

EVALUACIÓN FÍSICA, QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE FILETES DE SARDINA (*Sardinella aurita* V.) EMPACADOS AL VACÍO Y CONGELADOS A -18°C

Physical, Chemical, Microbiological and Sensory Evaluation of Sardine Fillets (*Sardinella aurita* V.) Under Vacuum Packing and Frozen Storage at -18°C

Jaime Valls¹, Ana Paredes¹, Deokie González² y Anibal González¹

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Apartado 47097. Caracas 1041-A, Venezuela. E-mail: jvalls@strix.ciens.ucv.ve. ² Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Estación de Investigaciones Marinas de Margarita, EDIMAR. Apdo. Postal 144, Porlamar. Estado Nueva Esparta, Venezuela

RESUMEN

La sardina representa un recurso importante en Venezuela, debido a su bajo costo y su alto contenido de proteínas. Una alternativa adicional para incrementar su consumo es en forma de filetes. El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales en filetes de sardina (*Sardinella aurita* V) almacenados al vacío y congelados a -18°C por un período de seis meses y establecer el tiempo de almacenamiento durante el cual esta presentación todavía mantiene sus condiciones óptimas para consumo humano. Se tomaron muestras cada mes, con el propósito de evaluar: pH, ácido láctico (AL), color (L, a y b), humedad, solubilidad de proteínas en soluciones salinas (PSs), líquido exprimible (LE), ácido tiobarbitúrico (TBA), composición de ácidos grasos, aerobios psicrófilos (AP), anaerobios facultativos psicrófilos (AFP) y evaluación sensorial. En esta investigación el tiempo de almacenamiento mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a los parámetros: pH, color (L, a, b), humedad, PSs, LE, AP, AFP y evaluación sensorial. Los filetes mantuvieron un excelente grado de frescura desde el principio hasta los 3,5 meses, este índice fue el más adecuado para medir su estabilidad. Hasta el último mes de almacenamiento los filetes tuvieron buenas condiciones organolépticas, no mostrando olores rancios o cambios de color en la piel.

Palabras clave: Sardina, congelación, filetes, vacío.

ABSTRACT

Sardines represent an important fishery resource in Venezuela due to their low price and high protein content. Another alterna-

tive for increasing their consumption is in the form of fillets. The objective of this study was to evaluate the physical, chemical, microbiological and sensory changes in sardine (*Sardinella aurita* V) fillets stored under vacuum packing in cold storage at -18°C for six months, and to establish the storage time for which this presentation conserves an optimal condition for human consumption. Every month samples were taken in order to evaluate: pH, lactic acid (LA), colour (L, a, and b), moisture, solubility of proteins in saline solutions (SPs), water-binding capacity (WBC), thiobarbituric acid test (TBA), fatty acid composition, aerobic psychrophilic (AP), anaerobic psychrophilic (APP), and sensory evaluation. In this research the storage time shows significant differences ($P < 0.05$) with the parameters: pH, colour (L, a, b), moisture, SPs, WBC, AP, APP, and sensory evaluation. Fillets showed an excellent grade of freshness from the beginning until 3.5 months, this parameter was most suitable to measure stability. Up to six months fillets had good sensory conditions, without rancidity odours or skin color changes.

Key words: Sardines, cold storage, fillets, vacuum packing.

INTRODUCCIÓN

La sardina (*Sardinella aurita* V) es considerada la especie de mayor importancia comercial en Venezuela. Los volúmenes de captura para 1996 y 1997 fueron respectivamente de 52.505 y 138.780 TM, los cuales representan un 40% del total de volumen de captura de la pesca artesanal marítima [16]. Aproximadamente, un 90% se emplea en la industria conservera y el resto para consumo en fresco [5]. El desarrollo de nuevos productos, que requieran tecnologías sencillas y que sean fáciles de aplicar por las empresas del sector pesquero permitiría incre-

mentar su consumo y facilitaría el mejor aprovechamiento de este recurso. Una alternativa lo constituye la presentación en forma de filetes, la cual consiste en la sardina a la cual se le ha removido la cabeza, escamas, vísceras, cola y separada en sus dos mitades. Este tipo de producto permite que el consumidor disponga de un producto semi-procesado, limpio, listo para su cocción, económico y de alto valor nutritivo. Los objetivos planteados en este trabajo fueron evaluar la influencia que pudiese tener el almacenamiento congelado y al vacío, sobre la estabilidad física, química, microbiológica y sensorial de los filetes de sardina (*Sardinella aurita* V), para así establecer el tiempo de almacenamiento durante el cual se tiene un producto con unas características aptas para su consumo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima y procesamiento

