificaciones que ocurren en las características funcionales y estructurales de esta fracción. La proporción de miosina y actina con el tiempo de almacenamiento disminuyó en la pulpa de merluza almacenada a -20°C, sin embargo, la cantidad total de actina y miosina extraída en solución salina disminuyó en ambas temperaturas con el tiempo de almacenamiento. Además encontraron que a medida que progresaba el almacenamiento, se formaron agregados de masas moleculares altas en los cuales las proteínas estaban unidas, en parte, por enlaces covalentes no disulfuro.

Ramírez y col. (31) concluyeron que en pescado congelado que ha experimentado deterioro durante el almacenamiento aparecen agregados de proteínas de alta masa molecular estabilizados por interacciones hidrofóbicas además de por enlaces disulfuro y otros enlaces no covalentes. Se demostró que la miosina empieza a agregarse desde las etapas iniciales de la congelación y el grado de agregación, se incrementa con el tiempo de almacenamiento, esta estabilidad, así como el tipo de enlace va depender de la especie.

CONCLUSIONES

La técnica del glaseado adicionando hidrocoloides como alternativa de empaque protege al lomo de atún ante la pérdida de humedad y retrasa la degradación de las proteínas. Durante los 15 y 30 días de almacenamiento a -10°C se observó una disminución progresiva de las proteínas solubles totales siendo este efecto más pronunciado en las muestras control y menos pronunciado en las muestras glaseadas con soluciones de hidrocoloides especialmente carragenina. A medida que transcurre el tiempo de almacenamiento se observó la aparición de un gran número de bandas de proteínas de baja masa molecular, producto de la degradación de las mismas, siendo menos pronunciado ésta aparición en las muestras glaseadas con hidrocoloides.

REFERENCIAS

1. Fennema O. Química de los Alimentos. 2ª Edición. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 2000; 221-227, 228-229, 241-245, 253-256.
2. Pagela. Characterization of Starch based Edible Coatings. Trans ICEM. 80, Part C. 2002;10-12.
3. Rojas Grau MA, Tapia MS, Rodríguez FJ, Carmona AJ, Martín O. Alginate and gellan-Based edible coating as carriers of antibrowning agent's applied on fresh-cut Fuji apples. Fd Hydrocolloids. 2006;21:118-127.
4. Anónimo. A focus on Gums. Special Report". Fd Tech. 1991; 1-4.
5. Na Kao X. Effects of varios pasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. Fd. Hydrocolloids 2008; 23:729-735.
6. Marcano J, Lárez A, Gutiérrez X, Salazar H. Pesquería de túnidos por pequeños palangreros en el Mar Caribe y el Océano Atlántico Durante el periodo 1986-2000. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Cumaná, Venezuela 2000; 1-10.
7. Cartacci C. El mercado mundial del atún. INFOPESCA; 2003; 15:1-9.
8. Kunjachan T. Comparando tecnologías de congelación. Infopesca Internacional. Enero-Marzo.2005:21.
9. Massa E. Cambios bioquímicas *post mortem* en músculos de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío. Trabajo de Doctorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar de Plata. Argentina; 2006;2-6.
10. Márquez Y, Cabello A. Cambios físicos-químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de la conserva de atún. Zootecnia Tropical 17-29.
11. Badui S. Química de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Pearson. Ciudad de México, México; 2006; 81-88,103-105, 161-169.
12. Avdalov N. Manual para trabajadores de la industria pesquera INFOPESCA. Venezuela. 2003;4 -12.
13. Suárez MA, De Francisco A, Beirão HL, Pardo CS y Cortés RM. Pérdida de textura post mortem de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío. Acta Biológica Colombiana. 2007;12(1):3-18.
14. Howell N y Sarkardei S. The effects of freeze-drying and storage on the FT-Raman spectra of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and horse mackerel (*Trachurus*) Fd Chem. 2007;103: 62-70.
15. Howell N, Badii F. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillet during frozen storage. Fd Hydrocolloids 2001;16: 313-319.
16. Codex Alimentarius Comission. 2002. <http://www.fao.org>. (Consulta: 2009 Abril, 25).
17. Rivas N, Canadían. Food Inspection Agency, en <http://www.inspection.ge.ca>. 2006
18. Rungsinee S, Natcharee P. Oxigen permeability and mechanical properties of banana films. Department of food Engineering, Fd Res Int. 2007; 40:365-370.
19. AOAC. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemist. XVI ED. Mowist, Washington D.C. 1990; 69 -74.
20. Barrero M, Castillo y Kodaira M. Influence of washing and frozen storage on the myofibrillar protein fraction in sardine mince flesh. Rev Científica Facultad de Cienc 405- 411.
21. Montecchia C, Roura S, Roldan H, Perez-Borla O, Crupkin M. Biochemical and Physicochemical Properties of Actomyo-

