



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE MAGISTER EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

Efecto de la radiación gamma sobre algunos parámetros de calidad de la porción H&G de merluza negra (*Dissostichus eleginoides*).

FRANCISCO PRINCIPE

BAHIA BLANCA



ARGENTINA

2009

PREFACIO

Esta tesis es presentada como parte de los requisitos para optar el grado Académico de Magíster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de ningún otro título de esta Universidad u otras. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio de Radioisótopos, dependiente del Departamento de Química, durante el período comprendido entre Febrero de 2002 y Diciembre del 2008, bajo la dirección de la Dra. Clara Ana Croci, Profesor Titular de Radioquímica

22 de Diciembre de 2008.-

Vet. Francisco Principe.

Departamento de Química
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

AGRADECIMIENTOS

Quisiera brindar mi más sincero agradecimiento a tres personas que hicieron posible el desarrollo de esta Maestría:

- A mi Directora, Dra. Clara Ana Croci, por haberme dado la posibilidad de realizar esta tesis, transmitiéndome sus conocimientos científicos y experiencia.
- A la Dra. Noemí Andreucetti, por su contribución y apoyo en las tareas de laboratorio.
- A la Magister Mónica Beatriz Pérez, por toda su colaboración y asesoramiento permanente en el desarrollo del trabajo.

Además, también quisiera agradecer a todas aquellas personas que participaron de la ejecución de este trabajo:

- Al Licenciado Ricardo Camina, por su asesoramiento estadístico.
- Al personal del Laboratorio Regional de SENASA Bahía Blanca, por la colaboración prestada en aspectos relacionados con las técnicas de laboratorio aplicadas.
- A la Dra. Liliana Albertengo y la Dra. Susana Rodríguez, por la cuantificación de lípidos en la especie.
- A mis compañeros del Laboratorio de Radioisótopos, Dra. Adriana Pezzutti, Lic. Adrián Dentezano, Lic. Sonia Banek, por su espíritu colaborador.
- A mis compañeros de trabajo, Mónica Salas, Juan Araoz y José Carpanetto, por su espíritu solidario y amistad.
- A la empresa Ibermar S.A., por el suministro de los ejemplares de merluza negra analizados en el presente trabajo.
- Al personal de la Planta de Irradiación Semi-Industrial del Centro Atómico Ezeiza, por su participación en el tratamiento de las muestras.

A MI ESPOSA
E
HIJOS

RESUMEN

La merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) es una de las especies pesqueras del Mar Argentino de mayor valor comercial en el mercado mundial. Se trata de un pescado graso que se congela a bordo y se exporta principalmente en la forma descabezada y eviscerada denominada porción H&G. Para retardar su deterioro el método comúnmente empleado es el congelado. El uso de este método en el pescado no es suficiente para minimizar la ocurrencia de enfermedades transmitidas por los alimentos. El procesamiento del pescado con bajas dosis de radiaciones ionizantes puede anular el riesgo de dichas enfermedades, además de extender el período de aptitud del producto.

Los objetivos de este trabajo fueron generar información sobre la calidad de la porción H&G de la merluza negra capturada en la Zona FAO N° 41, durante el almacenaje por tiempo prolongado a -18°C y conocer el efecto de la radiación gamma de Cobalto-60 desde el punto de vista de su preservación. Al respecto se determinaron, la rancidez oxidativa, el contenido de las bases nitrogenadas volátiles totales, el pH, la composición de lípidos y ácidos grasos en dicha porción, como así también su olor y sabor.

En una primera etapa, se determinó que la rancidez oxidativa no fue significativa en las distintas partes de la porción H&G durante el almacenaje prolongado a -18°C . Se corroboró que la presencia de signos de fallas operativas en la porción, indujeron incrementos en los productos secundarios de oxidación lipídica. Posteriormente, se encontró que la aplicación de 1, 3 y 5 kGy de rayos gamma de Cobalto-60 al producto congelado, globalmente, no afectó a la rancidez oxidativa, ni el nitrógeno básico volátil total ni al pH del músculo de la especie a lo largo del almacenaje. En la porción descongelada y mantenida a 5°C , tanto en muestras control como irradiadas, se determinó que el producto resultó aceptable hasta las 72 horas de almacenaje.

El perfil de ácidos grasos de los ejemplares tuvo como componentes principales a los ácidos grasos monoinsaturados teniendo al ácido oleico (18:1) como componente principal. Los saturados siguieron en importancia destacándose dentro el grupo el ácido palmítico (16:0). Un 17 % del total correspondió a los ácidos grasos poliinsaturados, destacándose el eicosapentaenoico (20:5 n-3) y el docosapentaenoico (22:6 n-3) como los principales exponentes del grupo. Las dosis de 1 y 5 kGy no afectaron al perfil de ácidos grasos ni al contenido de triglicéridos y fosfolípidos a lo largo del almacenaje prolongado a -18°C . La irradiación no indujo formación de ácidos grasos *trans*.

En relación al análisis sensorial se determinó que la evaluación en cocido resulta más efectiva que la evaluación en crudo para investigar el olor y el sabor de esta especie. Se encontró que la dosis de 1 kGy mantiene una destacada calidad en alrededor de cuatro meses más con su control; mientras que 3 y 5 kGy tuvieron un efecto detrimental sobre estos atributos.

Los efectos de las distintas dosis de irradiación sobre los parámetros analizados se explicaron a la luz de los conocimientos actuales de la química de las radiaciones en alimentos. Sobre la base de los datos informados, se concluye que la porción H&G de merluza negra capturada en el Mar Argentino presenta estabilidad durante el almacenaje prolongado en estado congelado.

El tratamiento del producto con una baja dosis de radiación gamma extiende el tiempo en el cual los ejemplares mantienen destacada calidad para el consumo. Sumado a esto, la tecnología de irradiación permitiría contar con un producto microbiológicamente seguro, manteniendo las características nutricionales beneficiosas de sus ácidos grasos.

Además estos resultados, pueden ser considerados como un antecedente de valor, tanto para la industria pesquera como para las autoridades sanitarias a fin de autorizar la incorporación de los alimentos marinos irradiados en el Código Alimentario Argentino.

ABSTRACT

The Patagonian toothfish is one of the fishing species in the Argentinian Sea with the highest commercial value in the world market. It is a fatty fish that is frozen on board and exported mainly headed and gutted -H&G-. However, this is not enough to prevent illnesses that may be caused by this food. The processing of the fish with low dosis of ionizing radiation can eliminate the risk of these illnesses and, what is more, extend its shelf life.

The aims of this work were to provide information about the quality of the headed and gutted portion of Patagonian toothfish captured in the FAO N° 41 area, during its long-term storage at -18°C and to know the effect of Co⁶⁰ gamma irradiation on its preservation.

For this purpose it was necessary to determine its oxidative rancidity, the content of nitrogen of total volatile bases, its pH, the composition of lipids and fatty acid in this portion as well as its smell and taste.

In a first stage it was found that the oxidative rancidity was not significant in the different parts of this portion. However, when some signs of operative failures appeared, there was an increase in the secondary lipid oxidation products. Later, it was found that, in general, the application of 1, 3 and 5 kGy Co⁶⁰ gamma rays to the frozen products did not affect its oxidative rancidity, its nitrogen of total volatile bases and its muscle pH during storage.

In the defrosted portion kept al 5°C, both the control and irradiated samples were acceptable after storage of up to 72 hours. The fatty acid profiles of the samples had monounsaturated fatty acid as their main components, being the oleic acid (18:1) the principal element in this group. The saturated fatty acid appeared next, especially the palmitic acid (16:0). Seventeen per cent of all the fatty acids were the polinsaturated ones, among which the eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) and docosahexaenoic (22:6 n-3) appear as the main ones in the group.

The application of 1 and 5 kGy doses did not affect either the fatty acid profiles or the triglicerides and phospholipids contents and it did not cause the formation of trans fatty acids either. As regards sensorial analysis, the evaluation of odor and taste was more effective in cooked fish than in raw ones.

