

OPTIMIZACIÓN DEL ENVASADO CON ATMÓSFERAS MODIFICADAS INNOVADORAS EN PESCADO FRESCO

*“TESIS MÁSTER INICIACIÓN A LA INVESTIGACIÓN EN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS”*

Universidad de Zaragoza

JOSÉ FRANCISCO JIMÉNEZ LÓPEZ

ZARAGOZA, JULIO 2012

Ciencia y Tecnología de la Carne y el Pescado

Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos

Facultad de Veterinaria

Universidad de Zaragoza



ÍNDICE

Página

1. INTRODUCCIÓN	1-7
2. OBJETIVO	7
3. MATERIAL Y MÉTODOS	8
3.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza	9
3.2 Medida del pH	9
3.3 Medida del color	9
3.4 Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)	9-10
3.5 Análisis microbiológicos	11-13
3.6 Análisis sensorial	13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN MERLUZA	14
4.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza	14
4.2 Medida del pH	15
4.3 Medida del color	16-17
4.4 Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)	18
4.5 Análisis microbiológicos	19-21
4.6 Análisis sensorial	21-22
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN PERCA	23
5.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza	23
5.2 Medida del pH	23-24
5.3 Medida del color	24-26
5.4 Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)	26
5.5 Análisis microbiológicos	27-29
5.6 Análisis sensorial	29-30
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN BONITO	31
6.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza	31
6.2 Medida del pH	32
6.3 Medida del color	32-34
6.4 Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)	35-36
6.5 Análisis microbiológicos	36-39
6.6 Análisis sensorial	39-43
7. CONCLUSIONES MERLUZA	43
8. CONCLUSIONES PERCA	43
9. CONCLUSIONES BONITO	43-44

1. INTRODUCCIÓN

La naturaleza altamente perecedera de los productos de la pesca y la tendencia actual del mercado a consumir productos frescos y de calidad, implica la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías que alarguen la vida útil de dichos productos y cumplan con las expectativas de los consumidores.

Las predicciones sobre los hábitos de consumo referentes al pescado fresco y similares (APROMAR 2008) apuntan a un aumento en la demanda de productos fáciles de consumir, de ahí el incremento en la comercialización de pescado eviscerado, fileteado, moluscos ya cocidos etc. También es necesario que el producto resulte atractivo para el consumidor tanto en lo que se refiere a características organolépticas, determinadas principalmente por la apariencia y el olor, relacionadas con la calidad y frescura del producto como en lo que se refiere al desarrollo de envases atractivos, cómodos de utilizar, que permitan ver bien el producto, que no se colapsen ni se deformen y que aporten toda la información necesaria a cerca de la materia prima. Otro factor importante a tener en cuenta se relaciona con la situación comercial a nivel mundial que implica la globalización, es decir, hoy en día la zona de comercialización de los productos puede encontrarse a miles de kilómetros de la zona de captura y a pesar del desarrollo de las comunicaciones es necesario garantizar la calidad del producto durante un determinado periodo de tiempo hasta el momento de llegar al consumidor. Por último cabe destacar la tendencia actual a consumir productos de alta calidad organoléptica y que cumplan las exigencias contempladas en la legislación vigente relacionada con la calidad higiénica.

En los últimos años y como respuesta a todas estas exigencias, dentro del campo de la tecnología de los alimentos, se ha producido un importante desarrollo de nuevas tecnologías de conservación relacionadas con el envasado, de las cuales, la más utilizada y extendida actualmente es el envasado en atmósferas protectoras combinado con la refrigeración.

Toda la bibliografía recogida hasta el momento corrobora que el envasado en atmósfera protectora o modificada, alarga la vida útil de los productos en mayor o menor medida atendiendo a la composición de la atmósfera empleada, la naturaleza de la especie a comercializar, las características del envase y del propio producto y la temperatura durante el almacenamiento.

Definición:

El envasado en atmósfera protectora consiste en sustituir el aire que existe en el envase por un gas o una mezcla de gases apropiada para cada tipo de producto y permite controlar las reacciones químicas, enzimáticas y microbianas y mantener las condiciones organolépticas e higiénico-sanitarias del producto.

Son muchos los estudios que se han realizado sobre el envasado de productos de la pesca y sus derivados para determinar la conveniencia del uso de un determinado gas o mezcla de gases así como las proporciones de éstos y la relación gas/producto más apropiada.

Los gases más usados son el nitrógeno, el dióxido de carbono y el oxígeno (Torrieri & Cavella, 2006) aunque también se está investigando el uso de otros gases, por ejemplo, el monóxido de carbono aunque está prohibido en la legislación europea o gases nobles como el argón o el helio entre otros de los cuales ya se ha estudiado su efecto en otros grupos de alimentos (Jamie & Saltveit, 2002).

El nitrógeno es un gas inerte, inodoro, incoloro e insípido de baja solubilidad tanto en agua como en grasas. Se utiliza como gas de relleno, es decir, desplaza al oxígeno lo cual previene la oxidación y el enranciamiento, el desarrollo de organismos aerobios y evita el colapso del envase (Coles & McDowell, 2003).

El dióxido de carbono también es incoloro e inodoro pero se disuelve en los tejidos formando ácido carbónico y disminuyendo así el pH del producto efecto que produce la inhibición de numerosos grupos de microorganismos, en especial mohos, levaduras y bacterias Gram-negativas. El efecto bacteriostático y fungistático aumenta al disminuir la temperatura de almacenamiento del producto. Un efecto negativo asociado con las altas concentraciones del CO₂ es el aumento en la pérdida de agua o merma del producto (Dalgaard, Gram, & Huss, 1993) y el posible colapso de los envases debido precisamente a la absorción por parte de los tejidos (Coles & McDowell, 2003).

El oxígeno a pesar de ser también un gas incoloro e inodoro, al contrario que los anteriores, es un gas altamente reactivo que provoca oxidación y enranciamiento de las grasas, permite el desarrollo de bacterias aerobias y favorece numerosas reacciones enzimáticas por lo que es un agente causal del deterioro de los productos de la pesca y por tanto de ser usado en el envasado, se hace a bajas concentraciones (Coles & McDowell, 2003).

Además de la importancia del gas utilizado y el porcentaje del mismo, es importante la relación volumen libre (gas)/ volumen ocupado (producto), recomendándose que ésta sea de al menos 2:1 (CETMAR cap.XI 203-219).

Existen otros factores a tener en cuenta a la hora de realizar el envasado en atmósfera protectora como son la calidad y el tipo de materia prima a envasar, el nivel de higiene previo al envasado, el tipo de corte o procesado del producto y el enfriamiento (CETMAR cap.XI 203-219).

La calidad y las características intrínsecas de cada materia prima determinan la eficacia del envasado en atmósfera protectora. La calidad depende del método de pesca y del trato y el tiempo desde el momento de la captura hasta el procesado ya que pescados de baja calidad presentan una mayor susceptibilidad a deterioros microbianos, enzimáticos y oxidativos que obviamente repercuten en la vida útil del producto.

La calidad higiénica de partida es extremadamente importante para lograr el objetivo que buscamos de alargar la vida útil del producto. Una de las formas de reducir la contaminación es mantener la higiene gracias al buen manejo de la materia prima a lo largo de toda la cadena de producción con sucesivos lavados y evitando la contaminación cruzada. Además el descabezado y eviscerado permite eliminar gran parte del contenido microbiano del interior y evita proliferaciones microbianas pero a su vez, aumenta el riesgo de contaminación del resto de masa muscular expuesta durante la manipulación.

El tipo de corte supone un cambio en la morfología del producto que generalmente implica un aumento en la relación superficie-volumen corporal y por tanto una mayor exposición al medio y un mayor deterioro del producto.

El enfriamiento del producto a lo largo de toda la cadena de producción permite controlar las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas. Como bien indica Mejía García JL. (CETMAR cap.XI 203-219), con el enfriamiento rápido superficial previo al envasado a temperaturas de entre -1 grados y -3 grados se retrasa el tiempo de aparición de pardeamientos del músculo de pescado fresco y se disminuye el crecimiento bacteriano y por debajo de -2°C, cesa gran parte de la actividad bacteriana. Además, el enfriamiento evita el colapso ya que si no existe esta refrigeración previa, el gas que rodea al alimento disminuye su volumen al enfriarse, originando una depresión que ocasiona la deformación del envase.

El envasado en atmósfera protectora como hemos indicado anteriormente, alarga la vida útil del producto gracias al efecto que ejerce sobre los microorganismos y por el papel que juega en otras reacciones físico químicas. A continuación se exponen los efectos de las atmósferas modificadas en diversos parámetros a valorar que determinan la calidad del producto final.

Efecto de los principales gases utilizados en las atmósferas modificadas sobre las propiedades físico químicas y microbiológicas de los productos pesqueros:

1. Oxígeno: Como hemos indicado anteriormente el oxígeno es un gas altamente reactivo. Permite el desarrollo de numerosos microorganismos, promueve la oxidación lipídica, influye en la conservación del color de determinados productos, contribuye al pardeamiento enzimático y favorece el desarrollo de sabores desagradables.

La oxidación lipídica se produce por la degradación de radicales libres en presencia de oxígeno y es una de las principales causas del deterioro del pescado fresco. Afecta a los ácidos grasos, principalmente a los poliinsaturados (que se encuentran en altas concentraciones en el pescado fresco) y provoca la aparición de olores y sabores desagradables para el consumidor debido a la aparición de ácidos y aldehídos principalmente (Fernandez & Pérez-Alvarez ,1997).

El oxígeno favorece la estabilidad del color en la carne debido a la oxidación de la mioglobina y a la formación de oximioglobina que permite el desarrollo del color característico de la carne fresca, mientras que en su ausencia, la mioglobina sufre la reducción a metamioglobina que proporciona colores marrónáceos poco atractivos. Puesto que la mayoría del pescado y marisco, contiene bajos niveles de mioglobina, el nivel de oxidación y de reducción de este compuesto es menos importante que en otras carnes frescas (Coles & McDowell , 2003). Por este motivo en el envasado de productos de la pesca se trata de disminuir al máximo el porcentaje de dicho gas en el envase salvo excepciones como por ejemplo en el estudio de Ruiz-Capillas y Moral (2005), sobre el envasado de atún y otros productos similares en los que es necesaria cierta cantidad de oxígeno para mantener el color apropiado.

Desde el punto de vista microbiológico, el oxígeno es parte fundamental del desarrollo de numerosos grupos de bacterias, mohos y levaduras que se pueden agrupar en función

de sus necesidades de oxígeno (Coles & McDowell, 2003) y por tanto controlar, modificando la composición de los envases.

- Aerobios, que incluyen al género *Pseudomonas*, *Micrococos* y algunos mohos como el *Botrytis cinérea* y algunos patógenos como *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolítica*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Campilobacter jejuni*. Siendo en el pescado el grupo más importante el de las *Pseudomonas* junto con los géneros *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* y algunas especies pertenecientes al género *Cytophaga* (Coles & McDowell, 2003).

- Microaerófilos, que necesitan para su desarrollo bajas concentraciones de O₂ como el grupo de las *Enterobacterias*, *Bacillus* y *Lactobacillus* y patógenos como *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* (aunque también pueden englobarse como aerobios facultativos) y *Aeromonas hydrophilla*.

- Aerobios facultativos que se desarrollan en presencia de oxígeno pero pueden adaptarse a atmósferas sin él. Dentro de este grupo se engloban algunas levaduras y géneros como *Shewanella putrefasciens* o *Brochothrix termosphacta*. Algunos de los patógenos más importantes pertenecen a este grupo como por ejemplo, *Escherichia coli*, *Salmonella*, numerosas especies de *Shigella* y *Vibrio*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. En este grupo se engloba también a un patógeno emergente asociado principalmente con el pescado y demás productos de la pesca como es la especie *Aeromonas hydrophilia*.

- Muchos de estos microorganismos pueden además crecer a bajas temperaturas (3-5 grados) dado que son psicrótrofos.

- Por último aparecen los microorganismos anaerobios que son eliminados o inhibidos por la presencia de O₂ como el patógeno *Clostridium botulinum*.

2. Nitrógeno: Dado que el nitrógeno es un gas no reactivo, no ejerce ningún efecto directo sobre las propiedades químicas y bioquímicas de los alimentos ni afecta a la carga microbiana salvo por el hecho de que puesto que se utiliza para desplazar el O₂ del envase, disminuye la carga de microorganismos aerobios. El mayor efecto asociado con el uso de N₂ es que evita el colapso de envases por absorción de CO₂ principalmente (Coles & McDowell, 2003).

3. Dióxido de Carbono: Uno de los efectos que produce este gas se debe a su capacidad de solubilizarse en el músculo lo cual, como ya hemos indicado produce un

descenso en el pH que de manera indirecta, puede inhibir el crecimiento microbiano pero también afecta de manera negativa a la capacidad de retención de agua (Dalgaard, Gram, & Huss, 1993). El descenso de pH provoca la degradación de numerosas proteínas y por tanto disminuye la capacidad de retención por parte de éstas lo cual afecta directamente a la jugosidad y textura del músculo (Sivertsvik, 2007) y además produce la decoloración de las agallas.

Los niveles de las aminos biógenas también pueden ser útiles en la estimación de la frescura o del grado de deterioro de los productos de la pesca desde su formación y se asocia con el metabolismo bacteriano. Los niveles de histamina permitidos en el pescado según BOE 1993 se encuentran entre 100 y 200 ppm, el pescado que contenga concentraciones superiores, además de no cumplir las exigencias vigentes, puede causar envenenamiento o reacciones alérgicas. La histamina es producida por la descarboxilación microbiana del aminoácido histidina. La importancia de la estimación de la concentración de histamina en el pescado y productos pesqueros está relacionado con su impacto en humanos en la salud y la calidad de los alimentos. En el envasado en atmósferas modificadas, gracias a la presencia de CO₂ con marcado efecto antimicrobiano, los niveles de histamina son menores que en el envasado en aire y por tanto se asegura la vida útil del producto (Ozogul & Polat, 2004).

Las propiedades antibacterianas del CO₂ que permiten extender el periodo de vida útil de los productos de la pesca, son conocidas desde hace mucho tiempo y ampliamente probadas (Giménez & Sánchez-Escalate, 2002).

El efecto antimicrobiano del CO₂ se basa en tres mecanismos básicos; altera las membranas celulares, produce cambios físico-químicos en las propiedades de las proteínas y penetra en las membranas de las bacterias provocando cambios en el pH intracelular (CETMAR cap.XI 203-219). Gracias a estos mecanismo, se consigue alargar la fase de latencia y por tanto controlar el crecimiento bacteriano. Este efecto es mayor a menor temperatura pero no todos los microorganismos se ven afectados de la misma manera por el CO₂. Los microorganismos que son inhibidos por el CO₂ (generalmente a concentraciones superiores del 20%) son *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Enterobacterias*, *Staphylococcus aureus* y *Yersinia enterocolítica*. Sobre otros grupos tiene un efecto dudoso o reducido, tales como *Enterococcus*, *Bochothrix* o *Clostridium* y por el

contrario puede estimular el crecimiento de otros como algunas especies de *Lactobacillus* y *Clostridium botulinum*. (Coles & McDowell , 2003).

El uso de atmósferas protectoras en el envasado de pescado está siendo ampliamente utilizado gracias a los numerosos estudios que avalan su eficacia. No existe una única atmósfera eficaz sino que ésta debe adaptarse a cada producto y a cada necesidad por lo que a pesar del trabajo ya realizado, la investigación en este amplio campo sigue siendo necesaria para mejorar la calidad de los productos pesqueros y alargar la vida útil de los mismos.

Mientras que un pescado fresco, mantenido en refrigeración puede tener una vida útil máxima de 7 días aproximadamente (Pastoriza & Sampedro,1998) (aunque en muchas ocasiones desarrolla olores y sabores desagradables incluso antes, según las características del producto), el uso combinado con las atmósferas protectoras puede duplicar este tiempo alcanzándose 14 días (Torrieri & Cavella, 2006), o incluso más si se combinan con otras tecnologías también en desarrollo.

2. OBJETIVO

El objetivo del presente estudio es realizar una estimación de la vida útil de distintas especies de pescado (merluza, perca y bonito), envasadas en atmósfera modificada con diferentes envases y atmósferas de gases, mantenidos a refrigeración en cámara a 3-4 grados, analizando diferentes parámetros de calidad y optimizando la proporción óptima de gases para la mejor conservación de cada especie.

Los parámetros estudiados fueron los siguientes:

- Gases del espacio de cabeza de los envases
- pH
- Color
- Oxidación lipídica
- Análisis microbiológico
- Análisis sensorial

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio, se utilizaron muestras de merluza, perca, y bonito envasadas en distintas composiciones de gases.

Se realizaron 3 pruebas con las tres especies mencionadas que se organizaron de la siguiente forma:

1ª PRUEBA con merluza:

Tratamiento 1: Envase en *formato macro* (285 x 390). Varios filetes de un mismo pez en una atmósfera de conservación con 50 % CO₂ / 50 % N₂.

Tratamiento 2: Envase en *formato macro* (285 x 390). Varios filetes de un mismo pez en una atmósfera de conservación con % 50 CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂.