- sin from Frozen Pre-and Post- spawned Hake. J. Fd Sci. 1997; 191-195.
22. Hashimoto K, Watanabe S, Kono M, Shiro K. Muscle protein composition of sardine and mackerel. Bull of the J. Soc. of Sci. Fish. 1979; 45, 11:1435-1441.
 23. Ashie I, Simpsom B, Romaswamy H. Changes in texture and microstructure of pressure-treated fish muscle tissue during chilled storage. J Muscle Fd. 1997; 8:13-32.
 24. Tarladgis B., Watts, B., Younatha, M. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid food" J Am Oil Chem Soc. 1960; 37(1):44-48.
 25. López M. Estudio de la estabilidad en porciones de bagre yaqué (*letarius mamoratus*) durante el almacenamiento congelado utilizando tres tipos de empaque. [Tesis de Maestría]. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela; 2006.
 26. Requena L. Extracción y caracterización de la carragenina obtenida a partir de la especie de alga marina roja *kappaphycus alvarezii* (Doty) proveniente de arribazones de la isla de Margarita Edo Nueva Esparta, Venezuela. Tesis de Pregrado. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela. 2007.
 27. Tejada M, Careche M, Torrejón P, Del Mazo M, Solas M, García M y Barba C. Protein extracts and aggregates forming in minced cod (*Gadus morhua*) during frozen storage. J Agric Food Chem. 1996;44:3308-3314
 28. Arvelaiz P. Evaluación de la estabilidad lipídica y proteica de tilapia rosada híbrido (*Oreochromis sp*) durante su almacenamiento congelado. [Tesis de Maestría]. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela; 1996.
 29. Alexander R. Hidrocolloid Gums- Part I: natural products. Cereal Fds. World. 1999; 44. (9): 684-686.
 30. Suvanich V, Jahncke M y Marshall. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. Fd Chem Toxicol. 2000; 65:24-29.
 31. Ramirez J, Martin M y Bandman E. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state. Fd. Chem. Toxic. 2000; 65: 556-560.
 32. González D. Evaluación física, química y organoléptica de la sardina (*Sardinella aurita*) tipo round durante su almacenamiento congelado. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. 2001
 33. Nakamura Y, Nando M, Seok M, Kawasaki K, Itsukamasa Y. Changes of proximate and fatty acid compositions of the dorsal and ventral ordinary muscle of the full-cycle cultured pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* with the growth. Fd Chem 2006; 103: 234-241.
 34. Barrero M y Bello R. Cambios en la composición de los ácidos grasos de la pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) lavada con una solución de bicarbonato de sodio al 0,5%. Rev. Científica Facultad de Ciencias Veterinarias División de Investigación. Universidad del Zulia. Venezuela. 2000;136-143
 35. García H. Electroforesis en geles de poli(acrilamida): fundamentos actualidad e importancia. Laboratorios Betera. Cuba. 2001; 1 (2),4- 31.
 36. Castillo Y. Evaluación del efecto de lavado con una solución de NaHCO_3 al 0,5% sobre proteínas de la pulpa de sardina (*sardinella aurita*) congelada a -40°C . [Tesis de Pregrado]. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela; 2001.
 37. Arvelaiz P y Bello R. Cambios en las propiedades químicas y bioquímicas del músculo de coporo (*Prochilodus mariae*) asociados al ciclo reproductivo. Rev. Científica, FCV- LUZ. 2005; 15:368-376.
 38. Rodríguez N. Estudio de la estabilidad durante el almacenamiento congelado de porciones de pescado incorporando proteína de soya. [Tesis de Maestría]. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela; 2006.
 39. Careche M, Del Mazo M, Torrejón P, Tejada M. Important of frozen storage temperature in the type of aggregation of myofibrillar protein in cod (*Gadus morhua*) fillets. J Agric Food Chem. 1999;46:1539-1546.
 40. Del Mazo M, Torrejón P, Careche M, Tejada M. Characteristics of the salt-soluble fraction of hack (*Merluccius merluccius*) fillets stored at -20 y -30°C . J Agric Food Chem. 1999; 47:1372-1377.

Recibido: 23-03-2010

Aceptado:16-09-2010