It was also found that the 1 kGy doses kept good quality for four months more than its control group, whereas the 3 and 5 kGy doses had a detrimental effect. The effects of the different irradiation doses on the analyzed parameters were explained taking into account the present knowledge the radiation chemistry of food.

In conclusion, the H&G portion of Patagonian toothfish captured in the Argentinian Sea presents stability during long-term storage in frozen state. When the product is irradiated with a low dosis of gamma rays it keeps an excellent state for more time. Moreover, the irradiation technology renders the product microbiologically safe, keeping the nutritional characteristics of its fatty acids. Furthermore, these results may be considered as valuable background for the fishing industry as well as the sanitary authorities so as to permit the incorporation of these irradiated marine foods in the Argentine Food Code.

INDICE GENERAL

Glosario de abreviaturas y términos	xii
Indice temático	xv
Introducción y objetivos	1
Marco de referencia del estudio	5
Materiales y Métodos	88
Resultados y Discusión	104
Conclusiones	147
Referencias	154
Trabajos surgidos de esta tesis	171
Anexo	172

GLOSARIO DE ABREVIATURAS Y TERMINOS

ADN	ácido desoxirribonucleico
ADP	adenosina difosfato
AG	ácidos grasos
AGL	ácidos grasos libres
AGMI	ácidos grasos monoinsaturados
AGPI – PUFA	ácidos grasos poliinsaturados
AGS	ácidos grasos saturados
AMP	adenosina monofosfato
ATP	adenosina trifosfato
AVT	ácidos volátiles totales
CG	cromatografía gaseosa
CNEA	Comisión Nacional de Energía Atómica
DHA	ácido docosahexaenoico
DMA	dimetilamina
EPA	ácido eicosapentaenoico
FA	formaldehído
FAO	Organización para los Alimentos y la Agricultura
FL	fosfolípidos
H&G	descabezado y eviscerado
HACCP	análisis de riesgos y control de puntos críticos
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
HQL	vida de alta calidad
HX	hipoxantina
IAEA	Agencia Internacional de Energía Atómica
IMP	inosina monofosfato
INO	inosina
LT	lípidos totales
MA	malonaldehído
NBVT	nitrógeno básico volátil total
NNP	nitrógeno no proteico
NP	nitrógeno proteico

OECD	Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo
OMS – WHO	Organización Mundial de la Salud
OTMA	óxido de trimetilamina
PC	punto de control
PCC	punto crítico de control
PPP	producto, procesado y envasado
PSL	vida de depósito en la práctica
TBA	ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicéridos
TMA	Trimetilamina
VP	valor de peróxido

Actividad: número medio de desintegraciones nucleares que se producen por unidad de tiempo. Apócope de radiactividad.

Bequerel (Bq): unidad de actividad en el Sistema Internacional, equivalente a una desintegración por segundo.

Curie (Ci): unidad de actividad, originalmente definida como la radiactividad de un gramo de radio. En la actualidad está siendo reemplazada por el Bequerel.

$$1\text{Ci} = 3,7 \times 10^{10} \text{ desintegraciones por segundo} = 3,7 \times 10^{10} \text{ Bq}$$

Dosis: energía de la radiación que es absorbida por unidad de masa del material irradiado.

Electrón acuoso (e^-_{ac}): electrón hidratado o solvatado, producto de la radiólisis del agua.

Electrónvolt (eV): unidad de energía. Un electrónvolt es la energía cinética adquirida por un electrón cuando es acelerado a través de una diferencia de potencial de un volt en el vacío. Comúnmente se usan sus múltiplos: kilo-electrónvolt (KeV) o mega-electrónvolt (MeV).

Gray (Gy): unidad en el sistema Internacional para la dosis absorbida, equivalente a 1 Joule/Kg.

Partículas beta (β): positrones (β^+) y electrones (β^-) de alta velocidad que pueden ser emitidos por un núcleo radiactivo durante su desintegración.

Período de semidesintegración (T): caracteriza la velocidad de decaimiento radiactivo. Está definido como el tiempo requerido para la desintegración de la mitad de los átomos de una sustancia radiactiva.

Rayos gamma (γ): uno de los tipos de radiación emitida por radionucleídos. Al igual que las ondas de radio o luz visible, los rayos gamma forman parte del espectro electromagnético.

Rayos X: un tipo de radiación ionizante que forma parte del espectro electromagnético. Teniendo en cuenta sus propiedades físicas, los rayos x son muy similares a los rayos gamma.

Radionucleído o radioisótopo: átomo inestable o radiactivo.

INDICE TEMATICO

	Página
INTRODUCCION Y OBJETIVOS.....	1
MARCO DE REFERENCIA DEL ESTUDIO.....	5
1. Generalidades de la carne de pescado y descripción de la especie.....	6
1.1. Generalidades sobre la carne del pescado.....	6
1.1.1. Composición química - aspectos generales.....	6
1.1.2. Proteínas.....	6
1.1.3. Aminoácidos.....	7
1.1.4. Lípidos.....	7
1.1.5. Carbohidratos.....	9
1.1.6. Otros componentes menores.....	9
1.2 .Descripción de la especie.....	11
1.2.1. Merluza negra	11
1.2.2. Caracteres externos distintivos.....	11
1.2.3 Distinción de otras especies similares.....	12
1.2.4. Edad y crecimiento.....	13
1.2.5. Alimentación.....	14
1.2.6. Productos.....	16
1.2.7 Distribución geográfica y comportamiento.....	17
1.2.8. Situación de la pesquería en la Argentina.....	18
2. Cambios post mortem en el pescado.....	22
2.1. Producción de mucus.....	22
2.2. Rigor mortis.....	22
2.3. Cambios organolépticos.....	23
2.3.1. Cambios en la calidad comestible.....	24
2.3.2. Vida útil	25
2.4. Cambios autolíticos.....	25

2.4.1. Producción de energía en el músculo post- mortem.....	26
2.4.2. Autólisis y catabolismo de nucleótidos.....	27
2.5. Cambios en los compuestos nitrogenados.....	30
2.5.1. Nitrógeno proteico.....	30
2.5.2. Nitrógeno no proteico.....	30
2.5.3. Reducción de óxido de trimetilamina	31
2.5.4. Medida de nitrógeno básico volátil total	33
2.6. Cambios en los lípidos.....	34
2.6.1. Lipólisis – hidrólisis.....	34
2.6.2. Oxidación de los lípidos.....	35
2.6.3. Medida de la rancidez oxidativa.....	38
3. Aspectos generales sobre la congelación del pescado.....	41
3.1. Formación de cristales de hielo.....	41
3.2. Tipos de congeladores.....	43
3.3. Efectos de la congelación sobre los microorganismos.....	44
3.4. Dimetilamina.....	45
3.5. Cambios en los lípidos por congelación.....	45
3.5.1. Lipólisis.....	46
3.5.2. Oxidación de los lípidos.....	46
3.5.3. Interacciones.....	47
3.5.4. Influencia de fluctuaciones en la temperatura	48
3.6. Toxicidad de los productos de oxidación.....	48
3.7. Vida comercial de productos marinos congelados.....	49
4. Irradiación de alimentos.....	51
4.1. Reseña histórica.....	51
4.2. Aspectos generales.....	52
4.2.1. Fuentes de radiación permitidas.....	52
4.2.1.1. Fuentes de rayos gamma.....	52
4.2.1.2. Otras fuentes.....	54
4.2.2. Consideraciones acerca de la dosis.....	54
4.3. Química de las radiaciones.....	57
4.3.1. Fundamentos.....	57