Para la realización de este trabajo se utilizaron ejemplares de sardina (*Sardinella aurita* V), proveniente del oriente del país (Carúpano, estado Sucre). Se obtuvo aproximadamente 20 Kg que fueron transportados en una cava con suficiente hielo al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela. Una vez en el instituto las sardinias se lavaron, se les eliminó los materiales extraños y luego se procedió a la eliminación de la cabeza, escamas y cola, posteriormente se introdujeron en una fileteadora "Fish Filleting Machine" tipo S (Taiyo Seisakusho. Co Ltd. Japón). Una vez obtenidos los filetes, se lavaron para eliminar restos de vísceras y sangre, seguidamente se colocaron en bandejas de anime, en forma alternada: una capa de filetes (en cantidades aproximadas de 10 filetes) y pliegue de papel encerado hasta completar el recipiente. Las capas de filetes de sardinias se formaron colocándolos longitudinalmente en la bandeja y evitando dejar espacios libres entre filetes, encima de cada capa se colocó papel encerado. Las bandejas se envolvieron con "Envoplas" y se congelaron en un equipo de placas Dole (Freze-cel. Dole Refrigeration Company, Chicago E.U.A) hasta alcanzar los -18°C en 8 h. Una vez alcanzada esta temperatura se colocaron en bolsas plásticas selladas al vacío (Selladora: Vac Master SVP 20. Modelo: Oriol. Vac Master, Kansas. E.U.A) en película de polietileno. El diseño experimental se fundamentó en los objetivos de la investigación, empleando una temperatura de almacenamiento de -18°C (Cava marca Forma Bio-Freezer) por un período de 6 meses, tomando muestras para los análisis, cada: 0; 1; 2; 3,5; 4; 5 y 6 meses. Correspondiendo al mes 0, a los filetes obtenidos inmediatamente después del proceso de congelación y vacío.

Talla y peso de las sardinias

La medición de talla y peso fue realizada a un mínimo del 30% de los ejemplares. La talla se determinó midiendo sobre el eje longitudinal del pez, desde la punta del hocico hasta la bifurcación de la cola.

Toma de muestra

Una vez al mes y durante los seis meses de almacenamiento, se extrajeron de las bandejas (almacenadas a -18°C) diez filetes a fin de realizar los análisis físicos-químicos, microbiológicos y sensoriales. Todos los análisis se efectuaron empleando porciones descongeladas a 4°C por 18 h., que fueron homogeneizadas en una licuadora de uso doméstico, a excepción del sensorial que fue realizado a los filetes enteros. Todos los análisis se realizaron por triplicado, tomando muestras a: 0 (control, muestras inmediatamente después de la congelación y vacío); 1; 2; 3,5; 4; 5 y 6 meses.

Análisis proximal

Metodología de la AOAC [2], aplicando los siguientes análisis: **humedad** (N° 952.08), **grasa cruda** (N° 948.15), **cenizas** (N° 938.08) y **proteína cruda** (N° 955.04). Método de macro-Kjeldahl).

Análisis físico-químico

pH

Según COVENIN 1315-79 [8], empleando un potenciómetro marca "HANNA" modelo HI 8417.

Color

Por medio de un Colorímetro "Macbeth" modelo 2445, usando una placa estándar y midiendo los parámetros: L, a y b.

Líquido exprimible (LE)

Se colocaron 20 g de muestra homogeneizada en un tubo de centrifuga de 50 ml, se centrifugó a 18.000 rpm por 30 minutos a 2°C. El volumen del líquido sobrenadante contenido en el tubo de centrifuga se midió en un cilindro graduado. El resultado se expresó como ml/100g.

Rancidez oxidativa por el método del ácido 2-tiobarbiturico (TBA)

Se determinó el contenido de malonaldehído por el método de destilación con posterior determinación a 583 nm con un espectrofotómetro (Spectro 22RS de LaboMed, Inc. CA. E.U.A) [20].

Proteína soluble extraíble con soluciones salinas (SPs)

Según el método de Pastoriza y Sampedro [18]: 50 g de músculo fue mezclado con 300 ml de KCL (0,95M) que contiene 0,05 M de NaHCO₃ (pH 7,6-8,0) a 3°C por 2 min. en un homogeneizador (ACE, Homogenizer, Mod: AM-3, Nihonseiki Kaisha, LTD, Japón), dejándose en reposo por 15 horas a 2-3°C. El sobrenadante fue separado por centrifugación a 10.000 rpm por 30 min. a 3°C en una centrifuga Sorvall, Modelo RC2-B con un rotor SS-34 (Sorvall, Wilmington, DE) y el residuo se volvió a extraer sucesivamente con 250 y 200 ml de

la solución salina. Los tres extractos fueron combinados y se añadió un volumen equivalente a la solución de ácido tricloroacético (10%), el precipitado obtenido fue separado por centrifugación a 10.000 rpm por 10 min., y se le determinó nitrógeno total por Kjendahl, según AOAC, N° N° 955.04 [2].

Ácido láctico

La extracción del ácido láctico de la muestra fue con ácido perclórico (Mallinckrdot Inc, París, KY), según el procedimiento de Valls y col. [25, 26] y el análisis se realizó mediante HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) según método de Bevilacqua y Califano [4]. Se inyectó 30 µL del extracto de cada una de las muestras, bajo las siguientes condiciones cromatográficas: fase móvil buffer de $\text{NH}_4\text{NaHPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,076%) + 2 ml de acetonitrilo/L de buffer a pH 2,8., longitud de onda 214 nm. AUFS del detector 0,5. Atenuación del registrador 2. Columna Novapak C18. La concentración del estándar de ácido láctico (Sigma, St. Louis, MO. E.U.A) fue de 0,2 mg/ml El equipo HPLC consta: cromatógrafo Waters. Bomba modelo 510 inyector U6K. Detector UV-Visible modelo 486 (190-600), integrador registrador 746.