2ª PRUEBA con perca:

Tratamiento 1: Envase en *formato macro* (285 x 390). Varios filetes de un mismo pez en una atmósfera de conservación con 50 % CO₂ / 50 % N₂.

Tratamiento 2: Envase en *formato macro* (285 x 390). Varios filetes de un mismo pez en una atmósfera de conservación con % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂.

3ª PRUEBA con bonito:

Tratamiento 1: Envase en *formato macro* (285 x 390). Varios filetes de un mismo pez en una atmósfera de conservación con 50 % de CO₂ y 50 % de N₂.

Tratamiento 2: Envase con *formato macro* (285 x 390). Varios filetes de un mismo pez en una atmósfera de conservación con 40 % de CO₂, 30 % de N₂ y 30 % de O₂.

Tratamiento 3: Envase con *formato supermercado* (280 x 150). Un único filete con una composición de gases de 40 % de CO₂, 30 % de O₂ y 30 % de N₂.

Tratamiento 4: Envase con *formato supermercado* (280 x 150). Un único filete con una composición de gases de 40 % de CO₂, 30 % de O₂ y 30 % de Ar.

Las muestras correspondientes a los tratamientos 1 y 2 de las tres pruebas fueron colocadas en cámara fría en oscuridad a aproximadamente 4 °C, mientras que las bandejas formato supermercado (tratamientos 3 y 4 de la tercera prueba) se colocaron en una cámara

de refrigeración a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ con 14 horas de luz estándar a lo largo del tiempo de estudio. Con esto se intentaron asemejar las condiciones a las encontradas a nivel de mercado.

3.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza

Se midió la concentración de gases en el espacio de cabeza de los envases a día 0, día 4, día 7 y día 10 de conservación en refrigeración, con un medidor de gases (Witt-Gasetechnik, Oxybaby, MO₂/CO₂, Witten, Germany) para conocer la evolución de la atmósfera a lo largo del tiempo.

3.2 Medida del pH

El pH de las muestras se midió por homogenización de 3 gr de músculo en 30 ml de agua destilada durante 10 segundos a 13.000 rpm con un Ultra-Turrax T25 (Janke & Kunkel, Staufen, Germany) utilizando un pH metro modelo 2001 (Crison Basic 20, Barcelona, España).

3.3 Medida del color

El color de las muestras se determinó por medida de los valores L* (luminosidad), a* (índice de rojo) y b* (índice de amarillo) en la superficie del músculo mediante el uso de un espectrofotómetro de reflectancia (Minolta CM-2002; Osaka, Japón). La medida se realizó 5 minutos después de la apertura del envase y se realizaron diez réplicas para cada tratamiento. Éste sistema, permite medir la cantidad de luz que se refleja sobre la superficie, y mediante el método CieLab, descompone el color en tres parámetros que se corresponden con una representación tridimensional del espectro de colores en ejes de coordenadas. Los parámetros medidos son L* (luminosidad) que es la cantidad de luz reflejada o claridad, y dos parámetros de cromaticidad que definen el color, siendo a* el índice de rojo y b*, el índice de amarillo.

3.4 Índice de oxidación del ácido Tiobarbitúrico (TBA)

La oxidación lipídica se produce por la degradación de radicales libres en presencia de oxígeno y es una de las principales causas del deterioro del pescado fresco. Afecta a los ácidos grasos, principalmente a los poliinsaturados (que se encuentran en altas concentraciones en el pescado fresco) y provoca la aparición de olores y sabores desagradables para el consumidor debido a la aparición de ácidos y aldehídos principalmente (Fernández, Pérez-Álvarez, Fernández-López, 1996).

Dado que uno de los principales productos de la reacción inicial de los hidroperóxidos presentes en la muestra, es el malonaldehído (MDA), cuantificaremos la oxidación lipídica como mg de malonaldehído por kg de muestra.

Utilizando el método del 2-ácido tiobarbitúrico (TBA) descrito por Pfalzgraf, Frigg & Steinhart (1995), cuantificamos la oxidación lipídica de las muestras a lo largo de todo el periodo de almacenamiento. El método descrito se basa en la determinación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico presentes en 10 gr de músculo y los valores se obtienen en base a una curva patrón de malonaldehído y se expresan como mg de malonaldehído por kg de músculo.

Se homogeneizaron 10 g de músculo de pescado con 20 ml de ácido tricloroacético (TCA 10%) en tubos de plástico en un Ultra-Turrax (JANKE & KUNKEL Modelo T25, Alemania) unos 90 segundos a 20.000 r.p.m aproximadamente. Los tubos se centrifugaron durante 30 min a 4000 r.p.m a 4 °C en una centrífuga refrigerada a 10 °C (Jouan CR 411). Después de la filtración, se tomaron 2 ml del homogeneizado en un tubo mezclado con 2 ml de una solución 20 mM de ácido tiobarbitúrico (TBA) recién preparada. Por cada muestra se prepararon dos tubos. Los tubos se homogeneizaron con un rotatubos durante 30 segundos y luego se incubaron a una temperatura de 97 °C durante 20 minutos en un baño de agua termostático (Grant W14).

Previamente a la lectura de las absorbancias a 532 nm de las muestras en el espectrofotómetro (Unicam 5625 UV/VIS, Cambridge, UK), los tubos se enfriaron en agua hasta alcanzar la temperatura ambiente y el aparato se calibró mediante un blanco (2 ml de TBA + 2 ml de agua destilada).

Los resultados fueron calculados mediante una curva patrón usando 1,1,3,3 tetrametoxipropano (TMP) , se usó esta sustancia ya que el malonaldehído puede obtenerse por hidrólisis ácida del TMP en una reacción equimolecular.

Las medidas fueron expresadas como sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) en mg de malonaldehído/kg de muestra usando para ello la siguiente fórmula:

$$2,884 \times [\text{Abs}/(\text{Pendiente de la recta} \times 10^{-4})] = \text{mg de malonaldehido} / \text{kg de muestra}$$

3.5 Análisis microbiológicos

Se analizó la presencia de microorganismos aerobios *mesófilos totales*, *psicrótrofos* totales y *enterobacterias* así como la Ausencia/Presencia de *Listeria monocytogenes*, *Samonella/Shigella* en todas las muestras.

La legislación vigente (BOE núm. 195. del 15/08/91), donde se recopilan las normas microbiológicas exigidas para los diferentes alimentos, nos informa de los límites establecidos para pescado fresco:

- Aerobios mesófilos: 10^6 UFC/g.
- Enterobacterias: 10^3 UFC/g.
- Salmonella/Shigella: Ausencia en 25 g.

-Para el recuento de **microorganismos totales** se utilizó el método de recuento en placa, usando agar PCA (Merck; Darmstadt, Germany). Se llevaron a cabo diluciones, partiendo de 10 gr de músculo y 90 ml de agua de peptona esterilizada al 0.1 % y 1 % de Cloruro de Sodio. La muestra se sometió a homogeneización durante un minuto (IUL, Masticator, Barcelona, España) y se prepararon diluciones seriadas a partir de 1 ml de esta muestra inicial en 9 ml de agua de peptona al 0.1 %. Cada dilución se sembró por duplicado, para ello, se tomó un ml de muestra y se realizó una siembra en masa con agar PCA.

-Aerobios *mesófilos totales* se incubaron las muestras durante 48 horas en estufa a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, en *psicrótrofos* 7 días a $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y en el caso de *enterobacterias* durante 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. En base a la morfología observada se contaron las colonias y los datos se expresaron como logaritmo del número de unidades formadoras de colonias por gramo de pescado (UFC gr^{-1}).

-Para contabilizar **Enterobacterias** se siguió el mismo procedimiento que para los microorganismos totales pero sembrando en el medio selectivo de enterobacterias agar VRBG (Merck; Darmstadt, Germany).

-Para la investigación de **Salmonella spp.** se utilizó el *método horizontal para la detección de Salmonella spp.* (UNE-EN ISO 6579:2003). Este método se basa en la investigación de Salmonella en cuatro etapas sucesivas:

- Preenriquecimiento en medio no selectivo: Siembra de 25 g de músculo en 225 mL de agua de peptona tamponada y posterior homogeneización durante un minuto (IUL, Masticator, Barcelona, España) e incubación a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.
- Enriquecimiento en medios selectivos líquidos: Con el cultivo del preenriquecimiento: Siembra de 1 mL en *Caldo Tetrionato* (Merck; Darmstadt, Germany), e incubación a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y 0,1 mL en *Rappaport Vassiliadis* (Merck; Darmstadt, Germany) e incubación $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, ambos durante 24 horas.
- Aislamiento e identificación: A partir de los cultivos anteriores se sembraron dos medios sólidos, agar rojo fenol verde brillante y otro medio selectivo agar XLD (Merck; Darmstadt, Germany). Ambos se incubaron a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.
- Confirmación bioquímica: En caso de crecimiento de colonias típicas en los medios selectivos agar XLD y agar rojo fenol verde brillante (Merck; Darmstadt, Germany) se aísla una colonia en medio no selectivo TSA (Merck; Darmstadt, Germany) e incubación a $37^{\circ}\text{C} 24 \pm 2$ h obteniendo así cultivo puro. A partir de este se realiza la identificación bioquímica mediante la galería API 20E (Biomérieux; France).

- Para la investigación de *Shigella* se siguió el mismo procedimiento que para *Salmonella* sembrando a partir de *Caldo Tetrionato* en *agar XLD* (Merck; Darmstadt, Germany) selectivo para este microorganismo determinando la *presencia/ausencia* en 25 g de músculo, basándose en la morfología de las colonias observadas.

- Para la investigación de *Listeria monocytogenes* se utilizó el método horizontal para la detección y el recuento de *Listeria monocytogenes*. Parte 1: Método de detección (UNE-EN ISO 11290-1:1997). Este método se basa en la investigación de *Listeria monocytogenes* en cuatro etapas sucesivas:

- Enriquecimiento primario: en Caldo Fraser media concentración. Incubación 37°C durante 24 ± 2 h.
- Enriquecimiento secundario: 0,1 ml de cultivo primario en 10 ml de Caldo Fraser a concentración completa. Incubación 37°C durante 48 ± 2 h.

- Aislamiento e identificación: Se sembró el inóculo en superficie de Agar PALCAM (Merck; Darmstadt, Germany) y Agar OAA (Biomerieux; France). Incubación: Aeróbica a 37°C durante 48 ± 2 h. En base a la morfología observada se determinó la Presencia/Ausencia de *Listeria monocytogenes* en 25 g de músculo en base a la morfología de las colonias observadas.
- Confirmación bioquímica: En caso de crecimiento de colonias típicas en los medios selectivos PALCAM y OAA se aísla una colonia en medio no selectivo TSA (Merck; Darmstadt, Germany) e incubación a 37°C 24 ± 2 h obteniendo así cultivo puro. A partir de este se realiza la identificación bioquímica mediante la galería API Listeria (Biomerieux; France).

3.6 Análisis sensorial

Para la realización del análisis sensorial se utilizó un panel de siete catadores entrenados que evaluaron diferentes parámetros en los filetes cocinados. Siguiendo las directrices del Códex alimentarius para la evaluación sensorial del pescado y los mariscos en el laboratorio los filetes fueron cocinados al vapor hasta alcanzar una temperatura interna de 65-70°C y servidos a los catadores todavía calientes. En estas muestras se evaluaron varios atributos usando escalas no estructuradas con valores comprendidos entre cero y diez, siendo la puntuación de cinco el umbral de aceptación.

A la hora de evaluar el producto se utilizó el método descrito por Giménez, B; Roncalés, P. y Beltrán, J.A (2005) con pequeñas variaciones y la preparación y presentación de las muestras así como el acondicionamiento de la sala de catas (aislamiento de los catadores, iluminación) se llevó a cabo según un código de prácticas estándar (Botta, 1995).

Los parámetros evaluados fueron; aspecto (nada atractivo → muy atractivo), olor característico (ausente → muy intenso), firmeza (nada firme → muy firme), jugosidad (nada jugoso → muy jugoso), intensidad de flavor a fresco (ausente → muy intenso), intensidad de flavor indeseable (ausente → muy intenso) y apreciación global (me disgusta mucho → me gusta mucho).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN MERLUZA

4.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza

La concentración de gases en el espacio de cabeza sufre una evolución a lo largo del tiempo, y genera un microambiente determinado en el interior del envase. Dichas variaciones se deben a la interacción con la muestra y al crecimiento microbiano.

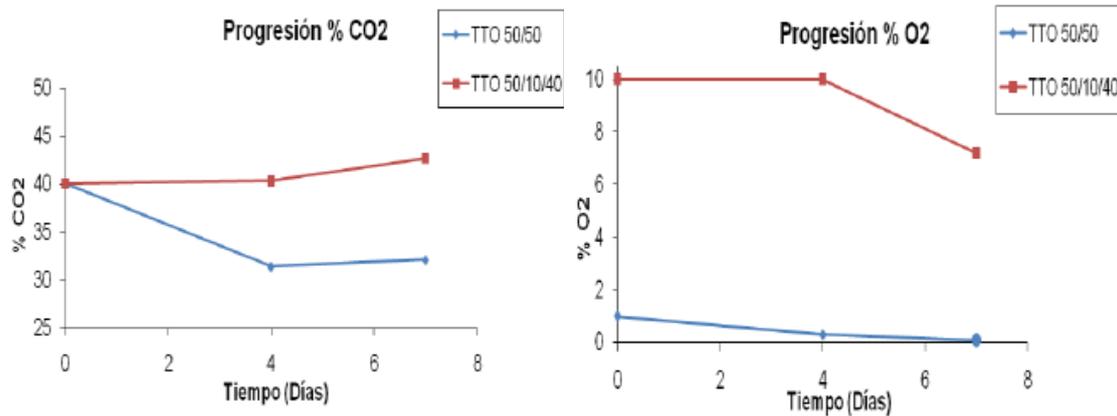


Figura 1. Evolución de la proporción de CO₂ y O₂ en las bandejas.

Tal y como observamos en las gráficas (figura 1), la concentración de gases es ligeramente diferente en los dos tipos de atmósfera, partiendo en ambos casos de concentraciones de CO₂ en torno al 40%, y de 1 % y 10 % en el caso del O₂ para 50/50 y 50/40/10 respectivamente.

- Atmósfera 50/50: la concentración de CO₂ desciende desde un 40 % inicial hasta valores en torno a 30-35 %. Este descenso puede ser atribuido a la solubilización de este compuesto en la fracción líquida del músculo (Ruiz-Capillas & Moral, 2001). Por otro lado, los valores de O₂ son prácticamente inexistentes o residuales.
- Atmósfera 50/40/10: en este caso se observa un ligero despunte de la proporción de CO₂ a partir del día 4 mientras que el O₂ comienza a disminuir también a partir de ese día. Este hecho podría explicarse por el consumo de oxígeno por parte de la flora aerobia existente, cuya disminución ha generado que la proporción de CO₂ existente sea mayor, al ocupar éste el lugar dejado por el O₂.

4.2 Medida del pH

En lo que a pH se refiere, vemos como la evolución de ambos tratamientos es muy similar en el tiempo. En general, observamos una ligera subida del pH desde valores en torno a 6,65 hasta 6,80 aproximadamente (figura 2). Este ascenso puede ser debido a la liberación de compuestos básicos como amonio, trimetilamina y otras aminas biógenas producidas a consecuencia del deterioro del músculo por parte de las bacterias (Ruiz-Capillas & Moral, 2001).

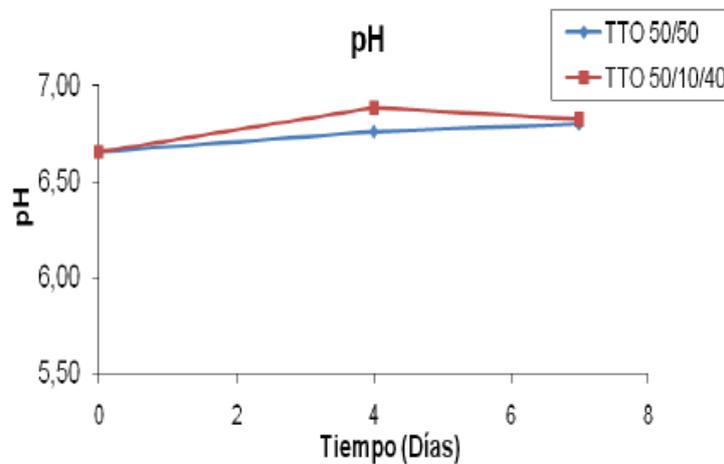


Figura 2. Evolución del pH a lo largo del tiempo.

Tabla 1. Estudio estadístico de la evolución del pH a lo largo del tiempo.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7
pH	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	6,65 ± 0,08	6,76 ± 0,11	6,80 ± 0,05
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	6,65 ± 0,08	6,89 ± 0,20	6,82 ± 0,10
	Sign.	ns	ns	ns

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = p>0.1; t = p≤0.1; * = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001.

Pese a que como se puede observar en la tabla 1, el estudio estadístico no detecta diferencias significativas entre ambos tratamientos, la atmósfera 50/40/10 presenta valores medios ligeramente superiores a la atmósfera que no presenta oxígeno, probablemente debido a una mayor producción de los anteriormente citados compuestos básicos por parte de la flora aerobia, lógicamente beneficiaria de la presencia de O₂.