4.3.2. Efectos de la radiación ionizante sobre el agua.....	59
4.3.2.1. Radiólisis del agua.....	59
4.3.2.2. Influencia de las condiciones de irradiación.....	60
4.3.3. Efectos de la radiación ionizante sobre otros componentes de los alimentos.....	61
4.4. Aspectos legales.....	66
4.4.1. Salubridad de los alimentos irradiados.....	66
4.4.2. Etiquetado.....	67
4.5. Situación de la irradiación de alimentos en el mundo.....	68
5. Procesamiento por irradiación de productos marinos.....	70
5.1. Generalidades.....	70
5.1.1. Efectos de la radiación sobre los microorganismos en productos marinos.....	71
5.1.2. Efectos de la radiación sobre microorganismos del deterioro de productos marinos.....	71
5.1.3. Efectos de la radiación sobre microorganismos patógenos en productos marinos.....	72
5.2. Extensión de la vida comercial de especies marinas.....	74
5.2.1. Extensión de la vida útil de pescados marinos irradiados.....	74
5.2.1.1. Especies magras.....	75
5.2.1.2. Especies grasas.....	79
5.3. Detección de productos del mar irradiados.....	81
5.3.1. Aspectos generales.....	81
5.3.2. Métodos analíticos.....	82
5.3.3. Países con aprobación de pescados irradiados.....	84
MATERIALES Y METODOS.....	88
1. Material biológico.....	89
2. Proceso de irradiación.....	89
2.1. Planta de irradiación.....	89
2.2. Irradiación de la porción H&G	92
3. Determinación de rancidez oxidativa mediante los productos secundarios de oxidación lipídica (Índice de TBA).....	93
4. Determinación de nitrógeno básico volátil total (NBVT).....	95
5. Determinación de pH.....	96

6. Análisis de compuestos lipídicos.....	97
6.1. Extracción de lípidos.....	97
6.2. Análisis de ácidos grasos.....	97
6.3. Cuantificación de triglicéridos.....	97
6.4. Cuantificación de fosfolípidos.....	98
7. Análisis estadístico.....	98
7.1. Rancidez oxidativa en las partes de la porción H&G congelada durante el almacenaje.....	98
7.2. Efecto de la radiación gamma sobre la rancidez oxidativa, las bases nitrogenadas totales y el pH, de la porción H&G congelada.....	100
7.3. Rancidez oxidativa de la porción H&G congelada e irradiada, durante el almacenaje en refrigeración.....	101
7.4. Componentes lipídicos: efecto de la radiación gamma sobre ácidos grasos, triglicéridos y fosfolípidos de la porción H&G congelada.....	102
8. Análisis Sensorial.....	102
 RESULTADOS Y DISCUSION	 104

Parte I

*Rancidez oxidativa en las partes de la porción H&G de merluza negra
almacenada por tiempo prolongado a -18°C.*

I.1. Objetivo.....	105
I.2. Resultados y Discusión.....	105

Parte II

*Parámetros químicos para el control de la calidad de merluza negra irradiada y
almacenada a -18°C.*

II.1. Objetivo.....	113
II.2. Resultados y Discusión.....	113
II.2.1. Índice de TBA.....	113
II.2.2. NBVT.....	118
II.2.3. pH.....	122

Parte III

Rancidez oxidativa en la porción H&G de merluza negra irradiada, descongelada y mantenida a 5°C

III.1.Objetivo.....	126
III.2. Resultados y Discusión.....	126

Parte IV

Composición de ácidos grasos y contenido de triglicéridos y fosfolípidos de la porción H&G de merluza negra irradiada y almacenada a -18°C

IV.1.Objetivo.....	130
IV.2.Resultados y Discusión.....	130
IV.2.1.Lípidos y ácidos grasos de la porción H&G almacenada a -18°C.....	130
IV.2.2.Efecto de la irradiación sobre lípidos y ácidos grasos de la porción H&G almacenada a -18°C.....	134

Parte V

Olor y sabor de la porción H&G de merluza negra irradiada y mantenida a -18°C por tiempo prolongado

V.1.Objetivos.....	136
V.2.Resultados y Discusión.....	136
V.2.1.Evaluación en estado crudo.....	136
V.2.2.Evaluación en estado cocido.....	138
CONCLUSIONES.....	147
REFERENCIAS.....	154
TRABAJOS SURGIDOS DE ESTA TESIS.....	171
ANEXO.....	172

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

La merluza negra (*Dissostichus eleginoides*), también denominada Patagonian toothfish, es una de las especies pesqueras de mayor valor comercial en el mercado mundial (Vinagre y col., 1991). *D. eleginoides*, perteneciente a la familia *Nototheniidae*, es un recurso íctico demersal-bentónico de amplia distribución circumpolar antártica (Cousseau y Perrotta, 2000). Entre los principales países que la capturan se encuentran, Chile, Francia, Australia, Gran Bretaña y Argentina. Es una especie considerada grasa, muy cotizada en restaurantes y cadenas alimenticias de los Estados Unidos de Norteamérica, Asia y Unión Europea, donde alcanza altos precios gracias a la calidad de su carne blanca y a sus cualidades culinarias.

En nuestro país su pesquería comenzó en el año 1994 teniendo lugar en la denominada Zona FAO N° 41, siendo actualmente el volumen anual de captura de alrededor de 1.900 toneladas cuyo destino es la exportación. El producto obtenido es mayoritariamente un pescado descabezado y eviscerado denominado porción H&G que genera un ingreso anual de alrededor de 30 millones de dólares.

Por tratarse de una especie de crecimiento lento y debido a la ocurrencia de sobrepesca, su pesquería está sujeta a las regulaciones y a las medidas de conservación de la Convención para la Conservación de los Recursos Vivos Marinos Antárticos (CCRVMA). Esta convención entró en vigencia en 1982 como parte del sistema del Tratado Antártico. Por otra parte, otra medida para conservar el recurso fue limitar la captura de ejemplares juveniles a un 10% del total de la especie (SAGPyA, 2002).

Teniendo en cuenta que el pescado es un alimento altamente perecedero es imperioso aplicar métodos de conservación para retardar su deterioro y extender así su período de aptitud para el consumo. En este sentido la aplicación de la tecnología del frío es la más difundida destacándose el congelado (Sikorski y Kolakowska, 1994); en especial para productos que deben consumirse en lugares muy distantes de la zona de captura.

A pesar del alto contenido graso de la especie, el congelado parece ser un método apropiado para mantener la aptitud comercial por tiempo prolongado de bloques de filetes de merluza negra capturada en la Zona FAO N° 48 (Manthey y col., 1991). Sin embargo el congelado si bien es bacteriostático, no es un método efectivo para eliminar microorganismos patógenos, hecho que implica un potencial riesgo para la salud de los

consumidores, ya que estos microorganismos pueden provocar enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs).

Una opción para limitar dicho riesgo es el empleo de radiaciones ionizantes (Andrews y Grodner, 2004). Dentro de las mismas, solo están autorizadas para tratar alimentos la radiación gamma proveniente del Cobalto-60 y del Cesio-137, los rayos X de hasta 5 Mev y los electrones acelerados de hasta 10 Mev (Diehl, 1990). Basados en estudios toxicológicos, radioquímicos y de alimentación con dietas irradiadas, el Comité Conjunto de Expertos de la FAO/OIEA/OMS concluyó en 1980 que: “la irradiación de cualquier artículo alimenticio con una dosis total promedio de hasta 10 kGy no presenta riesgo toxicológico; por lo tanto, no se requieren análisis toxicológicos de alimentos así tratados”. También se encontró que “la irradiación con dosis de hasta 10 kGy no introduce problemas nutricionales o microbiológicos especiales.”

Este procesamiento, definido como un tratamiento no térmico, cuenta con aprobación en la legislación de 41 países entre los cuales se encuentra Argentina (IAEA, 2006). La destacada capacidad de nuestro país para producir alimentos, sumado al hecho de ser también productor de Cobalto-60 y a la disponibilidad de la tecnología de plantas de irradiación, hacen que Argentina presente un futuro promisorio en cuanto a la adopción de esta tecnología. De esta manera se ampliaría la oferta de alimentos disponibles tanto para el consumo interno como para la exportación.

Recientemente, el Grupo Consultivo Internacional sobre Alimentos Irradiados (ICGFI) ha recopilado información acerca de los beneficios de la irradiación sobre la calidad de más de cuarenta especies marinas (Molins, 2001). Sin embargo, y en relación a estos aspectos no se encuentra información disponible sobre la merluza negra.

Del análisis de la bibliografía surge que en líneas generales la extensión de la vida útil por radiación ionizante de los productos del mar dependen de varios factores que incluyen entre otros: la especie en cuestión, la dosis de radiación suministrada, las condiciones del proceso de irradiación, la temperatura de almacenaje y el tipo de producto irradiado (Nickerson y col., 1983). Por otra parte algunos investigadores han informado que la irradiación de alimentos con alto contenido graso podría acelerar la oxidación y/o degradación de sus lípidos, provocando cambios indeseables en sus propiedades sensoriales (Giroux y Lacroix, 1998).

Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron generar información sobre la calidad de la porción H&G de merluza negra, capturada en el Mar Argentino, durante el almacenaje por tiempo prolongado a -18°C ; y conocer el efecto de la radiación gamma de Cobalto-60 desde el punto de vista de la preservación de dicha porción. Al respecto se investigaron la rancidez oxidativa, el contenido de las bases nitrogenadas volátiles totales, el pH, la composición de lípidos y ácidos grasos de la porción H&G, como así también su olor y sabor.

1. Generalidades de la carne de pescado y descripción de la especie

1.1. Generalidades sobre la carne del pescado

1.1.1. Composición química – aspectos generales

La carne del pescado está constituida por tejido muscular, tejido conectivo y grasa. La composición química de su carne depende de muchos factores entre los que se destacan la especie, edad, estado fisiológico, época y región de captura. En general la carne del pescado de más edad es más rico en grasa y contiene una menor proporción de agua. Normalmente, después del desove, su carne tiene un contenido mayor de agua y su riqueza en proteínas y en grasa es menor. En la mayoría de las especies que viven en aguas templadas o árticas este estado ocurre en primavera. Una vez que los peces comienzan a alimentarse de nuevo, recuperan sus características habituales. Puede decirse, que de acuerdo con las estaciones, se observan cambios cíclicos en la composición de la carne en la mayoría de las especies (Ordoñez, 1998).

Dependiendo de la especie y época del año, el agua es uno de los componentes que presenta las mayores variaciones. Su porcentaje puede variar del 53 al 80 % del total. Se acepta generalmente que en los peces existe una correlación inversa entre el contenido de agua y el de lípidos totales, mucho más acentuada en el caso de las especies grasas.

Se considera que la composición del alimento que consume el pez, es el factor que más incide en la composición química de su carne.

1.1.2. Proteínas

La mayor parte de los componentes nitrogenados del pescado están formando parte de las proteínas. El contenido proteico es semejante al de otras especies. La carne de pescado tiene como característica principal una menor cantidad de tejido conectivo, y dentro del mismo, menor proporción de elastina que de colágeno. Esto se pone de manifiesto ante la cocción húmeda, que provoca que los haces musculares se separen con facilidad. En base a su solubilidad, las proteínas pueden dividirse en sarcoplasmáticas, miofibrilares e insolubles o del estroma (Ordoñez, 1998).

Proteínas sarcoplasmáticas

Las proteínas del sarcoplasma en el músculo del pescado representan alrededor del 25-30% del total de las proteínas. Se componen de mioalbúmina, globulina y enzimas.

Proteínas miofibrilares

Constituyen el 70-80% del contenido total de proteínas. Se componen de actina, miosina, tropomiosina y actomiosina.

Proteínas del estroma

Corresponden al colágeno y son de importancia en la textura del pescado. La temperatura de gelatinización es menor cuando se las compara con las de mamíferos.

1.1.3. Aminoácidos

Las diversas especies del pescado no difieren mucho en su composición de aminoácidos aunque algunas especies pueden ser excepcionalmente ricas en histamina. Debido al contenido en aminoácidos esenciales el valor nutritivo de las proteínas del pescado es muy alto.

En la mayoría de los peces predominan la taurina, alanina, glicina y aminoácidos que contienen imidazol. De estos últimos, la histidina ha concentrado la mayor atención debido a que la misma puede descarboxilarse microbiológicamente a histamina (Huss, 1998).

Cuando las proteínas del pescado son desnaturalizadas bajo condiciones controladas, pueden ser utilizadas con propósitos tecnológicos. Un buen ejemplo es la producción de surimi (Belitz y Grosch, 1997).

1.1.4. Lípidos

Los lípidos presentes en los peces pueden ser divididos en dos grandes grupos: fosfolípidos y triglicéridos. Los fosfolípidos constituyen la estructura integral de las membranas celulares y se los denomina lípidos estructurales. Los triglicéridos son lípidos empleados para almacenar energía en depósitos de grasas.

Se consideran especies magras aquellas que almacenan lípidos sólo en el hígado y como especies grasas las que almacenan lípidos en células distribuidas en otros tejidos del cuerpo (Huss, 1998).

El contenido en grasa del pescado sufre variaciones muy notables dependiendo de la época del año, la dieta, temperatura del agua, salinidad, sexo y parte del cuerpo analizado (Ordoñez, 1998).

La grasa del pescado se diferencia de las grasas vegetales y de la procedente de otros animales en tres aspectos fundamentales:

- En el pescado existe una mayor variedad de ácidos grasos.
- En el pescado la proporción de ácidos grasos de cadena larga es mayor.
- Las grasas del pescado son más ricas en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI).

La complejidad de los ácidos grasos de los lípidos del pescado es mucho mayor, debido a la existencia de múltiples isómeros de los ácidos mono y polienoicos (Ordoñez, 1998).

Los AGPI en el pescado pertenecen a familias n-3, n-6 y n-9; no obstante, también pueden encontrarse las familias n-4, n-5 y n-7.

En general, y comparando con otros tipos de grasa, puede afirmarse que la del pescado posee cantidades relativamente abundantes de AGPI, de una longitud de cadena superior a los 18 átomos de carbono. Dependiendo de la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, la mayor parte de las grasas en el pescado son más o menos líquidas a baja temperatura.

La mayoría de los AGPI del pescado pertenecen a la familia n-3 (omega-3) constituyendo los de n-6 (omega-6) un porcentaje menor. Los ácidos grasos más destacados de la carne del pescado son el C-20:5 n-3 (eicosapentaenoico) (EPA) y C-22:6 n-3 (docosahexaenoico) (DHA), siendo su proporción dependiente de los hábitos alimenticios de los distintos peces (Ordoñez, 1998).

La proporción entre n-3 y n-6 es muy distinta entre pescados de aguas dulces y marinos, siendo mayor el nivel de n-3 en peces marinos.

En los últimos años, el consumo de los alimentos ricos en PUFA n-3, como el pescado, ha presentado un destacado aumento. Este hecho es debido a que se ha demostrado el efecto positivo de esos ácidos grasos en la prevención de ciertas enfermedades, especialmente las cardiovasculares (López Farré y Macaya, 2006).

También, el EPA presenta utilidad en el tratamiento del cáncer (Fenton y col., 2000). Además, el DHA es esencial para el cerebro y la retina (Ward y Sing, 2005).

Según la FAO el balance recomendado de ácidos grasos n-6/n-3 en la dieta humana debería estar entre 5:1 y 10:1. Por esta razón en numerosos países se indica el consumo de pescado con el objetivo de mantener un balance correcto de ácidos grasos (Huss, 1998).

El contenido de grasa en el pescado, independientemente sea magro o graso, tiene consecuencias sobre las características tecnológicas post mortem. Las implicaciones pueden ser una reducción en el tiempo de almacenaje debido a la oxidación lipídica (Almandós y col., 1986)

1.1.5. Carbohidratos

El contenido de carbohidratos en el músculo de pescado es muy bajo, generalmente inferior al 0.5%. Esto es típico del músculo estriado, en el cual los carbohidratos se encuentran en forma de glucógeno y como parte de los constituyentes químicos de los nucleótidos. Estos últimos son la fuente de ribosa liberada como una consecuencia de los cambios autolíticos post mortem (Belitz y Grosch, 1997).