Perfil de ácido grasos por cromatografía de gases

Este análisis se realizó en la Sección de Lipidología del Instituto de Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela, según AOAC [2], preparación de los ésteres metílicos: (N° 969.33) y separación por cromatografía de gases (963.22) procedimientos adaptados al laboratorio, en el siguiente protocolo: La fracción grasa del músculo de pescado fue extraída usando una relación pulpa: cloroformo: metanol de 1:6:3 (p:v:v) y se homogeneizó. Luego fue adicionada agua en igual cantidad que la suma de los solventes y 10 mg de BHT/100 ml. Se agitó por una hora dejándose posteriormente reposar en refrigeración por 24 h, después fue separada la fase clorofórmica y evaporada en nitrógeno a 30°C. Los lípidos aislados, fueron transesterificados a ésteres metílicos mediante calentamiento a 80°C en reflujo por 1 h, con una mezcla de 5 ml de metanol: benceno: ácido sulfúrico en relación de 80:10:4 (v:v:v), posteriormente se dejó enfriar y los ésteres metílicos fueron extraídos añadiendo a 0°C; 5 ml de agua fría y 5 ml de éter de petróleo. Los ésteres metílicos se analizaron con un cromatógrafo Hewlett-Packard, modelo 5880-A, con detector de ionización a la llama utilizando como fase móvil nitrógeno, temperatura del horno 200°C en condiciones isotérmicas, temperatura del inyector y detector 250°C e inyectando 1 µL de muestra. El tiempo de corrida fue de 40 min. Los ácidos grasos determinados (Sigma, St. Louis, M.O E.U.A), fueron saturados: cáprico C10:0, láurico C12:0, mirístico C14:0, palmítico C16:0, esteárico C18:0 y aráquico C20:0, monoinsaturados: palmitoleico C16:1(n-7) y oleico C18:1(n-9), poliinsaturados: linoleico C18:2(n-6), linolénico C18:3(n-3), eicosatrienoico C20:3(n-6), araquidónico C20:4(n-6), eicosapentaenoico C20:5(n-3), docosahexaenoico C22:5 (n-3) y tetracosanoico C24:1(n-9).

Análisis microbiológicos

Para fines comparativos, además de la toma de muestras ya señalada anteriormente, las determinaciones microbiológicas también se realizaron a la materia prima fresca, sin congelación y vacío (SF).

Aerobios psicrófilos totales

Según recuento estándar en placas por siembra en profundidad en medio PCA e incubando por 10 días a 5-7°C [1].

Anaerobios facultativos psicrófilos totales

Aplicando la metodología anterior con la diferencia de que las placas se colocaron en una jarra de "Gaspak" para obtener ambiente anaerobio.

Evaluación sensorial

Se realizó inicialmente a los filetes de la materia prima, sin congelación, ni vacío (SF) y se consideró esta evaluación como óptima. La descongelación de los filetes con vacío (CV) se llevó a cabo por 18 h. en refrigeración. Posteriormente se aplicó la evaluación sensorial, al material en forma cruda y también cocida. La cocción se realizó colocando la muestra en una bolsa "Clip" y calentado en baño de maría (hirviendo), por un tiempo de 15 min. Se evaluaron en los filetes descongelados las siguientes características: color y olor de la piel, mucus de la piel, color, olor y textura de la carne interna. Para las muestras cocidas, se evaluaron características de: sabor, olor, color, textura y jugosidad. La evaluación se realizó con 4 panelistas entrenados, mediante el empleo de una escala descriptiva de los atributos antes mencionados [14].

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos al hacer las determinaciones físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales, se les realizó los siguientes análisis estadísticos: Análisis de varianza mediante un diseño factorial de ANOVA (con 95% de nivel de significancia) y prueba de rango múltiple, usando el programa Statgraphys versión 6,0 para ambas pruebas [21].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis proximal obtenido de las sardinas frescas fue: humedad 76,9 ± 0,1%, proteína 18,3 ± 0,2, grasa 2,5 ± 0,1 y cenizas 1,70 ± 0,01, para un total de 99,4%. En relación con la talla y peso, fueron respectivamente: 17,2 ± 1,0 cm y 75,5 ± 8,2 g, para una muestra de 50 ejemplares. El rendimiento del proceso de fileteado con la máquina "Fish Filleting Machine", fue de 56,0%, en relación a la materia prima. Los valores de talla obtenidos, indican un valor superior a la talla mínima permitida para la captura de sardina (15 cm) [15]. En relación con el peso, son muy parecidos a los obtenidos por Delgado y col. [9] cuyos promedios variaron entre 74,9-80,6 g. Los resultados

del análisis proximal, son similares a los reportados por otros autores [3, 9]. El aspecto más importante es el bajo contenido de grasa determinado en los ejemplares en esta experiencia con 2,5%. La sardina muestra un amplio rango del contenido de grasa que puede estar entre 2-8%, el mismo depende de numerosos factores como: sexo, tamaño, edad, estado de nutrición, zona, época del año, etc.

Las variaciones de pH del tejido muscular son indicativas de la calidad del mismo, ya que cuando un organismo muere, cesan de funcionar sus sistemas de suministro de oxígeno y producción de energía. En el caso de sardina, el pH disminuye rápidamente debido a que poseen un alto metabolismo [29, 30]. La disminución de la concentración de oxígeno dentro de las células ocasiona que se originen procesos catabólicos, como la descomposición del glucógeno, con la producción de ácido láctico, el cual generalmente torna al pH más ácido [14]. En la TABLA I, se presentan los valores obtenidos de pH, el valor inicial fue de 5,90 experimentando en el primer mes un aumento y posteriormente, un descenso con pequeñas fluctuaciones hasta llegar al final del estudio a 5,95. En este estudio, los valores de pH mostraron un aumento en relación

al último mes del almacenamiento con respecto a tiempo 0, indicando que a pesar de la baja temperatura empleada (-18°C) se producen sustancias básicas.