4.3 Medida del color

Analizaremos los resultados de las dos atmósferas en cada uno de los tres parámetros por separado, para luego expresarlos conjuntamente en el análisis estadístico.

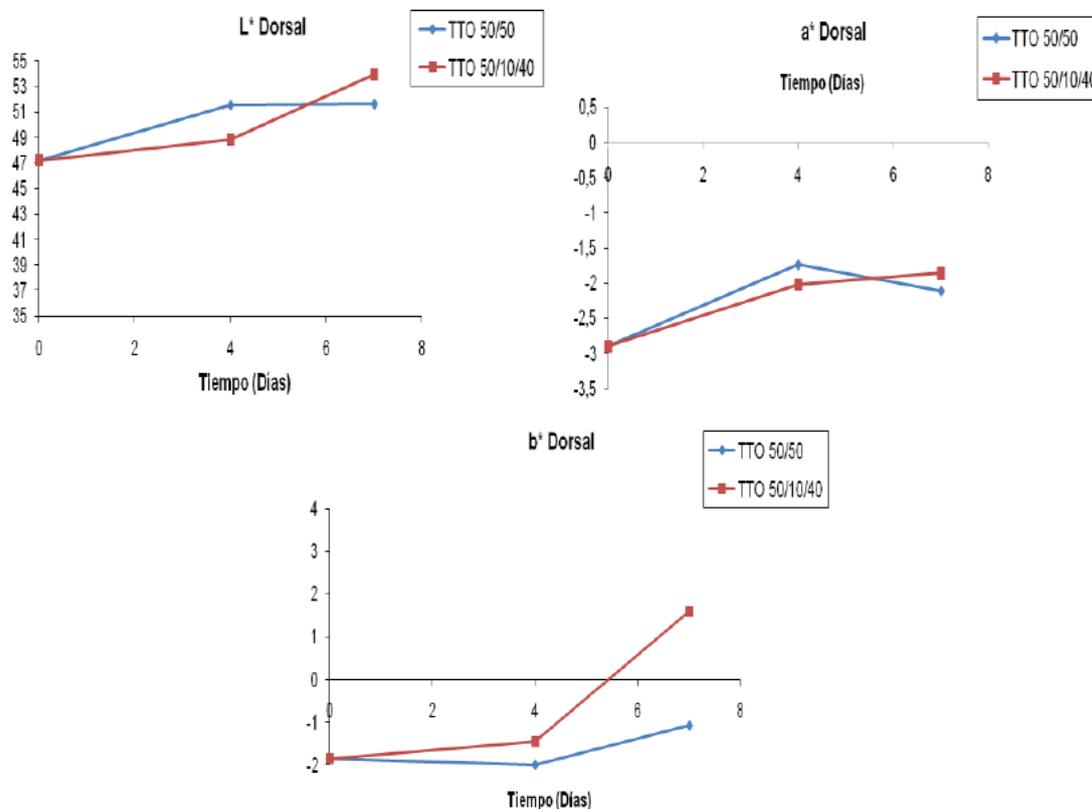


Figura 3. Evolución de la luminosidad, índice de rojo e índice de amarillo a lo largo del tiempo.

Los valores de L^* comienzan con un valor medio de $46,86 \pm 1,78$, para lentamente ir ascendiendo hasta valores de $52,24 \pm 3,23$ (figura 3) en el caso de MAP 50/50 y de $53,95 \pm 0,95$ en el caso de MAP 50/40/10.

Como vemos, existe un incremento en el caso de la atmósfera 50/40/10, mientras que la atmósfera 50/50 mantiene valores estables en los días 4 y 7. La lógica evolución de la luminosidad sería hacia valores más bajos (más oscuro), pero en este caso la variabilidad individual puede estar jugando un papel importante, puesto que en cada punto de análisis los animales son diferentes y su valor de L^* per se puede ser muy diferente.

En lo que al índice de rojo (a^*) se refiere, el punto de partida se ha situado en $-2,98 \pm 0,61$ para evolucionar hacia $-2,33 \pm 0,42$ (50/50) y $-1,40 \pm 0,94$ (50/40/10). Cabe destacar que ambos tratamientos han obtenido siempre valores negativos (figura 3), lo que indica que una cromaticidad más cercana al verde que al rojo, habiendo a día 7 un pequeño aumento en el caso de la atmósfera 50/40/10 y un pequeño descenso en el caso de la atmósfera 50/50.

En cuanto al índice de amarillo (b^*), partimos de $-2,09 \pm 1,23$ para ir ascendiendo progresivamente hasta $-0,95 \pm 1,39$ (50/50) y $1,63 \pm 2,18$ (50/40/10). Por lo tanto, parece existir una evolución desde valores negativos (cromaticidad azul) hacia valores positivos (cromaticidad amarilla), especialmente en el caso de la atmósfera 50/40/10, donde la presencia de O_2 favorece el incremento del índice de amarillo (figura 3).

Tabla 2. Estudio estadístico de la evolución de los parámetros de color.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7
L*	50 % CO2 / 50 % N2	$46,86 \pm 1,78$	$51,73 \pm 1,5$	$52,24 \pm 3,23$
	50 % CO2 / 40 % N2 / 10 % O2	$46,86 \pm 1,78$	$49,83 \pm 3,00$	$53,95 \pm 0,95$
	Sign.	ns	t	ns
a*	50 % CO2 / 50 % N2	$-2,98 \pm 0,61$	$-1,73 \pm 0,35$	$-2,33 \pm 0,42$
	50 % CO2 / 40 % N2 / 10 % O2	$-2,98 \pm 0,61$	$-2,13 \pm 0,26$	$-1,40 \pm 0,94$
	Sign.	ns	**	**
b*	50 % CO2 / 50 % N2	$-2,09 \pm 1,23$	$-1,88 \pm 1,12$	$-0,95 \pm 1,39$
	50 % CO2 / 40 % N2 / 10 % O2	$-2,09 \pm 1,23$	$-1,21 \pm 1,71$	$1,63 \pm 2,18$
	Sign.	ns	ns	**

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = $p > 0.1$; t = $p \leq 0.1$; * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$; *** = $p \leq 0.001$.

Una vez realizado el análisis estadístico (tabla 2) de los datos obtenidos por el Minolta, vemos que en cuanto a los valores de luminosidad, sólo se detecta una tendencia a que haya diferencias entre los dos tipos de atmósfera a día 4, siendo más luminosas en este caso las muestras almacenadas en 50/50. En el caso del índice de rojo, se encuentran diferencias significativas a día 4 y 7 entre ambos tratamientos, aunque la tendencia se invierte, siendo a día 4 mayores los valores en la atmósfera 50/50, ocurriendo lo contrario a día 7. Como hemos comentado anteriormente en el caso del índice de amarillo, la presencia de O_2 favorece valores más elevados, lo que queda reflejado en este caso, donde se encuentran diferencias significativas entre atmósfera 50/40/10 (con un índice mayor) y la 50/50.

4.4 Índice de oxidación del ácido tiobarbitúrico (TBA)

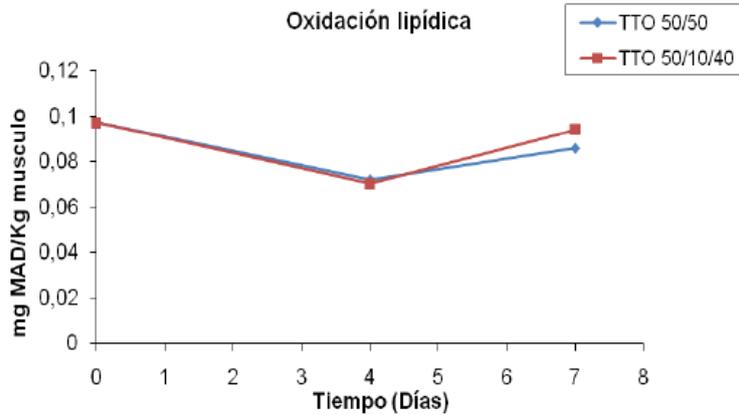


Figura 4. Evolución de la oxidación lipídica expresada en mg malonaldehído/kg a lo largo del tiempo.

En todo momento la cantidad de malonaldehído cuantificada ha ofrecido valores muy bajos, no siendo en ningún momento superiores a 0,1 mg/kg (figura 4), lo que ofrece sin duda una valoración muy positiva acerca del efecto de ambas atmósferas, puesto que el valor considerado como límite aceptable en el pescado se sitúa en torno a 1-2 mg de MDA/kg (Connell JJ, 1975).

Tabla 3. Estudio estadístico de la evolución de la oxidación lipídica.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7
TBA	50 % CO₂ / 50 % N₂	0,097 ± 0,02	0,072 ± 0,01	0,086 ± 0,01
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	0,097 ± 0,02	0,071 ± 0,01	0,094 ± 0,02
	Sign.	ns	ns	ns

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = p>0.1; t = p≤0.1; * = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001.

De nuevo el análisis estadístico no arroja diferencias entre los tratamientos (tabla 3) si bien observamos a día 7 cantidades de malonaldehído más elevadas en el caso de la atmósfera con 10 % de O₂, lo que entra dentro de la lógica dadas sus obvias mejores condiciones “pro-oxidantes”.

4.5 Análisis microbiológicos

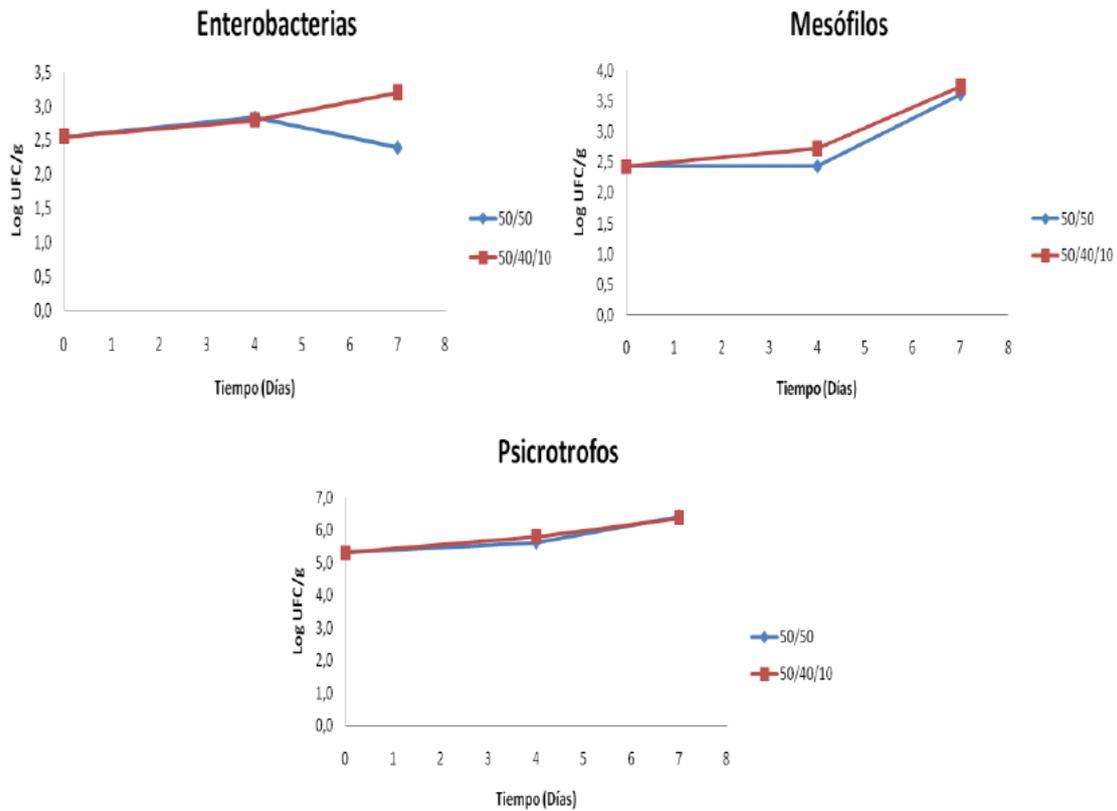


Figura 5. Evolución de la población de enterobacterias , mesófilos y psicrótrofos.

Los recuentos iniciales de enterobacterias a día 4 (figura 5), se encuentran próximos al límite pero dentro de los límites legales (10^3 UFC/g). A día 7 vemos como la atmósfera 50/40/10 nos da recuentos ligeramente por encima de lo permitido, mientras que la atmósfera 50/50 experimenta una ligera caída. Si bien esta última evolución no es lógica puede explicarse por el hecho de que la carga microbiana inicial en los animales analizados el día 7 fuera inferior que los empleados a día 4.

En el caso de microorganismos aerobios mesófilos, los bajos recuentos obtenidos en todos los puntos analizados nos indican una buena calidad higiénica, estando siempre muy por debajo del límite establecido (figura 5) en este caso (10^6 UFC/g). Ambos tratamientos experimentan una lógica subida, y parecen desarrollar una evolución similar.

En el caso de microorganismos aerobios psicrotrofos, aunque la legislación no hace mención explícita de ellos, quizá dado su elevado tiempo de incubación (7 días), cabe reseñar

que no es hasta día 7 cuando se superan los valores límite (10^6 UFC/g), viéndose un aumento del recuento a lo largo del estudio, siendo eso sí discreto, y sin apreciarse diferencias visibles entre ambas atmósferas.

Tabla 4. Estudio estadístico de la evolución de la flora microbiológica.

Tratamiento		Día 0	Día 4	Día 7
Enterobacterias	50 % CO₂ / 50 % N₂	2,96 ± 0,17	2,74 ± 0,35	2,39 ± 0,09
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	2,96 ± 0,17	2,67 ± 0,40	3,12 ± 0,33
	Sign.	ns	ns	**
Mesófilos	50 % CO₂ / 50 % N₂	2,41 ± 0,15	2,40 ± 0,19	3,43 ± 0,49
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	2,41 ± 0,15	2,62 ± 0,37	3,49 ± 0,58
	Sign.	ns	ns	ns
Psicrotrofos	50 % CO₂ / 50 % N₂	5,077 ± 0,56	5,60 ± 0,16	6,43 ± 0,02
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	5,077 ± 0,56	5,81 ± 0,06	6,34 ± 0,21
	Sign.	ns	t	ns

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = $p > 0.1$; t = $p \leq 0.1$; * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$; *** = $p \leq 0.001$.

El estudio estadístico sólo nos alumbra diferencias significativas en el recuento de enterobacterias a día 7 (tabla 4) , siendo como hemos visto la atmósfera 50/40/10 la que presenta una mayor carga microbiana. La misma tendencia se observa a día 4 en el caso de los microorganismos psicrotrofos.

Investigación de *Salmonella* spp./*Shigella* y *Listeria monocytogenes* en merluza

Tabla 5. Resultados del estudio de presencia/ausencia de *Salmonella* spp. y *Shigella*

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Tratamiento 50 / 50	Ausencia en 25 g.			
Tratamiento 50 / 40 / 10	Ausencia en 25 g.			

Tabla 6. Resultados del estudio de la presencia/ausencia de *Listeria monocytogenes*

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Macro 50 / 50	Ausencia en 25 g.			
Macro 40 / 30 / 30	Ausencia en 25 g.			

Como podemos observar, no se ha detectado presencia de ninguno de los microorganismos patógenos a estudio en ninguna de las muestras analizadas (tablas 5 y 6), cumpliendo de este modo los criterios promulgados por la normativa.

4.5 Análisis sensorial

Como hemos comentado previamente, sin duda el análisis sensorial supone uno de los parámetros más útiles a la hora de determinar la vida útil del pescado fresco ya que es el indicador que el consumidor va a utilizar en realidad, y por lo tanto el mejor reflejo de la aceptabilidad final del producto a nivel de mercado.

Analizaremos la evolución en el tiempo de cada una de las atmósferas por separado para luego ver las diferencias o no entre ellas cada uno de los días con el estudio estadístico.

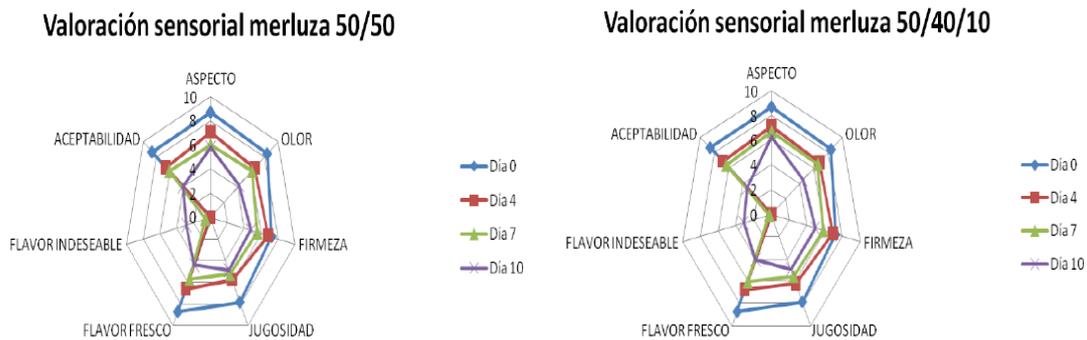


Figura 6. Análisis sensorial de las bandejas 50 % CO₂ / 50 % N₂ y 50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂.