1.1.6. Otros componentes menores

Compuestos nitrogenados menores

Los componentes nitrogenados no proteicos son sustancias minoritarias del pescado que están disueltas en el sarcoplasma y en el líquido intercelular. Los principales componentes de esta fracción son: bases volátiles como el amoníaco y el óxido de trimetilamina, creatina, aminoácidos libres, nucleótidos y bases purínicas, y urea en el caso de peces cartilagosos.

Sin embargo, existen diferencias entre individuos de una misma especie debido sobre todo a la estación del año, el tamaño y la edad.

Minerales y vitaminas

El pescado y los mariscos tienen una gran variedad de minerales, los más abundantes son calcio, fósforo, potasio y magnesio. En menor proporción pueden encontrarse hierro, cobre, flúor, cobalto y zinc. Los peces de mar tienen un alto contenido de yodo. El contenido de sodio en el pescado es bajo y, de hecho, se recomienda su consumo a personas que necesitan una dieta baja en este mineral.

El contenido en vitaminas del pescado varía con la especie, edad, estación, madurez sexual y área geográfica de captura. En general, la carne de pescado es una buena fuente de vitamina B, y en el caso de las especies grasas, también de vitaminas A y D. La vitamina A se encuentra concentrada en las vísceras, especialmente el hígado. La vitamina B12 se encuentra en cantidades significativas sobre todo en pescado graso y mariscos. Las mayores concentraciones de ácidos pantoténico se encuentran en las gónadas (Ordoñez, 1998).

1.2. Descripción de la especie

1.2.1. Merluza negra

Clase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Suborden: Notothenioidei

Familia: Nototheniidae

Género y especie: *Dissostichus eleginoides*.

Nombres científicos sinónimos todavía en uso: *Dissostichus amissus*.

Nombres comunes: merluza negra, mero chileno del sur, bacalao austral, róbalo austral, austromerluza negra.

Patagonian toothfish (FAO/Inglés)

Légine australe (FAO/Francia)

Patagonsky klykach (Rusia)

Austromerluza negra (FAO/castellano)

Antar patagónski (Polonia)

Patagonian toothfish (AFS/Inglés)

1.2.2. Caracteres externos distintivos

La Figura 1 muestra el aspecto de un ejemplar de merluza negra adulto. Su cuerpo es robusto, de contorno redondeado, levemente comprimido, cubierto de escamas grandes más o menos suaves; superficie dorsal de la cabeza (salvo rostro y región preorbitaria), mejillas y opérculos con escamas pequeñas; dos áreas alargadas sin escamas, dispuestas en forma simétrica en la superficie dorsal de la cabeza. Los cinco huesos hipurales del esqueleto caudal están bien individualizados. Forámen de la cintura escapular totalmente localizado en el hueso escapular (Cousseau y Perrotta, 2000).

Línea lateral doble: la superior se inicia inmediatamente detrás del opérculo y termina en el pedúnculo ventral, de 95 escamas tubulares, la inferior es más corta, se inicia a la altura del séptimo radio de la segunda dorsal, termina en la base de la caudal y contiene 64 escamas tubulares.

Cabeza grande, cabe algo más de tres veces en la longitud total, con un hocico puntiagudo. Boca terminal, con mandíbula inferior muy sobresaliente, los extremos posteriores alcanzan el nivel del centro de los ojos, está provista de dientes biseriados en la

mandíbula superior, aquellos de la hilera externa más grandes y caniniformes, mientras que en la mandíbula inferior son uniseriados y caniniformes (Cousseau y Perrotta, 2000). Ojos laterales, grandes. Una sola narina de cada lado, ubicada cerca del ojo, provista de un apéndice.

Dos aletas dorsales, la primera formada por radios duros, con 8 a 11 espinas flexibles, de forma triangular por el tamaño relativo de los radios, y la segunda con 26 a 30 radios blandos, de base más larga que la primera y altura uniforme. Caudal truncada. Anal de base más pequeña que la segunda dorsal y de altura semejante. Las pectorales son grandes, con 24 radios, se inician por debajo del extremo más aguzado del opérculo, en la línea media de los flancos, de base alta y forma redondeada, la longitud varía de acuerdo a la talla del individuo, relativamente más largas en los más jóvenes. Las ventrales son cortas, se inician por delante de las bases de las pectorales.

Coloración: Gris oscuro en dorso y flancos, aclarándose en la zona ventral. Aletas dorsales, anal y pectorales claras, transparentes, caudal y pectorales grises. Porción espinosa de la dorsal orlada de gris oscuro. (Cassia y Perrotta, 1996).

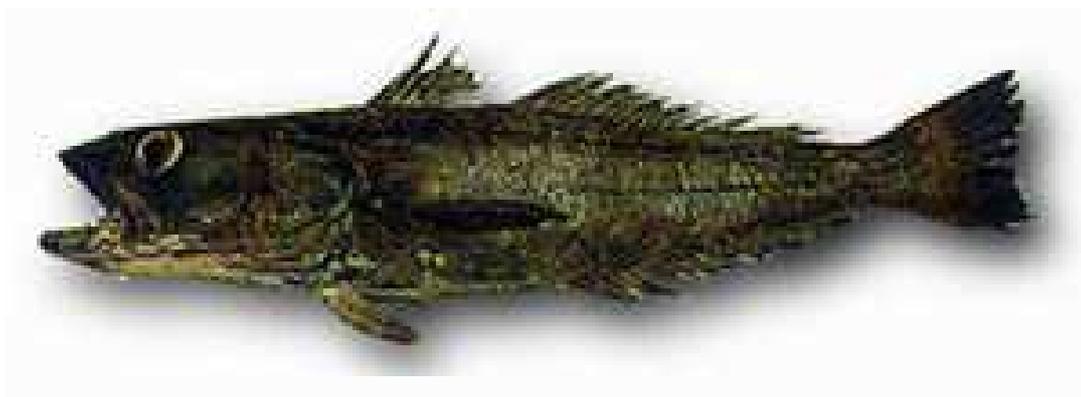


Figura 1: Ejemplar adulto de merluza negra (Cousseau y Perrotta, 2000).

1.2.3. Distinción de otras especies similares

Se distingue de otra merluza negra indicada para el sector Antártico, *Dissostichus mawsoni*, porque *Dissostichus eleginoides* tiene dos áreas alargadas sin escamas, dispuestas en forma simétrica en la superficie dorsal de la cabeza que no presenta la otra especie y la línea lateral inferior más larga (Lack y Sant, 2001). No se encuentra en aguas australes más frías (con temperaturas menores de 2°C) puesto que no posee en su sangre sustancias anticongelantes como otros peces antárticos, esto la diferencia de la merluza negra antártica.

1.2.4 Edad y crecimiento

La talla máxima registrada para el Océano Atlántico es de 215 cm. Lo común es encontrar individuos de hasta 70 cm. Zhivov y Krivoruchko (1990) encontraron que en la región de Georgias del Sur la maduración de los ejemplares machos ocurre principalmente cuando presentan un largo entre 70-90 cm. pertenecientes a las edades de 7 a 11 años. La maduración de las hembras se produce en la mayoría de los casos cuando alcanzan entre los 90-100 cm. que corresponden a edades entre 9 y 12 años.

Para esta especie se ha definido como largo para la primera madurez sexual los 82 cm, límite para considerar a un ejemplar como juvenil o adulto (Cassia y Perrotta, 1996). Puede vivir hasta los 35 años para el caso de *Dissostichus mawsoni*, y 50 años para *Dissostichus eleginoides*. Teniendo para ambos casos un rango de crecimiento mayor en los ejemplares hembras (Horn, 2002). Para la determinación de la edad en la merluza negra el método más apropiado es la lectura de escamas, existiendo una relación lineal entre la lectura de las mismas y el largo total del pescado (Cassia, 1999). En las islas Kerguelen (Océano Indico) se la ha observado en reproducción a comienzos de otoño (Abril-Mayo).