El análisis de varianza reveló diferencias significativas para pH ($P < 0,05$) en relación al tiempo de almacenamiento, mientras que para ácido láctico (AL) no mostró diferencias significativas ($P > 0,05$). La contribución de AL como modificador del pH no fue significativa ya que no se correlacionó con este parámetro. El AL se mantuvo constante desde el inicio (22,8 $\mu\text{mol/g}$) hasta el quinto mes (23,2 $\mu\text{mol/g}$), mostrando solo al último mes un incremento significativo a 26,4 $\mu\text{mol/g}$ ($P < 0,05$). Posiblemente la temperatura empleada (-18°C) y la buena condición de la materia prima, así como también la adecuada manipulación del producto, inhibieron la producción del AL. En sardinas (*Sardinops melanosticta*), conservada a 0°C no se determinó tampoco correlación entre producción de AL y pH ($r = -0,745$) [30].

El color es un parámetro importante en la calidad de productos pesqueros congelados, y en especial en especies de carne roja como la sardina. La decoloración del rojo a marrón durante el almacenamiento es producto de la oxidación de la

TABLA I
CAMBIOS FÍSICOS-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS EN FILETES DE SARDINA CON VACÍO (CV)
ALMACENADOS A -18°C

Almacenamiento meses	pH		Ácido láctico $\mu\text{mol/g}$		L (Color)		a (Color)		b (Color)	
0	5,90 \pm 0,01	d	22,8 \pm 1,1	b	47,76 \pm 0,01	g	5,05 \pm 0,01	f	15,04 \pm 0,03	f
1	6,24 \pm 0,01	c	23,7 \pm 4,4	b	39,02 \pm 0,01	f	8,93 \pm 0,01	e	12,65 \pm 0,05	e
2	5,90 \pm 0,01	d	23,5 \pm 0,2	b	42,11 \pm 0,01	e	7,96 \pm 0,01	d	12,71 \pm 0,04	e
3,5	5,98 \pm 0,01	b	21,6 \pm 4,3	b	43,68 \pm 0,01	d	9,95 \pm 0,01	c	13,22 \pm 0,03	d
4	5,97 \pm 0,01	b	23,6 \pm 2,0	b	43,99 \pm 0,01	c	8,94 \pm 0,01	e	12,86 \pm 0,03	c
5	5,96 \pm 0,01	b	23,2 \pm 0,9	b	48,42 \pm 0,01	b	6,78 \pm 0,01	b	12,56 \pm 0,04	b
6	5,94 \pm 0,01	a	26,4 \pm 3,1	a	42,31 \pm 0,01	a	9,08 \pm 0,03	a	11,60 \pm 0,05	a

Almacenamiento meses	Humedad (%)		Proteína soluble en solución salina (PSs) %		Líquido exprimible (LE) %		Aerobios psicrófilos (UFC/g)		Anaerobios facultativos psicrófilos (UFC/g)	
0	76,9 (*)		79,1 \pm 6,6	e	12,6 \pm 1,0	e	7,3x10 ³	c	3,6x10 ³	c
1	75,9 \pm 0,2	c	85,9 \pm 5,2	d	22,3 \pm 9,2	d	3,1x10 ⁴	b	1,8x10 ⁴	c
2	74,6 \pm 0,3	b	58,2 \pm 5,7	c	29,1 \pm 0,4	a	2,5x10 ³	a	3,1x10 ³	b
3,5	73,9 \pm 0,3	a	65,5 \pm 2,5	a	25,1 \pm 0,4	c	6,4x10 ²	a	1,4x10 ³	c
4	73,1 \pm 0,1	a	41,0 \pm 4,4	b	22,4 \pm 0,3	b	2,6x10 ²	a	3,4x10 ³	a
5	73,3 \pm 0,2	a	37,2 \pm 5,6	b	30,6 \pm 4,2	a	3,5x10 ²	a	1,4x10 ³	a
6	72,8 \pm 0,9	a	68,4 \pm 6,3	a	28,2 \pm 0,3	a	1,3x10 ³	a	1,6x10 ³	a

(*) Filetes de sardinas frescas. Letras iguales en una misma columna indican que no existen diferencias significativas entre sí, según el análisis de comparación de medias de Duncan ($P < 0,05$).

oximioglobina a metamioglobina, lo cual ocasiona cambios que afectan su valor comercial. Las mediciones de "L", "a" y "b" indican una disminución de la luminosidad (L) del producto, con una mayor formación de pigmentos de color rojo (parámetro a), hacia el final del estudio, lo cual es indicativo de obscurecimiento del músculo. El análisis estadístico para el efecto tiempo encontró diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación a los parámetros "L", "a" y "b". Visualmente los filetes mostraban un característico color rojo, similar a la materia prima, inclusive hasta el final de la evaluación, lo cual es confirmado con el aumento de "a", es decir que hay un incremento de pigmentos de color rojo. En cuanto a "b" se observó una disminución en el primer mes, pero luego se determinaron pequeñas fluctuaciones durante la experiencia.

El pescado mal congelado puede sufrir cambios por deshidratación que ocasiona pérdida de peso y una superficie seca [14, 28]. Los valores de humedad obtenidos indican una disminución en función del tiempo, con respecto al valor inicial, señalando que pudo ocasionarse una ligera deshidratación del producto, que a pesar de estar protegido con plástico (Envoplas), polietileno y sellado con vacío, en un período de seis meses manifiesta una merma de un 3,2% de humedad, en relación al inicio. Es factible también que el vacío ocasionó una salida de agua, hacia la superficie de los filetes, que luego es perdida durante la descongelación de las muestras previo a su análisis. En la humedad se observó un valor de 75,86% al primer mes de almacenamiento y muestra una tendencia a descender hasta el final del almacenamiento.

La solubilidad de las proteínas en soluciones salinas (PSs) y líquido exprimible (LE) son los métodos más aceptados para establecer el grado de desnaturalización de las proteínas del pescado [22, 23]. La fracción proteica miofibrilar es desnaturalizada inclusive a temperaturas de -30°C [27]. En esta investigación el análisis de varianza y de medias reveló diferencias significativas para humedad, PSs y LE en función del tiempo ($P < 0,05$). Los resultados de PSs, muestran una disminución entre los valores iniciales y finales lo cual señala que parte de la fracción de las proteínas son afectadas por el almacenamiento congelado, disminuyendo por lo tanto su solubilidad. Las PSs disminuyeron de 79,1% hasta 37,2% en el quinto mes y luego aumento en el sexto mes a 68,4%. El descenso de PSs durante la congelación ha sido reportado en "tronquitos" de sardina (*Sardinella aurita*) tipo almacenados a -18°C y -40°C , encontrando cambios a partir del segundo mes que fueron menores a -40°C [11, 12]. Por otra parte Pérez [19], empleando filetes de bagre (*Hypostomus watwata*) a los cuales se les incorporó aislado proteico de soya, como agente que ayuda a retener el agua, también reportó pérdidas significativas de 83,3% a 65,5%, en los primeros cuatro meses de almacenamiento. Esta disminución de la solubilidad proteica se manifiesta en una textura más seca y menos jugosa, con menor retención de líquido al momento de someter el producto a un procesamiento térmico como la cocción [28]. Otro índice que refleja estos cambios es la cantidad de LE, la cual en esta experiencia aumentó durante

el almacenamiento, evidenciando que las proteínas perdieron parte de su capacidad de retención de agua, debido a los fenómenos de agregación o pérdida de solubilidad de la actinomiocina y a cambios en la estructura celular del músculo durante la formación de los cristales de hielo en el proceso de congelamiento y almacenamiento [13, 18, 24, 28].

Las diferencias microbiológicas observadas de aerobios psicrófilos (AP) y anaerobios facultativos psicrófilos (AFP) se deben al procesamiento (congelación y vacío) y también al factor tiempo. En relación al procesamiento, cuando se comparan los recuentos iniciales en los filetes de sardina fresca (SF) (sin congelación y vacío) con AP de $3,4 \times 10^5$ y AFP de $3,0 \times 10^5$, respecto a los filetes (CV) inmediatamente después de la congelación y vacío (0 mes), con $7,3 \times 10^3$ y $3,6 \times 10^3$ respectivamente, se observa en CV una disminución de dos ciclos logarítmicos en relación con SF, lo cual demuestra que los procesos de congelación y posterior vacío son factores determinantes en la disminución de la carga bacteriana. Por otra parte en relación al factor tiempo, los AP y AFP se mantuvieron constantes a partir del 3,5 mes hasta el mes 6. Sin embargo entre el mes 0 y 6, mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$), obteniendo al final del almacenamiento valores menores, lo cual puede indicar que las bajas temperaturas y la condición de vacío, producen una disminución de la carga microbiana.

En pescado graso congelado los cambios químicos más importantes son los que tienen lugar en la fracción lipídica del pescado. Fenómenos como hidrólisis, oxidación e interacción de los productos de estas reacciones con otros constituyentes no lipídicos produce deterioro. Sin embargo, el almacenamiento en condiciones de vacío, retarda la aparición de estas alteraciones, dado que la presencia de oxígeno, es un requisito para las reacciones oxidativas y enzimáticas de los lípidos [14]. En este estudio los resultados señalan que los ácidos grasos mantuvieron una tendencia estable, como se muestra en la FIG. 1, los saturados permanecieron prácticamente invariables hasta el cuarto mes, sufriendo un ligero ascenso en el último mes, mientras que los monosaturados y poliinsaturados se mantuvieron constantes, con pequeñas fluctuaciones. En cuanto a los ácidos grasos predominantes, se cuantificó alta proporción de ácidos: C14:0, C16:0, C16:1(n-7), C18:1(n-9), C20:5(n-3) y C22:6(n-3), presentando este último una disminu-

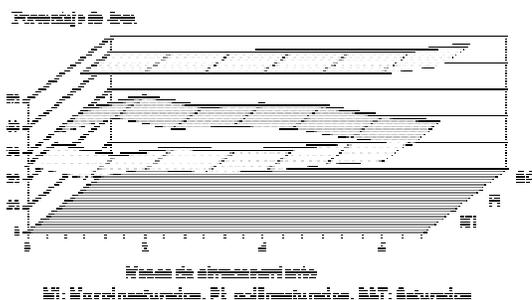


FIGURA 1. VARIACIÓN DEL PORCENTAJE DE ÁREA DE ÁCIDOS GRASOS EN FILETES DE SARDINAS CON VACÍO (CV) ALMACENADOS A -18°C .

ción al final de la experiencia, el resto de los ácidos grasos se mantuvieron con pequeñas variaciones probablemente a diferencias entre individuos. En estudios realizados en sardina fresca los ácidos grasos encontrados en mayor proporción fueron C14:0, C16:0, C16:1(n-7) y C20:6(n-3) [3]. Se ha señalado que pueden ocurrir cambios de estos componentes durante el almacenamiento congelado, así por ejemplo Ortiz y Bello [17] determinaron en pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) almacenada por 4 meses a -10°C una variación significativa en el contenido de ácidos grasos de la serie n-3, mientras que en sardina pilchardus (*Clupea pilchardus*), entera y almacenada a -20°C por 4 meses, disminuyó ligeramente la concentración de C20:6 (n-3) y C22:6(n-3) de 14,4% a 11,0% y de 16,9% a 16,3% respectivamente, por otra parte en el presente trabajo se incrementaron el ácido linoleico entre los poliinsaturados y oleico entre los monoinsaturados [6]. Estos resultados indican que en general se puede obtener una buena estabilidad de los ácidos grasos e inclusive de los poliinsaturados y que la misma, es dependiente de la temperatura de congelación empleada y la forma en que es tratada la materia prima, en el caso de pulpa, se tiene una desintegración física que tiene una menor estabilidad en relación a un tejido intacto, como son sardinillas enteras.

Los lípidos presentes en pescado contienen una alta proporción de ácidos grasos insaturados susceptibles a la rancidez oxidativa, que pueden generar como producto de degradación malonaldehído (MA), cuantificable mediante el ensayo de ácido tiobarbitúrico (TBA). Sin embargo, se ha reportado que este índice no necesariamente refleja con exactitud la oxidación lipídica, ya que el MA puede interactuar con ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos, e inclusive con otros aldehídos. Adicionalmente su presencia es más significativa en avanzados grados de oxidación, ya que este compuesto es un producto de degradación, cuya presencia se manifiesta después del desarrollo de fases como: oxidación de los ácidos, formación de peróxidos, hidroperóxidos y ruptura de estos compuestos [6, 7, 14]. En este estudio el TBA (abs/g), se mantuvo relativamente constante, con valores iniciales de 0,015 (abs/g) y finales de 0,016 (abs/g), sin grandes variaciones especialmente entre el cuarto y sexto mes del estudio, razón por la cual no se presentan estos resultados. Resultados similares se obtuvieron en "tronquitos" de sardinillas (*Sardinella aurita*), almacenados a -18°C por 6 meses, en los cuales no hubo diferencias significativas, en relación a este parámetro [11]. La estabilidad de este índice en la presente investigación es atribuida a: buena manipulación y calidad de la materia prima, bajo contenido graso (2,5%), vacío aplicado y bajas temperaturas de almacenamiento.

La calidad de los alimentos puede ser determinada por evaluación sensorial (ES), esta metodología constituye una parte importante de cualquier programa de calidad, dado que el criterio final de aceptación de un producto viene dado por la respuesta humana, esta técnica, por lo tanto complementa los métodos físicos-químicos [10]. La ES, tanto de filetes crudos

como sometidos a cocción, se muestran en la FIG. 2, y TABLAS II y III, como referencia óptima se consideró las características organolépticas de los filetes de sardina previos a los procesos de congelación y vacío. El análisis de varianza demostró que hay diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto al tiempo de almacenamiento, en filetes crudos y cocinados. Se puede señalar que a partir del tercer mes, se producen cambios en color y textura, mientras que los demás atributos se mantuvieron constantes a excepción del sabor que varió en el último mes. En general se observó que durante la congelación se manifestaron pequeñas variaciones en relación con el color, olor y textura de la carne interna, mostrando un descenso de la calidad durante el tiempo. Los primeros cambios fueron a los 3,5 meses principalmente en cuanto a olor y presencia de exudado. Las demás características se mantuvieron más o menos constantes durante el período de estudio, no mostrando signos de deterioro por oxidación de lípidos, como manchas amarillas en la superficie, olor rancio, etc. A pesar de que se manifestaron cambios sensoriales estadísticamente significativos en función del tiempo de almacenamiento, desde un punto de vista práctico, las características organolépticas de los filetes, al final de la evaluación (6 meses) continuaban siendo aceptables y presentaba buena apariencia, siendo completamente aptas para su consumo.

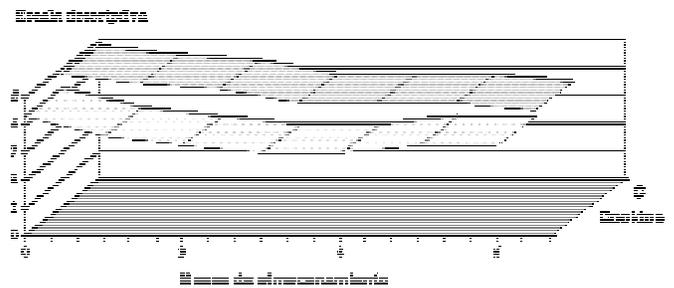


FIGURA 2. CAMBIOS ORGANOLÉPTICOS Y PÉRDIDA DE FRESCURA EN FILETES DE SARDINA CON VACÍO (CV): CRUDOS (C) Y FILETES COCIDOS.

CONCLUSIONES

El tiempo de almacenamiento mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a los parámetros: pH, color (L, a, b), humedad, PSs, LE, AP, AFP y evaluación sensorial.

En el presente trabajo se manifestaron cambios en los atributos sensoriales de los filetes a partir de 3-4 meses. Sin embargo, al final del estudio todavía eran aceptables y presentaban buena apariencia en cuanto a color, textura, olor y sabor, indicando por lo tanto una muy buena estabilidad de este tipo de producto.

Se puede señalar que si se cuenta con una materia prima de buena calidad y frescura, con un porcentaje bajo de grasa, procesada rápidamente y almacenada bajo las condiciones señaladas en esta investigación, es factible obtener un producto con buenas condiciones organolépticas y nutricionales.

TABLA II
CAMBIOS ORGANOLÉPTICOS Y PÉRDIDA DE FRESCURA EN FILETES DE SARDINA CON VACÍO (CV)
ALMACENADOS A -18°C CON POSTERIOR DESCONGELACIÓN A \pm 4°C

Tiempo en meses	Piel	Carne Interna			Puntuación
		Color	Olor	Textura	
Filetes de sardina fresca (sin vacío y sin congelación)	Brillante, línea amarilla presente, mucus perceptible al tacto	Gris translúcida	Olor a mar	Firme y elástica, superficie uniforme	5
0	Brillante, línea amarilla presente, coloración intensa, sin fisuras	Blanca poco translúcida	Olor a amar	Firme y elástica, superficie uniforme presencia de exudado	4,8
1	Brillante, línea amarilla presente, sin fisuras	Blanca poco translúcida	Olor a mar y ligero olor a pescado	Firme pero poco elástica presencia de poco exudado	4,5
2	Brillante, línea amarilla presente, color intenso	Beige	Olor a mar y ligero olor a pescado	Firme pero poco elástica, presencia de poco exudado	4,3
3,5	Poco brillante, línea amarilla presente, color intenso	Blanca	Olor a pescado	Firme pero poco elástica, presencia más exudado	3,8
4	Poco brillo, línea amarilla ausente, color intenso	Blanca	Olor a pescado	Firme pero poco elástica	3,8
5	Poco brillante, línea amarilla ausente	Beige	Ligero olor a pescado	Firme poco elástica, presencia de poco exudado	3,8
6	Poco brillo, línea amarilla ausente	Beige	Olor a pescado	Firme poco elástica, presencia de exudado	3,5

TABLA III
CAMBIOS ORGANOLÉPTICOS EN FILETES DE SARDINA CON VACÍO (CV) ALMACENADOS A -18°C
CON POSTERIOR DESCONGELACIÓN A \pm 4°C Y COCIDOS

Tiempo en meses	Color	Sabor	Textura	Olor	Puntuación
Filetes de sardina fresca (sin vacío y sin congelación)	Blanca	Suave a pescado	Firme y jugosa, miotomos adherentes	Muy específico, fresco	5
0	Blanca	Suave a pescado	Algo jugosa miotomos adherentes, poco exudado	Poco específico	4,3
1	Blanca	Suave a pescado	Algo jugosa, miotomos adherentes	Olor suave a pescado pero agradable	3,6
2	Blanca /beige	Suave a pescado	Algo jugosa, miotomos adherentes, presencia de exudado	Olor suave a pescado pero agradable	3,3
3,5	Beige	Pescado	Algo jugosa, miotomos adherentes	Olor suave a pescado pero agradable	3
4	Beige	Pescado	Algo jugosa miotomos adherentes, presencia de exudado.	Olor suave a pescado pero agradable	3
5	Blanca/ beige	Pescado	Algo jugosa miotomos adherentes	Olor a fresco	3,3
6	Beige	Pescado	Algo jugosa, miotomos adherentes	Olor suave a pescado pero agradable	3

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento de la presente investigación a través de los proyectos: PI 03-32-3986-2000; Tipo A 03-33-4649-2000 y PI 03-32-3843-2000. A la International Japanese Cooperation Agency (JICA) por la donación de equipos para la realización de los ensayos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium Of Methods For The Microbiological Examination of Foods**. Third edition. Edited by: Carl Vanderzant and Don. F. Spittsoesser, Washington. D.C. 1219 pp. 1992.
- [2] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INC. (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 20th Ed. Edited by Kenneth Helrich. Washington D.C. 1298 pp. 1990.
- [3] BARRERO, M.; BELLO, R. Cambios en la composición de los ácidos grasos de la pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) lavada con solución de bicarbonato de sodio al 0,5%. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. X(2): 136-144. 2000.
- [4] BEVILACQUA, A.; CALIFANO, L. Determination of organic acids in dairy products by high performance liquid chromatography. **J. Food Sci.** 54 (4): 1076-1079. 1989.
- [5] CABELLO, A.; BELLO, R. Pesquería y comercialización de la sardina en el oriente de Venezuela. **III Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina**. Margarita. FAO. Fisheries Technical Paper. N° 538. 115-119 pp. 1996.
- [6] CASTRILLON, A.; ALVAREZ-PONTES, E.; GARCÍA, M.; NAVARRO, P. Influence of frozen storage and defrosting on the chemical and nutritional quality of sardine (*Clupea pilchardus*). **J. Sci. Food Agric.** 70:20-34. 1996.
- [7] CASTRILLON, A.; NAVARRO, P.; ALVAREZ-PONTES, E. Changes in chemical composition and nutritional quality of fried sardine (*Clupea pilchardus*) produced by frozen storage and microwave reheating. **J. Sci. Food Agr.** 75:125-132. 1997.
- [8] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Norma venezolana COVENIN: 1315-79. Alimentos Determinación del pH. Acidez Iónica**. 3 pp. 1979.
- [9] DELGADO, A.; VALLS, J.; GONZÁLEZ, A. Evaluación física y química de la sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XI (1): 22- 29. 2001.
- [10] DELGADO, M.; VALLS, J.; TOMÉ, E. Evaluación de aminas biógenas, microbiológica y sensorial de sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. X(6): 494-502. 2000.
- [11] GONZÁLEZ, D. Evaluación física, química y organoléptica de sardina (*Sardinella aurita*) tipo "Round" durante su almacenamiento en congelación. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimento. UCV. (Tesis de Post-Grado). Caracas Venezuela. 125 pp. 2001.
- [12] GONZÁLEZ, D.; VALLS, J.; GONZÁLEZ, A. Evaluación física, química y organoléptica de tronquitos de sardina (*Sardinella aurita* V) durante su almacenamiento congelado a -18°C. **Rev. Científ. FCV-LUZ**. XII(4): 278-285. 2002.
- [13] HUIDOBRO, A.; MOHAMED, G.; TEJADA, M. Aggregation of myofibrillar protein in hake sardine and mixed minces during storage. **J. Agric. Food Chem.** 46: 2601-2068. 1998.
- [14] HUSS, H. Cambios Post-mortem en Pescado en: **El Pescado Fresco: su Calidad y Cambios de su Calidad**. FAO. Rome. Fisheries Technical. Paper N° 348. 202 pp. 1998.
- [15] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA (MAC). **Resolución oficial sobre el tamaño mínimo de captura de la sardina**. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas-Venezuela. 8 pp. 1973.
- [16] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA (MAC). Sección Pesquerías. En: **Anuario Estadístico Agropecuario de 1997**. Capítulo VII. Dirección de Estadística e Informática. 87-99 pp. 1998.
- [17] ORTIZ, H.; BELLO, R. Composición y estabilidad de los ácidos grasos de la pulpa de cachama y sardina durante el almacenamiento en congelación. **Archi. Latinoamer. de Nutri.** 42: 460-465. 1992.
- [18] PASTORIZA, L.; SANPEDRO, G. Influence of ice storage on Ray (*Raja clavata*) wing muscle. **J. Sci. Food Agr.** 64:9-18. 1994.
- [19] PÉREZ, G. Estudio de la estabilidad durante el almacenamiento en congelación de porciones de filetes de pescado incorporando aislado proteico de soya. Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos. UCV. (Tesis de grado). Caracas Venezuela. 116 pp. 1998.
- [20] RHEE, K. Minimization of further lipid peroxidation in the distillation 2-thiobarbituric acid test of fish and meat. **J. Food Sci.** 43:1776. 1978.
- [21] STATISTICAL GRAPHICS SYSTEMS CORPORATION. **User's Guide. Statgraphics**. Versión 6,0. STSC., Inc. 1992.
- [22] TANAKA, T. Freezing preservation of fish and other marine products. Vol. II. In: **Science of Processing Marine Products**. Kanagawa International Fisheries Centre. Japan International Cooperation Agency (JICA). 10-23 pp. 1992.

- [23] TEJADA, C.; TORREJON, S.; GARCÍA, B. Protein extracts and aggregates forming in miced cod (*Gadus morhua*) during frozen storage. **J. Agric. Food Chem.** 44: 3308-3314. 1996.
- [24] VALLS, J. Metodologías físicas y químicas para evaluar la calidad y frescura de sardinas en condiciones de refrigeración y congelación. En: **Memorias del Taller: Evaluación, Tecnología e Industrialización de Pequeños Pelágicos "Pablo Herrera"**. Cumana 06 al 08 de diciembre del 2000, Edo. Sucre. Venezuela. 114-122 pp. 2000.
- [25] VALLS, J.; BELLO, R.; KODAIRA, M. Validation of liquid chromatography analysis of ATP-related compounds in sardines. **J. Aquatic Food Product Tech.** 10(3): 67-78. 2001.
- [26] VALLS, J.; DELGADO, A. Evaluación de los productos de degradación del ATP en sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** X(5): 383-390. 2000.
- [27] VICETTI, R. Proteínas del músculo de pescado. En: **Información Básica: Química, Bioquímica y Microbiología.** X Curso Internacional de Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros. Callao, 10 al 25 de febrero 1994, Lima, Perú. 23-45 pp. 1994.
- [28] WATABE, S. The chemistry of proteins from marine animal. Vol. I. In : **Science of Processing Marine Food Products.** Kanagawa International Fisheries Centre. Japan International Cooperation Agency (JICA). 10-23 pp. 1992.
- [29] WATABE, S.; USHIO, H.; IWAMOTO, M. Rigor-mortis progress of sardine and mackerel in association with ATP degradation and lactate accumulation. **Nippon Suisan Gakkaishi.** 55(10): 1833-1839. 1989.
- [30] WATABE, S.; KAMAL, M.; HASHIMOTO, K. Postmortem changes in ATP, creatine phosphate, and lactate in sardine muscle. **J. Food Sci.** 56(1): 151-153. 1991.