Observamos una progresiva caída de las valoraciones desde día 0 hasta día 10 (figura 6), siendo éstas durante los 7 primeros días (objetivo de este trabajo) siempre superiores a 5, para caer en muchos parámetros por debajo del aprobado a día 10. Las mejores valoraciones se aprecian lógicamente a día 0, siendo bastante similares los días 4 y 7, mientras que a día 10 ya se observa un claro descenso.

En el caso de las muestras almacenadas en atmósfera 50/40/10, vemos una evolución similar a la atmósfera 50/50, si bien vemos como en el caso de la firmeza las valoraciones a día 0 y 4 son bastante similares, para posteriormente ir descendiendo. De todos modos, del mismo modo que ocurría con la atmósfera 50/50, no es sino hasta día 10 cuando comienzan las calificaciones por debajo de 5, considerado como el límite para cada uno de los parámetros.

El análisis estadístico nos muestra que no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos a lo largo del tiempo (tabla 7), aunque en algunos casos, la elevada desviación típica debido a la dispersión de las valoraciones puede haber tenido alguna influencia.

Pese a ello, si que observamos que los valores medios de aceptabilidad son algo más bajos hasta día 7 para la atmósfera 50/50, lo que coincide con valoraciones ligeramente más elevadas en lo que a flavor indeseable se refiere.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Aspecto	50 % CO₂ / 50 % N₂	8,57 ± 0,51	7,00 ± 0,68	5,93 ± 1,21	5,71 ± 1,50
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	8,57 ± 0,51	6,86 ± 0,66	6,50 ± 0,76	6,14 ± 1,07
	Sign.	Ns	ns	ns	ns
Olor	50 % CO₂ / 50 % N₂	8,36 ± 0,63	6,50 ± 0,94	6,14 ± 1,56	4,00 ± 0,58
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	8,36 ± 0,63	6,64 ± 1,28	6,43 ± 1,09	4,43 ± 0,54
	Sign.	Ns	ns	ns	ns
Firmeza	50 % CO₂ / 50 % N₂	7,79 ± 0,80	6,79 ± 0,70	5,50 ± 1,40	4,71 ± 0,76
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	7,79 ± 0,80	6,79 ± 0,70	5,79 ± 1,19	4,86 ± 1,07
	Sign.	Ns	ns	ns	ns
Jugosidad	50 % CO₂ / 50 % N₂	7,93 ± 0,48	5,64 ± 1,08	5,14 ± 0,95	4,71 ± 1,11
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	7,93 ± 0,48	5,93 ± 1,27	5,36 ± 0,84	4,86 ± 1,07
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Flavor a fresco	50 % CO₂ / 50 % N₂	8,64 ± 0,50	6,50 ± 1,02	5,50 ± 1,45	4,14 ± 1,22
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	8,64 ± 0,50	6,64 ± 1,01	5,93 ± 1,14	4,00 ± 0,82
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Flavor indeseable	50 % CO₂ / 50 % N₂	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,50 ± 0,65	2,71 ± 1,70
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,21 ± 0,43	2,57 ± 1,51
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Aceptabilidad	50 % CO₂ / 50 % N₂	8,50 ± 0,52	6,57 ± 0,94	5,86 ± 1,29	3,86 ± 0,69
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	8,50 ± 0,52	6,71 ± 1,07	6,21 ± 0,98	3,43 ± 1,51
	Sign.	ns	ns	ns	ns

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = p>0.1; t = p≤0.1; * = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001.

Tabla 7. Estudio estadístico de los resultados del análisis sensorial.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN EN PERCA

5.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza

Se observa una ligerísima disminución de las concentraciones de CO₂ a lo largo del tiempo, algo más visible en la atmósfera 50/40/10, debido a la solubilización de una pequeña proporción de este compuesto en la fracción líquida del músculo (Ruiz-Capillas & Moral, 2001).

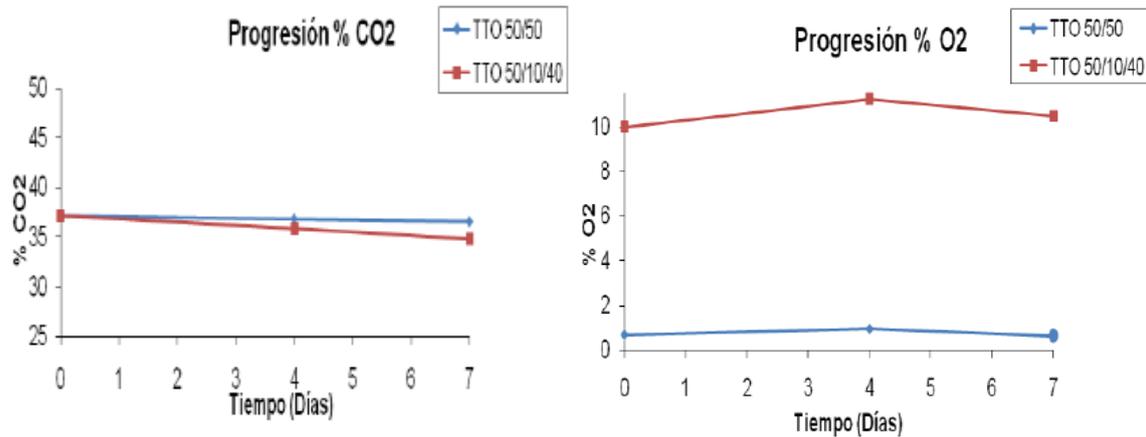


Figura 7. Evolución de la proporción de CO₂ y O₂ en las bandejas a lo largo del tiempo.

En la progresión del oxígeno a lo largo de los 7 días de almacenamiento se observan pequeñas variaciones, que pueden ser causadas por crecimiento del microbio en el interior del envase, aunque en general la proporción parece mantenerse bastante constante (figura 7).

5.2 Medida del pH

Los valores iniciales de pH de los dos tratamientos (por duplicado) de perca en el punto de control inicial, dieron un valor medio de $6,55 \pm 0,11$. Tras el estudio del pH una semana después se observaron pequeñas variaciones con valores medios de $6,48 \pm 0,04$ para el tratamiento 50 % CO₂ / 50 % N₂ y $6,64 \pm 0,12$ para el tratamiento 50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂ (figura 8).

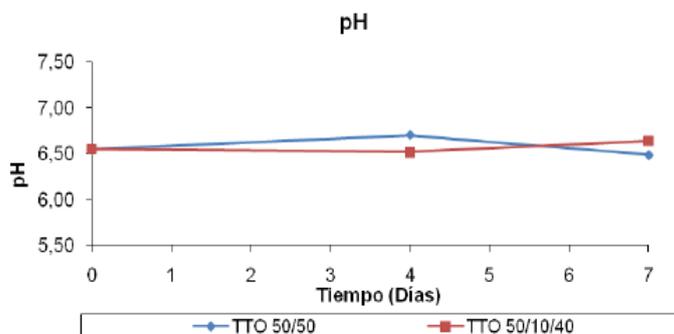


Figura 8. Evolución del pH a lo largo del tiempo.

Tabla 8. Estudio estadístico de los valores de pH a lo largo del tiempo.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7
pH	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	6,55 ± 0,11	6,70 ± 0,18	6,48 ± 0,04
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	6,55 ± 0,11	6,51 ± 0,40	6,64 ± 0,12
	Sign.	ns	*	**

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = p>0.1; t = p≤0.1; * = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001.

El estudio de los valores obtenidos indica que el pH se mantiene muy constante a pesar de pequeñas variaciones en ambas atmósferas. Se observan diferencias significativas entre ambos tratamientos a días 4 y 7 (tabla 8), aunque las tendencias se invierten. De todos modos, aunque existan diferencias a nivel estadístico dada la homogeneidad de los datos, las diferencias observables entre las medias no son excesivamente importantes.

5.3 Medida del color

En el punto de control inicial (día 0), se midió por espectrofotometría de refractancia el color las dos muestras de control iniciales, se expresó como media de las diez medidas realizadas en cada una de ellas.

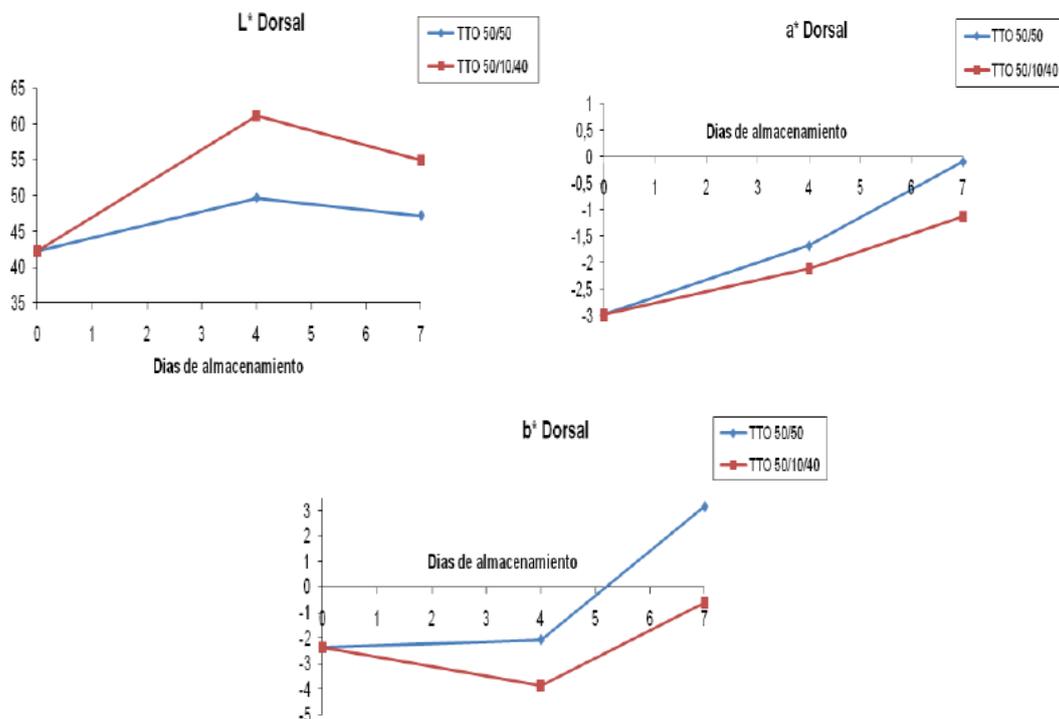


Figura 9. Evolución de la luminosidad (L*), índice de rojo (a*) y índice de amarillo (b*) a lo largo del tiempo.

Como podemos apreciar en la gráfica (figura 9), la atmósfera con oxígeno ha presentado en todo momento (exceptuando lógicamente el punto inicial) valores de luminosidad superiores a la atmósfera 50/50.

Observamos una tendencia similar en ambos tratamientos, partiendo inicialmente de valores negativos (-3,01) y por lo tanto más próximos al verde, para progresivamente ir ascendiendo hacia valores más neutros, especialmente en el caso de la atmósfera 50/50.

Del mismo modo que ocurre en el índice de rojo, parece ser que (exceptuando una ligera caída en la atmósfera 50/40/10 a día 4) existe un ascenso de los valores a lo largo del tiempo, siendo la atmósfera 50/50 la que presenta en general un mayor índice de amarillo.

Tabla 9. Estudio estadístico de la evolución de los parámetros de color a lo largo del tiempo.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7
L*	50 % CO₂ / 50 % N₂	42,23 ± 3,92	47,11 ± 3,93	47,32 ± 1,28
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	42,23 ± 3,92	61,11 ± 4,10	53,79 ± 5,24
	Sign.	ns	***	**
a*	50 % CO₂ / 50 % N₂	-3,01 ± 0,36	-1,78 ± 0,28	-0,24 ± 1,89
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	-3,01 ± 0,36	-1,99 ± 0,37	-1,11 ± 0,69
	Sign.	ns	ns	ns
b*	50 % CO₂ / 50 % N₂	-2,37 ± 0,42	-2,08 ± 1,10	-1,50 ± 4,28
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	-2,37 ± 0,42	-4,62 ± 0,98	-0,80 ± 1,37
	Sign.	ns	***	ns

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = p>0.1; t = p≤0.1; * = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001.

Estadísticamente, se encuentran diferencias significativas en lo que a luminosidad (días 4 y 7) e índice de amarillo (día 4) se refiere. Como acabamos de comentar en las gráficas, en el caso de la luminosidad la atmósfera con oxígeno presenta resultados más elevados, mientras que en el caso del índice de amarillo la tendencia se invierte (tabla 9).

5.4 Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)

Los resultados obtenidos (figura 10), muestran unos valores bajos en general para todos los tratamientos a lo largo de todo el periodo de almacenamiento, no superando en ningún caso 1-2 mg de MDA.kg⁻¹ que se considera el valor límite aceptable en el pescado. (Connell JJ, 1975).

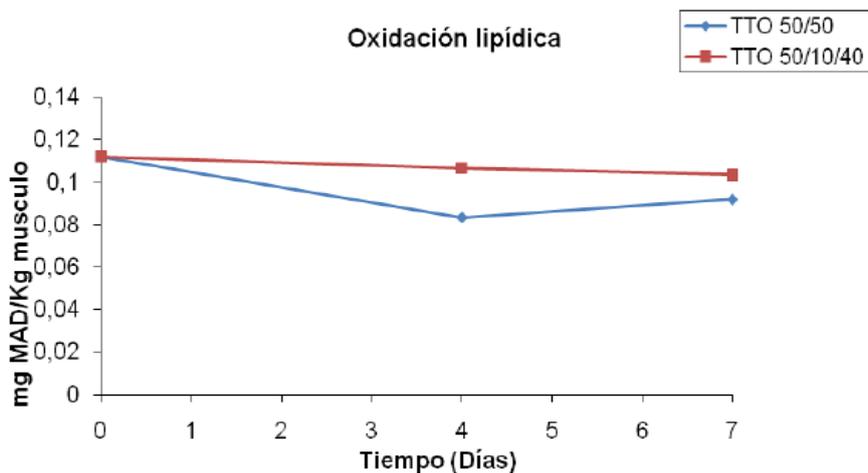


Figura 10. Evolución de la oxidación lipídica expresada en mg malonaldehído / kg de muestra.

En los dos casos analizados se observan valores muy bajos de malonaldehído tanto para el día inicial como para los analizados a día 7, lo cual pone de manifiesto la eficacia protectora de la atmósfera utilizada en los dos tratamientos. En el Tto. 50/50 hay valores algo más bajos que para el Tto. 50/10/40, aunque estadísticamente no salen diferencias significativas entre los dos tratamientos (tabla 10).

Tabla 10. Estudio estadístico de la evolución de la oxidación lipídica.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7
TBA	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	0,11 ± 0,52	0,18 ± 0,11	0,09 ± 0,01
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	0,11 ± 0,52	0,11 ± 0,03	0,10 ± 0,02
	Sign.	ns	ns	ns

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = p>0.1; t = p≤0.1; * = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001.

No se encontraron diferencias significativas entre las dos atmósferas en ninguno de los días del estudio.

5.5 Análisis microbiológicos

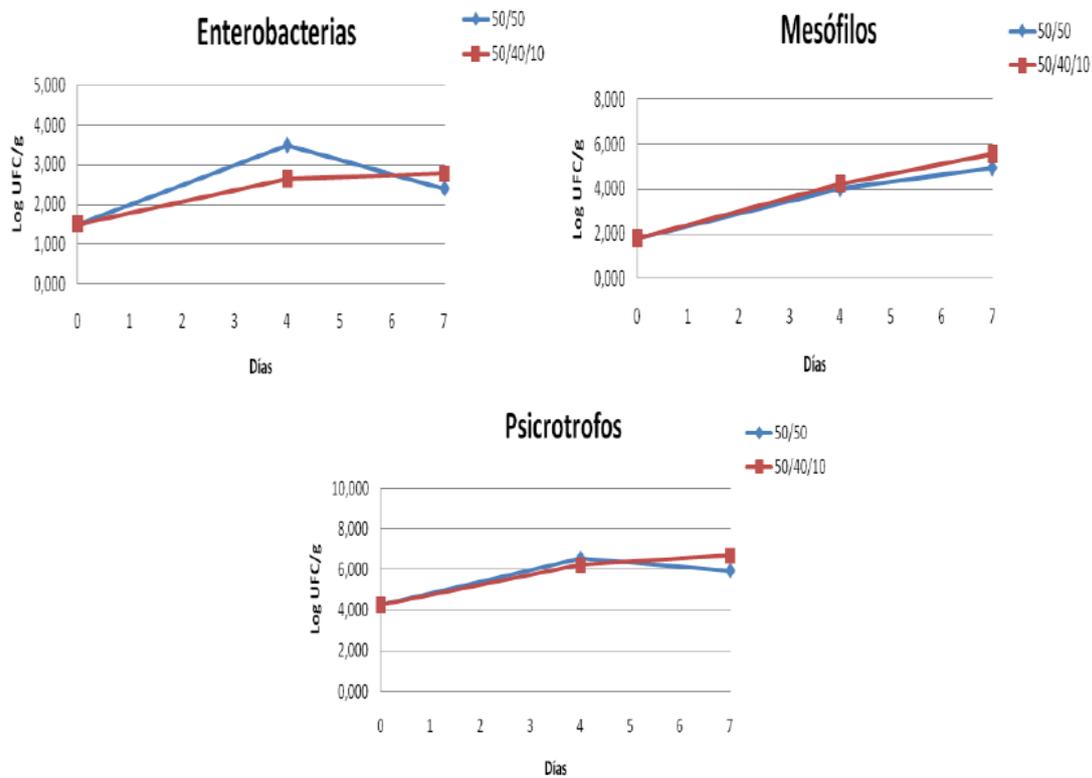


Figura 11. Evolución del recuento de enterobacterias, mesófilos y psicrótrofos.