Los huevos tienen un diámetro desde 4,3 a 4,7 mm y se los halla en profundidades de 500 m. En las Islas Georgias se han encontrado larvas en Diciembre-Enero y desde mediados de Octubre en adelante en la plataforma patagónica (Cousseau y Perrotta, 2000). En larvas de 28 mm de longitud total se observan, en la aleta embrionaria, los radios de las aletas dorsal y anal, y se destaca una mancha pigmentaria en el pedúnculo caudal.

La talla media crece con la profundidad y es un resultado de la progresiva migración de los individuos desde la plataforma hacia el talud, de acuerdo a la edad. Los ejemplares más viejos se encuentran a profundidades mayores de 500 metros (Duhamel, 1992).

En invierno las mayores concentraciones se hallan entre los 37°5' y los 39°5' S, sobre el talud continental y el sur de Malvinas, entre los 52°5' y 54°5' S (Figura 2). En verano presenta gran dispersión. Los adultos se concentran en invierno, empiezan a desplazarse en primavera y luego del desove se dispersan a lo largo del talud y la plataforma.

Esta especie se encuentra entre 300-1500 metros de profundidad, y es considerada un pez de hábitos pelágicos cuando es más joven, o bien pelágico-demersal cuando es adulto (Cassia y Perrotta, 1996). Los desplazamientos tróficos verticales dentro del sector

del talud continental y plataforma patagónica, son determinados por la disminución en la alimentación de los componentes de la clase Crustacea y el incremento de los ícticos con el aumento de la talla. Esto sugiere que los adultos están limitados a un ambiente más demersal que los juveniles, coincidentemente, al estudiar la distribución de tallas con el aumento de la profundidad, los individuos son de mayor tamaño (Cassia y Perrotta, 1996). Es conveniente realizar la pesca comercial a más de 1000 metros, donde la presencia de juveniles es escasa o nula.

1.2.5. Alimentación

La alimentación varía con la talla y con la región. Las larvas y los juveniles comen eufáusidos (krill) en la región costera y pequeños peces (nototénias, mictófidios, etc) en aguas profundas (Horn, 2002). En la dieta de los adultos predominan peces (nototénias, zoárcidos, etc) y cefalópodos (calamares) (Cousseau y Perrotta, 2000).

A continuación se enumeran los componentes nutritivos ingeridos por esta especie:

- **CRUSTACEA**

Decapoda (Indeterminados)

- **CEPHALOPODA**

Loliginidae (*Loligo gahi*)

Ommastrephidae (*Illex argentinus*)

- **PISCES**

Merluccidae (*Merluccius hubbsi*)

Macrouridae (*Macrourus* sp), (*Coelorhynchus fasciatus*)

Nototheniidae (*Notothenia ramsayi*)

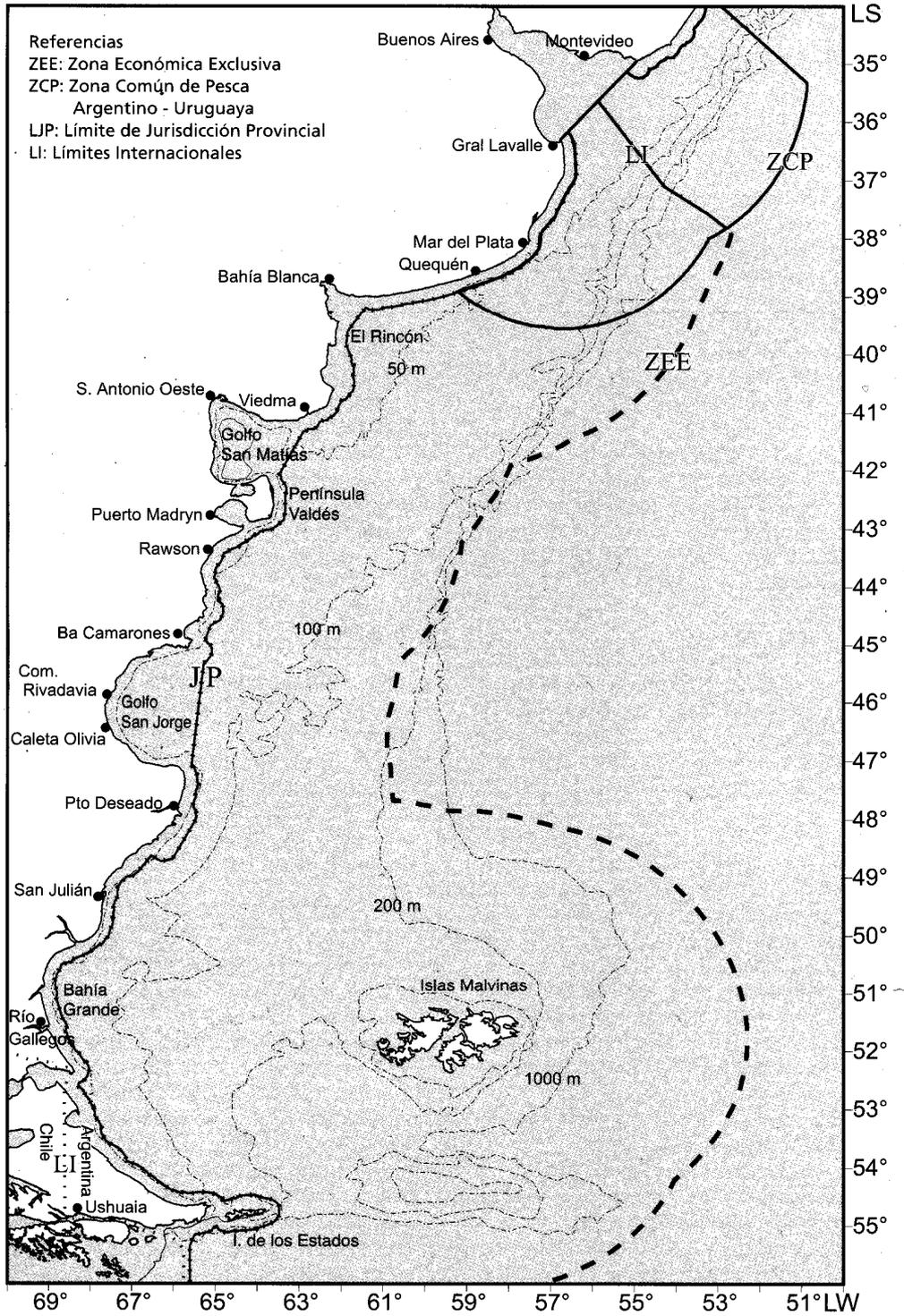


Figura 2: Batimetría y límites políticos de la Plataforma Continental Argentina (Cousseau y Perrotta, 2000).

Se observa de esta enumeración taxonómica que esta especie presenta un régimen carnívoro mixto (eurifágica), entre los tipos carcinófago e ictiófago. Los crustáceos aparecen entre 100 a 400 metros de profundidad. Entre 600 a 790 metros, los cefalópodos alcanzan el 68% de las especies-alimento. Mientras que a profundidades iguales o mayores de 1000 metros, el alimento está constituido solamente por peces (Cassia y Perrotta, 1996). Por su alimentación, se trata de un pez carnívoro ubicado en el nivel trófico 5 – 6. La merluza negra a su vez, es frecuentemente ingerida por cachalotes, orcas y otros mamíferos de nado profundo.

1.2.6. Productos

Es un pescado altamente cotizado en restaurantes y cadenas de alimentación en Estados Unidos de Norteamérica, Asia y la Unión Europea, donde alcanza altos precios gracias a la calidad de su carne blanca y a sus cualidades culinarias. En estado crudo su carne es blanca nieve y luego de cocida mantiene la coloración blanca, siendo comparable a la carne de abadejo en apariencia. En los citados mercados un plato de 100 gramos de merluza negra puede llegar a pagarse hasta treinta dólares, precio que actúa como poderoso incentivo para las operaciones pesqueras piratas.

Es una de las especies pesqueras de mayor valor comercial en el mercado mundial. Entre los principales países que capturan Merluza negra figuran: Chile, Francia, Australia, Gran Bretaña y Argentina.

Por su contenido en lípidos se lo considera un pescado graso, destacándose dentro de su conformación anatómica la existencia de una capa de grasa adherida a la piel (Vinagre y col., 1991). En esta especie se considera que la cabeza constituye alrededor de un 30% de la longitud total y la aleta caudal cerca del 18 % (Cousseau y Perrota, 2000). Además, el tronco representa entre el 52 y el 53 % de la longitud de la merluza entera.

El músculo posee rico gusto y textura firme. Su alto contenido en ácidos grasos n-3 (Nichols y col., 1994) la transforman en un alimento ideal para la prevención de enfermedades cardíacas.

Los productos comercializados son:

- Entero eviscerado.
- Descabezado y eviscerado (H&G) Fresco.
- Descabezado y eviscerado (H&G) Congelado.
- Porciones.

- Filet con piel. Individually Quick Frozen (IQF).
- Filet sin piel. Individually Quick Frozen (IQF).

Se exporta principalmente congelado, siendo los productos más importantes los H&G y filetes. Dentro de las porciones se ubican las denominadas “mejillas” y “cocochoas”, que son partes comestibles de la cabeza del pescado (Vinagre y col., 1991). Argentina exporta productos de esta especie por un valor de 30 millones de dólares al año.

1.2.7. Distribución geográfica y comportamiento

Está presente en el cono sur americano (Argentina y Chile) en las islas Malvinas y Georgias, en el Océano Índico (islas subantárticas) y en el Pacífico (isla Macquarie) (Tuck y col., 2003). Parece no sobrepasar en latitud los 55° S, aunque ha sido citada la presencia de un juvenil en aguas próximas al continente antártico (Figura 3). En Argentina su distribución se encuentra estrechamente relacionada con las aguas subantárticas: sector patagónico sur, Malvinas y borde de la plataforma y el talud continental hasta los 38° S (Figura 4).



Figura 3: Distribución geográfica de merluza negra.

1.2.8. Situación de la pesquería en Argentina

La pesquería de la merluza negra comenzó en el Atlántico Sur en 1994, principalmente en cercanías de las Islas Malvinas y en la plataforma continental. En los años siguientes se produjo el ingreso de numerosos buques pesqueros de diversas nacionalidades, los cuales iniciaron la pesca de esta especie en zonas cercanas a las Islas Georgias y otras islas subantárticas. Debido a la alta cotización del producto en los mercados pesqueros internacionales, comenzó la aparición de múltiples unidades que operan en forma ilegal o por fuera de todo control de la CCRVMA (Pérez y Gascón, 2003). Esta comisión es el organismo regional de manejo pesquero encargado de la administración de esta pesquería en el océano Austral, siendo Argentina miembro de la misma.

El enorme esfuerzo pesquero sobre la merluza negra tuvo como consecuencia, la aparición de algunos indicadores de sobrepesca, como lo son la disminución de la talla media de los pescados capturados y la gran cantidad de buques pescando sin el correspondiente permiso habilitante. La captura de esta especie se da en forma accidental o conjunta con la merluza negra antártica. La calidad de sus carnes son semejantes, siendo comercializadas conjuntamente como “merluza negra” en los mercados pesqueros internacionales. El total de desembarques para el año 2007 fue de 622.533 toneladas para el total de especies de los cuales 1.846 correspondieron a merluza negra (SAGP y A., 2007).

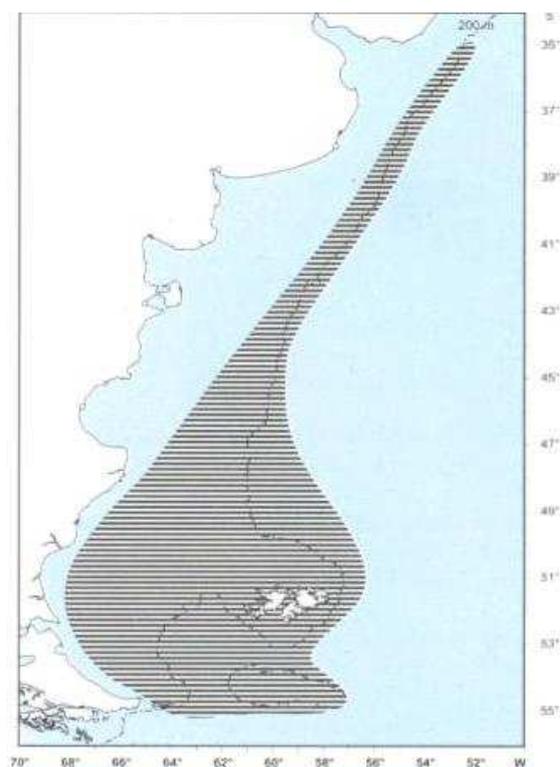


Figura 4: Area de distribución de Merluza negra en Argentina (Cousseau y Perrotta, 2000).

-Tamaño del recurso

No se conoce. Las técnicas utilizadas para la estimación de stock no resultan eficientes por tratarse de una especie cuyos ejemplares adultos viven en aguas que van desde los 700 a 2.500 metros (Yau y col., 2001).

- Flota pesquera y artes de captura

El esfuerzo pesquero se realiza por unidades pesquero-industriales, con maniobra semi-automatizada y con capacidad de operación de hasta tres meses en agua antárticas y subantárticas. Estos buques pesqueros realizan sus capturas con dos artes de pesca: líneas de pesca con anzuelos de profundidad (palangre o long-line) y mediante el uso de redes de arrastre de fondo (bottom trawling). Prenski y Almeyda (1997) han indicado que la selectividad de la merluza negra depende más de la profundidad de captura que del arte de pesca empleado. Los principales puertos de desembarque para la especie en nuestro país son: Ushuaia, Puerto Deseado, Puerto Madryn, Ingeniero White (Bahía Blanca) y Mar del Plata.

-Buques palangreros

Se agrupan en función al arte de pesca que utilizan. Estos buques operan con palangre de fondo (línea con anzuelos), están vinculados con la pesquería de la merluza negra, aunque permite también la captura de otros peces en aguas profundas, como el abadejo. Existen dos tipos de buques palangreros: automáticos (operan las 24 horas) y manuales (operan entre 12 a 18 horas) (Mari, 1999).

-Buques arrastreros

Operan mediante la utilización de redes de arrastre de fondo. Están vinculados con la captura de una gran variedad de especies (Mari, 1999). Estos buques tienen sus puertos de operación más importantes en el Sur. Puerto Madryn y Puerto Deseado concentran el 54% de sus desembarques.

- Formas de utilización

La Argentina exporta merluza negra en su forma H&G congelada. También se la consume en fresco.

- Observaciones

La captura de esta especie cuando se realiza mediante el uso de palangres, ocasiona una captura accidental de aves marinas incluyendo diversas especies, las cuales se precipitan detrás de la carnada para intentar atraparla durante el proceso del calado (lanzado) de la línea de pesca (Wienecke y Robertson, 2002). Estas aves son de gran importancia en el ecosistema antártico y subantártico, además se encuentran protegidas por el Tratado Antártico y por reglamentaciones de la CCRVMA, que plantean el uso obligatorio de “línea espantapájaros” (línea con tiras de tela o cabos de libre movimiento), durante la actividad pesquera. Esta modalidad es de fácil utilización, bajo costo y elevada efectividad.

Dentro de esta mortalidad accidental de aves se encuentran las siguientes: albatros errante, albatros de ceja negra, albatros real, albatros de cabeza gris, albatros oscuros, petrel gigante antártico, petrel gigante subantártico, petrel damero, fardela polar, fardela gris, fardela negra, y otros. Se calcula que en los últimos años han muerto alrededor de 700.000 aves como resultado de estas operaciones, incluyendo varias especies de albatros que se encuentran en peligro de extinción (Pérez y Gascón, 2003).

Debido a la edad y el tamaño que alcanza este pez y a sus hábitos carnívoros, desde el año 1997 Uruguay la incluyó en el Programa de Monitoreo de Mercurio en pescados.

Existe una fuerte relación lineal entre el contenido total de mercurio y el peso total del pescado. Considerando un peso comercial de 10 kg le correspondería un contenido de mercurio de 0,40 mg/kg, hallándose este valor por debajo del límite permitido de 0,50 mg/kg. Considerando los hábitos alimenticios de esta especie, son esperados altos valores de contenido de mercurio. Por lo anteriormente expuesto, se sugiere incluir a esta especie en Programas de Monitoreo de Mercurio en otros países (Méndez y col., 2001).

- Legislación

Desde mediados de los años noventa se dictaron diversas reglamentaciones con la intención de regular la actividad pesquera en la pesquería de merluza negra, posibilitando de ese modo, un manejo sustentable del recurso.

La declinación de los caladeros tradicionales de merluza negra en el Mar Argentino y el creciente impacto de la flota arrastrera sobre juveniles de la especie requirió, durante el año 2001, medidas tendientes a regular fuertemente la pesquería. Las medidas administrativas vigentes para el manejo de la pesquería de merluza negra en el Mar Argentino se detallan en el Anexo I.

2. Cambios post mortem en el pescado

Cuando el pez muere, se generan diversos cambios físicos y químicos en su cuerpo que conducen hacia una alteración final del mismo. Estos procesos incluyen la producción de mucus en la superficie del cuerpo, desarrollo del rigor mortis, cambios autolíticos, cambios organolépticos y la descomposición bacteriana (Sikorski, 1994). Estos cambios no son consecutivos, su principio, duración y final pueden variar dependiendo de muchos factores tales como la especie, sistema de captura, temperatura de almacenaje y otros.

2.1. Producción de mucus

El mucus es generado por las glándulas mucosas de la piel como una reacción del organismo moribundo frente a las condiciones desfavorables que lo rodean. Este mucus, constituido principalmente por una glicoproteína llamada mucina, proporciona un medio propicio para el desarrollo microbiano. Esta producción de mucus no significa que el pescado se encuentre en malas condiciones para el consumo, pero al permitir el crecimiento de bacterias, puede transformarse en el vehículo de entrada de agentes del deterioro a otras partes del pescado (Ordoñez 1998).

2.2. Rigor mortis

El cambio más dramático es el inicio del rigor mortis. Inmediatamente después de la muerte del pescado, el músculo está totalmente relajado, la textura flexible y elástica. Este estado de relajación generalmente persiste durante algunas horas, posteriormente el músculo se contrae. Cuando se torna duro y rígido, todo el cuerpo se vuelve inflexible y se dice que el pescado está en rigor mortis (Huss, 1998). Esta condición se mantiene durante uno o más días y luego se resuelve el rigor. La resolución del rigor mortis hace que el músculo se relaje nuevamente y recupere la flexibilidad, pero no la elasticidad que tenía previa al rigor. La duración entre el comienzo y la resolución del rigor varía según la especie y es afectada por la temperatura, la manipulación, el tamaño y las condiciones físicas del pescado.

El efecto de la temperatura sobre el rigor no es uniforme. En el caso del bacalao, las altas temperaturas ocasionan un rápido comienzo del rigor y un rigor mortis bastante intenso. Esto debe ser evitado, dado que las fuertes tensiones producidas por el rigor pueden causar debilitamiento del tejido conectivo y posterior ruptura del filete.

Generalmente se acepta que el comienzo y la duración del rigor mortis resulta más rápido a mayor temperatura, pero en ciertas especies tropicales se ha observado el efecto opuesto de la misma. Resulta evidente que en estas especies el inicio del rigor se acelera a la temperatura de 0°C en comparación con 10°C, lo cual muestra buena correlación con la estimulación de los cambios bioquímicos a 0°C (Poulter y col., 1982; Iwamoto y col., 1987). Abe y Okuma (1991) han demostrado que el comienzo del rigor mortis también depende de la diferencia entre la temperatura del mar y la temperatura de almacenaje. Cuando esta diferencia es grande, el rigor se inicia a menor tiempo y viceversa.

En el caso de peces hambrientos, cuyas reservas de glucógeno están agotadas, el rigor mortis se inicia inmediatamente o poco después de la muerte.

El método empleado para aturdir y sacrificar al pez también influye en el inicio del rigor. El aturdimiento y sacrificio por hipotermia (el pez es muerto en agua con hielo) permite obtener el más rápido inicio del rigor, mientras que un golpe en la cabeza proporciona una demora de hasta 18 horas (Azam y col., 1990; Proctor y col., 1982).

El significado tecnológico del rigor mortis es de mayor importancia cuando el pescado es fileteado antes o durante el rigor. Durante el rigor el cuerpo del pescado está completamente rígido; el rendimiento del fileteado resulta muy bajo y una manipulación brusca puede causar el desgarramiento de los filetes. Si los filetes son removidos del hueso antes del rigor, el músculo puede contraerse libremente y se encogerá al comenzar el rigor. El músculo oscuro puede encogerse hasta un 52 por ciento y el músculo blanco hasta un 15 por ciento de su longitud original. Si el pescado es cocido antes del rigor, la textura será muy suave y pastosa. Por el contrario, la textura es dura pero no seca cuando el pescado es cocido durante el rigor. Posterior al rigor la carne se torna firme, succulenta y elástica.

De los pescados enteros, los H&G y los filetes congelados en pre-rigor, pueden obtenerse buenos productos si se descongelan cuidadosamente a baja temperatura. De esta forma, se da tiempo para que pase el rigor mortis mientras el músculo continúa congelado.

2.3. Cambios Organolépticos

Los cambios sensoriales son los que percibimos a través de los sentidos, por ejemplo, la apariencia, el olor, la textura y el sabor.

Los primeros cambios sensoriales que tienen lugar en el pescado durante el almacenamiento están relacionados con la apariencia y la textura. El sabor característico de

las especies normalmente se desarrolla durante los dos primeros días de almacenaje en hielo.

La evaluación sensorial del pescado crudo en mercados y sitios de desembarque se efectúa mediante la valoración de la apariencia, textura y olor. La mayoría de los sistemas de puntuación están basados en los cambios que se producen durante el almacenaje con hielo. La apariencia del pescado almacenado sin hielo no cambia tanto en relación con el pescado en hielo, pero su deterioro es más rápido y se hace necesario efectuar una evaluación sensorial del pescado cocido (Mercosur, 1994). Por consiguiente, es esencial conocer la historia, tiempo y temperatura del pescado al momento del desembarco.

Además del método de almacenaje, los cambios sensoriales característicos en el pescado post-mortem varían considerablemente dependiendo de la especie. Una descripción general ha sido proporcionada por la Unión Europea en la guía para evaluación de la calidad del pescado (Howgate y col., 1992). La escala sugerida está numerada de 0 a 3, donde 3 es la de mejor calidad.

La Asociación de Tecnólogos Pesqueros de Europa Occidental ha recopilado un glosario políglota de olores y sabores, que puede ser de mucha utilidad cuando se buscan términos para describir la frescura del pescado en una evaluación sensorial.

2.3.1. Cambios en la calidad comestible

Cuando se requiere un criterio de calidad durante el almacenaje del pescado refrigerado, se puede llevar a cabo una evaluación sensorial del pescado cocido. Se puede detectar un patrón característico del deterioro del pescado almacenado en hielo, el cual puede ser dividido en las cuatro fases siguientes (Huss, 1998):

Fase 1

El pescado es muy fresco y tiene un sabor a algas marinas, dulce y delicado. El sabor puede ser ligeramente metálico. En el bacalao, el eglefino, la merluza, el merlán y el lenguado, el sabor dulce se hace más pronunciado a los 2-3 días de la captura.

Fase 2

Hay una pérdida del olor y del gusto característico. La carne es neutral pero no tiene olores extraños. La textura se mantiene agradable.

Fase 3

Aparecen signos de deterioro, y dependiendo de la especie y tipo de deterioro (aeróbico o anaeróbico), se producen una serie de compuestos volátiles de olor

desagradable. