

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**“ELABORACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE PARA
TRUCHA ARCO ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) EN FILETES”**

TESIS

PRESENTADA POR:

MIRIAM JESSENIA MITTANI SANCHEZ

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PROMOCIÓN: 2011 – II

PUNO – PERÚ

2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TESIS

“ELABORACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE PARA TRUCHA
ARCO ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) EN FILETES”

PRESENTADA POR:

MIRIAM JESSENIA MITTANI SANCHEZ

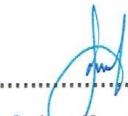
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 22 DE DICIEMBRE DE 2016

APROBADA POR EL SIGUIENTE JURADO:

PRESIDENTE


.....
Ph. D. Juan Marcos ARO ARO

PRIMER MIEMBRO


.....
Ing. Mg. Sc. Pablo PARI HUARCAYA

SEGUNDO MIEMBRO


.....
Ing. Saïre Roenfi GUERRA LIMA

DIRECTOR


.....
Ing. Mg. Sc. Florentino V. CHOQUEHUANCA CÁCERES

PUNO – PERÚ

2016

Área: Ciencia y tecnología

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenible y
eficientes

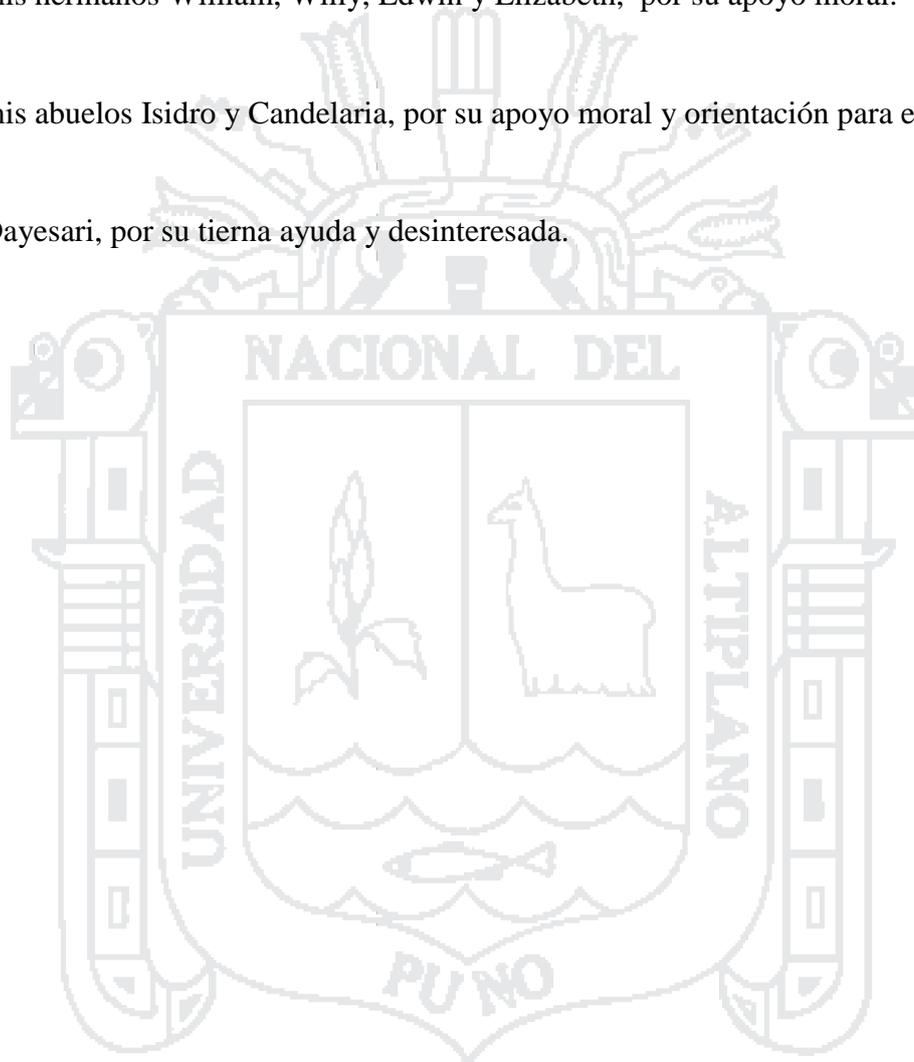
DEDICATORIA

A mis padres, María y Teófilo, por su esfuerzo, motivación y permanente apoyo para mi formación personal y culminación de mi tesis.

A mis hermanos William, Willy, Edwin y Elizabeth, por su apoyo moral.

A mis abuelos Isidro y Candelaria, por su apoyo moral y orientación para el buen vivir.

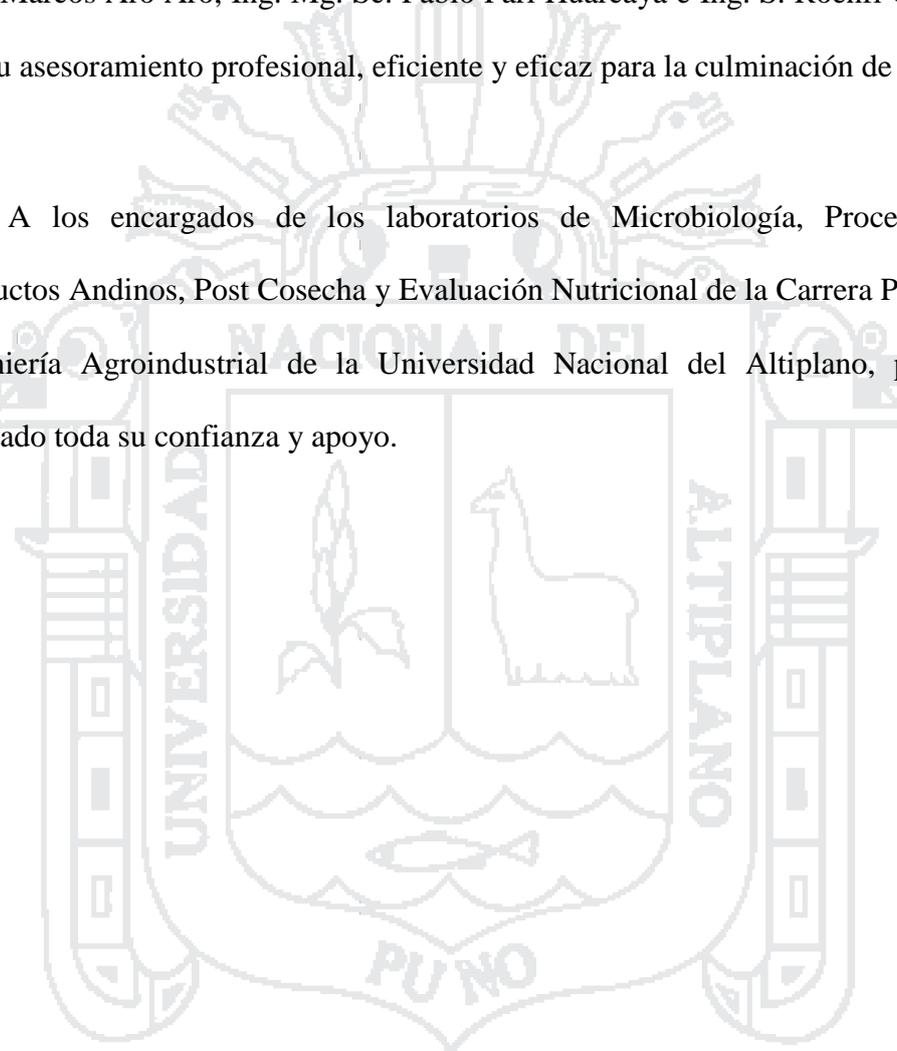
A Dayesari, por su tierna ayuda y desinteresada.



AGRADECIMIENTOS

Mi más profundo agradecimiento al Ing. Mg. Sc. Florentino Víctor Choquehuanca Cáceres, Director del presente trabajo de investigación; y a mis Patrocinadores Ph. D. Juan Marcos Aro Aro, Ing. Mg. Sc. Pablo Pari Huarcaya e Ing. S. Roenfi Guerra Lima, por su asesoramiento profesional, eficiente y eficaz para la culminación de mi tesis.

A los encargados de los laboratorios de Microbiología, Procesamiento de Productos Andinos, Post Cosecha y Evaluación Nutricional de la Carrera Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano, por haberme brindado toda su confianza y apoyo.

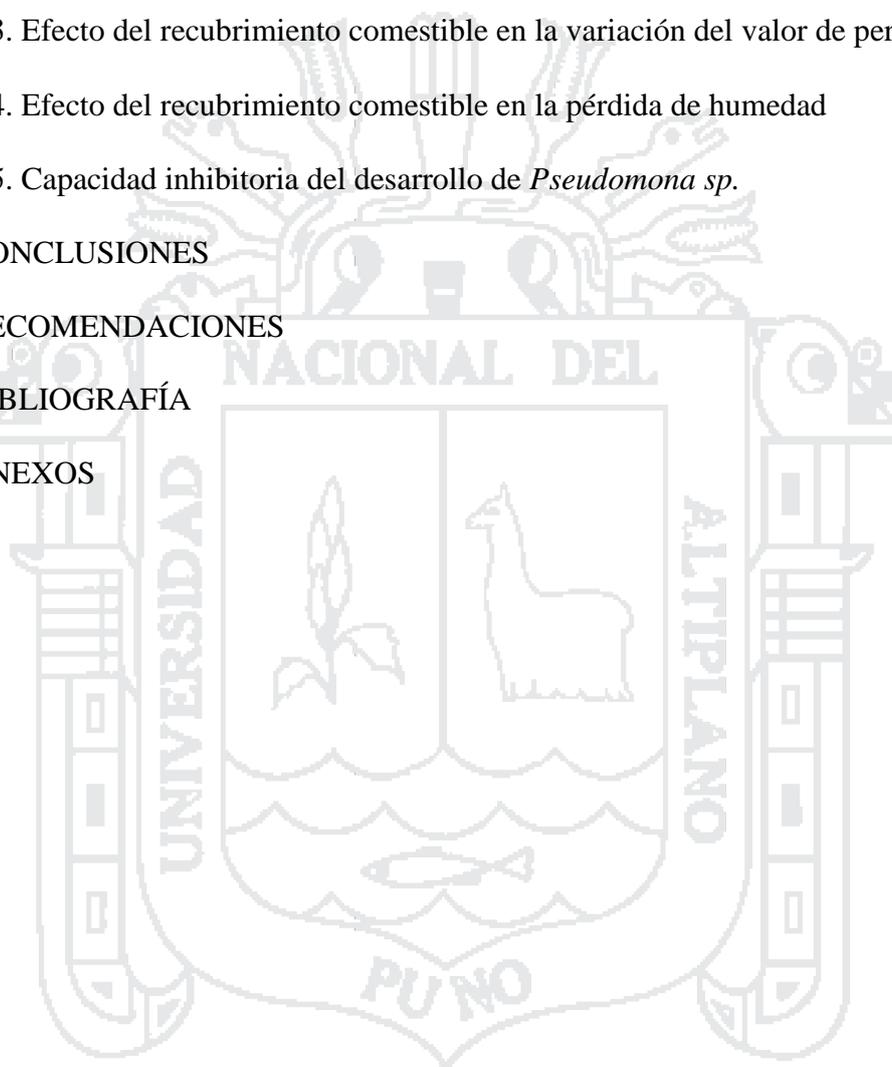


ÍNDICE

RESUMEN	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. REVISIÓN DE LITERATURA	11
2.1. Definición y características generales de los recubrimientos comestibles	11
2.1.1. Definición del recubrimiento comestible	11
2.1.2. Características y propiedades de los recubrimientos comestibles	12
2.1.3. Composición de los recubrimientos comestibles	14
2.1.4. Hidrocoloides	14
2.1.5. Recubrimientos con lípidos	17
2.1.6. Películas de componentes compuestos	18
2.1.7. Plastificantes	18
2.1.8. Antioxidantes	20
2.1.9. Métodos de aplicación de los recubrimientos comestibles	21
2.2. Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	23
2.2.1. Generalidades	23
2.2.2. Taxonomía de la trucha arco iris	24
2.2.3. Composición química de la carne de trucha	24
2.3. Deterioro de los productos pesqueros	25
2.3.1. Autólisis	25
2.3.2. Actividad de la acidez en el pescado	26
2.3.3. El pH en el pescado	27
2.3.4. Oxidación lipídica	28
2.3.5. Índice de peróxido	29

2.3.6. Actividad microbiana	29
2.3.7. <i>Pseudomona sp.</i>	30
2.4. Estrategias para la conservación y diversificación del pescado de acuicultura	31
2.4.1. La refrigeración	31
2.4.2. Pérdida de humedad durante el almacenamiento en refrigeración	31
2.4.3. Envasado al vacío	32
III. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. Lugar de ejecución	34
3.2. Material Experimental	34
3.3. Cosecha o captura de las truchas	34
3.4. Elaboración del recubrimiento comestible	35
3.5. Preparación de los filetes de trucha	35
3.6. Equipos y Materiales	39
3.6.1. Equipos e instrumentos	39
3.6.2. Reactivos químicos	40
3.7. Factores de estudio	40
3.8. Variables de respuesta	40
3.9. Métodos Analíticos	41
3.9.1. Determinación de humedad	41
3.9.2. Determinación del pH	41
3.9.3. Determinación del valor de peróxido	42
3.9.4. Determinación de la acidez	43
3.9.5. Análisis microbiológico	43

3.10. Análisis estadístico	46
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	48
4.1. Efecto del recubrimiento comestible en la variación del pH	48
4.2. Efecto del recubrimiento comestible en la variación de la acidez	52
4.3. Efecto del recubrimiento comestible en la variación del valor de peróxido	55
4.4. Efecto del recubrimiento comestible en la pérdida de humedad	60
4.5. Capacidad inhibitoria del desarrollo de <i>Pseudomona sp.</i>	65
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	71
BIBLIOGRAFÍA	72
ANEXOS	83



RESUMEN

Esta investigación se realizó en los laboratorios de Microbiología, Pos cosecha y Evaluación Nutricional de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, utilizando filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) frescos y refrigerados, adquiridos del Centro de Investigación Pesquera Chucuito. Se planteó tres objetivos: determinar el efecto del recubrimiento comestible en la variación del pH, acidez e índice de peróxidos; determinar el efecto del recubrimiento comestible en la pérdida de humedad; y determinar la capacidad inhibitoria del desarrollo de *Pseudomona sp.* El recubrimiento comestible 1 se elaboró con 0.1% (3.312 g) de butilhidroxi tolueno (BHT), 1500 ml de agua destilada, 120 g de caseinato sódico y 36 g de glicerol; el recubrimiento comestible 2 con 0.2% (6.624 g) de (BHT), 120 g de caseinato sódico, 1500 ml de agua destilada y 36 g de glicerol. Los filetes de trucha fueron inmersos con recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2, luego se envasaron al vacío juntamente con las muestras sin recubrimiento y fueron almacenados a 5°C. La evaluación de estos tratamientos se realizó cada 7 días durante 21 días. Las variables respuesta se analizaron en DCA con arreglo factorial 3 x 4. Los resultados fueron: El recubrimiento comestible 1 fue mejor que recubrimiento comestible 2 y las muestras control, porque ha permitido lograr un menor incremento del pH (de 6.41 a 6.49), acidez (de 0.25% a 0.29%), del índice de peróxidos (de 0.20 a 1.20 meq O₂ Kg⁻¹ lípido), una menor pérdida de humedad (de 77.73% a 74.51%) y un menor incremento del desarrollo de *Pseudomona sp.* (de 2.15 log ufc/g incrementó a 4.22 log ufc/g). Se concluye que el recubrimiento comestible 1 evita la variación del pH, acidez e índice de peróxido, la pérdida de humedad en filetes almacenados en refrigeración a 5°C, pero no tiene capacidad inhibitoria del desarrollo de *Pseudomona sp.*

Palabras Clave: recubrimiento comestible, caseinato sódico, oxidación de lípidos.

I. INTRODUCCIÓN

La actividad de crianza de truchas en el Perú, viene creciendo vertiginosamente en los 10 últimos años, principalmente a nivel intensivo en ambientes convencionales (estanques de concreto, mampostería de piedra, tierra y otros) y no convencionales (jaulas flotantes). Este último sistema ha logrado un mayor desarrollo, siendo la Región Puno la que cuenta con el 98% de unidades productivas en jaulas flotantes; mientras que en estanques de concreto, mampostería y tierra, la Región Junín cuenta con el mayor número de unidades productivas convencionales; ambas regiones aportan el 88.4% de la producción nacional de truchas, destacando la Región Puno con 18,471.2 t/Año con 74.59% de participación y Junín con 3,412.53 t/Año con 13.77% de participación en el 2012 (FONDEPES, 2013).

Desde 2009, la Región Puno ocupa el primer lugar en la producción de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) a nivel nacional, habiendo comercializado el 80% como trucha fresca sin procesamiento y el 20% restante en forma congelada y en otros derivados (DRPP, 2009), donde recientemente la extracción de trucha natural alcanzó a 75 t en 2014 y 93 t en 2015 y la producción de trucha de crianza fue de 26,791 t en 2014 y 32,727 t en 2015 (PRODUCE, 2015) y cuya potencialidad tiende a incrementar, aunque actualmente se usa solamente el 2.2% de su recurso hídrico disponible; pero, con el uso total de los recursos hídricos disponibles de forma adecuada y amigable con el medio ambiente, se alcanzaría una producción anual de 100 000 t al término del 2020, seguido de Junín con 30 000 t (Mendoza, 2010). De aquí se deduce que uno de los principales problemas latentes es la ausencia de generación de valor agregado de la trucha.

Los productos pesqueros son alimentos muy perecederos, porque contienen aminoácidos libres, bases nitrogenadas volátiles y el pH poco ácido de su carne. La

pérdida de la frescura durante el almacenamiento, ocurre por la acción endógena de enzimas presentes en las vísceras y en los músculos y/o por el desarrollo de microorganismos (Haard, 1993; Vásconez, Flores, Campos, Gerschenson y Alvarado, 2009).

Con el uso de la tecnología de los recubrimientos comestibles en filetes de trucha arco iris, envasados al vacío y conservados en refrigeración, se busca atenuar la pérdida de la humedad, la oxidación de los lípidos (ácidos grasos insaturados) y el deterioro por microorganismos psicrótrofos aerobios (*Pseudomona sp.*), que causan la alteración de las carnes almacenadas en refrigeración. De esta forma se mejorará la calidad y la apariencia para la satisfacción de los consumidores, generándose además el valor agregado. Con este propósito, el presente trabajo de investigación se plantea los siguientes objetivos:

1. Determinar el efecto del recubrimiento comestible en la variación del pH, acidez e índice de peróxidos en filetes de trucha arco iris conservado en refrigeración.
2. Determinar el efecto del recubrimiento comestible en la pérdida de humedad en filetes de trucha arco iris conservado en refrigeración.
3. Determinar la capacidad inhibitoria del desarrollo de *Pseudomona sp.* en filetes de trucha arco iris con recubrimiento comestible conservado en refrigeración.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Definición y características generales de los recubrimientos comestibles

Los materiales de los envases comestibles deben elegirse en función del tipo de alimento al que se aplicaran y sus principales mecanismos de deterioro de la calidad (Sothornvit y Krochta, 2005).

2.1.1. Definición del recubrimiento comestible

Se reporta las siguientes definiciones de recubrimientos comestibles: Es una capa delgada de material adherido en la superficie exterior de los alimentos, para garantizar su conservación por más tiempo y sea apto para el consumo. También es una sustancia aplicada en el exterior de los alimentos, de manera que el producto final sea apto para el consumo humano (Baldwin, Hagenmaier y Bai, 2012). Las películas y el recubrimiento comestible, como cualquier tipo de material son utilizados para recubrir alimentos, con el fin de prolongar su vida útil y que puede ser ingerido con ellos. En general su grosor es inferior a 0,3 mm (Pavlath y Orts, 2009). Es una película que envuelve al alimento y que puede ser consumida como parte del mismo (Pastor, Vargas, y González-Martínez, 2005). Es una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento, generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora de recubrimiento, con la intención de protegerlo o mejorarlo. En ambos casos, son matrices continuas formuladas a base de lípidos, proteínas o carbohidratos o mezclas de estos componentes, que les confieren diferentes propiedades fisicoquímicas, mecánicas y de barrera (Ramos-García, Bautista-Baños, Barrera-Necha, Bosquez-Molina, Alia-Tejagal, y Estrada-Carrillo, 2010).

Los films son estructuras independientes, que han sido previamente elaboradas y posteriormente aplicadas al alimento. En cambio, los recubrimientos comestibles o envueltas son finas capas de material formadas directamente sobre la superficie de un

producto alimenticio con la intención de protegerlo o mejorarlo de alguna manera (Krotcha, 2002). Un recubrimiento comestible puede calificarse como un “envase comestible” porque es parte integral del alimento y que se ingiere junto con este alimento (Debeaufort y Voilley, 1995).

2.1.2. Características y propiedades de los recubrimientos comestibles

El uso de los recubrimiento comestible en productos alimenticios, especialmente si son altamente perecederos, está condicionado por parámetros como el costo, la disponibilidad, la funcionalidad; propiedades mecánicas como flexibilidad y tensión; propiedades ópticas como brillo y opacidad; la barrera que proporcionan contra el flujo de gases, la aceptabilidad sensorial y la resistencia estructural contra agua y microorganismos (Baldwin *et al.*, 2012). Los aditivos son agregados durante el proceso de elaboración de los RC y pueden ser agentes antioxidantes, aromatizantes y antimicrobianos, pigmentos o nutrimentos (Pascall y Lin, 2013).

Un recubrimiento comestible debe cumplir con exigencias de calidad, seguridad y rendimiento. Uno de sus principales propósitos del recubrimiento comestible es mejorar la apariencia del producto, brindando brillo y a veces color, que debe mantenerse a través de los procesos de transporte, manejo y comercialización. Para que su aplicación sea exitosa en el producto, debe secar rápidamente, no debe producir espuma y se debe remover fácilmente de los equipos. Una vez aplicado no debe agrietarse, decolorarse o caerse durante la manipulación: No debe reaccionar de manera adversa con los alimentos ni poner en riesgo la calidad sensorial del producto, pero debe restringir el paso de gases como O₂ y CO₂. Durante el almacenamiento el recubrimiento comestible no debe fermentar, coagular, separarse, desarrollar sabores desagradables, entre otras anomalías. Los recubrimiento comestible deben ser legales, inocuos, aceptables sensorialmente y deben proporcionar un valor agregado al alimento (Yuan, Zhang, Tang,

y Sun, 2016; Shahidi, 2015; Baldwin *et al.*, 2012).

Las propiedades de barrera de los recubrimientos comestibles deben ser: Buena adhesión a la superficie del alimento, buena permeabilidad al vapor de agua y solutos, semipermeable para mantener el equilibrio interno de gases, retarda la transferencia de gases (O_2 , CO_2 , C_2H_2). Sus propiedades físico-químicas son: retiene los compuestos volátiles, controla la oxidación de los alimentos, proporciona la estabilidad estructural, previene de los daños mecánicos durante la manipulación, medio de incorporación de aditivos y mejora el atributo nutricional y funcional en el producto fresco (Escobar, Marquéz, Repiso, Sala, y Silvera, 2008).

La función principal de recubrimiento comestible es proteger al producto de daños mecánicos, físicos, químicos y actividades microbiológicas que lo deterioren (Falguera, Quintero, Jiménez, Muñoz, y Ibarz, 2011). Entre otras funciones del recubrimiento comestible se mencionan las siguientes: Constituir una barrera semipermeable a los gases y al vapor de agua (Krochta y De Mulder-Johnston, 1997); mejorar las propiedades mecánicas y de manejo de los alimentos (Baldwin *et al.*, 2012), ayudar a mantener la integridad estructural de producto que envuelven, proteger los alimentos del crecimiento microbiano superficial y de los cambios químicos por acción de la luz (Gennadios, Hanna, y Kurth, 1997), retener compuestos volátiles (Nisperos-Carriedo y Shaw, 1990; Miller, Upadhyaya y Krochta 1998), reducir el transporte de solutos y la migración de aceites y grasas, actuar de medio para aditivos alimentarios o sustancias activas como antimicrobianos, antioxidantes, aromatizantes, colorantes. La comestibilidad y biodegradabilidad son dos funciones extra, propias de los envases comestibles, y ausentes de manera conjunta en los sistemas de envasado convencional (Debeaufort y Voilley, 1995; Krochta, 2002).

2.1.3. Composición de los recubrimientos comestibles

Los recubrimientos comestibles se elabora de cuatro tipos principales de materiales: lípidos, resinas, polisacáridos y proteínas (Baldwin, Nisperos, y Baker, 1995), que son altamente biodegradables, pueden ser ingeridos, tienen bajo costo, disminuyen la contaminación ambiental, mejoran o mantienen la calidad, constituyen una barrera semipermeable a los gases y al vapor de agua (Krochta y De Mulder-Johnston., 1997). De acuerdo a la base polimérica utilizada, los recubrimientos comestibles se dividen en: hidrocoloides, lípidos y mezclas o sistemas multicomponentes. Los hidrocoloides incluyen polisacáridos (derivados de celulosa, alginatos, pectinas y almidones entre otros) y proteínas (del lactosuero, de soja, ovoalbúmina, etc.); los lípidos incluyen ceras, acilgliceroles y ácidos grasos; y las mezclas contienen componentes lipídicos e hidrocoloidales. El tipo de componente utilizado determinará las propiedades de cada película o recubrimiento (Krochta, 2002; Baldwin *et al.*, 2012).

2.1.4. Hidrocoloides

Los hidrocoloides son biopolímeros de elevado peso molecular que se dispersan en el agua, que incluyen a los polisacáridos y las proteínas que forman redes moleculares cohesionadas por una alta interacción entre sus moléculas por medio de puentes hidrógeno, de esta manera, el polímero pierde cohesión y aumenta la permeabilidad tanto al agua como a los gases (Sothornvit y Krochta, 2005; McHugh y Krochta, 1994a).

Los hidrocoloides poseen buenas propiedades de barrera al oxígeno, dióxido de carbono y lípidos. La mayoría de estas películas tienen propiedades mecánicas deseables para productos frágiles, son sensibles al calentamiento y no aportan sabor (Fennema, 2006); pero no impiden suficientemente la transmisión de vapor de agua (Pastor *et al.*, 2005). La cohesión molecular de los hidrocoloides les confiere buenas propiedades

mecánicas, pudiendo ejercer de matriz estructural del recubrimiento y ofrecen buenas propiedades de barrera frente a los gases O₂ y CO₂ (Guilbert y Biquet, 1995).

a. Polisacáridos

Las pectinas, el almidón y la celulosa son polisacáridos presentes en la mayoría de las plantas. Retardan la rancidez oxidativa, la absorción de humedad, son estables, transparentes, flexibles, generalmente permeables al gas y sensibles a la humedad (Guzmán, Acevedo, Romero, y Estrada, 2015). En cuanto a la permeabilidad al O₂ y CO₂ condiciona la creación de atmósferas modificadas en el interior del alimento, lo que se traduce en un aumento de la vida útil del producto (Parra, Tadini, Ponce, y Lugão, 2004).

La formación de recubrimientos de polisacáridos implica frecuentemente la formación de un gel y/o la evaporación del solvente (García, Martino y Zaritzky, 1998). Los polisacáridos tienen buenas propiedades de barrera a los gases y pueden adherirse a superficies de frutas y vegetales, por lo que se han elaborado películas de pectina, almidón, alginatos, quitosano, carragenina, gomas y mezclas (Baldwin *et al.*, 1995). Los carbohidratos son ampliamente utilizados en la industria alimentaria como estabilizantes, espesantes y gelificantes. Además, debido a su capacidad de polimerización, pueden utilizarse también en la elaboración de envases comestibles (Guilbert y Biquet, 1995).

b. Proteínas

Debido a esta diversidad molecular, las proteínas tienen un potencial considerable para la formación de enlaces que difieren con respecto a su posición y naturaleza (Pereda, Roura, Marcovich, y Aranguren, 2014); lo que le confiere un amplio abanico de propiedades funcionales, especialmente un elevado potencial de unión a nivel intermolecular (Bourtoom, 2009).

Los recubrimientos comestibles elaborados con proteína poseen varias propiedades funcionales, especialmente un elevado potencial de barrera contra gases como el oxígeno, vapor de agua, algunos aromas y mejoran las propiedades mecánicas del recubrimiento. La proteína de la leche tiene la capacidad para actuar como antioxidante natural (López-Enríquez, Ruano, Yurani, Andrade, y Osorio-Mora, 2016). Un valor añadido en la utilización de proteínas de origen animal y vegetal, en la elaboración de películas y recubrimientos para alimentos, es su capacidad para actuar como antioxidantes naturales (Cervato, Cazzola, y Cestaro, 1999; Skibsted, Risbo, y Andersen, 2010).

El caseinato sódico es un polímero soluble en agua, es obtenido mediante la precipitación ácida de la caseína que es la proteína mayoritaria en la leche de vaca; en cambio los caseinatos comerciales se obtienen precipitando la leche descremada a pH 4.6 y 20°C. Las caseínas coaguladas en medio ácido se solubilizan a un pH 6.7 utilizando hidróxido de sodio, potasio, calcio o magnesio, se pasteuriza la dispersión y se somete a un secado por aspersion para obtener los productos de caseinato. El caseinato de sodio es comercialmente disponible, obtenido por la precipitación ácida de la caseína, la principal proteína en la leche de vaca (24-29 g/l) (Audic y Chaufer, 2005; Baldwin *et al.*, 2012). El caseinato es un material renovable y biodegradable, pero además debido a las características de la caseína (una proteína globular, no estructurada) es un buen formador de películas que muestran transparencia, buenas propiedades de barrera a los gases (O₂), elevada calidad nutricional y excelentes propiedades sensoriales (Chick y Ustunol, 1998). Las películas comestibles de caseinato de sodio son barreras a la oxidación lipídica muy efectivas y permeables al vapor de agua, lo que coincide con el carácter hidrofílico de la proteína (Bonilla, Atarés, Vargas, y Chiralt, 2012). La caseína tiene dos desventajas frente a otros biomateriales a base de proteínas, poseer limitadas propiedades mecánicas y tener poca resistencia al agua, por lo cual se adiciona plastificantes como el glicerol

que permitan mejorar la elasticidad y la flexibilidad de sus películas (Chen, 1995). La caseína forma películas en soluciones acuosas debido a su estructura desordenada y a la capacidad para formar gran número de puentes de hidrógeno, interacciones y puentes hidrofóbicos (Requena, Agüera y Requena, 2007) Las películas preparadas con caseína tienen un aspecto ligeramente lechoso debido a la presencia de micelas de caseína intactas (Tomasula, Parris, Yee, y Coffin, 1998).

2.1.5. Recubrimientos con lípidos

Los lípidos más utilizados en la formulación de recubrimientos comestibles son las ceras (cera de abeja, candelilla, carnauba y parafina), los ácidos grasos y los aceites vegetales (cacahuete, maíz y soja), siendo los más efectivos la parafina y la cera de abeja. La permeabilidad al vapor de agua disminuye cuando la concentración de fase hidrofóbica aumenta en la composición de la envuelta (Bourtoom, 2008).

La naturaleza hidrofóbica de los compuestos lipídicos explica las excelentes propiedades como barrera frente a la humedad de las películas y recubrimientos de grasas y derivados. Sin embargo, su falta de estabilidad e integridad estructural hace que presenten malas propiedades mecánicas, formando recubrimientos quebradizos (Gontard, Marchesseau, Cuq, y Guilbert, 1995). Los recubrimientos formados por lípidos (compuestos hidrofóbicos) y no poliméricos con buenas propiedades barrera para la humedad, pero con poca capacidad para formar films, reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y el sabor (Pastor *et al.*, 2005). Si el recubrimiento es muy grueso, su efecto sobre la transmisión de O₂ y CO₂ puede dar lugar a procesos fisiológicos no deseados como la respiración anaeróbica, lo que producirá una disminución en la calidad del producto (Pavlath y Orts, 2009).

2.1.6. Películas de componentes compuestos

Los lípidos, solos o en emulsión con otros compuestos, se utilizan como recubrimientos comestibles para carnes, pescado, frutas, vegetales, semillas, caramelos, alimentos frescos, curados, congelados o procesados (Rhim y Shellhammer, 2005). Los lípidos deben asociarse con otras sustancias formadoras de polímeros, como proteínas o derivados de la celulosa (Debeaufort, Martín-Polo, y Voilley, 1993).

La naturaleza hidrofóbica de los compuestos lipídicos explica las excelentes propiedades como barrera frente a la humedad de las películas y recubrimientos de grasas y derivados. Sin embargo, su falta de estabilidad e integridad estructural hace que presenten malas propiedades mecánicas, formando recubrimientos quebradizos (Gontard *et al.*, 1995). Los recubrimientos formados por lípidos (compuestos hidrofóbicos) y no poliméricos con buenas propiedades barrera para la humedad, pero con poca capacidad para formar films, reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y el sabor (Pastor *et al.*, 2005). Si el recubrimiento es muy grueso, su efecto sobre la transmisión de O₂ y CO₂ puede dar lugar a procesos fisiológicos no deseados como la respiración anaeróbica, lo que producirá una disminución en la calidad del producto (Pavlath y Orts, 2009).

2.1.7. Plastificantes

Un plastificante es una sustancia estable, de baja volatilidad y elevado punto de ebullición que, al ser adicionado a la base polimérica modifica las propiedades físicas y/o mecánicas del mismo, modifica la organización tridimensional, disminuye las fuerzas de atracción intermoleculares e incrementa la movilidad de las cadenas actúa sobre los puentes de hidrogeno relajando la estructura, mejorando la flexibilidad, dureza, disminuyendo la formación de escamas y grietas en la superficie de las películas comestibles, haciéndolos menos quebradizos para evitar la rotura durante la

manipulación en vitrina y el almacenamiento (Baldwin *et al.*, 2012; Yuan *et al.*, 2016). La mayoría de las películas y envueltas elaboradas con proteínas son quebradizas cuando no se les añade un plastificante (Krochta, 1997).

Los plastificantes más utilizados en la elaboración de envueltas comestibles, aparte del agua, que puede ser considerada como el plastificante natural, son: los polioles como el glicerol, el propilenglicol y los monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos, como el sorbitol, la sacarosa y la glucosa (Cuq, Gontard, Cuq, y Guilbert, 1998). El glicerol, debido a su naturaleza hidrofílica, aumenta las fuerzas moleculares entre cadenas de polímeros adyacentes, mejorando las propiedades mecánicas de las películas, garantiza como barrera a la pérdida de agua en los alimentos (Escobar *et al.*, 2008). Los valores de alargamiento y de formación en los recubrimientos elaborados de glicerol combinados con proteína son resistentes a la tracción. El glicerol, también actúa creando una distribución heterogénea de zonas de unión dentro de la matriz de proteínas para hacer más flexible al recubrimiento comestible (Chang y Nickerson, 2013).

La adición de plastificantes tiene como objetivo mejorar la flexibilidad y consistencia de las envueltas, haciéndolas menos quebradizas para evitar su rotura durante la manipulación y el almacenamiento, modifica las propiedades funcionales de las envueltas, incrementando la extensibilidad, distensibilidad y flexibilidad y disminuyendo la cohesión, elasticidad, resistencia mecánica y rigidez. La rigidez de los recubrimientos se debe las fuerzas de cohesión que estabilizan la matriz polimérica de polisacárido o proteína (Sothornvit y Krochta, 2000; McHugh y Krochta, 1994b).

En función de las características requeridas del recubrimiento, se pueden utilizar un tipo u otro de plastificante o una combinación de ambos. La selección de un plastificante requiere la consideración de tres criterios básicos, aparte del coste: a) La compatibilidad, depende de la polaridad, forma y tamaño del plastificante, las mejores

compatibilidades son cuando el plastificante y el polímero tienen la estructura química similar; b) La eficiencia, los buenos plastificantes proporcionan una elevada plastificación a bajas concentraciones y una elevada difusión e interacción con el polímero; c) La permanencia, depende del tamaño de la molécula y del coeficiente de difusión en el polímero. (Sothornvit y Krochta, 2005; Baldwin *et al.*, 2012).

2.1.8. Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que al estar presentes en los alimentos en concentraciones muy bajas, retardan, controlan y previenen la oxidación. La oxidación induce al proceso de deterioro de la calidad de alimentos. Los antioxidantes para su incorporación en alimentos productos deben ser: soluble, incluso en grasas; no debe impartir un color extraño, olor o sabor el tiempo de almacenamiento; debe ser eficaz para al menos un año a una temperatura de entre 25 y 30 ° C; debe ser estable al calor de procesamiento y proteger el producto terminado; debe ser fácil de incorporar en los alimentos y debe ser eficaz a bajas concentraciones (Pokorny, Yanishlieva y Gordon, 2001; Shahidi, 2015).

El hidroxitolueno (BHT) es un antioxidante sintético, toxicológicamente examinado para su uso seguro en la dieta humana. El BHT es un antioxidante primario, porque reacciona directamente con los radicales lipídicos para convertirlos en productos no radicales más estables, son considerados también como antioxidantes para rotura de cadena, es decir, que terminan la propagación de la oxidación de lípidos y la escisión de los ácidos grasos disminuyendo la formación de ácidos grasos volátiles productos de descomposición. Se utilizan comúnmente en los alimentos y, en general se considera seguro en concentraciones bajas (menor a 200 mg por kg de grasa) (Shahidi, 2015; Skibsted *et al.*, 2010). El uso principal del BHT es como antioxidante para impedir la autooxidación de los lípidos en los alimentos e impiden el enranciamiento, decoloración y

se considera que poseen actividad antimicrobiana, siendo inhibidores de los Gram positivos, Gram negativos, levaduras y mohos (Jay, 2002).

Un valor añadido en la utilización de proteínas en la elaboración de películas y recubrimientos para alimentos, es la capacidad para actuar como antioxidante natural. Diversos estudios han descrito la actividad antioxidante de proteínas de origen animal y vegetal como las proteínas de la leche (Skibsted *et al.*, 2010). Para que un aminoácido, actúe individualmente como antioxidante y evite la oxidación lipídica, debe ser oxidado preferentemente frente a los ácidos grasos poliinsaturados. La reactividad de diferentes aminoácidos frente a la oxidación con radicales hidroxilo, es en el siguiente orden de mayor a menor capacidad de oxidación: cisteína, triptófano, tirosina, metionina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, prolina (Elías, Mc Clements y Decker, 2005; Sharp, Becker y Hettich, 2004).

2.1.9. Métodos de aplicación de los recubrimientos comestibles

La aplicación de los envases comestibles sobre alimentos se puede realizar de dos maneras: una directa, aplicando directamente una solución de la envuelta, mediante diversas técnicas, de manera que el recubrimiento se deposite en la superficie del alimento, y otra indirecta, mediante la formación de una película independiente con la que se envolverá posteriormente el alimento (Gontard, Duchez, Cuq, y Guilbert, 1994). Para la aplicación directa se han desarrollado diversos métodos como la inmersión, el pulverizado o la aplicación en forma de espuma, entre otros métodos (Cutter y Sumner, 2002; Tharanathan, 2003). La etapa de aplicación va seguida normalmente de una etapa de secado o enfriamiento para fijar la envuelta, acelerar el proceso o eliminar el exceso de agua (Gontard *et al.*, 1994).

Para la aplicación en forma de espuma, debe añadirse un agente espumante a la composición del envase o suministrar aire comprimido al tanque con la solución. El

método de inmersión se recomienda para productos que requieren la aplicación de varias capas de recubrimiento o cuando el producto presenta una superficie irregular. Tras sumergir el alimento, el exceso de envuelta se elimina normalmente por goteo y la solución restante se solidifica sobre el producto. Cuando se requiere una envuelta más uniforme o de un espesor muy fino, el procedimiento recomendado es la pulverización (Baldwin *et al.*, 2012; Cutter y Sumner, 2002). Debido a la alta presión aplicada en este método (0,41-0,55 MPa), se requiere un menor gasto de solución formadora de película para obtener recubrimientos uniformes (Tharanathan, 2003).

Cuando un polímero se aplica sobre una superficie o matriz, existen dos fuerzas que operan: la primera, se genera entre las moléculas del polímero formadoras de la película (cohesión); la segunda, entre la película y el sustrato (adhesión). El grado de cohesión afecta a las propiedades de la película o recubrimiento, tales como: la densidad, compactación, porosidad, permeabilidad, flexibilidad y fragilidad de la película. De esta forma, una cohesión estructural elevada se traduce en una reducción de la flexibilidad, porosidad y permeabilidad a los gases y a los solutos (Guilbert y Biquet, 1995; Chen, 1995). La cohesión depende de la estructura química del biopolímero, del proceso de elaboración, parámetros empleados (temperatura, presión, tipo de solvente y dilución, técnica de aplicación, procedimiento de eliminación del solvente, etc.), presencia de plastificantes, agentes ligantes y del espesor final de la película. La adhesión del recubrimiento sobre la superficie del alimento depende principalmente de la afinidad entre ambos, viene determinada por su naturaleza y no por el método de aplicación. El uso de sustancias, como los tensoactivos en su formulación, puede permitir la adhesión del recubrimiento a la superficie de un producto por el que presentaba una baja o nula afinidad (Debeaufort *et al.*, 1998; Baldwin *et al.*, 2012; Escobar *et al.*, 2008).

2.2. Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

La trucha es la especie de los salmónidos que más se adapta a las aguas de la región andina. De cuerpo fusiforme, cubierto de escamas y mucus; el dorso es de color azulado y los flancos laterales de color plateado iridiscente; la parte ventral es de color cremoso. Tanto en el dorso como en los flancos presenta manchas lunares negras y marrones. El macho se diferencia de la hembra por tener el cuerpo más alargado y la cabeza triangular, en cambio la hembra tiene el cuerpo más ensanchado y cabeza redonda (Rodríguez, Carriles, Cruz, y Aubourg, 2007; Ortíz, 2015).

2.2.1. Generalidades

La trucha arco iris, que tiene un peso de 240 a 400 g se ha extendido ampliamente en la acuicultura por su precocidad, buen comportamiento en diversas condiciones de clima, facilidades de cultivo en cautiverio, menor voracidad que otras especies y alta convertibilidad. Posee cualidades gastronómicas muy favorables, ya que se consume en fresco, entera o fileteada, ahumada o procesada en paté, enlatada o en filetes apanados (Vergara, 2005). La trucha es un pez de color gris cubierto de escamas delgadas plateadas que con el agua y el sol dan origen a su nombre “arco iris”. En granjas pueden alcanzar un tamaño promedio de 40cm a 60cm. Su peso puede ser de 300g a 400g. Las hay hasta de dos kilos y tienen un promedio de vida de 1 a 3 años. La trucha que vive en ríos puede llegar a medir de 50cm a 90 cm de largo, pesar hasta 15Kg. y alcanzar un promedio de vida de 5 años.

2.2.2. Taxonomía de la trucha arco iris

Reyno : Animalia

Sub Reino : Metazoa

Phylum : Chordata

Sub Phylum : Vertebrata

Clase : Osteichthyes

Sub Clase : Actinopterygii

Orden : Isospondyli

Sub Orden : Salmoneidei

Familia : Salmonidae

Género : *Oncorhynchus*

Especie : *Oncorhynchus mykiss*

Nombre Vulgar : “Trucha arco iris”

Fuente: CEDEP (2009).

2.2.3. Composición química de la carne de trucha

Su carne es de alto valor nutritivo y muy higiénica porque no puede vivir en aguas contaminadas y con falta de oxígeno (Gutiérrez, Soto, y Santillán, 2005; Mantilla, 2004). El contenido graso depende de la especie, edad, estado nutricional y desarrollo gonadal. Las características tecnológicas de las especies pesqueras se ven afectadas por el contenido de lípidos, por tal razón se clasifican las especies según el porcentaje de grasa en: magras porcentaje de grasa menor a 2.5%, semigrasas entre 2.5% - 9.5% y grasas mayor que 9.5% (Ortíz, 2015).

Tabla 1. Composición química de la carne de trucha arco iris por 100g.

Composición química	<i>Moreiras et al. 2006</i>	Ortiz, 2015
Agua (g)	81.3	-
Energía (Kcal)	90	-
Proteínas (g)	15.7	-
Lípidos (g)	3	3
Sodio (mg)	-	40
Calcio (mg)	-	15
Hierro (mg)	-	1
Carbohidratos (g)	0	-
Almidón (g)	0	-
Azúcares (g)	0	-
Almidón (g)	0	-

Fuente: (Moreiras, Carbajal, Cabrera, y Cuadrado, 2006; Ortíz, 2015).

2.3. Deterioro de los productos pesqueros

El pescado por ser una excelente fuente de proteína de alta valor nutritivo debido a su composición de aminoácidos es uno de los productos alimenticios más altamente perecederos (Shamloofar, Hoseini, Kamali, Mtalebi, y Poorgholm, 2015).

2.3.1. Autólisis

Al producirse la muerte las truchas Arco iris las enzimas, dividen su actividad en hidrolítica y oxidativa. Después de la captura la textura del pescado es flexible, posteriormente se contrae (rigor mortis), posteriormente el músculo vuelve a ser flexible. La vía de la producción de energía después de la muerte es la glucólisis, anaerobia produce dióxido de carbono, agua, adenosin trifosfato, ácido láctico y ácido pirúvico. Los factores que determinan la cantidad de glucógeno almacenado en el músculo del pescado

son: el estado nutricional del pez, la cantidad y grado de agotamiento en el momento de la muerte (Ortíz, Vivanco, y Aubourg, 2014; Rodríguez, Carriles, Cruz y Aubourg, 2007).

Tras el rigor mortis, el tejido muscular se reblandece y los cambios autolíticos del músculo son: la degradación del ATP, en ADP, AMP, IMP (inosina monofosfato) e hipoxantina; cambios autolíticos debido a enzima proteolítica, relacionado con el ablandamiento extensivo del tejido muscular al almacenar en refrigeración; otro cambio es desarrollo de la lipólisis por presencia de lipasas o fosfolipasas que hidrolizan triglicéridos y fosfolípidos, conduciendo a la formación de ácidos grasos libres, digliceridos, monogliceridos, bases aminas. La manipulación física acelera cambios autolíticos (Aubourg, 1999; Ortíz, Palma, Natalia, y Aubourg, 2008)

2.3.2. Actividad de la acidez en el pescado

El pescado después del post mortem tiene un pH inicial promedio de 6.5 a 7, debido a la acumulación de ácido láctico; varía de acuerdo a la formación de compuestos básicos (amonio y aminas) que se generan por la actividad de los microorganismos (Ortíz *et al.*, 2014).

El contenido de carbohidratos en el pescado es despreciable, es por ello que la caída del pH es limitada, la misma que está asociada a la producción de ácido láctico durante el rigor mortis, y que además éstas se agotan durante la captura del pescado (ICMSF, 2001). Este hecho tiene dos consecuencias importantes: la primera limita el grado de acidificación post-mortem de los tejidos, de modo que el pH definitivo no suele bajar de 6.0, ejerciendo de ese modo un efecto taponador, que permite el crecimiento de bacterias sensibles a pH ácido y la segunda las bacterias existentes en la superficie del pescado recurren inmediatamente a utilizar la mezcla soluble de sustancias nitrogenadas, que son fácilmente asimilables (Ortiz, Lemus-Mondaca, Vega-Gálvez, Ah-Hen, Puente-Díaz,

Zura-Bravo, y Aubourg, 2013; Ortíz *et al.*, 2008).

2.3.3. El pH en el pescado

Las enzimas del músculo de pescado son activas en las fases iniciales aun cuando está en refrigeración, se experimentan cambios en la estructura muscular, alterándose parámetros como el pH, proteínas, lípidos, compuestos amínicos, los cuales determinan su vida de almacenamiento (Rodríguez *et al.*, 2007). Al morir los animales y cesar el aporte de oxígeno al músculo, la glucólisis anaerobia del glucógeno almacenado es la única ruta para la producción de energía cuando el corazón deja de latir, llegándose a la acumulación de ácido láctico. Como consecuencia el pH del músculo disminuye en promedio pH de 6.1 a 6.5. La glucólisis post-mortem continúa mientras hay glucógeno disponible hasta que se alcanza un pH en el que se inhibe a las enzimas glucolíticas (ICMSF, 2001; Jay, 2002).

La reducción del pH debido a la hidrólisis del ATP es uno de los acontecimientos bioquímicos que se manifiestan en el tejido muscular post mortem. Son importantes tanto la magnitud como la velocidad de cambio del pH. Debido a que si el pH desciende lentamente y la temperatura de la canal es todavía alta, se produce una considerable desnaturalización de las sarcoplásmicas absorbiéndose las proteínas contráctiles, este fenómeno disminuye la capacidad de estas para fijar agua (Pokorny *et al.*, 2001; Molina, Garro y Judis, 2000). Es importante el pH último, cuando este es bajo proporciona resistencia al desarrollo microbiano. Ocurre a veces un pH último elevado que puede ser producido por algún estrés ante mortem, casi siempre de naturaleza prolongada como la captura, que agota las reservas de glucógeno y limita la glucólisis post mortem (Valls, Paredes, González, y González, 2004). La disminución post mortem en el pH del músculo de pescado afecta a las propiedades físicas del músculo. A medida que el pH disminuye, se reduce la carga neta de la superficie de las proteínas musculares, causando su

desnaturalización parcial y disminuyendo su capacidad de retener el agua (Jay, 2002).

2.3.4. Oxidación lipídica

Tres tipos de reacciones pueden provocar la alteración de los lípidos: hidrolíticas, oxidativas y de entrecruzamiento. De todas ellas, las alteraciones de oxidación son las que han acaparado mayor atención por tener una mayor incidencia sobre la calidad y valor nutritivo de un producto (Frankel, 1991; Harris y Tall, 1994). La oxidación lipídica reduce la calidad y la vida útil de los productos cárnicos y puede ser acelerada por: la temperatura, calor, luz, humedad relativa. La oxidación implica la participación de los ácidos grasos insaturados y el oxígeno formándose hidroperóxidos de los ácidos grasos que acaban por descomponerse con el tiempo y degradándose formándose aldehídos, cetonas, alcoholes, pequeños ácidos carboxílicos que originan olores (Ortíz *et al.*, 2014; Badui, 2013). Las grasas más insaturadas son las del pescado, que necesitan menos tiempo para absorber la misma cantidad de oxígeno y se oxidan más rápido. La oxidación lipídica ya sea por vía enzimática o no enzimática, es uno de los mecanismos responsables de la degradación de los lípidos y la alteración del músculo de los pescados (Aubourg, Rodríguez, Tabilo, y Pérez, 2013).

Al igual que en las reacciones del tipo Maillard entre azúcares y aminoácidos, las interacciones entre lípidos oxidados y proteínas afectan al valor nutritivo y sensorial de los alimentos (Hidalgo, Zamora y Girón, 1992). El valor nutritivo puede ser afectado en los siguientes aspectos: a) descenso del valor biológico de las proteínas (bloqueo de los grupos e-amino en lisina; oxidación de los grupos sulfuro en metionina; cambios en otros aminoácidos); b) cambios de digestibilidad (descenso de la velocidad de lipólisis por las lipasas; descenso de la velocidad y extensión de la proteólisis por las enzimas digestivas); c) formación de sustancias tóxicas producidas por la autooxidación lipídica

(hidroperóxidos lipídicos y aldehídos de bajo peso molecular (Aubourg, 1999; Molina *et al.*, 2000).

2.3.5. Índice de peróxido

Para estabilizar el grado de calidad de una grasa se incorporan antioxidantes que frenan los procesos de autooxidación, en la que los radicales OH de los ácidos grasos insaturados comienzan a formar peróxidos y aldehídos, los peróxidos se determinan por medio de pruebas de índice de peróxidos en las primeras etapas, en cambio las segundas se determinan por pruebas Ácido tiobarbúrico. Los radicales peróxidos son compuestos primarios resultantes de la oxidación lipídica, los resultados se expresan como miliequivalentes de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de materia grasa de muestra (Rodríguez, Cruz, Paseiro, y Aubourg, 2011; Shahidi, 2015).

Al consumir alimentos con altos índices de peróxidos el tracto digestivo puede disminuir la digestibilidad, tener un efecto irritante de la mucosa y producir mal absorción. Por otro lado la oxidación de los lípidos reduce el valor nutritivo del alimento produciendo compuestos volátiles desagradables, debido a los ácidos grasos poliinsaturados que son sensibles a reacciones de oxidación (Badui, 2013; Pokorny *et al.*, 2001).

2.3.6. Actividad microbiana

La actividad microbiana es el responsable principal de su deterioro. Inicialmente, el músculo de un pescado fresco es estéril, pero es fácil de colonizar durante el almacenamiento si las bacterias sobre las superficies empiezan a proliferar. La flora microbiana del músculo del pescado depende del medio ambiente que circunda el pez vivo y su alimentación. Las bacterias del pescado fresco se localizan en la superficie externa (piel y branquias) y en las vísceras. La carga microbiana de los peces vivos es un reflejo de la microflora de su entorno en el momento de su pesca o captura, pero se

modifica de acuerdo a la capacidad de los distintos microorganismos (principalmente bacterias) de multiplicarse en sub ambientes que constituyen la superficie de la piel, de las agallas y tracto digestivo (Aubourg *et al.*, 2013; Pereira de Abreu, Paseiro, Maroto, y Cruz, 2010; Rodríguez *et al.*, 2011).

Los recuentos digestivos varían dependiendo de las condiciones del agua y de la temperatura. Los pescados de aguas frías entre 10-15°C, generalmente dan recuentos de 10^2 a 10^4 ufc/cm² de piel y de superficie branquial. La carga microbiana intestinal varía mucho desde 10^2 en ayunas a 10^8 ufc /g en las especies bien alimentadas antes de la captura (Rodríguez *et al.* 2007). Las bacterias de los pescados de aguas templadas son principalmente las psicrotófas, que viven en aguas de temperaturas menores o iguales a 10°C, las más predominantes son Gram negativas con sus géneros *Pseudomona sp.*, *Shewanella sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Cytochaga sp.*, *Aeromonas sp.* y *Psychrobacter sp.*; siendo las dos primeras las bacterias corrientemente implicadas en la alteración predominante de la microflora de pescados (ICMSF, 2001; Jay, 2002; Guerrero, Tomé, Guerra, y Raybaudi, 2011).

2.3.7. *Pseudomona sp.*

La flora contaminante habitual del pescado refrigerado esta principalmente representado por la *Pseudomona sp.*, un bacilo psicrótrofo Gram negativo no esporógeno, que produce compuestos volátiles como aldehídos, cetonas, esterés y sulfuros no azufrados. Una vez que los carbohidratos sencillos se han agotado, las *Pseudomona sp.* utilizan como fuente de energía aminoácidos libres y compuestos nitrogenados como el H₂S de los aminoácidos que contienen azufre, NH₃ de varios aminoácidos e indol del triptófano (Guerrero *et al.*, 2011; ; Jouki, Yazdi, Mortazavi, Koocheki, y Khazaei, 2014b).

2.4. Estrategias para la conservación y diversificación del pescado de acuicultura

El factor temperatura resulta de especial importancia para frenar la velocidad de descomposición del pescado, ya que la velocidad con que se desarrollan las vías de alteración depende de la temperatura de procesamiento o almacenamiento (Jay, 2002).

2.4.1. La refrigeración

Tanto la actividad enzimática, como la microbiana están influenciadas por la temperatura de conservación, siendo su vida útil mayor cuando se almacena el pescado a bajas temperaturas. La temperatura de almacenamiento es el parámetro más importante que afecta la alteración de los alimentos sumamente perecederos. Las poblaciones microbianas durante el almacenamiento en refrigeración son dominadas por bacterias Gram negativas, debido a la incapacidad de las bacterias Gram positivas a sobrevivir y competir en temperaturas bajas (Iguane, 2014; Ortíz, 2015). Los primeros días de almacenamiento después del procesado inicial, la población microbiana predominante responsable de la alteración son las bacterias Gram negativas. La velocidad de alteración aumenta dependiendo del número inicial de psicrótrofos contaminantes y la temperatura de almacenamiento (Aubourg, 1999; Ortíz *et al.*, 2008).

2.4.2. Pérdida de humedad durante el almacenamiento en refrigeración

Una vez que la pieza de carne se enfría, el diferencial de presiones parciales se reduce, continuando la deshidratación superficial con una menor tasa. A mayor humedad relativa ambiental, menor será la tasa de evaporación. Las pérdidas de peso durante los primeros días de enfriamiento de canales pueden alcanzar valores del orden del 0.2%; mientras que el almacenamiento en refrigeración subsecuente de los canales, puede resultar en pérdidas de peso del 3% por día durante. El almacenado de las carnes a temperaturas bajas desnaturaliza la proteínas sarcoplásmicas, miofibrilares y disrupción de la estructura del músculo, desencadenando la disminución de la capacidad

de retención de agua de la fracción proteica (ICMSF, 2001; Guzmán, Acevedo, Romero y Estrada, 2015; Siddaiah, Reddy, Raju, y Chandrasekhar. 2001).

2.4.3. Envasado al vacío

La elección de un determinado sistema de envasado obedece fundamentalmente a la naturaleza del producto, porque si el producto a envasar es de bajo contenido graso y alto grado de humedad se debe de inhibir especialmente el crecimiento de los microorganismos. En cambio, si el producto es de alto contenido graso y de una baja actividad de agua, lo más importante es la protección contra la oxidación (Iguane, 2014; Etemadian, Shabanpour, Mahoonak, y Shabani, 2011).

En el envasado al vacío, el aire es eliminado de las bolsas impermeables, después se cierran estas bolsas, cuyo efecto es reducir la presión del aire residual desde 1.0 a 0.4 bar y de este modo es eliminado algo de O_2 . Durante el almacenamiento del producto alimenticio envasado al vacío se produce un aumento de CO_2 , como consecuencia de la respiración tanto del tejido como de la respiración microbiana, donde se consume O_2 y libera CO_2 en igual volumen. El envasado al vacío retarda la oxidación. Las carnes envasadas al vacío con pH elevado tienen vida comercial mucho más corta. El envasado al vacío de la carne refrigerada en películas de plástico de baja permeabilidad de los gases permite ampliar la vida de almacenamiento hasta unas 12 semanas (García, Gago y Fernández., 2006; Jay, 2002; Molina *et al.*, 2000).

La reducción del oxígeno en el envasado al vacío reduce drásticamente la presencia de *Pseudomona sp.* Mientras otros grupos de la microbiota bacteriana serán gradualmente seleccionadas hacia organismos tolerantes al CO_2 , lo que podrá contribuir a evitar el rápido deterioro y preservación de la calidad del producto final en vitrina y durante el almacenamiento (Soares, Oliveira, y Vicente, 2014). También, el envasado al vacío y la

refrigeración para empacar diversos alimentos, mejorando las condiciones de seguridad y el almacenamiento (Suárez, Pardo, Cortés, Catalina, y Rojano, 2009).



III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La etapa experimental de la investigación se realizó en los laboratorios de Pos Cosecha, Microbiología de Alimentos y Evaluación Nutricional de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Universidad Nacional del Altiplano. La investigación se dividió en tres partes: primero se elaboró el recubrimiento comestible, luego se realizó manualmente la inmersión de los filetes de trucha con los recubrimientos comestibles 1 y 2, después se almacenaron en refrigeración, todo esto se hizo en el laboratorio de Pos Cosecha; segundo, los análisis fisicoquímicos de los filetes de trucha arco iris se realizaron en el laboratorio de Evaluación Nutricional; y tercero, se concluyó con el análisis microbiológico de la *Pseudomona sp.* que se realizó en el laboratorio de Microbiología.

3.2. Material Experimental

Para la preparación del recubrimiento comestible se utilizó caseinato sódico, butilhidroxi tolueno (BHT) y glicerol, adquiridos de la empresa Química Service E.I.R.L. de Lima, con 100% de pureza.

3.3. Cosecha o captura de las truchas

Las muestras de trucha arco iris (12 hembras con un peso total de 4Kg), fueron proporcionadas por el Centro de Producción Pesquera Chucuito – Puno, cuya cosecha se realizó a las 6:00 am, utilizando malla de pescar, del criadero de jaulas ubicadas cerca a la orilla del Lago Titicaca. Todas las truchas pertenecían a una jaula de adultas, previamente seleccionadas y aptas para la comercialización, de color típico, sexo hembra, doce meses de edad (siembra de ovas - Agosto del 2014). Luego fueron transportados al Laboratorio de Post Cosecha en una caja de poliestireno conteniendo hielo picado, en el transcurso de 60 minutos. Inmediatamente se realizó el control biométrico de dichas

muestras, registrándose pesos de 155.9g hasta 291.9g, 5cm a 7cm de ancho y 22.8cm a 30cm de longitud.

3.4. Elaboración del recubrimiento comestible

El recubrimiento comestible se adaptó de López *et al.* (2016), se elaboró diluyendo 120g de caseinato sódico en 1500ml de agua destilada, adicionando glicerol 36g (plastificante) en una proporción de 1:0.3 (caseinato sódico:glicerol) y 0.1% (3.312g) de butilhidroxi tolueno (BHT), constituyendo el recubrimiento comestible 1; el recubrimiento comestible 2 se elaboró diluyendo 120g de caseinato sódico en 1500ml de agua destilada, adicionando glicerol 36g (plastificante) en una proporción de 1:0.3 (caseinato sódico:glicerol) y 0.2% (6.624g) butilhidroxi tolueno (BHT). Ambas mezclas se licuaron por un minuto en forma separada, para glasear a los filetes de trucha después de 5 minutos.

3.5. Preparación de los filetes de trucha

Para la preparación de los filetes de trucha se aplicó la metodología que fue adaptada de Shamloofar *et al.* (2015) cuyo proceso se describe a continuación.

a) Recepción

Se realizó la evaluación de las condiciones físicas como los cortes y heridas que pueden facilitar el acceso de bacterias acelerando la pérdida de calidad.

b) Lavado

El lavado tanto de las truchas, materiales y equipos se realizó a chorro con una mezcla desinfectante, previamente preparada de 2 ppm de hipoclorito de sodio al 4.9% en 2 litros de agua, con el objeto de eliminar mucus y cuerpos extraños adheridos al pescado.

c) Enfriamiento

Para este procedimiento se preparó una mezcla en función al peso de la materia prima, cuyas proporciones fueron 2:2:2, correspondientes a kilogramos de materia prima, litros de agua y kilos de hielo respectivamente, adicionando a esta mezcla 2 ppm de hipoclorito de sodio. Las truchas se mantuvieron sumergidas en dicha mezcla durante una hora.

d) Eviscerado

El eviscerado se realizó mediante un corte longitudinal en la zona ventral de la trucha, procurando evitar laceraciones en los intestinos y en las paredes internas de la carcasa, con el fin de evitar la contaminación microbiana de los músculos.

e) Desangrado y lavado

Las truchas se sumergieron íntegramente dentro de un lavador conteniendo agua potable, a una temperatura de 1°C. El desangrado se realizó extrayendo los riñones y masajeando la sangre contenida en las venas que corren a lo largo de la columna vertebral. Luego, se concluyó con el lavado, dejándolas bien limpias a las truchas.

f) Fileteado

El fileteado de las truchas se realizó en una tabla de polietileno sobre una mesa de acero inoxidable, utilizando un cuchillo, todos desinfectados con la solución de hipoclorito de sodio. La piel y los restos óseos fueron retirados con pinza. La biometría promedio de cada uno de los filetes de trucha arco iris fueron: largo (16 cm), ancho (5 cm) y peso (60 g). De cada trucha se obtuvo 2 filetes, haciendo un total de 24 filetes.

g) Lavado y oreado

El músculo de la trucha produce mucus, por lo que se realizó el último lavado con una solución de agua e hipoclorito de sodio (2 ppm) en una proporción de 1:1.5 respectivamente para lavar 1 kg de trucha.

h) Inmersión

Todos los filetes de trucha (24) fueron recubiertos por el método de inmersión con dos formulaciones de recubrimiento comestible: 8 filetes con recubrimiento comestible 1, 8 filetes con recubrimiento comestible 2 y 8 filetes sin recubrimiento (muestra control), cuyas composiciones se han detallado anteriormente (numeral 3.4). El primer glaseado de los filetes de trucha con recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 se realizó durante un minuto, luego se escurrió y se oreó brevemente durante 15s a la temperatura de medio ambiente. El segundo glaseado de los filetes de trucha con recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 se realizó durante dos minutos, luego se escurrió y se oreó brevemente durante 15s a la temperatura de medio ambiente. Para comprobar la efectividad de las dos formulaciones (recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2), se dejó la tercera parte de las muestras sin ningún recubrimiento comestible (muestra control).

i) Oreado

Después del glaseado de los 16 filetes de trucha, estos fueron oreados durante 15 minutos a temperatura de ambiente.

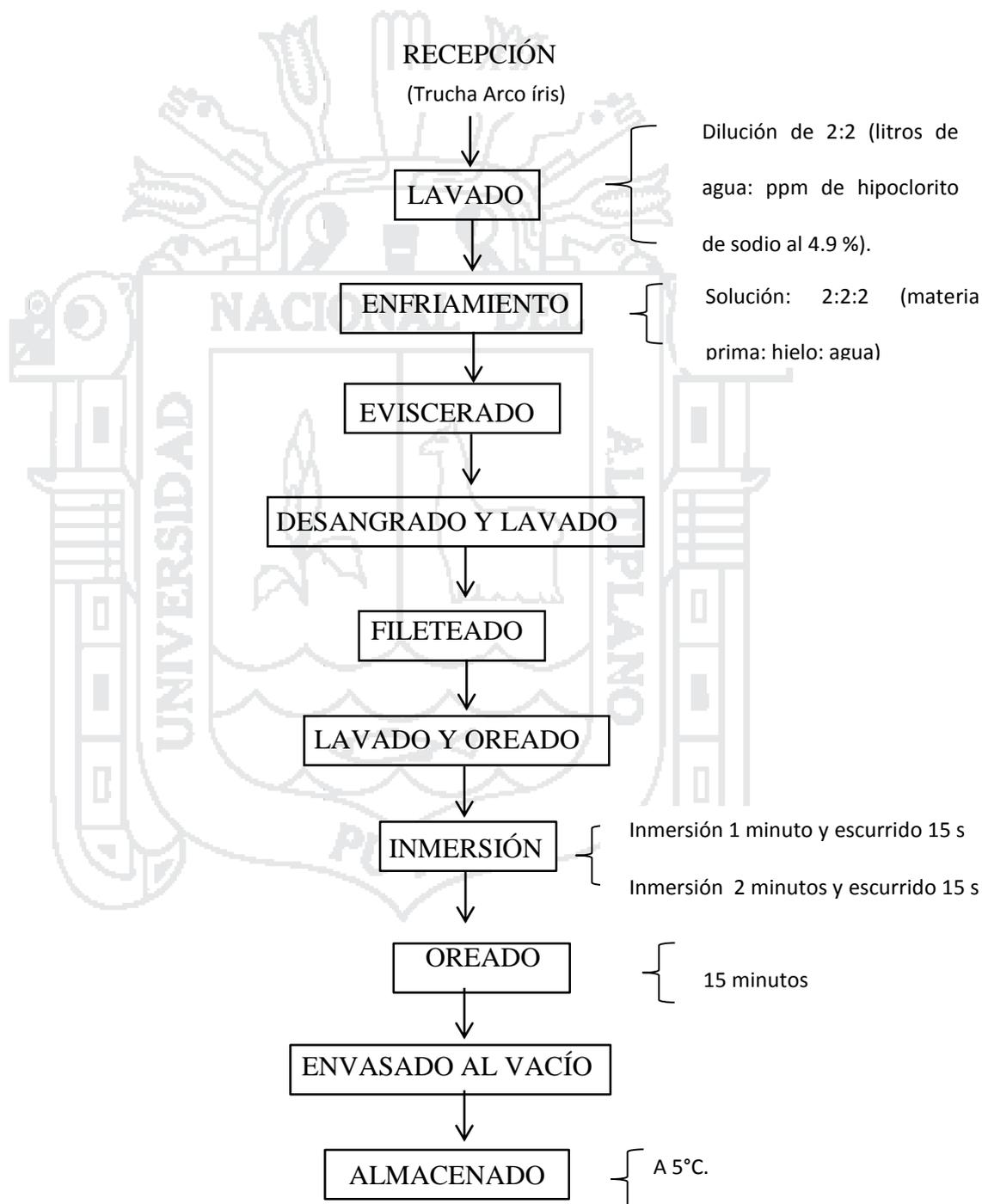
j) Envasado al vacío

Tras el secado del recubrimiento comestible adherido a la superficie de los filetes de trucha arco iris se envasaron al vacío, inclusive las muestras control.

k) Almacenado

Los 24 filetes de trucha arco iris se almacenaron en un refrigerador doméstico a 5°C, para su posterior evaluación en los días 0, 7, 14 y 21.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESAMIENTO DE TRUCHA ARCO IRIS



Fuente: Adaptado de Shamloofar *et al.* (2015).

3.6. Equipos y Materiales

Los equipos y materiales usados para la parte experimental del proyecto de investigación

son:

3.6.1. Equipos e instrumentos

- Incubadora, marca MEMMERT Universal, 30-120°C, modelo TV-40.
- Balanza analítica “Sartorius”, modelo BP 3020, capacidad 300g y diámetro 0.1mg.
- Balanza electrónica, marca CAS, modelo PW-3 y capacidad 500Kg.
- Estufa, marca THELCO 16 y temperatura máxima de 200°C.
- pH – metro, marca Jenway, modelo 3510.
- Soporte universal.
- Matraces Erlenmeyer.
- Potes plásticos.
- Cajas isotérmicas (tecnoport), capacidad 10Kg, espesor 3cm, largo 40cm, ancho 40cm y altura 26cm.
- Cuchillo, marca Tramontina N° 6.
- Tablero de corte 30cm x 35cm.
- Placas Petri de vidrio, diámetro de 90-100mm.
- Gradillas.
- Probetas de 150ml.
- Pinzas metálicas.
- Tubos de incubación.
- Pipetas de 1ml, 5ml y 10ml.
- Vasos de precipitados, 50, 100 y 200ml. de capacidad.
- Piseta de 250ml.

- Cuenta colonias Light Box, modelo Petite.
- Licuadora “Oster”.
- Autoclave “Greetmed”, modelo LS-B50L-II, serie N°186.
- Agitador magnético “Rovax”, Typ: M6. Serie 122271.
- Balanza analítica “Monoblec”, modelo PB3002-S.
- Refrigerador doméstico “Coldex”, modelo CH10P, serie WB1210336.

3.6.2. Reactivos químicos

- Agua destilada.
- Ácido acético glacial ($C_2H_4O_2$), 95% de pureza.
- Cloroformo ($CHCl_3$), 95% de pureza.
- Solución saturada de Yoduro de potasio (KI), 95% de pureza.
- Tiosulfito de sodio ($Na_2S_2O_3$), 0.1N.
- Hipoclorito de sodio al 4.9%.
- Solución de almidón al 1%.
- Solución de fenolftaleína 0.5%.
- Agar Cefaloridin Fusión Cetrimide (CFC), 45g /1 litro de agua.

3.7. Factores de estudio

- a) Muestra sin recubrimiento.
- b) Recubrimiento comestible 1.
- c) Recubrimiento comestible 2.

3.8. Variables de respuesta

- a) Propiedades fisicoquímicas (pH, acidez e índice de peróxidos).
- b) Pérdida de humedad.
- c) Propiedad microbiológica (Desarrollo de *Pseudomona sp.*).

d) Tiempo de almacenamiento (día 0, día 7, día 14 y día 21).

3.9. Métodos Analíticos

Los métodos analíticos usados para la parte experimental del proyecto de investigación son:

3.9.1. Determinación de humedad

Se realizó de acuerdo a la metodología adaptada a Guzmán *et al.* (2015).

- 1) En una balanza analítica se pesaron 6 muestras de 5g de cada filete de trucha envasada al vacío y conservada en refrigeración, para 3 tratamientos y 2 repeticiones.
- 2) Luego estas muestras se deshidrataron completamente en estufa a 105°C por 24 horas.
- 3) Inmediatamente, estas muestras se colocaron en el nivel 2 de un desecador conteniendo 350 g de silicagel en el nivel 1, hasta que estas muestras tengan una temperatura de 20°C, para evitar la absorción de humedad del medio ambiente.
- 4) Estas muestras enfriadas se pesaron en una balanza analítica.

El porcentaje de humedad por muestra se calculará con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(P_o - P_f)}{P_o} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

P_o = peso inicial de la muestra (g).

P_f = peso final de la muestra más la placa (g).

3.9.2. Determinación del pH

El pH se determinó de acuerdo a la técnica recomendada por Jouki, Mortazavi, Yazdi, Koocheki, y Khazaei (2014a).

Se pesaron 6 muestras de 5g de cada filete de trucha envasada al vacío y conservada en refrigeración, para 3 tratamientos y 2 repeticiones, añadiendo 50 ml de agua destilada a cada una de las muestras. Estas mezclas se homogenizaron en una licuadora por 60s, luego se las dejó sedimentar durante 5 minutos, antes de proceder a medir el pH con el pHmetro con electrodo combinado, calibrado con cloruro de potasio de 4,0 y 7,0.

3.9.3. Determinación del valor de peróxido

Se realizó de acuerdo a la técnica recomendada por Guerrero *et al.* (2011).

- 1) Se pesaron 6 muestras de 0.5g de grasa del filete de trucha.
- 2) A cada muestra se adicionó 15ml de ácido acético y 10 ml de cloroformo.
- 3) Luego a cada muestra se adicionó 1ml de KI (Ioduro de Potasio).
- 4) Todas estas muestras se hicieron reposar durante cinco minutos.
- 5) Inmediatamente se adicionó 75ml. de agua destilada lentamente a cada una de estas muestras, agitando en cada aumento hasta completar los 100ml de agua destilada.
- 6) Luego se agregó 1ml de solución de almidón al 1%, como indicador, a cada una de las muestras.
- 7) Finalmente cada una de las muestras se titularon con Tiosulfito de Sodio al 0.1N, hasta que sea de color blanco lechoso.

Para el cálculo del valor de peróxido se empleó la siguiente fórmula.

$$VP \text{ (meq/Kg)} = \frac{(V \times N)}{P} \times 1000 \quad (2)$$

Donde:

VP: Valor de peróxido o índice de peróxido (meq/Kg).

V: Volumen gastado en la titula (mL).

N: Normalidad del tiosulfito de sodio (meq/L).

P: Peso de la muestra en (Kg).

3.9.4. Determinación de la acidez

Se realizó por el método de centrifugación, de acuerdo a la técnica recomendada por la Suzanne, (2003).

- 1) Se molieron 4g de cada muestra sólida en un mortero.
- 2) En un vaso de 250ml, las 6 muestras molidas se diluyeron en 40ml de agua destilada.
- 3) Luego todas estas diluciones se centrifugaron durante 10 minutos a 5000 rpm.
- 4) En seguida se extrajo 25ml el líquido sobrenadante de cada tubo de ensayo y se colocaron cada muestra en un vaso de precipitación de 100ml.
- 5) A cada vaso de precipitación se adicionaron 2 ó 3 gotas del indicador fenolftaleína.
- 6) Finalmente, todas las muestras fueron tituladas con hidróxido de sodio (NaOH al 0.1N) lentamente hasta que vire a un color rosado.

$$\% \text{ de Ácido Láctico (m/m)} = \frac{N \times V \times \text{peso Eq}}{W \times 1000} \times 100 \quad (3)$$

Donde:

N: Normalidad del agente valorante NaOH, (en mEq/mL).

V: Volumen consumido del agente valorante en mL.

Peso Eq: peso equivalente del ácido láctico 90.08 mg/mEq.

W: Masa de la muestra en g.

1000: factor de conversión de los mg a gramos (mg/g).

3.9.5. Análisis microbiológico

El recuento en placa Petri de las ufc/g. de *Pseudomona sp.*, se realizó de acuerdo a la metodología empleada por Guerrero *et al.* (2011), que se describe a continuación.

a. Enriquecimiento y dilución

Las *Pseudomona sp.* presentes en el alimento suelen estar dañadas, como consecuencia de los procesos a los que son sometidos y las condiciones de almacenamiento de la materia prima, por lo que se requiere enriquecer las muestras antes de la siembra.

El proceso de siembra en placa Petri de la *Pseudomona sp.* fue el siguiente: Primero, se pesaron 5g de cada muestra de filete de trucha, las que fueron licuadas con 45ml de agua destilada durante 60 segundos hasta ser homogeneizadas. Luego, se envasó 9ml de solución salina peptonada en un tubo de ensayo, a la que se le agregó 1ml de muestra licuada, dejando en reposo durante 30 minutos. El factor de dilución para esas muestras, según la metodología, fue 10^{-1} . Este proceso previamente explicado se repite tres veces de 10^{-1} hasta obtener una dilución de 10^{-3} .

Se aclara, que la composición del agua de peptona para el enriquecimiento fue de 1g de peptona, 8.5g de NaCl y 1 litro de agua destilada, que se mezcla en un Erlenmeyer de 250ml. Esta solución fue esterilizada en autoclave durante 15 minutos a 121°C .

b. Preparación del agar

Para el recuento en placa de la *Pseudomona sp.* se empleó el agar Cefaloridina Fusidin Cetrimida (CFC) de Merck de Alemania, cuya preparación se realizó de acuerdo a lo recomendado por Merck (2000) mezclando 45g de agar por 1000ml de agua destilada y 10ml de glicerina en un Erlenmeyer de 250ml.

La siembra se realizó por el método de superficie, en placa Petri, utilizando 1.0ml. de la dilución dispersando en la superficie del agar con movimientos manuales en cada una de las diluciones (10^{-2} y 10^{-3}), cada una por duplicado.

Para su identificación de las muestras en las placas Petri se rotuló con los siguientes datos: fecha, medio de cultivo, microorganismo, temperatura de incubación, factor de

dilución y volumen inoculado. Finalmente las placas Petri se colocaron en una estufa, en posición invertida, para su incubación durante 72 horas a 35°C.



c) **Recuento de colonias de *Pseudomona sp.***

Después de 72 horas de incubación de las muestras, contenidas en placa Petri, se procedió al recuento de las colonias de *Pseudomona sp.* en el cuenta colonias Light Box, que para su interpretación y comparación de los datos registrados se convirtieron a logaritmo de base 10 de las ufc/g de muestra, a fin de realizar comparaciones con los resultados de otros investigadores.

3.10. Análisis estadístico

Para cada variable de respuesta se determinó el promedio, desviación estándar (D.E) y el coeficiente de variabilidad (C.V.) con el programa estadístico SPSS Statistics 22.

Para el análisis de las variables respuesta, se utilizó el arreglo factorial de 3 x 4 con 2 repeticiones, conducido bajo un Diseño Completo al Azar cuyo modelo lineal es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + T_j + CT_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

$i = 1, 2$ y 3 (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestra control).

$j = 1, 2, 3$ y 4 ($D_1: 0$, $D_2: 7$, $D_3: 14$, y $D_4: 21$).

$l = 1$ y 2 repeticiones.

Y_{ijk} = Variable respuesta (pH, índice de peróxido, acidez, porcentaje de humedad y log. de *Pseudomona sp.*).

μ = Media poblacional.

C_i = Efecto del i -ésimo tratamiento.

T_j = Efecto del j -ésimo día de almacenamiento.

CT_{ij} = Efecto de la interacción del i -ésimo tratamiento con el i -ésimo día de almacenamiento.

ϵ_{ijk} = Error experimental.

Para la comparación de promedios de las variables respuesta, cuando estas resultaron significativas al análisis de variable, se utilizó la Prueba de Duncan a un nivel de significación de $\alpha=0.05$.



IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Efecto del recubrimiento comestible en la variación del pH

El efecto del pH de dos formulaciones distintas de recubrimiento comestible en filetes de trucha arco iris durante el almacenamiento de 21 días a 5°C se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Estadísticos del pH de filetes de trucha sin y con recubrimiento comestible en refrigeración a 5°C, según días de almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días) en % de ácido láctico			
	0	7	14	21
Sin recubrimiento	6.44±0.03 ^a	6.16±0.06 ^a	6.59±0.13 ^a	6.65±0.04 ^b
Recubrimiento comestible 1	6.41±0.06 ^a	6.26±0.02 ^a	6.47±0.01 ^b	6.49±0.04 ^a
Recubrimiento comestible 2	6.45±0.04 ^a	6.20±0.12 ^a	6.58±0.01 ^a	6.52±0.02 ^c

n=2

C.V. = 0.99%

Muestra control: Sin recubrimiento comestible.

Recubrimiento comestible 1: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.1% butilhidroxi tolueno (BHT).

Recubrimiento comestible 2: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.2% butilhidroxi tolueno (BHT).

Los valores de pH iniciales en los filetes de trucha varió de 6.41 en los filetes tratados con recubrimiento comestible 1 y 6.45 con los filetes sin recubrimiento, no habiendo diferencia estadísticamente significativa entre todas muestras tratadas con recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 y la muestra sin recubrimiento, posiblemente porque según Jay (2002) el glucógeno que se encuentra en músculo de pescado se consume durante las primeras 24 horas después de su muerte y este provoca un descenso del pH. Por el día 7 del almacenamiento no se encontraron diferencias significativas entre la muestra sin recubrimiento que registró un pH de 6.16, el recubrimiento comestible 2 cuyo registro fue 6.20 y el recubrimiento comestible registró un pH de 6.26. En el día 14 se encontraron diferencias estadísticamente significativas

entre los filetes recubiertos con recubrimiento comestible 1 cuyo registro del pH fue 6.47 en comparación a los filetes tratados con la muestra sin recubrimiento cuyo registro del pH fue 6.59 y recubrimiento comestible 2 cuyo registro del pH fue de 6.58, simultáneamente se observa que no existe diferencia significativa entre estos dos últimos tratamientos es decir la muestra sin recubrimiento y los filetes tratados con recubrimiento comestible 2. El día 21 se registró diferencias estadísticamente significativas con un 95% de confianza entre todas las muestras tratadas con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y la muestra sin recubrimiento.

Del análisis de varianza para el pH se muestra que no existen diferencias ($p > 0.05$) significativas estadísticamente al 95% de probabilidad con respecto a los tratamientos recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y la muestra sin recubrimiento primeros 7 días de almacenamiento en cambio del día 14 al 21 se observa diferencias significativas del recubrimiento comestible 2 y recubrimiento comestible 1, esta última presentó los menores incrementos del pH, La interacción del tiempo de almacenamiento con los tratamientos no presento diferencias significativas (Anexo 2; Tabla 12). Por el contrario sí hubo diferencias significativas con respecto al tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 21), por lo que se deduce que el tiempo es el único determinante del coeficiente de variabilidad (C.V.) calculado siendo este el 0.99%, esto significa que la variabilidad es mínima entre las unidades experimentales frente al pH, por lo tanto se deduce que los datos a nivel de investigación se manejaron de manera correcta.

Los pH de los filetes de trucha en el día 1 fueron: recubrimiento comestible 1 cuyo registro del pH fue de 6.41, recubrimiento comestible 2 cuyo registro del pH fue de 6.45 y la muestra sin recubrimiento cuyo registro del pH fue de 6.44. El valor del pH inicial se explica por la producción de ácido láctico a partir de glucógeno a través del metabolismo anaeróbico post mortem. El pH del músculo de pescado típico es próximo a la neutralidad

el mismo que es de pH 7 (ICMSF, 2001). Al día 7 todos los tratamientos aplicados recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 y la muestra control presentan una disminución del pH. Esta disminución del pH puede explicarse como resultado de la muerte del pez, por lo que el sistema circulatorio deja de bombear sangre a los tejidos, provocando anaerobiosis y produciendo ácido láctico y ATP a partir de glucógeno almacenado en músculos (Jay, 2002). El descenso del pH puede ser afectado por diversos factores como: la edad del animal, la estación del año, la edad del animal, el estado metabólico en el momento de la muerte, el estado nutricional del pez o el estrés post mortem, acelerando el comienzo del rigor mortis, provocando un rápido descenso del pH muscular (Molina *et al.* 2000).

Los pH iniciales obtenidos en la presente investigación son similares a los reportados por Volpe, Saino, Paolucci, Sacco, Sorrentino, Malinconico, y Varricchio. (2014) que registraron un pH inicial de 6.50 y que después de 15 días a 4°C el pH fue de 7.15 en filetes de trucha arco iris con cobertura de carragenina. Así mismo Alparaslan *et al.* (2014) obtuvieron un pH de 6.30, y que después 26 días de almacenamiento a 4°C reportó un pH de 6.61, los filetes de trucha Arco iris estaban recubiertos con gelatina y aceite esencial de laurel. Sin embargo los valores reportados por el presente trabajo de investigación muestran un pH inicial de 6.44 en la muestra control, un pH de 6.41 con el recubrimiento comestible 1 y un pH 6.45 con el recubrimiento comestible 2 son diferentes a los reportados por estos dos últimos autores. Según Volpe *et al.* (2014), el valor del pH pos mortem varía dentro de la misma especie por la disociación del ácido carbónico que incrementa el pH con el tiempo de almacenamiento.

El día 14, todas las muestras proporcionaron un incremento progresivo del pH con el tiempo de almacenamiento, el pH más elevado fue en la muestra control cuyo registro del pH fue 6.59, seguido del recubrimiento comestible 2 cuyo registro del pH fue 6.58,

en cambio el recubrimiento comestible 1 cuyo registro del pH fue 6.47 presenta el menor incremento del pH para los filetes de truchas arco iris. La muestra control almacenado en refrigeración no presenta ninguna diferencia significativa con el recubrimiento comestible 2. El incremento del pH es a consecuencia de una mayor concentración de amonio compuesto y otras moléculas alcalinas, como resultado de la lenta actividad microbiológica y enzimática que se registró durante el almacenamiento en refrigeración (Ortíz, 2015). Estudios previos realizados por Etemadian *et al.* (2011) registraron pH iniciales de 6.35 en filetes de *Rutilus frisii kutum*, después de 18 días de almacenamiento en hielo este mismo autor obtuvo un pH de 6.44 similar a lo obtenido en el presente trabajo de investigación. De acuerdo a Etemadian *et al.* (2011) el incremento del pH se debe la capacidad amortiguadora del musculo del pescado. Asimismo, Valls *et al.* (2004) afirma que el aumento del pH en el tejido muscular del pescado son un indicativo de calidad, que deben ser evitados.

El día 21 la comparación de muestras reflejó diferencias significativas entre los tratamientos y el control. Sin embargo se observó un marcado efecto inhibitor con respecto al incremento del pH a las muestras tratadas con recubrimiento comestible 1 cuyo registro del pH fue 6.49 seguido por recubrimiento comestible 2 cuyo registro del pH fue 6.52 y con la muestra control se registró un pH de 6.65. El incremento continuo del pH durante la refrigeración es también consecuencia de la producción de compuestos de naturaleza básica, generados por la degradación enzimática del músculo de pescado (Soares *et al.* 2014). Existen varios sistemas proteolíticos que se encuentran en el tejido muscular implicados en la degradación post mortem del músculo, estos incluyen proteosomas, proteinasas alcalinas termo estables, metaloproteínas, calpaínas y las catepsinas lisosomales, estos sistemas pueden mantenerse operativos a temperaturas de refrigeración, aunque su actividad se ve ralentizada (Ortíz, 2015); Vásquez *et al.* 2009)

afirman que el rango de pH 7,0 a 7,5 son aptos para el consumo humano. El incremento del pH de los filetes tratados con recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 fue reducido. De acuerdo con Yuan *et al.* (2016) el efecto del control sobre el pH, se podría deber a la barrera efectiva del recubrimiento comestible 1 que evita el desarrollo de los microorganismos aerobios o las acciones enzimáticas, ya que estos como producto de su metabolismo incrementan aún más el pH. Según Iguane, (2014) el pH al mantener la tendencia ácida durante todo el tiempo de almacenamiento en refrigeración, el desarrollo microbiano inhibe la producción de compuestos volátiles como aldehídos, cetonas, ésteres y sulfuros no azufrados por parte de los microorganismos que incrementan el pH. Por otro lado, el pH del caseinato sódico usado como insumo del recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 tenía un pH de 6.8 este contribuyó al aumento en el pH del recubrimiento comestible evitando el desarrollo de microorganismos en la superficie de los filetes de trucha (Hu, Huan, Wen, y Xin, 2014).

4.2. Efecto del recubrimiento comestible en la variación de la acidez

Los valores de la variación de acidez (% de ácido láctico) de filetes de trucha arco iris, tratados con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestra control, almacenados en refrigeración a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días, se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Estadísticos de acidez (% de ácido láctico) de filetes de trucha sin y con recubrimiento comestible en refrigeración a 5°C, según días de almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días) en % de ácido láctico			
	0	7	14	21
Sin recubrimiento	0.24±0.007 ^a	0.27±0.007 ^a	0.26±0.07 ^a	0.33±0.01 ^b
Recubrimiento comestible 1	0.25±0.001 ^a	0.24±0.007 ^a	0.24±0.02 ^a	0.29±0.007 ^a
Recubrimiento comestible 2	0.22±0.007 ^a	0.26±0.04 ^a	0.28±0.03 ^a	0.3±0.001 ^b

n=2

C.V. = 10.86%

Muestra control: Sin recubrimiento comestible.

Recubrimiento comestible 1: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.1% butilhidroxi tolueno (BHT).

Recubrimiento comestible 2: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.2% butilhidroxi tolueno (BHT).

Los valores de la acidez iniciales en los filetes de trucha varió de 0.22% con el recubrimiento comestible 2 hasta 0,24% con el muestra control y 0.25% con el recubrimiento comestible 1, no habiendo diferencia ($p>0.05$) estadísticamente significativa entre todas muestras tratadas y la muestra sin recubrimiento, posiblemente porque según la ICMSF (2001) el glucógeno almacenado es convertido en ácido láctico inmediatamente después de la muerte del pescado lo que provoca esta variación de la acidez inicial el día 0. El día 7 del almacenamiento no se encontraron diferencias significativas entre la muestra control y los tratamientos recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2. El día 14 no se encontró diferencia significativa ($p>0.05$) entre la muestra sin recubrimiento y los filetes tratados con recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2. El día 21 del tratamiento se encontraron diferencias ($p<0.05$) estadísticamente significativas entre los filetes tratados con recubrimiento

comestible 1 cuyo registro de la acidez fue de 0.29% en comparación a la muestra sin recubrimiento y el recubrimiento comestible 2.

Del análisis de varianza para la acidez se muestra que si existe diferencias estadísticamente significativo al 95% de probabilidad del tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 21), por ello que se deduce que el tiempo es el único determinante de la variación. Así mismo en la parte inferior de la Tabla 3 se menciona que el coeficiente de variabilidad (C.V.) calculado fue de 10.86%, significa que la variabilidad entre las unidades experimentales frente a la acidez es relativamente considerable, por lo tanto se deduce que los datos a nivel de investigación se manejaron de manera correcta. En cambio no existen diferencias significativas entre los tratamientos es decir entre la muestra control, recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2. La interacción del tiempo de almacenamiento y los tratamientos no fue significativa (Anexo 2: Tabla 13).

De acuerdo a la Tabla 3, se observa que la muestra control, recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 no varían significativamente ($p > 0.05$) desde el día 0 al 14. En cambio a los 21 días del almacenamiento de los tratamientos la acidez se incrementa de manera significativa. La acumulación de ácido láctico en el pescado después del periodo post mortem es debido al contenido de carbohidratos y su posterior almacenamiento como ácido láctico (Jouki *et al.* 2014b). Al respecto la ICMSF (2001), publica que la cantidad de carbohidratos en un pez varía con la época del año, el ciclo de reproducción y el modo de captura del pez.

El día 14 del almacenamiento la acidez se va incrementando conforme transcurre el tiempo de almacenamiento, que concuerda con Ortíz, (2015) quien reportó que al morir los animales y cesar el aporte de oxígeno al músculo, en la glucólisis anaerobia del glucógeno almacenado pasa a ácido, láctico disminuyendo el pH; afirma también, que el incremento de la acidez durante el tiempo de almacenamiento se debe a que la glucólisis

post mortem continúa mientras hay glucógeno disponible hasta que alcanza un pH en el que se inhibe a las enzimas glucolíticas.

El día 21, las muestras sometidas a los tratamientos recubrimiento comestible 2 y recubrimiento comestible 1 presentan los menores porcentajes de acidez, por lo que se deduce que el recubrimiento comestible es efectivo para evitar que se incremente la acidez en los filetes de trucha durante el almacenamiento en refrigeración; cuyos valores están en el rango de acidez reportado por Iguane (2014), quien indica que el rango máximo de consumo humano para filetes de trucha Arco iris envasado al vacío y almacenado en refrigeración es de 0.25% hasta 0.50%; siendo la causa del incremento de la acidez debido a la formación de compuestos básicos principalmente amonio y aminas generadas por la actividad de los microorganismos que deterioran la carne (Ortíz, 2015).

4.3. Efecto del recubrimiento comestible en la variación del valor de peróxido

Los contenidos medios (\pm desviación estándar) correspondientes a la variación del valor de peróxido ($\text{meq O}_2 \text{ Kg}^{-1}$ lípido) de filetes de trucha arco iris, que fueron tratados con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y la muestra sin recubrimiento, almacenados en refrigeración a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días, se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Valor de peróxido (meq O₂ Kg⁻¹ lípido) de filetes de trucha sin y con recubrimiento comestible en refrigeración a 5°C, según días de almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento en días			
	0	7	14	21
Sin recubrimiento	1.11±0.028 ^a	1.31±0.007 ^b	1.59±0.06 ^c	1.71±0.01 ^a
Recubrimiento comestible 1	0.20±0.01 ^a	0.55±0.02 ^a	1.05±0.07 ^a	1.20±0.006 ^b
Recubrimiento comestible 2	1.03±0.02 ^a	1.07±0.007 ^b	1.35±0.04 ^b	1.62±0.02 ^a

n=2

C.V. = 2.75%

Muestra control: Sin recubrimiento comestible.

Recubrimiento comestible 1: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.1% butilhidroxi tolueno (BHT).

Recubrimiento comestible 2: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.2% butilhidroxi tolueno (BHT).

El día cero de almacenamiento, los filetes de trucha tratados con recubrimiento comestible 1 registraron un valor de peróxidos de 0.20 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, siendo el menor valor de peróxidos en comparación a los filetes tratados tanto con recubrimiento comestible 2 cuyo registro del valor de peróxido fue de 1.03 meq O₂ Kg⁻¹ lípido casi similar a los registros con las muestra sin recubrimiento 1.11 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, pero no hubo diferencia significativa ($p>0.05$) entre todos ellos, la variación posiblemente se deba al efecto inmediato que tiene el oxígeno sobre un alimento con elevadas cantidades de ácidos grasos poliinsaturados como el filete de trucha (Baldwin *et al.* 2012). El día 7 de almacenamiento los filetes de trucha con recubrimiento comestible 1 fue de 0.55 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, en tanto con el recubrimiento comestible 2 se obtuvo el valor de peróxido fue de 1.07 meq O₂ Kg⁻¹ lípido y la muestra control registró un valor de peróxido de 1.31 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, ambos sin diferencia significativa ($p>0.05$); por tanto, es lógico que recubrimiento comestible 1 presente diferencia significativa con respecto a la muestra control y recubrimiento comestible 2 ($p<0.05$). El día 14 del almacenamiento los filetes

de trucha con recubrimiento comestible 1 registró un valor de peróxido de 1.05 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, siendo el menor valor de peróxidos en comparación con los filetes tratados con recubrimiento comestible 2 (1.35 meq O₂ Kg⁻¹ lípido) y la muestra sin recubrimiento 1.59 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, mostrando diferencias significativas entre los tres tratamientos ($p < 0.05$). Finalmente el día 21, el recubrimiento comestible 1 cuyo registro del valor de peróxido fue de 1.20 meq O₂ Kg⁻¹ lípido presenta también el menor valor de peróxido que los filetes tratados tanto con recubrimiento comestible 2 que registró 1.62 meq O₂ Kg⁻¹ lípido y la muestra control registró 1.71 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, no habiendo diferencia significativa ($p > 0.05$), entre el recubrimiento comestible 2 y la muestra sin recubrimiento.

Del análisis de varianza del valor de peróxido de filetes de trucha almacenados a 5°C, se deduce que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 21 días), los tratamientos recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y la muestra control. La interacción de los tratamientos con el tiempo de almacenamiento (Anexo 2: Tabla 14). El incremento del valor de peróxido durante el almacenamiento en refrigeración se justifica por la hidrólisis enzimática de los lípidos que se produce incluso durante el almacenamiento del pescado, por lo que debe ser evitado; porque disminuye los atributos sensoriales como la apariencia, olor y textura (Pereira de Abreu *et al.* 2010). Así mismo en la parte inferior de la Tabla 4 se menciona que el coeficiente de variabilidad (C.V.) calculado es de 2.75%, esto significa que la variabilidad entre las unidades experimentales frente al valor de peróxido es mínima, por lo tanto se deduce que los datos a nivel de investigación se manejaron de manera correcta.

Durante los primeros 7 días de almacenamiento de filetes de trucha arco iris en refrigeración a 5°C, se observa que el menor valor promedio de peróxidos presentan los filetes tratados con recubrimiento comestible 1 cuyo registro del valor de peróxido fue

de 0.55 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, en comparación con el recubrimiento comestible 2 cuyo registro del valor de peróxido fue de 1.07 meq O₂ Kg⁻¹ lípido y la muestra control 1.31 meq O₂ Kg⁻¹ lípido. Con el recubrimiento comestible 1 se logró retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, prolongando la fase de iniciación de auto oxidación e inhibiendo la fase de propagación de la auto oxidación. Es posible que el menor incremento del valor de peróxido en los filetes con tratamiento recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2, se deba al caseinato sódico ya que proporciona al recubrimiento comestible la capacidad de actuar como antioxidante natural (Baldwin *et al.* 2012), con inhibición de la oxidación de lípidos por eliminación de radicales libres, reducción de hidroperóxidos lipídicos y la interacción con aldehídos (Skibsted *et al.* 2010).

Además, Skibsted *et al.* (2010) publica que la adición de butilhidroxitolueno (BHT), aumenta la estabilidad oxidativa de los lípidos poliinsaturados del pescado, ya que los aminoácidos interactúan con los radicales libres determinando la capacidad antioxidante. Sin embargo, los valores obtenidos en el presente trabajo de investigaciones son claramente inferiores a los observados en filetes recubiertos con quitosano, en aceite esencial de orégano y tomillo, los mismos que en 6 días de conservación registraron un valor de peróxido de 2 a 5 meq O₂ Kg⁻¹ lípido (Jouki *et al.* 2014a). Se presume que la técnica de elaboración afectó de manera favorable en la estructura y propiedades finales del recubrimiento Guilbert y Biquet (1995),

El día 14, se observó un efecto inhibitor de los tratamientos recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 a lo largo del tiempo de conservación. Sin embargo, la muestra control incrementa su valor de peróxido, este comportamiento se explica como resultado de la falta de la barrera (recubrimiento comestible) que evite la difusión del oxígeno retardando la oxidación de los lípidos en el musculo del pescado

(Raesi, Tajik, Aliakbarlu, Mirhosseini, y Hosseini, 2015). Asimismo el incremento del valor de peróxido para el recubrimiento comestible 1 permanece sin significancia ($p>0.05$) respecto al tiempo de almacenamiento. Este comportamiento se explica por la ausencia de oxígeno (propaga la oxidación), temperatura baja de almacenamiento y cuidado de la exposición a la luz de los filetes tratados, porque estos factores aceleran la auto oxidación, favoreciendo la formación de radicales libres en la etapa de iniciación (Pokorny *et al.*, 2001; Shahidi, 2015).

El día 21, se observaron valores medios crecientes del índice de peróxido en las muestras tratadas y el control, encontrándose diferencias significativas como resultado del tiempo de almacenamiento en refrigeración. La formación de peróxidos en los filetes de trucha tratados con recubrimiento comestible 1 mostró las menores cifras respecto al índice de peróxidos, se puede explicar que la oxidación de los lípidos en los filetes está representado por las enzimas que eliminan especies reactivas de oxígeno tales como superóxido, peróxido de hidrógeno e hidropéroxido de lípidos, e incluye la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas (Pereira de Abreu *et al.*, 2010; Shahidi, 2015).

Los filetes de trucha tratados con recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 no presentan diferencias significativas ya que ambos fueron tratados con recubrimiento comestible. Sin embargo, las concentraciones de BHT fueron diferentes por lo que se presume que la combinación del antioxidante sintético con la proteína (caseinato sódico), puede ser ventajoso por la sinergia entre los dos insumos (Skibsted *et al.* 2010). Asimismo, el recubrimiento comestible 1 fue el más eficaz en la reducción del índice de peróxido posiblemente por la cantidad adecuada de BHT adicionado al recubrimiento comestible. Según Shahidi, (2015) las concentraciones elevadas de un antioxidante pueden tener un efecto opuesto y ser pro oxidativo.

Debido al elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados y la susceptibilidad a los que están expuestos los lípidos en (oxidación) las muestras hacen que los valores de peróxido se continúen incrementado (Ortíz *et al.* 2008). Según Guerrero *et al.* (2011) el rango máximo para el valor del peróxido es de 10 a 12 meq O₂ Kg⁻¹ lípido, los resultados obtenidos por el presente trabajo de investigación al día 21 no superan estos rangos antes mencionados. Sin embargo, los valores son claramente inferiores a los observados en filetes recubiertos elaborados con cascara de cebada como antioxidante para salmón del Atlántico, los mismos que en 30 días de almacenamiento en congelación registró un índice de peróxido de 2.88 meq O₂ Kg⁻¹ (Pereira de Abreu *et al.*, 2010). Estas diferencias podrían deberse tanto a diferencias individuales entre las especies empleadas y de los diferentes métodos para calcular el valor de peróxido.

4.4. Efecto del recubrimiento comestible en la pérdida de humedad

Los valores medios de la variación de la pérdida de humedad de filetes de trucha arco iris, tratados con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y la muestra control), almacenados en refrigeración a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días, se muestran en la Tabla 5.

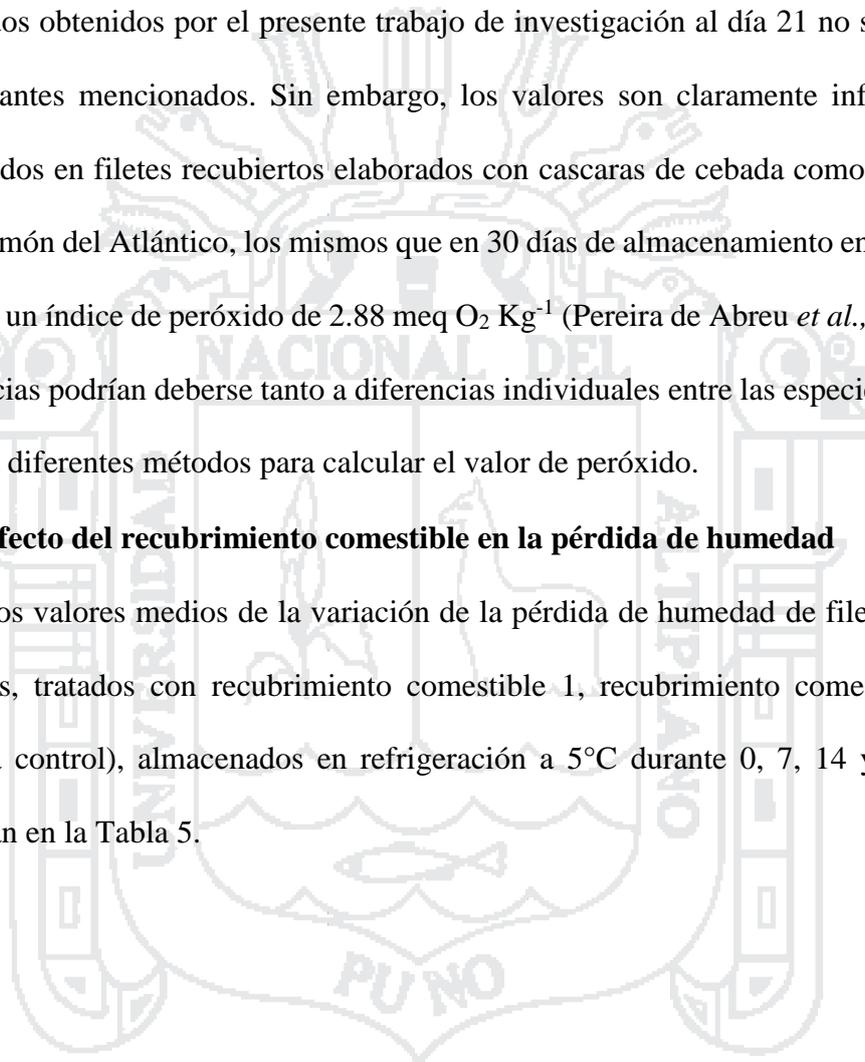


Tabla 5. Porcentaje de humedad (%) de filetes de trucha sin y con recubrimiento comestible en refrigeración a 5°C, según días de almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días) en %			
	0	7	14	21
Sin recubrimiento	78.91±1.27 ^a	76.28±1.49 ^b	75.27±1.62 ^b	71.81±1.22 ^a
Recubrimiento comestible 1	77.73±0.70 ^a	76.80±0.62 ^b	75.89±1.04 ^c	74.51±0.62 ^c
Recubrimiento comestible 2	78.04±0.82 ^a	76.94±0.86 ^b	74.95±2.46 ^c	72.95±1.56 ^b

n=2

C.V. = 1.72%

Muestra control: Sin recubrimiento comestible.

Recubrimiento comestible 1: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.1% butilhidroxi tolueno (BHT).

Recubrimiento comestible 2: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.2% butilhidroxi tolueno (BHT).

El día cero de almacenamiento, los porcentajes de humedad fueron: para el recubrimiento comestible 1 cuyo registro del porcentaje de humedad fue de 77.73%, recubrimiento comestible 2 registró 78.04% y para las muestras control registró 78.91%, no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre todos ellos, la variación de los porcentajes de humedad inicial se deba a que el cambio de temperaturas que se produce durante el enfriamiento del filete de pescado, al igual que ocurre con las canales de otros animales, el diferencial de presiones parciales se reduce, iniciándose inmediatamente la deshidratación superficial del 0.2% los primeros días y 0.3% durante el almacenamiento en refrigeración (Guzmán *et al.*, 2006).

El día 7 de almacenamiento, los filetes de trucha tratados con recubrimiento comestible 1 registraron hasta un 76.80% de humedad, los mimos que en comparación con el otro tratamiento tuvieron una menor pérdida relativa de humedad que los filetes tratados tanto con 2 registró 76.94% y las muestras sin recubrimiento 76.28%, no habiendo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre todos ellos. En el día 14 se encontraron

diferencias significativas ($p < 0.5$) de las muestras control que registró 75.27% en comparación con los filetes tratados con recubrimiento comestible 1 cuyo registro fue de 75.89% y recubrimiento comestible 2 registro 74.95%; no habiendo diferencias significativas ($p > 0.5$) entre estos dos últimos tratamientos. Para el final del tratamiento (21 días) se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras tratadas con recubrimiento comestible 2 cuyo registro fue de 72.95 % y recubrimiento comestible 1 registró un 74.51% y la muestra control registró 71.81%.

En la Tabla 5, observando el rango de las variaciones del porcentaje de humedad, inicialmente las muestras sin recubrimiento comestible (78.91%-71.81%) obtuvieron la mayor pérdida de humedad que recubrimiento comestible 2 (78.04%-72.95%) y recubrimiento comestible 1 (77.73%-74.51%), dicho de otro modo estas dos formulaciones controlaron relativamente la pérdida de humedad, siendo esta última la más eficaz.

El análisis de varianza del porcentaje de humedad muestra que hay diferencias significativas estadísticamente al 95% de probabilidad entre los tratamientos (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestras control), el tiempo de almacenamiento (0, 7, 14 y 21 días), y entre la interacción de los tratamientos con el tiempo de almacenamiento. (Anexo 2: Tabla 15). Así mismo en la parte inferior de la Tabla 4 se menciona que el coeficiente de variabilidad (C.V.) calculado es de 1.72%, esto significa que la variabilidad entre las unidades experimentales frente al porcentaje de humedad perdido es mínimo, por lo tanto se deduce que los datos a nivel de investigación se manejaron de manera correcta.

Durante los primeros siete días de almacenamiento en refrigeración se observó una reducción significativa de los porcentajes de humedad, los mismos que son directamente proporcionales con la capacidad de retención de agua en los músculos de

filetes de trucha arco iris (Rodríguez *et al.* 2007). Se explica que la significancia entre las muestras tratadas y el control no fueron estadísticamente significativas debido a que los filetes tratados con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y las muestras control fueron envasados al vacío. Según Etemadian *et al.* (2011) el envasado al vacío es un método de conservación natural que proporciona un medio eficaz para la mejora de la calidad del pescado aumentando el tiempo de vida útil del mismo. Al respecto Baldwin *et al.* (1995) reportaron que los productos frescos como el pescado se almacenan en envases para proporcionar una alta humedad relativa que reduce la pérdida de agua. Si realizamos una comparación entre los resultados iniciales obtenidos por Rodríguez *et al.* (2011) en filetes de *Rutilus frisii kutum* tratados con fosfato envasados al vacío, fueron de 77.73%, con su mejor tratamiento después de 18 días de almacenamiento obtuvo 65.16%. Sin embargo el recubrimiento comestible 1 después de 21 días de almacenamiento registra un 74.51% de humedad. De acuerdo con Baldwin *et al.* (2012) en los recubrimientos de proteínas, los plastificantes de carácter hidrófilico como el glicerol, se introducen entre las cadenas moleculares poliméricas para el mejoramiento de la flexibilidad, extensibilidad y la permeabilidad al vapor de agua. También, La caseína tiene un enlace hidrógeno e interacciones hidrófobas que pueden prevenir la pérdida de agua.

El porcentaje de agua que se pierde es por la desnaturalización de proteínas sarcoplásmicas, miofibrilares y disrupción de la estructura del músculo, desencadenando la disminución de la capacidad de retención de agua de la fracción proteica (Ortíz, 2015; Siddaiah *et al.*, 2001). La ligera disminución observada del porcentaje de humedad en las muestras con tratamiento de recubrimiento comestible 1 y recubrimiento comestible 2 podría ser debido a la menor pérdida de agua libre en el goteo que se observó estas muestras a comparación de las muestras control (Hu *et al.* 2013; Pereira de Abreu *et al.*

2010). Asimismo, se observa que el porcentaje de humedad a partir el día 14 presenta diferencias significativas en las muestras tratadas con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y la muestra control, este último presenta el mayor porcentaje de pérdida de humedad. Según Rodríguez *et al.* (2007) la disminución en el porcentaje de humedad es a causa de la pérdida en la capacidad de retención de agua.

Los filetes tratados con recubrimiento comestible 1 tienden a disminuir menos su porcentaje de humedad seguido de los filetes tratados con recubrimiento comestible 2. Se explica que esto sucede debido a la naturaleza hidrofílica del glicerol y el caseinato sódico, los que reducen significativamente la migración de las moléculas de agua a la superficie por el diferencial de presiones que se genera en el medio ambiente (Heydari, Bavandi, y Roholla 2015). Según Baldwin *et al.* (2012) afirma que la permeabilidad del caseinato sódico (proteína) evita la pérdida de moléculas de agua.

Al día 21 la tendencia es la misma el recubrimiento comestible 1, evita la pérdida del porcentaje de humedad en los filetes de trucha, obteniéndose una pérdida total del 3.22%, porcentaje menor al registrado por Valls *et al.* (2004) durante el almacenamiento de filetes de sardina (*Sardinella aurita*) envasado al vacío y congelado a -18°C por un período de seis meses, el primer mes obtuvo una pérdida del 3.32%. Según Iguane (2014), la diferencia en el porcentaje de pérdida de humedad posiblemente se debe al recubrimiento comestible que no deja ningún vacío en el momento del glaseado. La pérdida de humedad debe ser evitada, porque afecta el valor nutritivo, debido a cambios oxidativos, enzimáticos y cambios degradativos que pueden seguir ocurriendo durante el almacenamiento (Rodríguez *et al.* 2007).

4.5. Capacidad inhibitoria del desarrollo de *Pseudomona sp.*

Los valores medios de la capacidad inhibitoria en el desarrollo de *Pseudomona sp.* de filetes de trucha que tratados con recubrimiento comestible y las muestras control, almacenados en refrigeración a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días, se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Recuento de *Pseudomona sp.* (log ufc/g) de filetes de trucha sin y con recubrimiento comestible en refrigeración a 5°C, según días de almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento en días (log ufc/g)			
	0	7	14	21
Sin recubrimiento	3.95±0.49 ^a	4.5±0.14 ^a	5.2±0.42 ^b	6.25±0.21 ^a
Recubrimiento comestible 1	2.15±0.21 ^b	3.97±0.09 ^a	3.86±0.37 ^a	4.22±0.16 ^b
Recubrimiento comestible 2	3.65±0.92 ^a	4.7±0.84 ^a	5.25±0.64 ^b	5.85±0.21 ^c

n=2

C.V. = 10.68%

Muestra control: Sin recubrimiento comestible.

Recubrimiento comestible 1: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.1% butilhidroxi tolueno (BHT).

Recubrimiento comestible 2: (120 g Caseinato sódico en 1500 ml agua + 36 g glicerol) + 0.2% butilhidroxi tolueno (BHT).

El menor recuento inicial en valores medios en log ufc/g de *Pseudomona sp.* presenta los filetes de trucha tratados con la formulación recubrimiento comestible 1 registra 2,15 log ufc/g, en cambio con la formulación recubrimiento comestible 2 se registró 3.65 log ufc/g), con diferencia significativa (p<0.5); pero entre recubrimiento comestible 2 cuyo registro fue 3.95 log ufc/g y muestra sin recubrimiento registró 3.95 log ufc/g, no hay diferencia significativa (p>0.5). El día 7 de almacenamiento, el recubrimiento comestible 1 registra 3.97 log ufc/g presenta una menor población de *Pseudomona sp.* que la muestra sin recubrimiento 4.5 log ufc/g y el recubrimiento comestible 2 cuyo registro fue 4.7 log ufc/g, pero sin diferencia significativa (p>0.5). El día 14, hubo menor población de *Pseudomona sp.* en filetes con recubrimiento comestible 1 cuyo registro fue 3.86 log ufc/g, en cambio la muestra control registró 5.2 log ufc/g, con

diferencia significativa ($p < 0.5$); pero la muestra control 5.2 log ufc/g y el recubrimiento comestible 2 registró 5.25 log ufc/g ambas no presentan diferencia significativa ($p > 0.5$). Para el día 21, muestra una menor población de *Pseudomona sp.* los filetes con recubrimiento comestible 1 cuyo registro fue 4.22 log ufc/g que los filetes con recubrimiento comestible 2 que registró 5.85 log ufc/g y la muestra control 6.25 log ufc/g, pero entre todos presentan diferencias significativas ($p < 0.5$) (Tabla 6, Anexo: Gráfico 5).

En la Tabla 6, se observa también que entre la formulación del recubrimientos 1 hace que el recuento varíe de *Pseudomona sp.* sea de 2.15 log ufc/g hasta 4.22 log ufc/g, en el caso de los filetes tratados con recubrimiento comestible 2 varió de 3.65 log ufc/g a 5.85 log ufc/g siendo este el de mayor capacidad inhibitoria en el desarrollo de *Pseudomona sp.*, en cambio los sin recubrimiento cuyos rangos fueron de 3.95 log ufc/g hasta 6.25 log ufc/g no tuvieron el mismo efecto, por lo que estos presentan los mayores recuentos finales.

El análisis de varianza para el recuento de *Pseudomona sp.*, muestra que hay diferencias significativas ($p < 0.5$) entre tratamientos (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y las muestras control) y tiempo de almacenamiento en días (0, 7, 14 y 21); pero, no hay diferencias significativas ($p > 0.5$) para la interacción entre los tratamientos y tiempo de almacenamiento (Anexo 2, Tabla 16). Así mismo en la parte inferior de la Tabla 6 se menciona que el coeficiente de variabilidad (C.V.) calculado es de 10.68%, esto significa que la variabilidad entre las unidades experimentales frente al porcentaje de humedad perdido es relativamente considerable, por lo tanto se deduce que los datos a nivel de investigación se manejaron de manera correcta.

En el día cero, los recuentos de *Pseudomona sp.* fueron de 3.95 log ufc/g para la muestra sin recubrimiento, 2.15 log ufc/g para los filetes tratados con recubrimiento

comestible 1 y 3.65 log ufc/g para los filetes tratados con recubrimiento comestible 2, estos recuentos iniciales son superiores a los registrados por Raesi *et al.* (2015) quienes evaluaron filetes de trucha arco iris tratados con carboximetilcelulosa y refrigerados a 4°C, registrando recuentos iniciales para *Pseudomona sp.* de 1.5 log ufc/g a 1.7 log ufc/g y después de 10 días de almacenamiento 4.6 log ufc/g. La diferencia de los recuentos iniciales es posible que se deba a la ubicación de las jaulas flotantes donde se criaron las truchas, están en Chucuito la misma que aproximadamente está a 20 km de la ciudad de Puno. La *Pseudomona sp.* son psicótrofos característicos de la microflora de peces que se criaron en aguas frías (Jay, 2002; Mantilla, 2004). También según Ahmed y Carlstrom (2006) la variación del recuento inicial se debe a las condiciones óptimas como la temperatura, nutrientes y la disposición del oxígeno, las *Pseudomona sp.* aprovechan estas condiciones iniciándose inmediatamente el incremento exponencial del recuento inicial de las mismas haciendo que estas varíen.

En la Tabla 6, se muestra que el control y los tratamientos no presentan significancia los siete primeros días de almacenamiento en refrigeración, ya en los días 7 al 14 la significancia estadística es evidente, para luego continuar incrementándose el recuento de *Pseudomona sp.* hasta el día 21. Para los filetes tratados con recubrimiento comestible 2, no es significativo los 7 primeros días de almacenamiento en refrigeración, en cambio a partir del día 7 al 21 si existe diferencias significativas en el incremento del recuento de *Pseudomona sp.* De acuerdo con Ahmed y Carlstrom (2006) la fase exponencial de los microorganismos se acelera debido a la abundancia de nutrientes, temperatura de almacenamiento, propiedades fisiológicas.

El día 14 de la presente investigación, los recuentos de la *Pseudomona sp.* para la muestra control es 5.2 log ufc/g y para el recubrimiento comestible 2 es 5.25 log ufc/g no existiendo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre ambos, en cambio el recubrimiento

comestible 1 registro 3.86 log ufc/g si es estadísticamente diferente ($p < 0.05$) con respecto a las muestras control y el recubrimiento comestible 2. Según Iguane, (2014), el envasado al vacío reduce el oxígeno, mientras que el CO₂, ácido láctico por glucólisis y otros productos metabólicos que se acumulan, estas modificaciones hacen que el incremento de los recuentos. De acuerdo a lo reportado por Guerrero *et al.* (2011) quien trabajo con filetes de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) tratados con lactato de sodio y refrigerados a 4°C, los recuentos iniciales para *Pseudomona sp.* fueron de 1.71 log ufc/g a 2.19 log ufc/g, y después de 14 días de almacenamiento tratado con lactato de sodio obtuvo 5.47 log ufc/g. Asimismo, Yesudhason *et al.* (2014) quienes evaluaron filetes de trucha inmersos en 1% de acetato de sodio y envasados en atmósfera modificada (70% de CO₂ y 30% de O₂) obteniendo después de 22 días de almacenamiento en refrigeración a 2°C un recuento de 4.7 log ufc/g este resultado es similar a los registrados por los filetes tratados con recubrimiento comestible 1 registró 4.22 log ufc/g realizado en la presente investigación. Así mismo Shamloofar *et al.* (2015) trabajaron con filetes de trucha recubiertos con nisina encapsulado, su mejor tratamiento logró un recuento inicial de 2.46 log ufc/g y después de 20 días a 4°C hizo un recuento de 5.89 log ufc/g, este resultado es mayor al obtenido en la presente investigación. El incremento de las *Pseudomona sp.* en la presente investigación no pudo ser inhibida posiblemente porque la doble capa (recubrimiento comestible y envasado al vacío) no fueron una buena barrera al oxígeno e impedir el incremento de los recuentos de la *Pseudomona sp.* (Jouki *et al.*, 2014b).

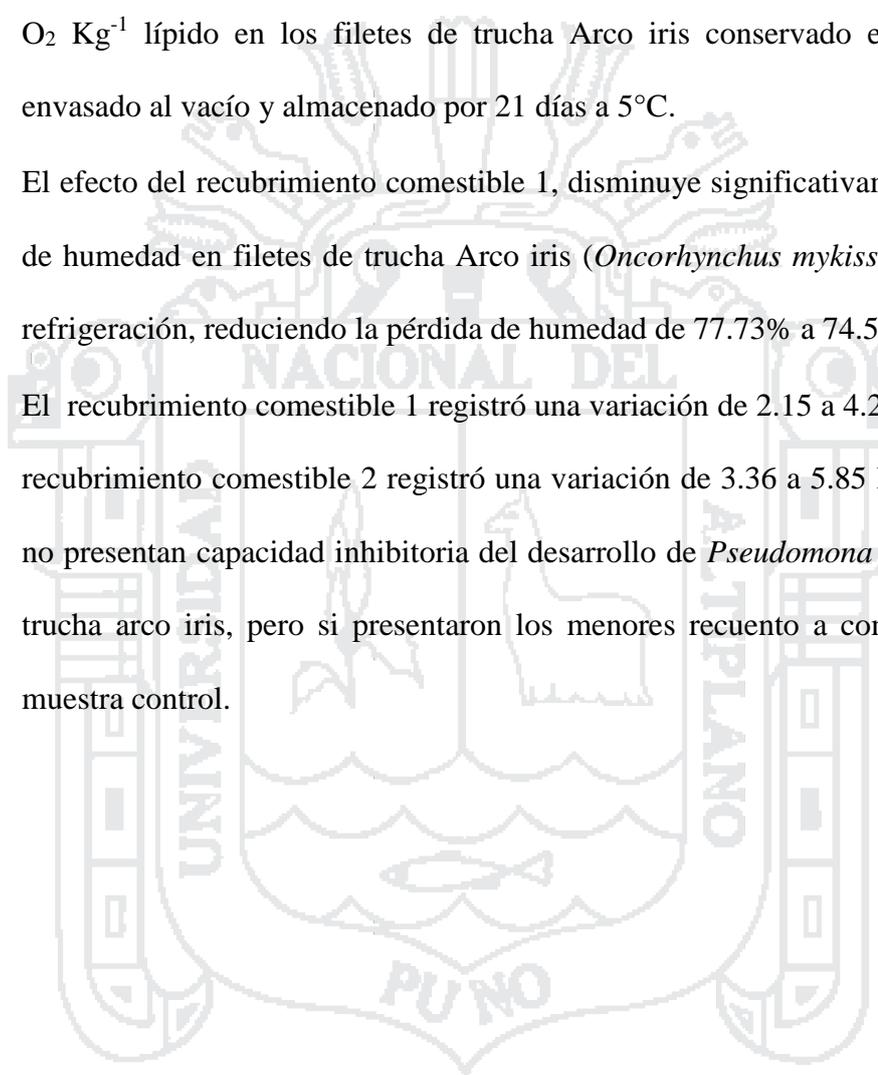
Al día 21 el recubrimiento comestible 1 el tratamiento que muestra el menor recuento de *Pseudomona sp.* (4.22 log ufc/g). De acuerdo a la ICMSF, (2001) y Jay, (2002) los psicótrofos (*Pseudomona sp.*) son los microorganismos dominantes en filetes de trucha almacenadas en refrigeración, representando entre el 32% al 60% del total de bacterias alterantes es por ello que se busca distintos métodos para su conservación.

Después de 21 días de almacenamiento los valores de los filetes de trucha conservado con recubrimiento comestible 1 a pesar de no haber inhibido el desarrollo de las *Pseudomona sp.* este recuento no sobrepasó el límite máximo para el consumo humano 7 log ufc/g (ICMSF, 2001).



CONCLUSIONES

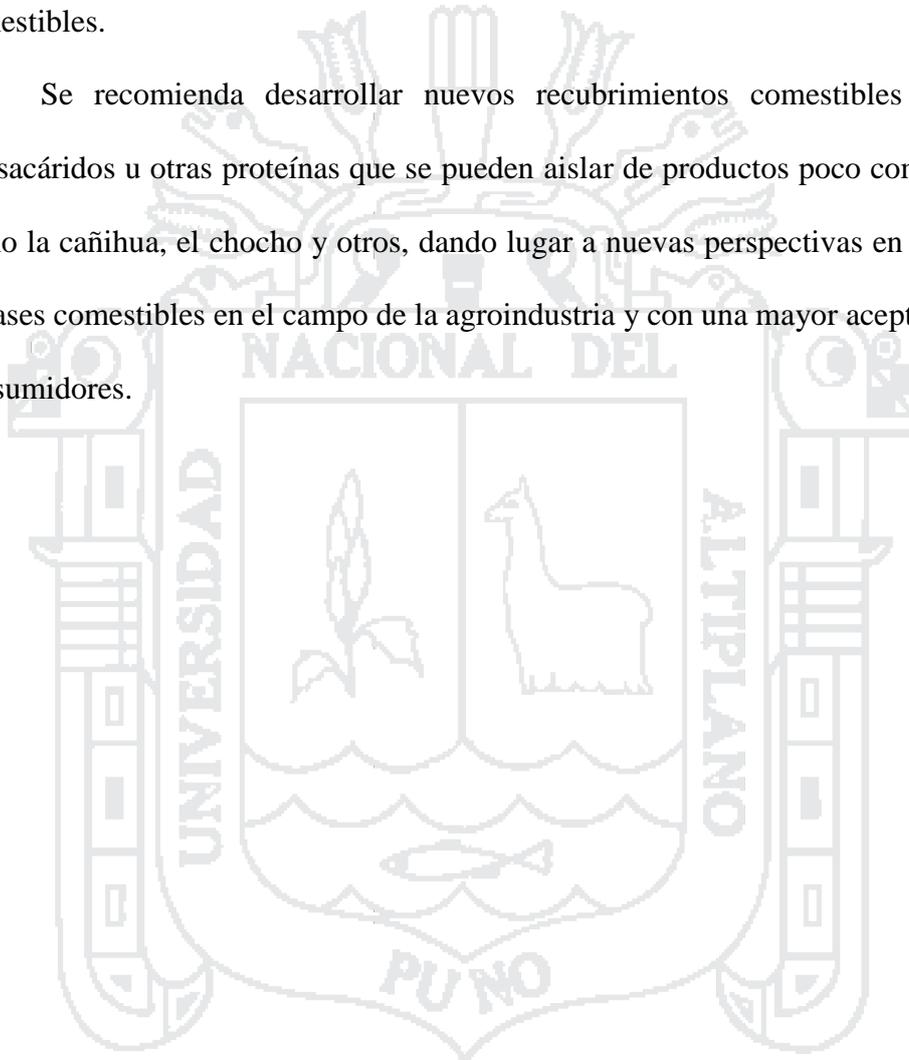
- El efecto del recubrimiento comestible 1, en comparación con recubrimiento comestible 2 y la muestra control, disminuye significativamente la variación del pH de 6.41 a 6.49, acidez de 0.25% a 0.29% e índice de peróxidos de 0.20 a 1,20 meq O₂ Kg⁻¹ lípido en los filetes de trucha Arco iris conservado en refrigeración, envasado al vacío y almacenado por 21 días a 5°C.
- El efecto del recubrimiento comestible 1, disminuye significativamente la pérdida de humedad en filetes de trucha Arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) conservado en refrigeración, reduciendo la pérdida de humedad de 77.73% a 74.51%.
- El recubrimiento comestible 1 registró una variación de 2.15 a 4.22 log ufc/g y el recubrimiento comestible 2 registró una variación de 3.36 a 5.85 log ufc/g ambos no presentan capacidad inhibitoria del desarrollo de *Pseudomona sp*, en filetes de trucha arco iris, pero si presentaron los menores recuento a comparación de la muestra control.



RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar más formulaciones de recubrimientos comestibles, a base de caseinato sódico con otros insumos, para alimentos altamente perecederos que se producen en la Región Puno como frutas, verduras y carnes de otras especies animales comestibles.

Se recomienda desarrollar nuevos recubrimientos comestibles a partir de polisacáridos u otras proteínas que se pueden aislar de productos poco comercializados como la cañihua, el chocho y otros, dando lugar a nuevas perspectivas en el empleo de envases comestibles en el campo de la agroindustria y con una mayor aceptación por los consumidores.



BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, Y., & Carlstrom, C. (2006). Microbiología de los alimentos. Manual de Laboratorio. Edit. Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- Alparslan, Y., Baygar, T., Hasanhocaoglu, H. & Metin, C., (2014). Effects of gelatin-based edible films enriched with laurel essential oil on the quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *Journal Food Science and Technology*, 52(3), 329-330.
- Aubourg, S. P. (1999). Efecto de las alteraciones lipídicas sobre la calidad del pescado procesado. Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC). Vigo, España.
- Aubourg, P. S., Rodríguez, Y. S., Tabilo, M., y Pérez, M, (2013). Sensory and physical changes in chilled farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), 1539-1549.
- Audic, J. L, y Chaufer, B. (2005). Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. *European Polymer Journal*, 41(8), 1934-1942.
- Badui, S. D. (2013). Química de los Alimentos. Edit. Alhambra Mexicana S. A. México.
- Baldwin, E., Nisperos, C., y Baker, R. (1995). Edible coating for Lightly processed fruits and vegetables. *Hort. Science*. 30(1), 35-38.
- Baldwin, E., Hagenmaier, R. y Bai, J. (2012). Edible coatings and films to improve food quality. Edit. Taylor & Francis Group. New York, USA.
- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., y Chiralt, A. (2012). Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: possibilities and limitations. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 208-213.
- Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3), 167-180.

- Bourtoom, T. (2009). Edible protein films: properties enhancement. *International Food Research Journal*, 16(1), 1-9.
- CEDEP (2009). Trucha (*Oncorhynchus mykiss*). Manual de crianza. Municipalidad Distrital Ragash y Antamina. Perú.
- Cervato, G., Cazzola, R., y Cestaro, B. (1999). Studies on the antioxidant activity of milk caseins. *International Journal Food Science and Nutrition*, 50, 291-296.
- Chang, Ch. & Nickerson, M. (2013). Effect of protein and glycerol concentration on the mechanical, optical, and water vapor barrier properties of canola protein isolate-based edible films. *Food Science and Technology International*. 21(1), 33-34.
- Chen, H. (1995). Functional Properties and Applications of Edible Films Made of Milk Proteins. *Journal of Dairy Science*, 78(11), 2563-2583.
- Chick, J., y Ustunol, Z. (1998). Mechanical and barrier properties of lactic acid and rennet precipitated casein-based edible films. *Journal of Food Science*, 63(6), 1024-1027.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., y Guilbert, S. (1998). Packaging films based on myofibrillar proteins: Fabrication, properties and applications. *Food Nahrung*, 42(03-04), 260-263.
- Cutter, C. N., y Sumner, S. S. (2002). Application of edible coatings in muscle foods. En: *Protein Based Films and Coatings*. Edit. Gennadios A. New York. USA.
- Debeaufort, F., Martin-Polo, M., y Voilley, A. (1993). Polarity homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films. *Journal of Food Science*, 58(2), 426-429.
- Debeaufort, F., y Voilley, A. (1995). Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films. *International Journal of Food Science & Technology*, 30(2), 183-190.
- DRPP. (2009). Dirección Regional de Producción Puno. Revista informativa. Manual del

productor.

- Elías, R. J., Mc Clements, D. J., y Decker, E. A. (2005). Antioxidant activity of cysteine, tryptophan, and methionine residues in continuous phase β -lactoglobulin in oil-in water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 10248-10253.
- Escobar, D., Marquéz, R., Repiso, L., Sala, A. & Silvera, C., (2008). Elaboración, caracterización y comparación de películas comestibles en base a aislado de proteínas de suero lácteo. Publicación anual del Laboratorio Tecnológico de Uruguay, 3, 59.
- Etemadian, Y., Shabanpour, B., Mahoonak, A. S., y Shabani, A. (2011). Combination effect of phosphate and vacuum packaging on quality parameters of *Rutilus frisii kutum* fillets in ice. *Food Research International*, 45 (1), 9-16.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., e Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Thecnology*, 22(6), 292-303.
- Fennema, O. R. (2006). Química de los Alimentos. Edit. Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- FONDEPES (2013). Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero. Manual de crianza de trucha arco iris en jaulas. Programa de transferencias de tecnologías en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas. Edit. PRODUCE y Cooperación Española. Lima. Perú.
- Frankel, E. (1991). Review: Recent advances in lipid oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54(4), 495-511.
- García, I., Gago, C. y Fernández, N. (2006). Tecnología de envasado en atmósfera protectora. Informe de Vigilancia Tecnológica. Edit. Madrid, España.
- García, M. A., Martino, M. N., y Zaritzky, N. E. (1998). Starch-based coatings: Effect on

- refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(3), 411-420.
- Gennadios, A., Hanna M. A., y Kurth, L. B. (1997). Application of edible coatings on meats, poultry. and seafoods: a review *Food Science and Technology*, 30(4): 337-350.
- Gontard, N., Marchesseau, S., Cuq, J. L., y Guilbert, S. (1995). Water vapour permeability of edible bilayer films of wheat gluten and lipids. *International Journal of Food Science and Technology*, 30(1), 49-56.
- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J. L., Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 29(1), 39-50.
- Guerrero, J., Tomé, E., Guerra, M. y Raybaudi, R. (2011). Efecto antioxidante y antimicrobiano de sales de ácidos orgánicos y extractos naturales en filetes de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) refrigerados. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Venezuela, 25-28.
- Guilbert, S., y Biquet, B., (1995). *Edible films and coatings*. New York, USA.
- Gutiérrez, S., Soto, D. y Santillán, B. (2005). Guía de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Lima, Perú.
- Guzmán, L., Acevedo, D., Romero, L. & Estrada, J. (2015). Elaboración de una película comestible a base de colágeno incorporado con nisina como agente antimicrobiano. *Información Tecnológica*. España. 26, 17-24.
- Haard, N. F. (1993). Technological aspects of extending prime quality of sea food: A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 1(3-4), 9-27.
- Harris, P. y Tall, J. (1994). Substrate specificity of mackerel flesh lipopolygenase. *Journal of Food Science*, 59(3), 504-506.

- Heydari, H., Bavandi, S., & Roholla, J. (2015). Effect of sodium alginate coating enriched with horsemint (*Menths longifolia*) essential oil on the quality of bighead carp fillets during storage at 4°C. *Food Science and Nutrition*, 3(3), 188-194.
- Hidalgo, F. J., Zamora, R. y Girón, J. (1992). Modifications produced in food proteins following interactions with oxidizing lipids. III. Nutritional and toxicological consequences. *Grasas y Aceites*, 43(2), 97-100.
- Hu, Ch., Huan, Q., Wen, S., y Xin, Z. (2014). Visible near infrared hyperspectral imaging prediction of textural, firmness of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) as affected by frozen storage. *Food Research International*, 56, 190–198.
- ICMSF, (2001). Internacional Comisión on Microbiological Specifications for Foods. Microorganismos de los Alimentos. Edit. Acribia. Zaragoza, España.
- Iguane, A. S. (2014). Estudio de la microbiota láctica aislada de carne envasada al vacío y mediante el sistema avanzado de envasado Darfresh®. Tesis. Universidad de Santiago de Compostela, España.
- Jay, J. M. (2002). Microbiología Moderna de los Alimentos. Edit. Acribia, S. A. Cuarta edición. Zaragoza, España.
- Jouki, M., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T., Koocheki, A. & Khazaei, N. (2014a). Use of quince seed mucilage edible films containing natural preservatives to enhance physico-chemical quality of rainbow trout fillets during cold storage. *Food Science and Human Wellness*, 3, 65–72.
- Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A. & Khazaei, N. (2014b). Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 88–97.

- Krochta, J. M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings. Edit. Gennadios A. New York, USA.
- Krochta, J. M., y De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and Opportunities. *Food Technology*, 51(2), 61-74.
- López-Enríquez, D. F., Ruano, C., Yurani, L., Andrade, J. C., & Osorio-Mora, O. (2016). Evaluation of an edible coating based whey protein and beeswax on the physical and chemical quality of gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Acta Agronómica*, 65(4), 326-333.
- Mantilla, B. (2004). Acuicultura cultivo de la trucha en jaulas flotantes. Edit. Palomino S. A. Lima, Perú.
- McHugh, T. H., & Krochta, J. M. (1994a). Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 71(3), 307-312.
- McHugh, T. H., y Krochta, J.M. (1994b). Sorbitol vs. Glicerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(4), 841-845.
- Mendoza, D. R., (2010). Elaboración del estudio de mercado de la trucha en Arequipa, Cusco, Lima, Huancayo y Puno. Edit. Maximixe Consult S.A. Lima. Peru.
- Merck, E. (2000). Microbiology Manual. Darmstat: Merck KGAA, 407.
- Miller, K. S., Upadhyaya, S. K., y Krochta, J. M. (1998). Permeability of d-Limonene in whey protein films. *Journal of Food Science*, 63(2), 244-247.
- Molina, M., Garro, O., Judis, M. (2000). Estabilidad oxidativa de la carne de Surubi durante el almacenamiento. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Chaco, Argentina.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2006). Pescados: Tabla de

- composición de alimentos. Edit. Pirámide. Madrid, España.
- Nielsen, S. (2003). Análisis de los alimentos. Edit. Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- Nisperos-Carriedo, M., y Shaw, P. E. (1990). Comparison of volatile flavor components in fresh and processed orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(4), 1048-1052.
- Ortíz, J. (2015). Inhibición de la alteración lipídica durante la conservación de salmónidos comerciales mediante la aplicación de diferentes sistemas preservantes. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. España.
- Ortiz, J., Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Puente-Díaz, L., Zura-Bravo, L., & Aubourg, S. (2013). Influence of air-drying temperature on drying kinetics, colour, firmness and biochemical characteristics of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Journal of Food Chemistry*, 139(1), 162-169.
- Ortíz, J., Palma, O., Natalia, G., y Aubourg, S. (2008). Lipid damage in formed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after slaughtering and chilled storage. *Lipid Science Technology*, 110, 1127-1135.
- Ortíz, J., Vivanco, J. P., y Aubourg, S. (2014). Lipid and sensory quality of canned Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Effect of the use of different seaweed extracts as covering liquids. *Lipid Science Technology*, 116, 596-605.
- Parra, D. F., Tadini, C. C., Ponce, P., y Lugão, A. B. (2004). Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 58(4), 475-481.
- Pascall, M. A., y Lin, S. J. (2013). The application of edible polymeric films and coatings in the food industry. *Journal of Food Processing & Technology*, 2013.
- Pastor, C., Vargas, M., y González-Martínez, C. (2005). Recubrimientos comestibles: aplicación a frutas y hortalizas. *Revista de Alimentación, Equipos y*

- Tecnología*, 24(197), 130-135.
- Pavlath, A. E., y Orts, W. (2009). Edible films and coatings. *Springer Science and Business Media*. New York, USA, 1-23.
- Pereda, M., Roura, S., Marcovich, N., y Aranguren, M. (2014). Bio películas para el envasado de alimentos: proteínas y carbohidratos. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Mar de Plata. Argentina.
- Pereira de Abreu, D., Paseiro, L., Maroto, J. y Cruz, J. (2010). Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Food Research International*, 43, 1277–1282.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., y Gordon, M. (2001). Antioxidants in Food. Edit. Woodhead Publishing. USA.
- PRODUCE (2015). Informe de saldos de créditos y depósitos al cierre de operaciones de mayo 2015. Síntesis de Actividad Económica en la región Puno. Banco Central de Reserva. Lima. Perú.
- Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2015). Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with Zataria multiflora Boiss. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. *Food Science and Technology*, 64(2), 898-904.
- Ramos-García, M. D. L., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L., Bosquez-Molina, E., Alia-Tejagal, I., y Estrada-Carrillo, M. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(1), 44-57.
- Requena, D., Agüera, E. I., y Requena., F. (2007). Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 8(1), 1-9.

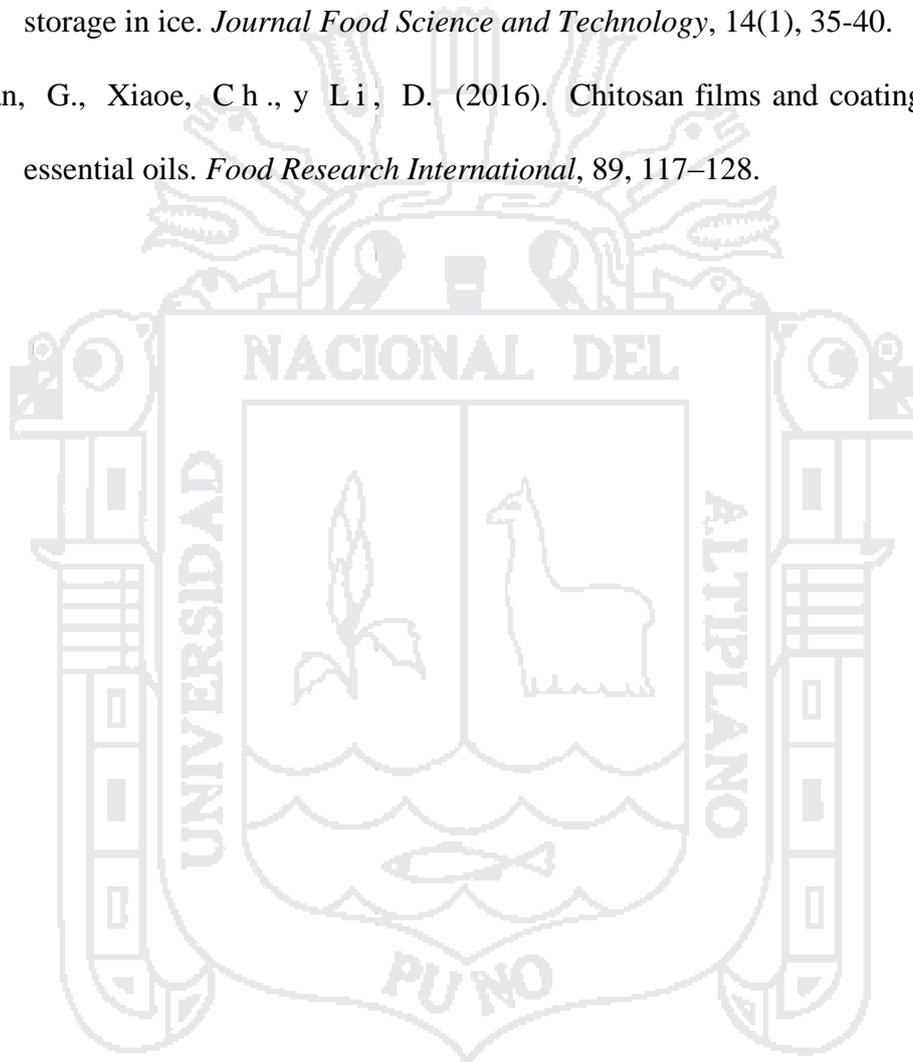
- Rhim, J. W., y Shellhammer, T. H. (2005). Lipid based edible films and coatings. *Innovations in Food Packaging*. Academic Press United Kingdom, 362-383.
- Rodríguez, A., Carriles, N., Cruz, J., y Aubourg, S. (2007). Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5°C). *Food Science and Technology*, 41, 1726-1732.
- Rodríguez, A., Cruz, J. M., Paseiro, L., Aubourg, S. (2011). Effect of a Polyphenol Vacuum Packaging on Lipid Deterioration During 18 Month Frozen Storage of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Food Bioprocess Technology*, 5, 2602-2611.
- Shahidi, F. (2015). Handbook of Antioxidants for Food Preservation. Edit. Elsevier Ltd. USA.
- Shamloofar, M., Hoseini, E., Kamali, A., Mtalebi, M., & Poorgholm, R. (2015). Antibacterial activities of nisin encapsulated in zein and modified atmosphere packaging on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during chilled storage 4°C. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(2), 369-381.
- Sharp, J. S., Becker, J. M., y Hettich, R.L. (2004). Analysis of protein solvent accessible surfaces by photochemical oxidation and mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 76(3), 672-683.
- Siddaiah, D., Reddy, G. V. S., Raju, C. V., & Chandrasekhar, T. C. (2001). Changes in lipids, proteins and kamaboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. *Food Research International*, 34(1), 47-53.
- Skibsted, L. H., Risbo, J., y Andersen, L. M. (2010). Chemical deterioration and physical instability of food and beverages. Edit. Woodhead Publishing Limited. New York. USA.
- Soares, M., Oliveira, S. y Vicente, A. (2014). Effects of glazing and chitosan - based

- coating application on frozen salmon preservation during six-month storage in industrial freezing chambers. *Journal Food Science and Technology*, 61, 529-530.
- Sothornvit, R., y Krochta, J. M. (2000). Plasticizer effect on oxygen permeability of β -lactoglobulin films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12), 6298-6302.
- Sothornvit, R., y Krochta, J. M. (2005). Plasticizers in edible films and coatings. Academic Press United Kingdom, 23, 403-433.
- Suárez, M., Pardo, C., Cortés, R., Catalina, R., y Rojano, B. (2009). Evaluation of new technology to mitigate intramuscular thorns in cachama fillets. *Revista de la Facultad Nacional de Medellin*, 62(1), 4989-4997.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71-78.
- Tomasula, P. M., Parris, N., Yee, W. y Coffin, D. (1998). Properties of films made from CO₂ precipitated casein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11), 4470-4474.
- Valls, J., Paredes, A., González, D., y González, A. (2004). Evaluación física, química, microbiológica y sensorial de filetes de sardina (*Sardinella aurita* V.) empacados al vacío y congelados a -18°C. *Revista Científica*, 14(2), 115-123.
- Vásconez, B., Flores, K., Campos, A., Alvarado, J. y Gerschenson, N. (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42, 762-769.
- Vergara, J. (2005). Trucha en Estados Unidos. Edit. Bogotá, Colombia.
- Volpe, M., Saino, F., Paolucci, M., Sacco, C., Sorrentino, D., A., Malinconico, M. & Varricchio, E. (2014). Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement

of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Journal Food Science and Technology*, 60(1), 615-622.

Yuan, G., Zhang, X., Tang, W., & Sun, H. (2016). Effect of chitosan coating combined with green tea extract on the melanosis and quality of Pacific white shrimp during storage in ice. *Journal Food Science and Technology*, 14(1), 35-40.

Yuan, G., Xiaoe, Ch., y Li, D. (2016). Chitosan films and coatings containing essential oils. *Food Research International*, 89, 117-128.





ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 7. Evaluación del pH de filetes de trucha arco iris con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestra control en 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 5 °C.

tratamientos	Sin recubrimiento				Recubrimiento comestible 1				Recubrimiento comestible 2				
	tiempo	0	7	14	21	0	7	14	21	0	7	14	21
r1		6.46	6.37	6.43	6.2	6.18	6.03	6.69	6.46	6.57	6.62	6.41	6.51
r2		6.42	6.46	6.48	6.12	6.21	6.21	6.5	6.48	6.59	6.68	6.47	6.55

r = Número de repeticiones

Promedio (\bar{Y}) = 6.42

Tabla 8. Evaluación de la acidez en filetes de trucha arco iris con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestra control en 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 5°C.

Tratamientos	Sin recubrimiento				Recubrimiento comestible 1				Recubrimiento comestible 2				
	Tiempo	0	7	14	21	0	7	14	21	0	7	14	21
r1		0.24	0.26	0.20	0.32	0.25	0.24	0.22	0.28	0.21	0.23	0.22	0.3
r2		0.23	0.27	0.31	0.34	0.25	0.23	0.25	0.29	0.22	0.29	0.26	0.3

r = Número de repeticiones

Promedio (\bar{Y}) = 0.26

Tabla 9. Evaluación del Índice de peróxido en filetes de trucha arco iris con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestra control en 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 5°C.

Tratamientos	Sin recubrimiento				Recubrimiento comestible 1				Recubrimiento comestible 2			
	0	7	14	21	0	7	14	21	0	7	14	21
r1	1.13	1.30	1.54	1.70	0.19	0.54	1.00	1.20	1.05	1.07	1.38	1.64
r2	1.09	1.31	1.63	1.72	0.21	0.57	1.10	1.20	1.01	1.06	1.32	1.60

r = Número de repeticiones

Promedio (\bar{Y}) = 1.15

Tabla 10. Evaluación del porcentaje de humedad en filetes de trucha arco iris con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestra control en 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 5°C.

Tratamientos	Sin recubrimiento				Recubrimiento comestible 1				Recubrimiento comestible 2			
	0	7	14	21	0	7	14	21	0	7	14	21
r1	79.80	77.34	76.41	76.24	76.23	75.24	74.63	74.09	77.46	76.32	73.21	71.84
r2	78.01	75.23	74.12	75.23	75.23	74.35	73.15	73.21	78.62	77.55	76.62	74.84

r = Número de repeticiones

Promedio (\bar{Y}) = 4.46

Tabla 11. Evaluación del recuento de *Pseudomona sp.* en filetes de trucha arco iris con recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2 y muestra control en 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 5°C.

Tratamientos	Sin recubrimiento				Recubrimiento comestible 1				Recubrimiento comestible 2				
	Tiempo	0	7	14	21	0	7	14	21	0	7	14	21
r1		3.6	4.4	4.9	6.1	2	3.9	3.6	4.1	3	4.1	4.8	5.7
r2		4.3	4.6	5.5	6.4	2.3	4.04	4.12	4.33	4.3	5.3	5.7	6

r = Número de repeticiones

Promedio (\bar{Y}) = 75.62

ANEXO 2

Tabla 12. ANVA del pH de los filetes de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) con recubrimiento comestible (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2) almacenados a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días.

F. de V.	Gl	SC	CM	F c.	Nivel de Sign.
A: Tratamientos	2	0.0264	0.0132	3.2469	ns.
B: Tiempo	3	0.5976	0.1992	48.9904	*
Interacción: A x B	6	0.0438	0.0073	1.7988	ns.
Error experimental	12	0.0488	0.004		
TOTAL	23	0.7167			

Tabla 13. ANVA de la acidez titulable de los filetes de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) con recubrimiento comestible (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2) almacenados a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días.

F. de V.	Gl	SC	CM	F c.	Nivel de Sign.
A: Tratamientos	2	0.0019	0.00095	1.1937173	ns.
B: Tiempo	3	0.0183	0.0061	7.6701571	*
Interacción: A x B	6	0.0029	0.00048	0.6073298	ns.
Error experimental	12	0.0095	0.00079		
TOTAL	23	0.0326			

Tabla 14. ANVA del índice de peróxidos en filetes de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) con recubrimiento comestible (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2) almacenados a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días.

F. de V.	Gl	SC	CM	F c.	Nivel de Sign.
A: Tratamientos	2	1.996	0.998	843.426	*
B: Tiempo	3	1.973	0.658	555.915	*
Interacción: A x B	6	0.19	0.032	26.806	*
Error experimental	12	0.014	0.001		
TOTAL	23	4.174			

Tabla 15. ANVA del porcentaje de humedad de los filetes de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) con recubrimiento comestible (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2) almacenados a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días.

F. de V.	G.L	SC	CM	Fc	Nivel de Sig.
A: Tratamientos	2	6.843	3.422	2.027	*
B: Tiempo	3	73.203	24.401	14.459	*
Interacción: A x B	6	14.291	2.382	1.411	*
Error experimental	12	20.252	1.688		
TOTAL	23	114.589			

Tabla 16. ANVA del recuento de *Pseudomonas sp.* en los filetes de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) con recubrimiento comestible (recubrimiento comestible 1, recubrimiento comestible 2) almacenados a 5°C durante 0, 7, 14 y 21 días.

F. de V.	G. l.	S. c.	C. m.	F. c.	Nivel de Sig.
A: Tratamientos	2	10,0607	5,0304	22,1810	*
B: Tiempo	3	15,1333	5,0444	22,2430	*
Interacción: A x B	6	1,3649	0,2275	1,0030	ns.
Error experimental	12	2,7215	0,2268		
TOTAL	23	29,2804			

ANEXO 3

Determinación de coeficiente de variabilidad del pH

$$C. V. = \frac{\sqrt{CM_{error}}}{\bar{Y}} \times 100 = \frac{\sqrt{0.0040}}{6.42} \times 100 = 0.99\%$$

Determinación de coeficiente de variabilidad de la acidez

$$C. V. = \frac{\sqrt{CM_{error}}}{\bar{Y}} \times 100 = \frac{\sqrt{0.00079}}{0.25} \times 100 = 10.86\%$$

Determinación de coeficiente de variabilidad del índice de peróxido

$$C. V. = \frac{\sqrt{CM_{error}}}{\bar{Y}} \times 100 = \frac{\sqrt{0.001}}{1.15} \times 100 = 2.75\%$$

Determinación de coeficiente de variabilidad de la pérdida de humedad

$$C. V. = \frac{\sqrt{CM_{error}}}{\bar{Y}} \times 100 = \frac{\sqrt{1.688}}{4.46} \times 100 = 10.68\%$$

Determinación de coeficiente de variabilidad del recuento de *Pseudomona sp.*

$$C. V. = \frac{\sqrt{CM_{error}}}{\bar{Y}} \times 100 = \frac{\sqrt{0.2268}}{75.62} \times 100 = 1.72\%$$

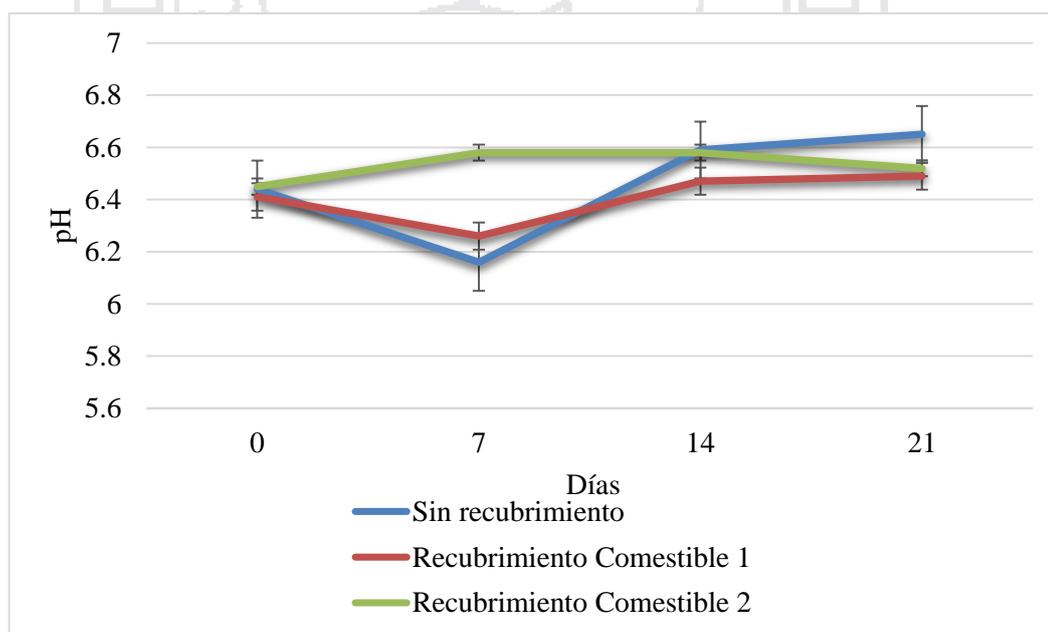
ANEXO 4**FIGURAS DE LAS PRUEBAS QUÍMICAS**

Figura 1. Variación del pH de los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento

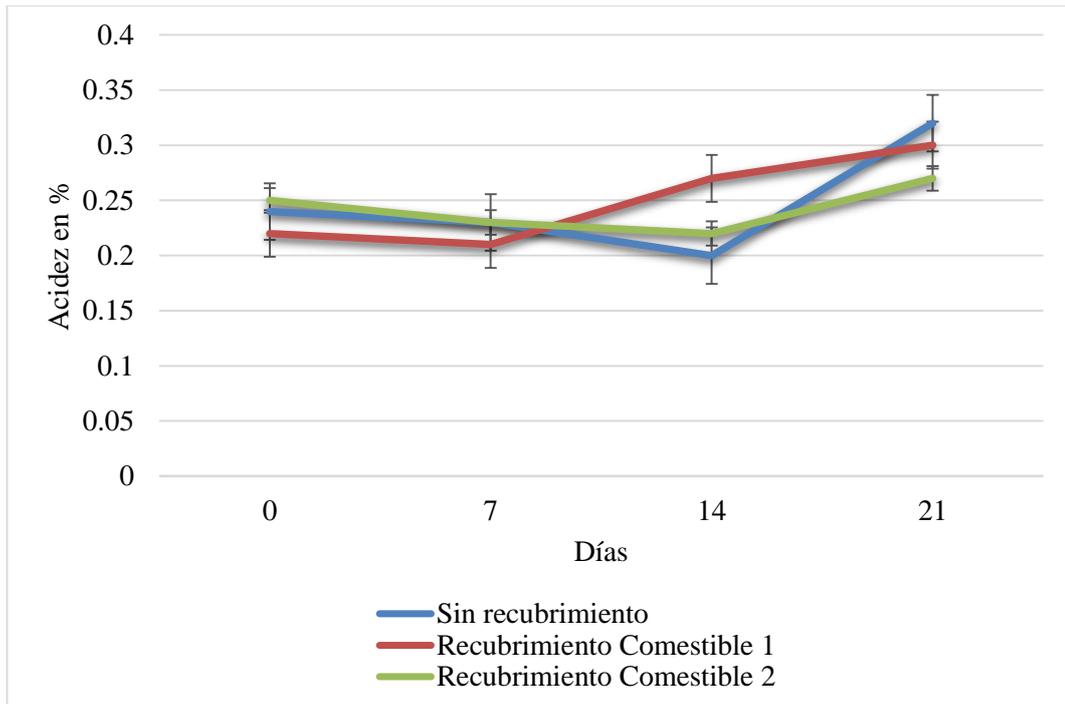


Figura 2. Variación de la acidez durante el tiempo de almacenamiento

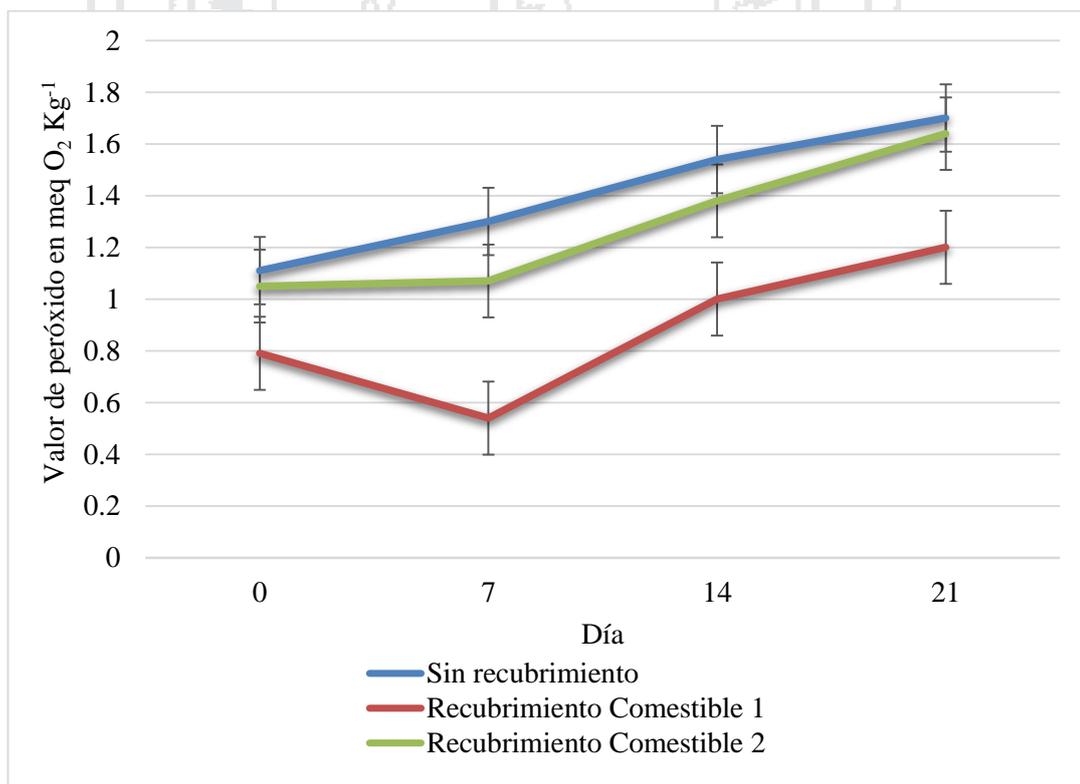


Figura 3. Variación del valor de peróxido durante el tiempo de almacenamiento

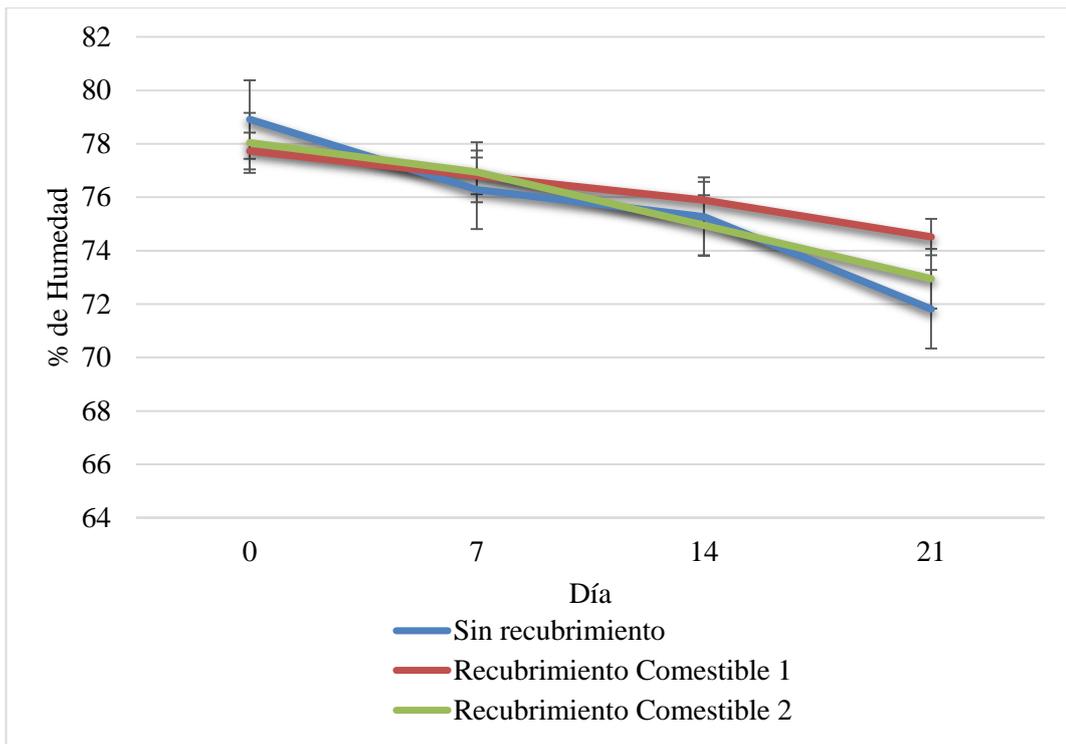


Figura 4. Variación del % de Humedad durante el tiempo de almacenamiento

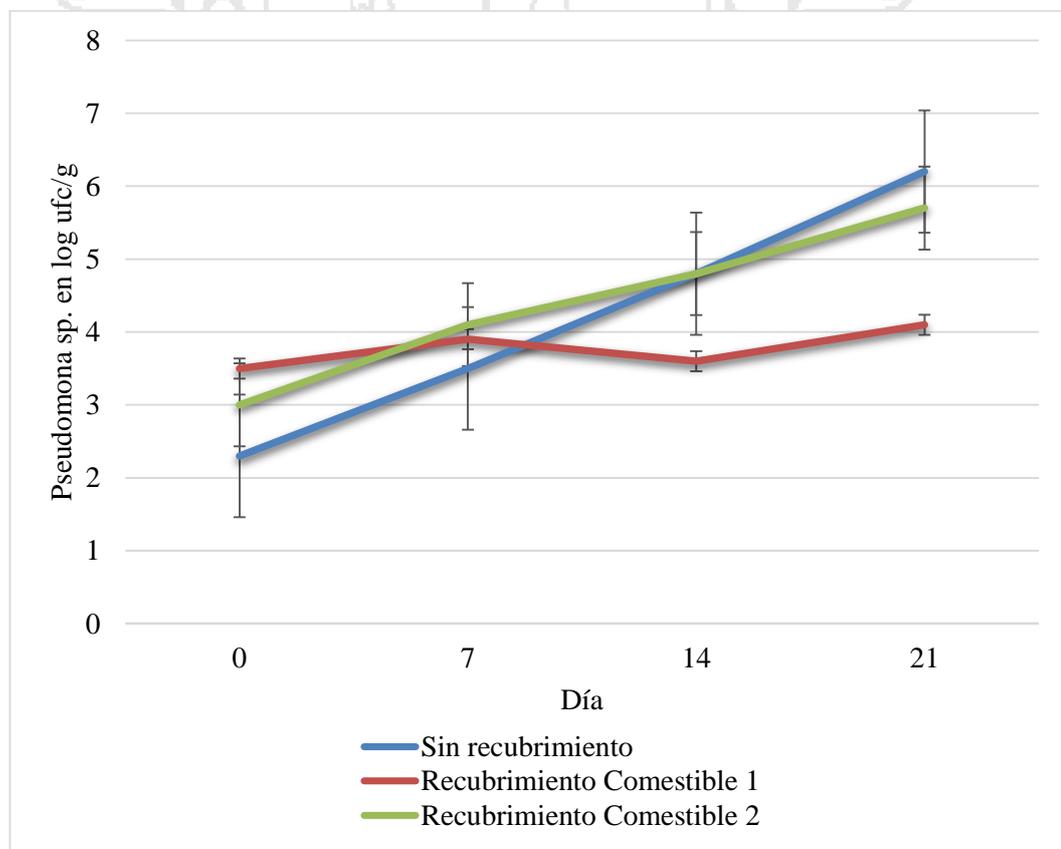
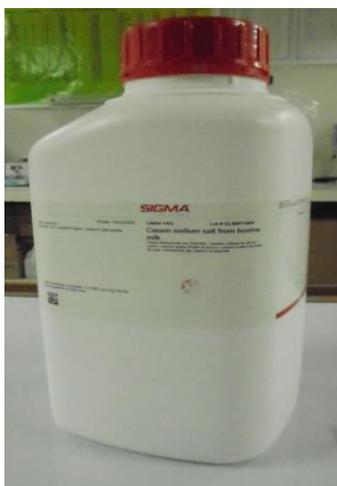


Figura 5. Desarrollo de *Pseudomonas* sp. durante el tiempo de almacenamiento

ANEXO 5

ELABORACIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE



Caseinato sódico



Glicerina



Butilhidroxi tolueno

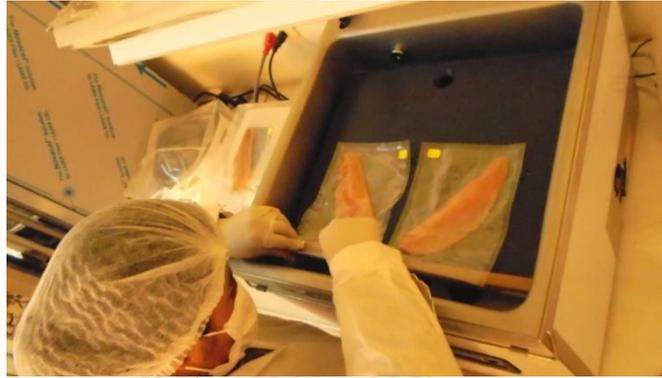
Insumos para la elaboración del recubrimiento comestible



A: Centrifugación de insumos



B: Licuado de insumos



Envasado al vacío de filetes de trucha con recubrimiento comestible

**ANEXO 6
PRUEBAS QUÍMICAS**



Determinación de pH

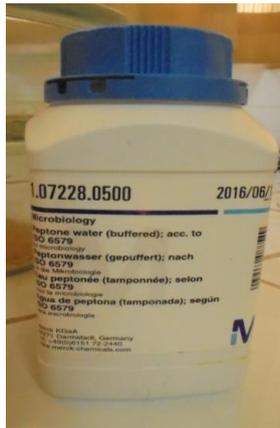


Determinación de acidez



Determinación del Índice de peróxido

**ANEXO 7
MICROBIOLÓGIA**



Agar ceftrimida



Glicerina



Cloruro de sodio

Insumos para la preparación del medio de cultivo para *Pseudomona sp.*



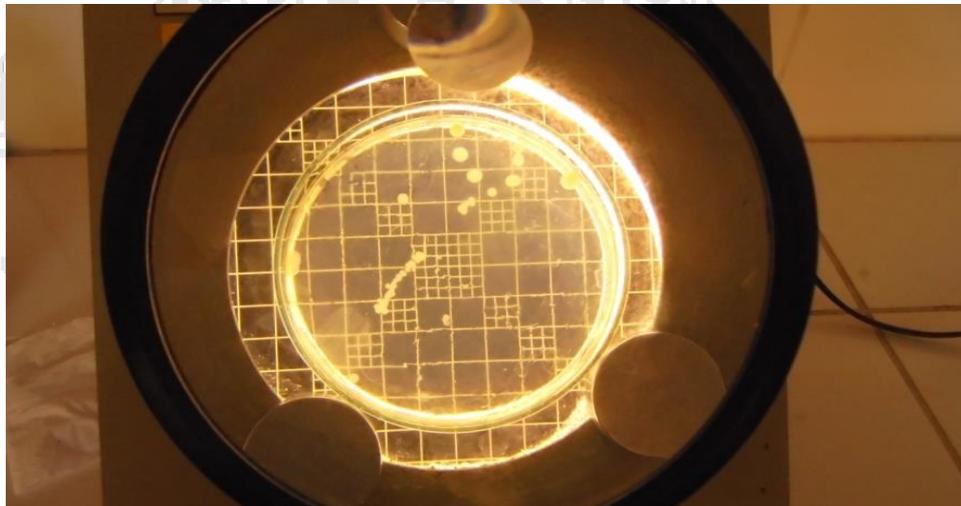
Licudo de muestras de filetes de trucha con recubrimiento comestible



Dilución de filetes de trucha con recubrimiento comestible



Siembra de muestras de filetes de trucha en placas con agar cetrimida



Conteo de *Pseudomona sp.* (en ufc/g) en el cuenta colonias



Universidad Nacional del Altiplano - Puno

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Av. Floral 1153, C.U. Telf. (051) 366080 IP. 20102 Casilla 291 e-mail: fca-una@eudoramail.com



LABORATORIO DE EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE ALIMENTOS

INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS Nro. 0052-2015-LENA-EPIA

SOLICITANTE : MIRIAM JESSENA MITTANI SANCHEZ
 TITULO DE TESIS : "Elaboración de un recubrimiento comestible para trucha arcoíri (*Ocorynchus mykiss*) en filetes"
 PRODUCTOS : Trucha glaseada con Casianato sódico)
 ENSAYO SOLICITADO : FISICO QUIMICO Y PEROXIDOS
 FECHA DE RECEPCION : 05 de Agosto del 2015
 FECHA DE ENSAYO : 05 de Agosto del 2015
 FECHA DE EMISION : 10 de Setiembre del 2015

RESULTADOS:

De acuerdo al Informe de los Análisis de Laboratorio que obra en los archivos los resultados son:

RESULTADOS FISICO QUIMICOS

MUESTRA	% Solidos Totales	% Humedad	% Ceniza	% Proteína	% Grasa	% Carbohidratos	Energía Kcal/100g
Trucha glaseada con Casianato sódico)	21,20	78,80	0,95	16,48	3,50	0,27	98,50

METODOS UTILIZADOS EN LABORATORIO:

- AOAC. 1990

RESULTADOS DE ÍNDICE DE PEROXIDOS

MUESTRA	Meq/Kg-grasa							
	1er. Muestreo		2do. Muestreo		3er. Muestreo		4to. Muestreo	
	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2	R 1	R 2
M 1	0,19	0,21	0,54	0,57	1,00	1,10	1,20	1,20
M 2	1,05	1,01	1,07	1,06	1,38	1,32	1,64	1,601,60
Control	1,13	1,09	1,30	1,31	1,54	1,63	1,70	1,72

METODOS UTILIZADOS EN LABORATORIO:

- AOAC. 1990 Official Method 965.33: Peroxide Value of Oils and Fats

CONCLUSIÓN : Los resultados Físico Químicos e Índice de Peróxido están conformes.

Ing. OSWALDO ARRASTI ALCA
 Control de Calidad de Alimentos
 LABORATORIO
 C.I.P. 180625

Ing. C.U. 10 de Setiembre del 2015

 JEFATURA
 Alimentos Instrumentación
 F.C.A. UNA - PUNO
 UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
 Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial
 Luis Alberto Jiménez Monroy
 N.º. AGROINDUSTRIAL
 CIR. 19612
 JEFE DE LABORATORIO