En enterobacterias el límite máximo permitido en pescado fresco, según el BOE núm. 195. Del 15/08/91, es de 3 Log UFC/g no superando en ninguno de los dos tratamientos los niveles legales, a excepción del día 4, donde el tratamiento 50/50 sí que muestra recuentos por encima de 10^3 UFC/g (figura 11). Debido a que el siguiente punto de esta atmósfera obtiene recuentos más bajos, podríamos achacar este incremento a la variabilidad individual entre muestras, dado que probablemente la carga microbiana inicial en las muestras empleadas a día 4 puede ser mayor que las demás.

El recuento inicial de mesófilos es bajo para los dos tratamientos, para comenzar un ascenso progresivo durante los dos siguientes días a estudio. Sin embargo, la evolución de ambas atmósferas es similar y no se observan diferencias reseñables en ambos comportamientos.

En ningún caso se supera el valor máximo aceptable por gramo de alimento de 10^6 UFC (BOE núm. 195. Del 15/08/91), aunque se aprecia como a día 7 los recuentos ya se encuentran muy próximos al límite. Esto indica una buena calidad microbiológica del producto para los dos tipos de tratamientos a lo largo de 7 días.

En el caso de los microorganismos psicrótrofos si parece que la atmósfera juega un papel diferenciador, puesto que el recuento para MAP 50/40/10 es mayor ($6,68 \pm 0,08$) que para MAP 50/50 ($5,94 \pm 0,10$) superando en el primer caso, a día 7, los límites legales permitidos (10^6 UFC/g). Dado que se tratan de microorganismos aerobios, y que el tiempo de incubación en este caso es mayor (7 días) la presencia de oxígeno sí que parece haber favorecido el crecimiento microbiano.

Tabla 11. Estudio estadístico del análisis microbiológico.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7
Enterobacterias	50 % CO₂ / 50 % N₂	$1,69 \pm 0,24$	$2,91 \pm 1,02$	$2,16 \pm 0,37$
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	$1,69 \pm 0,24$	$2,50 \pm 0,52$	$2,77 \pm 0,03$
	Sign.	ns	ns	*
Mesófilos	50 % CO₂ / 50 % N₂	$2,80 \pm 0,11$	$4,51 \pm 0,46$	$4,83 \pm 0,41$
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	$2,80 \pm 0,11$	$4,60 \pm 0,17$	$5,24 \pm 0,68$
	Sign.	ns	ns	ns
Psicrotrofos	50 % CO₂ / 50 % N₂	$4,22 \pm 0,22$	$6,10 \pm 0,85$	$5,94 \pm 0,10$
	50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂	$4,22 \pm 0,22$	$5,38 \pm 1,32$	$6,68 \pm 0,08$
	Sign.	ns	ns	***

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = $p > 0.1$; t = $p \leq 0.1$; * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$; *** = $p \leq 0.001$.

Sólo se han detectado diferencias significativas a día 7 en enterobacterias y aerobios psicrotrofos, existiendo en este último caso un elevado nivel de significación (***). En ambos casos, la atmósfera con oxígeno presenta los valores más elevados, por lo que como hemos comentado la presencia de este gas ha facilitado un mayor crecimiento. En el caso de los aerobios mesófilos no se encuentran diferencias pero sí que puede apreciarse como los valores medios de los recuentos son también más elevados en el caso de la atmósfera con oxígeno (tabla 11).

Investigación de *Salmonella spp./Shigella* y *Listeria monocytogenes* en perca

Tabla 12. Resultados del estudio de presencia/ausencia de *Salmonella spp.* y *Shigella*.

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Tratamiento 50 / 50	Ausencia en 25 g.			
Tratamiento 50 / 40 / 10	Ausencia en 25 g.			

Tabla 13. Resultados del estudio de la presencia/ausencia de *Listeria monocytogenes*

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Macro 50 / 50	Ausencia en 25 g.			
Macro 40 / 30 / 30	Ausencia en 25 g.			

Tras la realización del estudio sobre la posible presencia de *Salmonella spp.* Y *Listeria monocytogenes* en perca se determinó ausencia de ambos microorganismos en todas las muestras analizadas.

5.6 Análisis sensorial

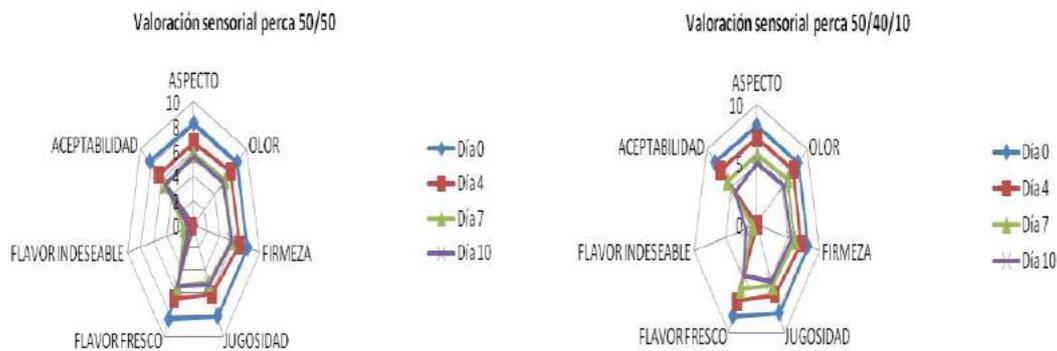


Figura 12. Evolución del análisis sensorial de las atmósfera 50/50 y 50/40/10 a lo largo del tiempo.

En las gráficas se muestran los resultados obtenidos para el pescado cocinado. Los valores resultantes son una media de las valoraciones de los siete catadores para las muestras evaluadas.

En los ejemplares de perca estudiados, partíamos de una buena calidad higiénica que junto con el correcto envasado y el almacenado de las muestras han permitido controlar el crecimiento bacteriano y mantenerlo en unos niveles aceptables lo que ha determinado, junto con los bajos niveles de oxidación obtenidos, la buena calidad organoléptica de las muestras.

Esto queda reflejado en las valoraciones del análisis sensorial, que hasta día 10 no aportan calificaciones por debajo del 5, lo que indica la buena conservación de las muestras.

Tabla 14. Estudio estadístico del análisis sensorial de filetes de perca.

		Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Aspecto	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	8,57 ± 0,51	7,00 ± 0,68	5,93 ± 1,20	5,57 ± 1,39
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	8,57 ± 0,51	6,86 ± 0,66	6,50 ± 0,76	5,14 ± 1,07
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Olor	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	8,36 ± 0,63	6,50 ± 0,94	6,14 ± 1,56	5,43 ± 0,97
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	8,36 ± 0,63	6,64 ± 1,27	6,43 ± 1,09	5,29 ± 1,50
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Firmeza	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	7,79 ± 0,80	6,79 ± 0,70	5,50 ± 1,40	5,57 ± 0,53
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	7,79 ± 0,80	6,79 ± 0,70	5,79 ± 1,19	5,43 ± 1,13
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Jugosidad	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	7,93 ± 0,47	5,64 ± 1,08	5,14 ± 0,95	5,29 ± 0,76
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	7,93 ± 0,47	5,93 ± 1,27	5,36 ± 0,84	5,14 ± 0,90
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Flavor a fresco	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	8,64 ± 0,50	6,50 ± 1,02	5,50 ± 1,45	5,29 ± 0,76
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	8,64 ± 0,50	6,64 ± 1,00	5,93 ± 1,14	5,14 ± 0,90
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Flavor indeseable	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	0	0	0,50 ± 0,65	0,71 ± 0,76
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	0	0	0,21 ± 0,43	1,71 ± 1,38
	Sign.	ns	ns	ns	ns
Aceptabilidad	50 % CO ₂ / 50 % N ₂	8,50 ± 0,52	6,57 ± 0,94	5,86 ± 1,29	5,14 ± 0,90
	50 % CO ₂ / 40 % N ₂ / 10 % O ₂	8,50 ± 0,52	6,71 ± 1,07	6,21 ± 0,97	4,14 ± 1,77
	Sign.	ns	ns	ns	ns

Medias de los valores con sus respectivas desviaciones típicas; ns = p>0.1; t = p≤0.1; * = p≤0.05; ** = p≤0.01; *** = p≤0.001.

Como podemos observar en los datos hasta día 7 son bastante aceptables, solamente a día 10 en la aceptabilidad general y flavor indeseable el tratamiento de perca con 50 % de CO₂, 10 % de O₂ la puntuación está fuera de lo aceptable organolépticamente, lo que hace pensar que la atmósfera 50/50 daría mejores resultados, ya que a día 10 las puntuaciones están mejor valoradas. Por lo general no hay diferencias significativas entre un tratamiento y otro (tabla 14).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN BONITO

6.1 Concentración de gases en el espacio de cabeza

Como se ha citado en los anteriores experimentos de merluza y perca la concentración de gases del espacio de cabeza, sufre una evolución a lo largo del tiempo, y genera un microambiente determinado en el interior del envase. Dichas variaciones se deben a la interacción con la muestra y al crecimiento microbiano.

En nuestro caso, en lo referido al CO₂ (figura 13) se observa una ligera disminución de las concentraciones a lo largo del tiempo en el tratamiento macro 50 / 50 (único formato con ausencia de O₂) debido probablemente a la solubilización de una pequeña proporción de este compuesto en la fracción líquida del músculo (Ruiz-Capillas & Moral, 2001). En el resto de tratamientos se observa un pequeño aumento en la concentración de CO₂ que como vemos en la figura 13 va en relación a la disminución progresiva del O₂ en el envase. Esto por tanto no indica que la cantidad de CO₂ haya aumentado, sino que al haber disminuido la cantidad de O₂ la proporción de CO₂ aumenta respecto al valor inicial.

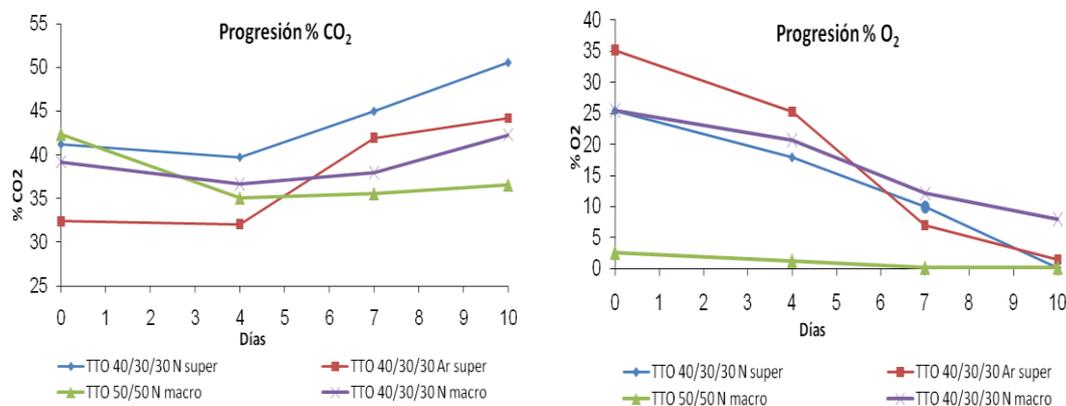


Figura 13. Evolución de la proporción de CO₂ y O₂ en las bandejas a lo largo del tiempo.

En la progresión del oxígeno a lo largo de los 10 días de almacenamiento se observa una constante disminución en todos aquellos tratamientos con presencia de este gas, debido probablemente al consumo causado por el crecimiento el microbiano en el interior del envase (Sivertsvik, 2005).

6.2 Medida del pH

Las medidas de pH sufren un pequeño incremento el día 4 respecto a los valores iniciales, especialmente en los tratamientos con atmósfera 40 / 30 / 30 (N₂) para posteriormente mantenerse más o menos constante hasta el día 10 (figura 14). Este incremento puede deberse a la presencia de sustancias básicas como amonio y TMA producidas por la acción bacteriana en el músculo (Hebard et al., 1982). Pese a que algunos estudios en túnidos en atmósfera modificada revelan un aumento constante del pH a lo largo del tiempo (Ruiz-Capillas, 2004; López-Gálvez et al., 1995), la solubilidad de una parte del CO₂ formando ácido carbónico y por tanto acidificando el medio (Daalgard, P., 1993) podría contrarrestar este efecto.

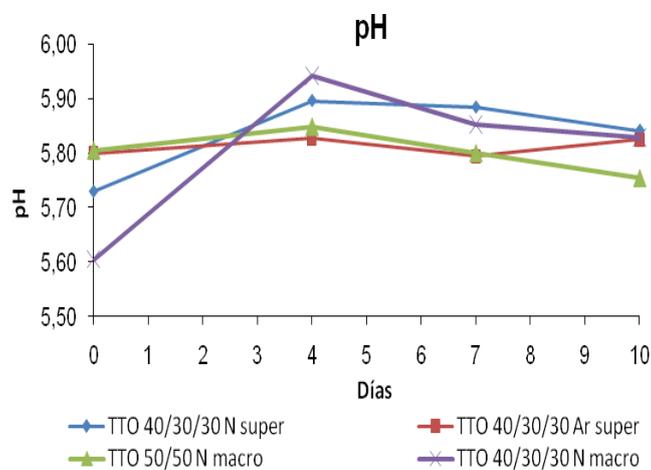


Figura 14. Evolución del pH a lo largo del tiempo.

Tabla 15. Estudio estadístico de los valores de pH a lo largo del tiempo.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
pH	Macro 50/50	5,80 ± 0,01 ^c	5,85 ± 0,01 ^a	5,80 ± 0,02 ^b	5,75 ± 0,05 ^a
	Macro 40/30/30	5,60 ± 0,01 ^a	5,94 ± 0,03 ^b	5,73 ± 0,13 ^a	5,83 ± 0,09 ^b
	Super 40/30/30 (N ₂)	5,73 ± 0,01 ^b	5,89 ± 0,14 ^{ab}	5,88 ± 0,03 ^c	5,84 ± 0,06 ^b
	Super 40/30/30 (Ar)	5,80 ± 0,02 ^c	5,82 ± 0,06 ^b	5,79 ± 0,08 ^b	5,82 ± 0,08 ^b
	Sign.	***	*	***	*

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns = p>0,1; t = p≤0,1; * = p≤0,05; ** = p≤0,01; *** = p≤0,001.

El estudio de los valores obtenidos indica que el pH se mantiene constante a pesar de pequeñas variaciones en los cuatro tipos de tratamientos. Se observan diferencias significativas a nivel estadístico (tabla 15), éstas parecen deberse más a la poca dispersión de datos en todos los grupos que a diferencias reseñables entre las medias. Además, las diferencias encontradas

no parecen seguir un mismo patrón en todos los puntos de estudio. A excepción del punto inicial, la bandejas con argón han mostrado los valores más elevados, aunque como hemos comentado, las diferencias son de apenas unas décimas y por tanto no muy a tener en cuenta.

6.3 Medida del color

En el punto de control inicial (día 0), se midió por espectrofotometría de refractancia el color las cuatro muestras iniciales y se expresó como media de las diez medidas realizadas en cada una de ellas.

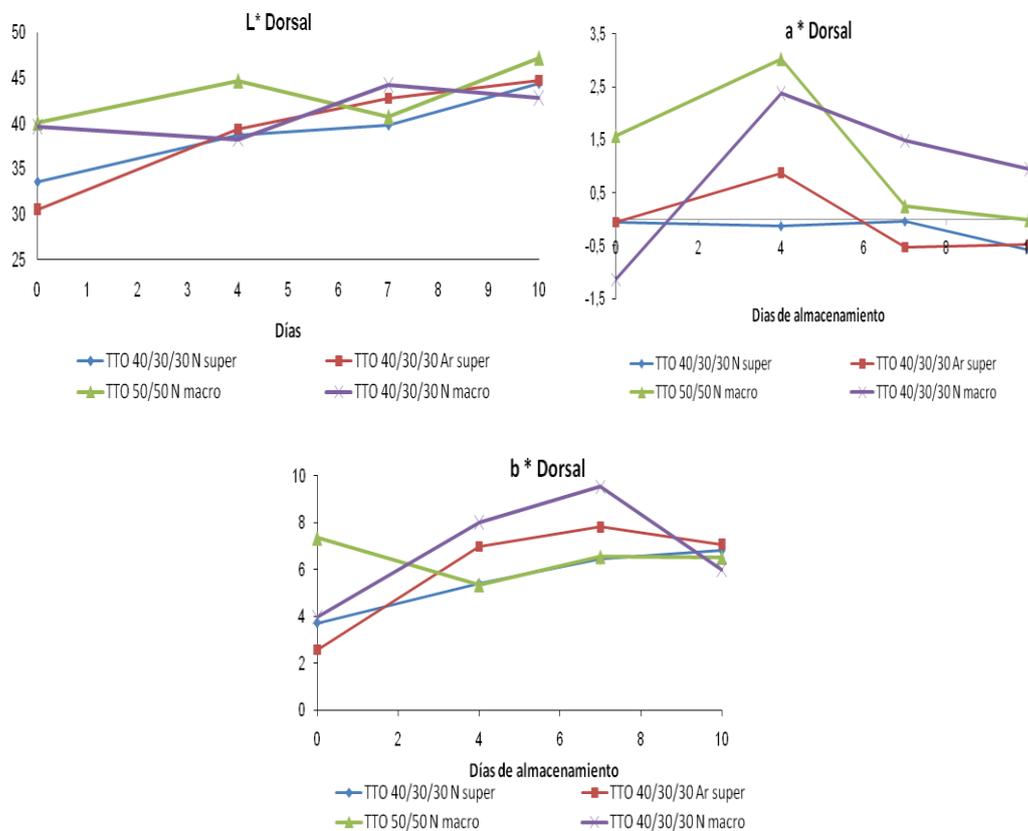


Figura 15. Evolución de la luminosidad (L*), a índice de rojo (a*) , lo índice de amarillo (b*) largo del tiempo.

Como podemos apreciar en la gráfica (figura 15), las dos atmósferas en formato macro presentan valores relativamente constantes a lo largo de los 10 días. Sin embargo, se observa como las muestras en formato súper, partiendo inicialmente con una luminosidad más baja, van progresivamente aumentando hasta el último día de estudio.

En cuanto al índice de rojo, también podemos observar diferencias en función del formato de envasado. Las muestras envasadas en formato macro parecen tener mayores valores (es decir, positivos, más cercanos al rojo) que las muestras en formato súper (en torno a 0, por tanto en

un punto intermedio entre las cromaticidades roja y verde). De todos modos conforme avanzan los días todos los tratamientos parecen tender hacia un valor de 0.

En el índice de amarillo no parece apreciarse ninguna tendencia que difiera de los demás, de hecho en todas ellas la evolución es muy similar. Cabe destacar que los valores son siempre positivos, lo que nos indica una mayor intensidad de la cromaticidad del amarillo.

Tabla 16. Estudio estadístico de los valores de color a lo largo del tiempo.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
L*	Macro 50 / 50	40,07 ± 1,23 ^c	44,73 ± 2,43 ^b	40,72 ± 3,84 ^{ab}	47,07 ± 2,54 ^c
	Macro 40 / 30 / 30	39,34 ± 1,63 ^c	38,49 ± 3,87 ^a	44,49 ± 3,18 ^c	42,95 ± 4,23 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	33,56 ± 0,99 ^b	38,68 ± 2,72 ^a	39,81 ± 2,77 ^a	44,29 ± 2,01 ^{ab}
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	30,52 ± 1,50 ^a	39,41 ± 2,04 ^a	42,72 ± 4,27 ^{bc}	44,72 ± 2,42 ^b
	Sign.	***	***	***	***
a*	Macro 50 / 50	1,57 ± 0,19 ^d	3,21 ± 3,59 ^b	0,24 ± 0,73 ^b	-0,33 ± 0,29 ^b
	Macro 40 / 30 / 30	-1,14 ± 0,42 ^a	2,43 ± 1,06 ^b	1,48 ± 0,68 ^c	0,97 ± 0,88 ^c
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	-0,48 ± 0,28 ^b	-0,20 ± 1,19 ^a	-0,17 ± 1,25 ^{ab}	-0,57 ± 0,30 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	0,36 ± 0,56 ^c	0,86 ± 1,11 ^a	-0,45 ± 0,77 ^a	-0,53 ± 0,70 ^a
	Sign.	***	***	***	***
b*	Macro 50 / 50	7,35 ± 0,89 ^c	5,38 ± 1,00 ^a	7,06 ± 3,83 ^{ab}	6,55 ± 0,51 ^{ab}
	Macro 40 / 30 / 30	3,96 ± 0,65 ^b	8,01 ± 1,73 ^c	9,54 ± 1,72 ^c	5,90 ± 1,38 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	3,71 ± 0,19 ^b	5,40 ± 1,41 ^a	6,38 ± 1,04 ^a	6,74 ± 1,11 ^b
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	2,56 ± 0,39 ^a	6,95 ± 1,25 ^b	7,82 ± 1,44 ^b	6,92 ± 1,59 ^b
	Sign.	***	***	***	t

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns = p>0,1; t = p≤0,1; * = p≤0,05; ** = p≤0,01; *** = p≤0,001.

Estadísticamente se han encontrado diferencias significativas entre los tratamientos, tanto en luminosidad, índice de rojo e índice de amarillo (tabla 16).

En cuanto a los valores de L*, vemos diferencias muy significativas en todos los puntos de estudio, aunque la tendencia respecto al orden de los grupos no es siempre la misma. Sí que podemos observar que, en general, las muestras formato supermercado han mostrado valores más bajos, si bien esto no se cumple todos los días analizados.

Sobre el índice de rojo también podríamos comentar algo similar, puesto que existen diferencias muy significativas entre los tratamientos en todos los puntos y, a excepción del día 0, las muestras en formato supermercado también experimentan valores más bajos que las envasadas en formato macro.

En el índice de amarillo, pese a encontrarse diferencias significativas entre los grupos, no parece que éstas sigan una evolución lógica y continuada en el tiempo, puesto que los tratamientos con valores máximos y mínimos se alternan en los diferentes puntos de control.

6.4 Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)

Los resultados obtenidos (Fig. 16), muestran unos valores bajos a día 7 para los formatos macro siendo la atmósfera más efectiva frente a la oxidación el tratamiento macro 50 % CO₂ / 50 % N.

En formato supermercado los dos tipos de tratamientos siguen una evolución similar, mostrando valores más elevados que los obtenidos en el formato macro, el cual en ningún momento supera los 2 mg de MDA.kg⁻¹ que se considera el valor límite aceptable en el pescado (Connell JJ, 1975).

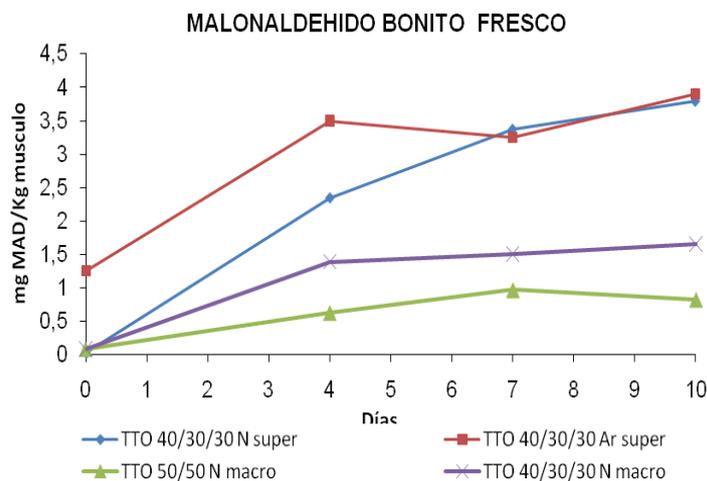


Figura 16. Evolución de la oxidación lipídica expresada en mg malonaldehído / kg de muestra

Tratamiento		Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
TBA	Macro 50 / 50	0,06 ± 0,09 ^b	0,62 ± 0,36	1,00 ± 0,42 ^a	0,83 ± 0,22 ^a
	Macro 40 / 30 / 30	0,10 ± 0,01 ^c	1,39 ± 0,51	1,50 ± 1,56 ^{ab}	1,67 ± 0,02 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (N₂)	0,02 ± 0,06 ^a	2,35 ± 1,60	3,38 ± 1,59 ^{bc}	3,80 ± 0,90 ^b
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	1,25 ± 0,18 ^d	3,50 ± 1,66	3,25 ± 0,46 ^c	3,90 ± 1,42 ^b
Sign.		***	ns	*	*

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns = p>0,1; t = p≤0,1; * = p≤0,05; ** = p≤0,01; *** = p≤0,001.

Tabla 18. Estudio estadístico de los valores de TBA a lo largo del tiempo.

Estadísticamente (tabla 18) se observan diferencias muy significativas entre los cuatro grupos a día 0, donde el formato súper con argón presenta los mayores valores, seguido del formato

macro 40 / 30 / 30, después el formato macro 50 / 50 y por último el formato súper con nitrógeno. Los días 7 y 10 también se encuentran diferencias, aunque con menor significación, entre las muestras en formato macro (menor oxidación) y las muestras formato súper.

Pese a observarse valores medios de oxidación elevados en el caso del formato supermercado, es necesario reseñar la alta desviación típica entre las diferentes réplicas empleadas, lo que nos indica que en este caso la variabilidad individual ha jugado un papel importante.

En cuanto a la acción de las atmósferas, no parece que éstas supongan un factor demasiado relevante para este parámetro, lo que entra en concordancia con algún estudio realizado con filetes de atún (López-Gálvez et al., 1995).

6.5 Análisis microbiológicos

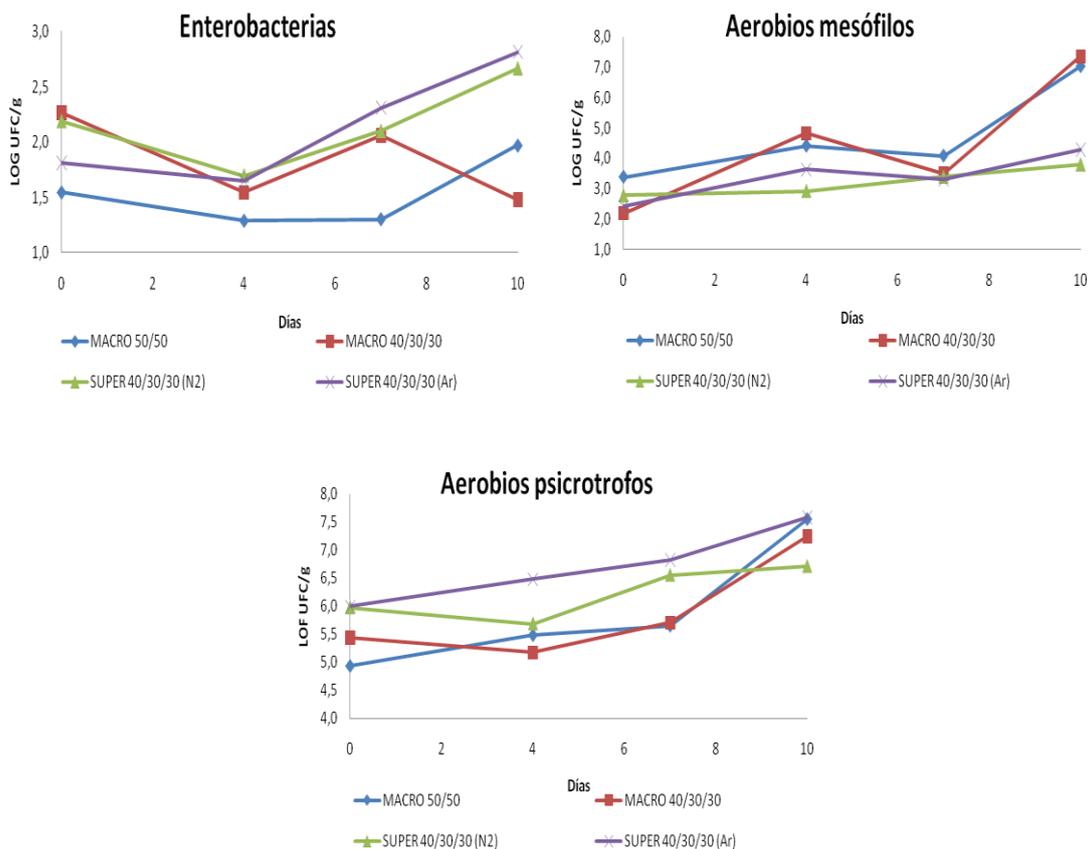


Figura 17. Evolución del recuento de enterobacterias, mesófilos y psicrótrofos.

En líneas generales, observamos que los cuatro tratamientos han experimentado una evolución similar en el tiempo (figura 17), no superándose en ningún momento el valor máximo permitido (10^3 UFC/g) a lo largo de los 10 días del estudio. Por otro lado, se aprecian

valores de recuento más elevados en el caso de las muestras envasadas en formato súper que en aquellas envasadas en formato macro, lo que quedará más detalladamente explicado en el estudio estadístico.

En cuanto al recuento de aerobios mesófilos, la tendencia no es del todo igual a lo observado en el caso de enterobacterias, ni tampoco como veremos posteriormente con los microorganismos psicrótrofos. En este caso, las muestras envasadas en formato macro han mostrado recuentos más elevados, quedando a día 10 fuera del límite permitido (10^6 UFC/g). De todos modos, en algunos puntos se han encontrado diferencias entre atmósferas para un mismo tipo de envase (ver tabla 19). Por último destacar que hasta el día 7 los cuatro tratamientos han experimentado unos resultados microbiológicos no demasiado elevados.

Aunque la legislación no haga mención expresa de este tipo de microorganismos, su estudio es importante para hacernos una idea de la calidad organoléptica del producto. Al igual que ocurre en el caso de las enterobacterias, las muestras envasadas en bandeja individual han experimentado mayores recuentos. Partiendo de recuentos iniciales altos, se observa una tendencia al alza especialmente en el caso del formato súper con argón, donde a día 4 se superan las 10^6 UFC/g. Sin embargo, las bandejas formato macro se mantienen por debajo de dicho límite hasta día 7 inclusive. Posteriormente veremos cómo estos valores se correlacionan con los resultados de la evaluación sensorial.

Tabla 19. Estudio estadístico del análisis microbiológico.

	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Enterobacterias	Macro 50 / 50	1,5 ± 0,28 ^a	1,22 ± 0,29	1,3 ± 0,00 ^a	1,88 ± 0,36 ^{ab}
	Macro 40 / 30 / 30	2,26 ± 0,05 ^b	1,54 ± 0,07	2,05 ± 0,06 ^b	1,48 ± 0,00 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	2,19 ± 0,06 ^b	1,71 ± 0,58	2,09 ± 0,68 ^b	2,51 ± 0,96 ^{bc}
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	1,77 ± 0,25 ^{ab}	1,72 ± 0,50	2,30 ± 0,60 ^b	2,81 ± 0,43 ^c
	Sign.	*	ns	*	*
Mesófilos	Macro 50 / 50	3,38 ± 0,00 ^d	4,41 ± 0,39 ^{bc}	4,08 ± 0,00	7,00 ± 0,04 ^b
	Macro 40 / 30 / 30	2,19 ± 0,01 ^a	4,80 ± 0,13 ^c	3,49 ± 0,00	7,32 ± 0,09 ^b
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	2,78 ± 0,03 ^c	2,87 ± 0,83 ^a	3,53 ± 0,73	3,78 ± 0,54 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	2,40 ± 0,13 ^b	3,61 ± 0,69 ^{ab}	3,24 ± 0,41	4,30 ± 0,57 ^a
	Sign.	***	***	ns	***
Psicrótrofos	Macro 50 / 50	4,93 ± 0,05 ^a	5,48 ± 0,07 ^a	5,65 ± 0,35 ^a	7,56 ± 1,79
	Macro 40 / 30 / 30	5,44 ± 0,08 ^b	5,18 ± 0,75 ^a	5,71 ± 0,66 ^a	7,24 ± 0,70
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	5,98 ± 0,00 ^c	5,68 ± 0,55 ^a	6,55 ± 0,59 ^b	6,72 ± 0,76
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	6,00 ± 0,01 ^c	6,48 ± 0,61 ^b	6,82 ± 0,61 ^b	7,58 ± 0,43
	Sign.	***	**	**	ns

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns = p>0,1; t = p≤0,1; * = p≤0,05; ** = p≤0,01; *** = p≤0,001.

Una vez realizado el estudio estadístico vemos como en lo que a enterobacterias se refiere, se encuentran diferencias significativas a día 0 entre el formato macro 50/50 (recuentos más bajos) y las atmósferas con O₂ y N₂ en ambos formatos, a día 4 entre el formato macro 50/50 y el resto de tratamientos y a día 10 entre el formato macro 40/30/30 y el formato súper con Ar, quedando los otros dos en una posición intermedia (tabla 19).

En el caso de aerobios mesófilos, se detectan diferencias muy significativas entre los tratamientos a días 0, 4 y 10. A día 0 existen diferencias entre todos los tratamientos, siendo el formato macro 40/30/30 el que mostró valores más bajos, seguido del súper con Ar, súper con N₂ y macro 50/50. A día 4 ya comienzan a vislumbrarse diferencias en función del formato, siendo éstas entre los dos formatos con atmósfera 40/30/30 con N₂, donde el formato súper mostró recuentos más bajos y quedando los otros dos tratamientos en una posición intermedia. A día 10, las diferencias ya se deben únicamente al tipo de formato, con valores mayores en el tipo macro (tabla 19).

Para los microorganismos psicrótrofos, las diferencias (con alto grado de significación) se dan a días 0, 4 y 7, no observándose por el contrario a día 10. En este caso vemos como las muestras almacenadas en formato macro con atmósfera 50/50 presentan los mejores resultados, habiendo diferencias entre éstas, las envasadas en formato macro 40/30/30 y los dos tratamientos en bandeja súper para día 0. A día 4 las muestras individuales con Ar se diferencian del resto (mayor recuento), y por último, a día 7 ya se observa una clara diferenciación en función del formato, siendo el tipo macro el que obtuvo mejores valores (tabla 19).

Investigación de *Salmonella spp./Shigella* y *Listeria monocytogenes* en bonito

Tabla 20. Resultados del estudio de presencia/ausencia de *Salmonella spp.* y *Shigella*

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Macro 50 / 50	Ausencia en 25 g.			
Macro 40 / 30 / 30	Ausencia en 25 g.			
Super 40 / 30 / 30 (N2)	Ausencia en 25 g.			
Super 40 / 30 / 30 (Ar)	Ausencia en 25 g.			

Tabla 21. Resultados del estudio de la presencia/ausencia de *Listeria monocytogenes*

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Macro 50 / 50	Ausencia en 25 g.			
Macro 40 / 30 / 30	Ausencia en 25 g.			
Super 40 / 30 / 30 (N2)	Ausencia en 25 g.			
Super 40 / 30 / 30 (Ar)	Ausencia en 25 g.			

Tal y como podemos apreciar en ambas tablas, no se detectó presencia ni de *Salmonella spp.*, *Shigella*, y/o *Listeria monocytogenes* en ninguna de las muestras analizadas (tablas 20 y 21).

4.6. Análisis sensorial

El análisis sensorial es uno de los parámetros más útiles a la hora de determinar la vida útil y la calidad organoléptica del pescado fresco ya que es el indicador que el consumidor va a utilizar en realidad en la vida diaria.

La calidad organoléptica del pescado fresco depende fundamentalmente de dos factores. Por un lado la flora presente (que determina el grado de descomposición) y por otro la oxidación de la muestra, ambos responsables de la aparición de sabores y olores desagradables y de alteraciones en la textura y la apariencia del filete.

A continuación, expondremos las gráficas de la evolución de las valoraciones del análisis sensorial, comparando las diferentes atmósferas para los dos formatos:

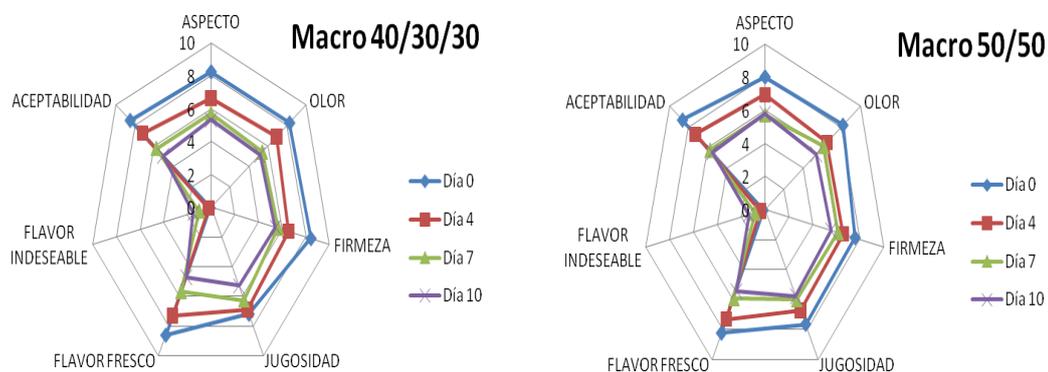


Figura 18. Análisis sensorial de las atmósferas empleadas en el formato macro.

Tal y como observamos en las gráficas (figura 18), en ambos tipos de atmósfera para el formato macro las valoraciones han sido muy similares y han llevado una evolución bastante parecida. Las valoraciones han sido superiores a 5 en todos los puntos de control a excepción del flavor a fresco en la atmósfera 40 / 30 / 30, donde a día 10 los valores medios fueron ligeramente inferiores a 5. En general apreciamos puntuaciones ligeramente superiores para la atmósfera 50 / 50, donde la ausencia de oxígeno ha podido tener alguna influencia, aunque como veremos en el análisis estadístico, apenas se aprecian diferencias significativas entre ambas. Esto nos indica una buena aceptación de este tipo de formato por parte de los catadores, ya que se ha mantenido el aprobado en todos los parámetros (excepto el señalado anteriormente) hasta el último día de ensayo.

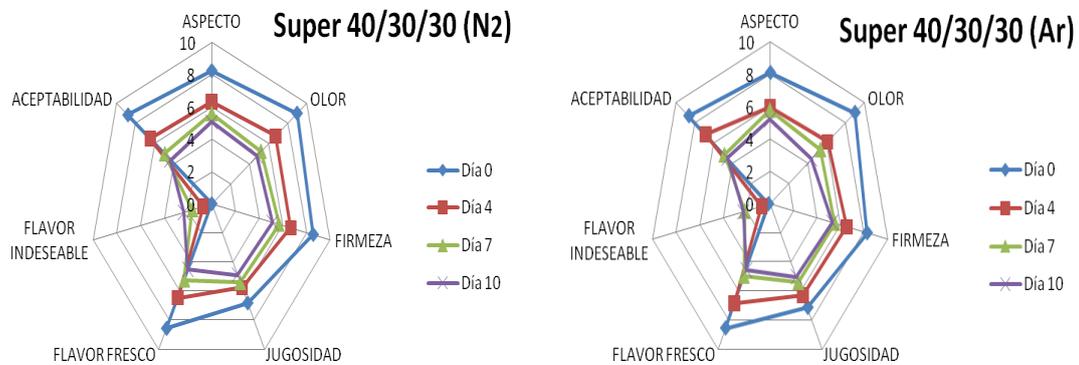


Figura 19. Análisis sensorial de las atmósferas empleadas en el formato súper.

Del mismo modo que ocurre en el caso del formato macro , no existen apenas diferencias en cuanto a la evolución del análisis sensorial (figura 19) entre las dos atmósferas utilizadas en el formato bandeja super (ver más detalladamente en el estudio estadístico). Si bien, en este caso no podemos hablar de que las valoraciones hayan sido superiores a 5 en todos los días de análisis como ocurría en el caso del formato macro. Vemos como principalmente a día 10, y en algún parámetro a día 7, obtenemos valoraciones que no alcanzan el aprobado.

Ahora nos fijaremos en probablemente el parámetro más representativo de la calidad sensorial de las muestras, como es la aceptabilidad global (figura 20), para hacer una comparativa de los cuatro tratamientos a la vez, lo que nos dará visualmente una idea más clara de la tendencia que desarrolla cada uno de ellos.

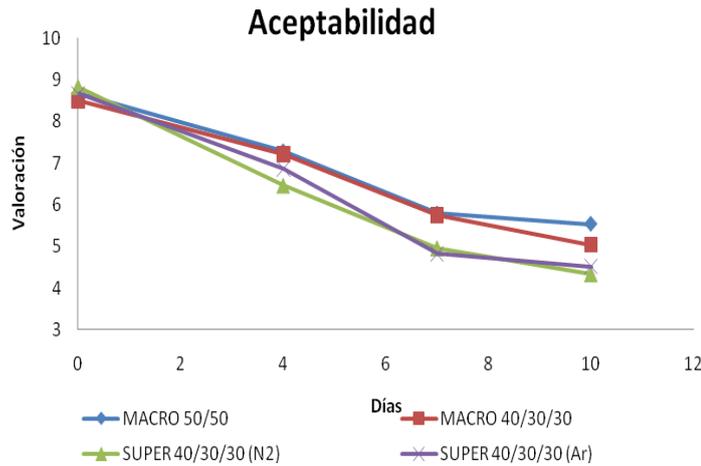


Figura 20. Evolución de la aceptabilidad global de los dos formatos de envasado y sus atmósferas correspondientes.

Esta gráfica (figura 20) nos muestra una lógica disminución de las puntuaciones de los cuatro tratamientos estudiados, si bien podemos resaltar una visible diferenciación (especialmente a partir del día 4) entre las muestras envasadas en formato macro (mejor aceptadas sensorialmente) y las muestras envasadas en formato súper.

Estos resultados se relacionan con los obtenidos a nivel oxidativo y microbiológico (enterobacterias y aerobios psicrotrofos) que como hemos apuntado previamente son los factores de mayor influencia a nivel sensorial.

Tabla 22. Estudio estadístico de los resultados del análisis sensorial.

Aspecto	Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10
Aspecto	Macro 50 / 50	8,00 ± 0,71	6,93 ± 1,12 ^b	5,75 ± 1,12	5,79 ± 1,03
	Macro 40 / 30 / 30	8,25 ± 0,61	6,64 ± 0,95 ^{ab}	5,71 ± 1,46	5,32 ± 1,09
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	8,25 ± 0,88	6,34 ± 0,99 ^{ab}	5,57 ± 1,21	5,07 ± 1,03
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	8,08 ± 0,92	5,98 ± 1,39 ^a	5,77 ± 1,20	5,20 ± 0,92
	Sign.	ns	t	ns	ns
Olor característico	Macro 50 / 50	8,17 ± 0,52 ^a	6,5 ± 1,41	6,14 ± 1,08	5,36 ± 1,13 ^b
	Macro 40 / 30 / 30	8,25 ± 0,42 ^a	6,89 ± 0,84	5,39 ± 1,51	5,14 ± 1,20 ^{ab}
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	9,00 ± 0,00 ^b	6,73 ± 1,27	5,20 ± 1,56	4,75 ± 1,27 ^{ab}
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	9,00 ± 0,00 ^b	6,11 ± 1,34	5,34 ± 1,16	4,41 ± 1,03 ^a
	Sign.	***	ns	ns	t
Firmeza	Macro 50 / 50	7,58 ± 0,49 ^a	6,57 ± 1,02	6,14 ± 1,08	5,54 ± 1,08
	Macro 40 / 30 / 30	8,42 ± 0,49 ^b	6,54 ± 0,95	5,68 ± 1,23	5,43 ± 1,11
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	8,58 ± 0,49 ^b	6,68 ± 0,81	5,68 ± 1,01	5,14 ± 1,03
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	8,25 ± 0,42 ^b	6,52 ± 0,86	5,50 ± 0,84	5,30 ± 1,05
	Sign.	**	ns	ns	ns

Jugosidad	Macro 50 / 50	7,67 ± 0,82	6,75 ± 0,61 ^{bc}	6,00 ± 1,54	5,79 ± 0,99 ^b
	Macro 40 / 30 / 30	7,17 ± 0,68	6,89 ± 0,86 ^c	6,25 ± 1,12	5,29 ± 1,07 ^{ab}
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	6,83 ± 1,03	5,77 ± 0,79 ^a	5,41 ± 1,05	4,89 ± 1,07 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	7,17 ± 0,26	6,30 ± 0,81 ^b	5,43 ± 1,49	5,04 ± 0,94 ^a
	Sign.	ns	***	ns	t
Flavor a fresco	Macro 50 / 50	8,25 ± 0,61	7,32 ± 1,20 ^b	5,93 ± 1,48	5,43 ± 1,07
	Macro 40 / 30 / 30	8,58 ± 0,49	7,32 ± 0,97 ^b	5,68 ± 1,25	4,71 ± 1,63
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	8,58 ± 0,49	6,46 ± 1,04 ^a	5,23 ± 1,43	4,52 ± 1,16
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	8,58 ± 0,49	6,86 ± 1,28 ^{ab}	4,98 ± 1,74	4,57 ± 1,20
	Sign.	ns	t	ns	ns
Flavor indeseable	Macro 50 / 50	0,17 ± 0,26	0,39 ± 0,63	0,86 ± 0,89 ^a	1,36 ± 1,01 ^a
	Macro 40 / 30 / 30	0,08 ± 0,20	0,21 ± 0,43	1,00 ± 0,73 ^a	1,50 ± 1,33 ^{ab}
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	0,00 ± 0,00	0,73 ± 0,89	1,64 ± 1,19 ^{ab}	2,36 ± 1,35 ^b
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	0,17 ± 0,41	0,71 ± 0,96	2,14 ± 1,87 ^b	2,29 ± 1,49 ^b
	Sign.	ns	ns	*	*
Aceptabilidad	Macro 50 / 50	8,67 ± 0,52	7,29 ± 1,14	5,79 ± 1,27 ^b	5,53 ± 1,12 ^b
	Macro 40 / 30 / 30	8,50 ± 0,45	7,21 ± 0,99	5,75 ± 1,12 ^b	5,04 ± 1,39 ^{ab}
	Super 40 / 30 / 30 (N2)	8,83 ± 0,52	6,46 ± 1,16	4,96 ± 1,45 ^{ab}	4,34 ± 1,29 ^a
	Super 40 / 30 / 30 (Ar)	8,67 ± 0,52	6,86 ± 1,25	4,82 ± 1,29 ^b	4,52 ± 1,21 ^a
	Sign.	ns	ns	*	*

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns = p>0,1; t = p≤0,1; * = p≤0,05; ** = p≤0,01; *** = p≤0,001.

Una vez realizado el análisis estadístico, se han detectado diferencias significativas en algunos parámetros en los diferentes días del estudio (tabla 22). En el punto inicial, existen diferencias con alta significación en cuanto a olor característico y firmeza. En el primer caso, éstas se han dado entre las muestras con formato macro (menor puntuación) y las bandejas superes. En cuanto a la firmeza, las diferencias existen entre las muestras macro 50/50 y el resto, teniendo las primeras puntuaciones algo inferiores.

El día 4, se han encontrado diferencias muy significativas en jugosidad, en concreto entre el tratamiento macro 40/30/30 (mayor valoración, por tanto más jugoso), el formato super 40/30/30 (Ar) y por último y peor valorado el formato súper 40/30/30 (N₂). El formato macro 50/50 queda entre los dos primeros sin haber diferencias entre ellos. También existe una tendencia en aspecto y flavor a fresco, siendo en ambos casos las muestras del formato macro mejor valoradas.

El día 7 se encuentran diferencias significativas en cuanto a flavor indeseable, entre el formato súper con argón (mayor puntuación) y los dos formatos macro, y también

aceptabilidad, dándose diferencias entre los dos formatos macro (mejor valorados) y el formato súper con argón.

El último día del estudio se detectaron diferencias significativas en flavor indeseable y aceptabilidad, y una tendencia en olor característico y jugosidad. En todas ellas, el tratamiento macro 50/50 obtiene las mejores calificaciones, habiendo diferencias entre éste y los dos formatos superes, quedando el formato macro 40/30/30 en una posición intermedia.

7. CONCLUSIONES EN MERLUZA

Basándonos en los bajos niveles de oxidación y recuentos microbiológicos, podemos afirmar que las muestras de merluza alcanzan unos aceptables niveles de conservación a lo largo de los 7 días tras su envasado, por lo que la atmósfera modificada ha supuesto un incremento de la vida útil del producto.

En rasgos generales, la atmósfera 50 % CO₂ / 50 % N₂ ha mostrado ligeramente mejores resultados que la atmósfera 50 % CO₂ / 40 % N₂ / 10 % O₂. Este hecho queda especialmente reflejado en oxidación y carga microbiológica.

8. CONCLUSIONES EN PERCA

En los estudios efectuados para los dos tipos de tratamientos, los resultados en cuanto a conservación de propiedades organolépticas del producto y flora microbiana son satisfactorios (cumplen los límites legales, según el BOE núm. 195. Del 15/08/91, en el periodo de conservación de 7 días).

Entrando más en detalle se podría pensar que la proporción de gases 50/50 mejora ligeramente los resultados en cuanto a calidad organoléptica, flora microbiana, TBA y color alargando mínimamente la vida útil en el producto.

9. CONCLUSIONES BONITO

En general podemos decir que ambos tipos de envasado, en las diferentes atmósferas estudiadas, han sido efectivos para mantener la calidad organoléptica del producto a lo largo de los 10 días del experimento.

Especialmente, esto queda reflejado desde un punto de vista microbiológico, donde prácticamente no se superan los límites establecidos por la legislación en ningún punto. En cuanto a la influencia del tipo de envase, parece ser que las muestras envasadas en formato

macro han experimentado una mejor conservación, y dentro de éstas, la atmósfera 50 % CO₂ y 50 % N₂ ha mostrado en general mejores resultados.

En cuanto al análisis sensorial, se ha observado una correlación con los resultados obtenidos en microbiología, ya que las muestras en formato macro han tenido una mejor aceptación por parte del panel de consumidores, siendo de nuevo la atmósfera 50 % CO₂ y 50 % N₂ la mejor valorada, aunque sin demasiadas diferencias respecto a la atmósfera 40 % CO₂ / 30 % O₂ / 30 % N₂.

Otro parámetro que parece haber sido afectado por las diferentes condiciones a las que han sido sometidas las muestras es la oxidación. Aquí las muestras en formato macro han mostrado valores mucho más bajos, y en ningún momento han superado los límites de aceptabilidad.

En el resto de parámetros no se han observado claras diferencias en función del tipo de envasado y/o la atmósfera empleada, si bien el índice de rojo (color) ha sido superior en las muestras en formato macro.

Por tanto, en general el formato macro ha resultado ser algo más efectivo que el formato supermercado, siendo cierto que las condiciones de almacenamiento del primero (cámara fría a oscuridad, y por tanto sin efecto de la luz) no son las mismas que en el formato súper ni representan las condiciones de mercado.

No se han observado diferencias muy destacables entre los tipos de atmósfera empleados, aunque la ausencia de oxígeno en la atmósfera 50 / 50 ha supuesto un freno para el crecimiento microbiano con la consecuente repercusión a nivel sensorial.

BIBLIOGRAFÍA

- Aplicación de tecnologías emergentes de procesado mínimo en el sector pesquero. *Centro Tecnológico del Mar.Fundación CETMAR. Área de Tecnología de Productos Pesqueros*. Capítulo XI: Mejía García JL. Productos del mar en atmósfera modificada. 203-219. España.
- APROMAR, La Acuicultura Marina de Peces en España 2008. <http://www.apromar.es> [Junio 2008].
- BOE nº 11. Orden del 13 de enero de 1993. RD 1437/1992 del 27 de noviembre por el que se fijan las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de los productos pesqueros y de la acuicultura.
- BOE número 195. Orden de 2 de agosto de 1991 por la que se aprueban las normas microbiológicas, los límites de contenido en metales pesados y los métodos analíticos para la determinación de metales pesados para los productos de la pesca y de la acuicultura. Fecha de publicación 15/08/1991.
- Botta, JR, (1995) Evaluation of Seafood Freshness Quality. VCH Publishers, Inc., New York.Cheftel JF. and Cheftel H. Introduction à la biochimie et à technologie des aliments. Vol. 1 et 2. Enterprise Moderne d'Édition, Paris. (1976).
- Coles R. and McDowell D. Food Packaging Technology. *Blackwell Publishing Ltd. Great Britain*. Chapter 10: Mullan M and McDowell. Modified atmosphere packaging. 331-338 (2003).
- Connell, J.J., (1975). Control of Fish Quality 1st Edition. Fishing News Books Limited, London.Dalgaard P, Gram L, and Huss HH. Spoilage and shelf-life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *Int J Food Microbiol* 19 (4): 283-294 (1993).
- Debevere J and Boslou G, Effect of modified atmosphere packaging on the TVB/TMA-producing microflora of cod fillets. *I J of Food Microbiology* 31 (1-3): 221-229 (1996).

- Devlieghere F, Debevere J. and Van Impe J. Effect of dissolved carbon dioxide and temperature on the growth of *Lactobacillus sake* in modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*. 41: 231-238 (1998).
- Directices del Codex para la evaluación sensorial del pescado y los mariscos en laboratorio CAC/GL 31-1999.
- Encyclopedia of Food Microbiology. Richard K. Robinson, Carl A. Batt, Pradip D. Patel. Volume two. Farber JM, Cai Y. and Ross WH. Predictive modeling of the growth of *Listeria monocytogenes* in CO₂ environments. *Int. J of Food Microbiology*. 32: 133-144 (1996).
- Fernandez J, Pérez-Álvarez JA and Fernandez-Lopez JA. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meta. *Food Chemistry* 59:345-353 (1997).
- Finne G. Modified and Controlled Atmosphere Storage of Muscle Foods. *Food Technology* 128-133 (1982).
- Giatrakou V, Kykkidou S, Papavergou A, Kontominas MG. and Savvaidis IN. Potential of oregano essential oil and MAP to extend the shelf life of fresh swordfish: A comparative study with ice storage. *J of Food Science*. 73: 167-173 (2008).
- Giménez B, Roncalés P and Beltrán JA. The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality of salmon (*Salmo salar*) fillets packaged in modified atmosphere. *J Sci Food Agric* 85: 1033-1040 (2005).
- Giménez B, Roncalés P and Beltrán JA. The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus Aurata*) packaged in a modified atmosphere. *J Sci Food Agric* 84: 1053-1060 (2004).
- Giménez B, Sánchez-Escalante A, Torrescano G, Roncalés P and Beltrán J. A. Different Packaging Conditions to Improve Shelf Life of Filleted Gilt-Head Sea Bream (*Sparus aurata*). *J of Aquatic Food Product Technology* 11: 275-286 (2002).
- Goulas A. E and Kontominas M. G. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 100: 287-296 (2007).

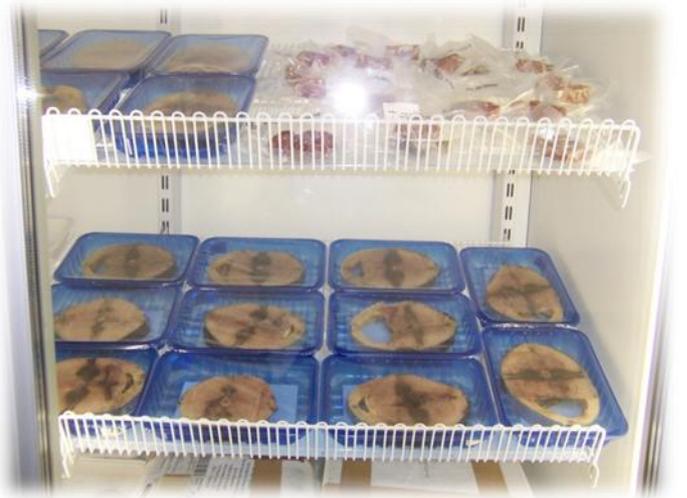
- Goulas AE and Kontominas MG. Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Eur Food Res Technol* 224: 545-553 (2007).
- Gram L. and Huss HH. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Food chemistry* 33: 121-137 (1996).
- Hansen A.A , Rudi K, Olsen E and Eie T. Quality changes during refrigerated storage of MA- Packaged pre-rigor fillets of farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) using traditional MAP, CO2 emitter and vacuum. *J of Food Science* 72, Nr 9: 423-430 (2007).
- Hebard, C. E., Flick, G. J., & Martin, R. E. (1982). Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. In Martin, R. E., Flick, G. J., Hebard, C. E., & Ward, D. R. (Eds.), *Chemistry and biochemistry of marine food products* (pp. 149–304). Westport, Connecticut: AVI.
- Jamie P and Saltveit ME. Postharvest changes in broccoli and lettuce during storage in argon, helium and nitrogen atmospheres containing 2% oxygen. *Postharvest Biology and Technology* 26: 113-116 (2002).
- López-Galvez, D., de la Hoz, L., and Ordóñez, J. A., (1995). Effect of Carbon Dioxide and Oxygen Enriched Atmospheres on Microbiological and Chemical Changes in Refrigerated Tuna (*Thunnus alalunga*) Steaks. *J. Agric. Food Chem.* 43, 483-490.
- Masniyom P, Benjakul S and Visessanguan W. Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerated seabass slices. *LWT* 38: 745-756 (2005).
- Microbiología de los Alimentos, Técnicas de Análisis Microbiológico. (1984) Vol. I. 2da edición. Editorial Acribia. Zaragoza- España. 431 pp.
- Morten ,Sivertsvik (2006) The optimized modified atmosphere for packaging of pre-rigor filleted farmed cod (*Gadus morhua*) is 63 ml/100 ml oxygen and 37 ml/100 ml carbon dioxide.
- Özogul F, Polat A and Özogul Y. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry* 85: 49-57 (2004).

- Pastoriza L, Sampedro G, Herrera J. J and Cabo M. L. Influence of sodium chloride and modified atmosphere packaging on microbiological, chemical and sensorial properties in ice storage of slices of hake (*Merluccius merluccius*). *Food Chemistry* 61: 23-28 (1998).
- Pastoriza L, Sampedro G, Herrera J. J and Cabo M. L. Effect of modified atmosphere packaging on shelf-life of iced fresh Hake Slices. *J of Science and Food Agriculture* 71: 541-547 (1996).
- Pin C, Baranyi J and García de Fernando G. Predictive model for the growth of *Yersinia enterocolitica* under modified atmospheres. *J of Applied Microbiology*. 88: 521-530 (2000).
- Poli BM, Parisi G, Zampacavallo G, Mecatti M, Lupi P, Gualteri M. and Franci O. Quality outline of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in Italy: shelf life, edible yield, nutritional and dietetic traits. *Aquaculture*. 202: 303-315 (2001).
- Pfalzgraf A., Frigg M and Steinhart H., (1995) α -Tocopherol Contents and Lipid Oxidations in Pork Muscle and Adipose Tissue during storage. *J. Agric. Food Chem.* 43:1339-1 342.
- Ravi Sankar CN, Lalitha KV, Leema J, Manju S. and Gopal TKS. Effect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (*Etroplus suratensis* Bloch) stored at 0-2°C. *Food Microbiology*. 25: 518-528 (2008).
- Rocculi P, Romani S and Dalla Rosa M. Effect of MAP with argon and nitrous oxide on quality maintenance of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 35: 319-328 (2005).
- Ruiz-Capillas C and Moral A. Residual effect of CO₂ on hake (*Merluccius merluccius* L.) stored in modified and controlled atmospheres. *Eur Food Res Technol* 212: 413-420 (2001).
- Ruiz-Capillas C and Moral A. Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry* 89: 347-354 (2005).
- Ruiz-Capillas C. and Moral A. Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry* 89: 347-354 (2005).

- Rutherford TJ, Marshall DL, Andrews LS, Coggings PC, Wes Schilling M. and Gerard P. Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat shrimp. *Food Microbiology* 24: 703-710 (2007).
- Silliker JH and Wolfe SK. Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meats. *Food technology* 59-63 (1980).
- Sivertsvik M. The optimized modified atmosphere for packaging of filleted farmed cod (*Gadus morhua*) is 63 ml/100ml and 37 ml/100 ml carbon dioxide. *LWT* 40: 430-438 (2007).
- Torrieri E, Cavella S, Villani F and Masi P. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf-life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). *J of Food Engineering* 77: 1078-1086 (2006).
- UNE-EN ISO 6579:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002).
- UNE-EN ISO 11290-2:1997/A1:2005. Microbiología de los alimentos para consumo humano y para animales. Método horizontal para la detección y el recuento de *Listeria monocytogenes*.
- Use of carbon dioxide enriched atmospheres in the refrigerated storage (2°C) of salmon (*Salmo salar*) steaks. *Eur Food Res Technol.* 210: 179-188 (2000).
- Wang T, Sveinsdóttir K, Magnússon H and Martinsdóttir E. Combined application of Modified Atmosphere Packaging and Superchilled Storage to Extend the Shelf Life of Fresh Cod (*Gadus Morhua*) Loins. *J of Food Science* 73: 11-19 (2008).
- Zhang M, Zhan ZG, Wang SJ and Tang JM. Extending the shelf-life of asparagus spears with a compressed mix of argon and xenon gases. *LWT* 41: 686-691 (2008).

ARCHIVO FOTOGRÁFICO: EVOLUCIÓN EN LAS DISTINTAS ESPECIES A LO LARGO DEL TIEMPO

(Imágenes de las muestras de bonito en bandejas super expuestas en vitrina)



TRAT. PERCA 50 % CO₂ / 50 % N₂



DÍA 0



DÍA 4



DÍA 7

TRAT.PERCA 50 % CO₂/ 10 % O₂/ 40 % N₂



DÍA 0



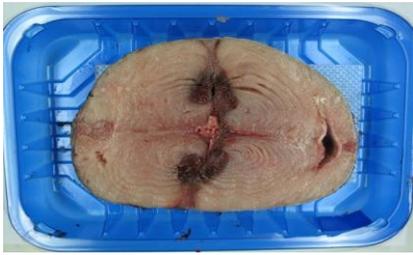
DÍA 4



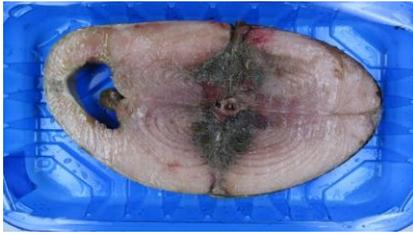
DÍA 7

EVOLUCIÓN EN EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO

**TRAT.BONITO 40 % CO₂ / 30 % O₂ / 30 % N₂
(MACRO).**



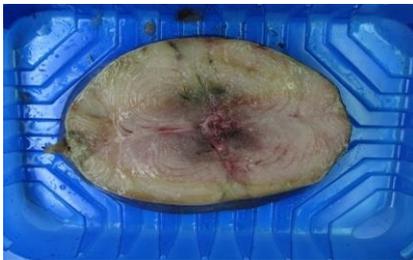
DÍA 0



DÍA 4

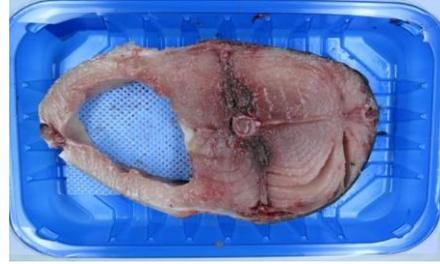


DÍA 7

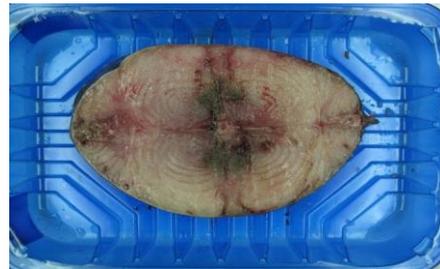


DÍA 10

**TRAT.BONITO 50 % CO₂ / 50 % N₂
(MACRO).**



DÍA 0



DÍA 4



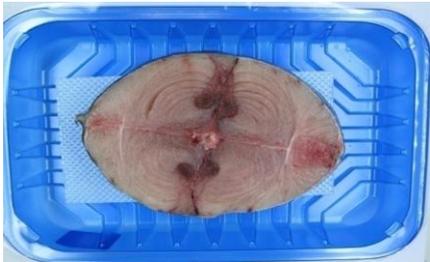
DÍA 7



DÍA 10

EVOLUCIÓN EN EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO

**TRAT.BONITO 40 % CO₂ / 30 % O₂ / 30 % N₂
(SUPER).**



DÍA 0



DÍA 4

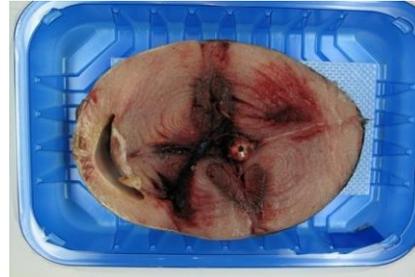


DÍA 7



DÍA 10

**TRAT.BONITO 40 % CO₂ / 30 % O₂ / 30 % Ar
(SUPER).**



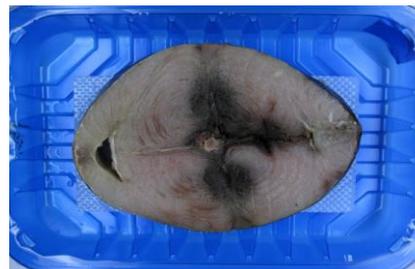
DÍA 0



DÍA 4



DÍA 7



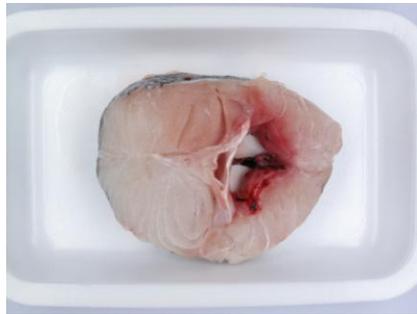
DÍA 10

EVOLUCIÓN EN EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO

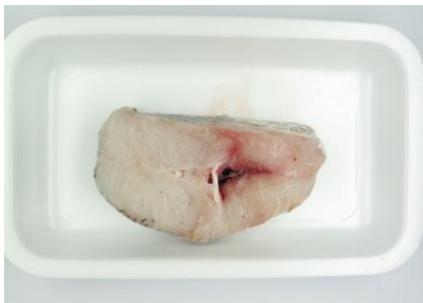
TRAT. MERLUZA 50 % CO₂ / 50 % N₂



DÍA 0

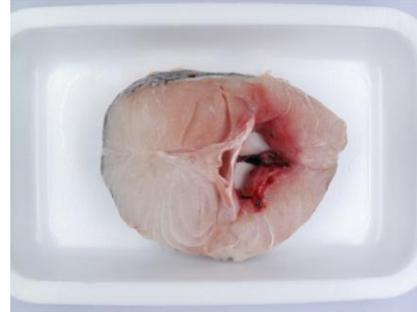


DÍA 4

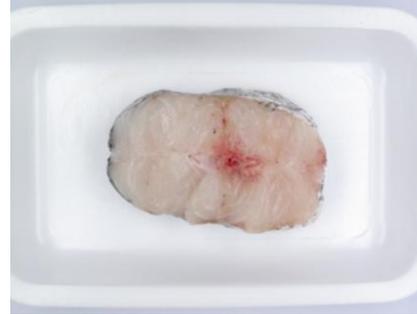


DÍA 7

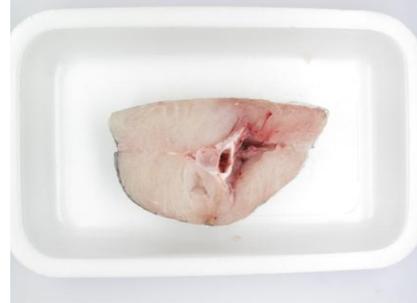
TRAT. MERLUZA 50 % CO₂ / 10% O₂ / 40 % N₂



DÍA 0



DÍA 4



DÍA 7



EVOLUCIÓN EN EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO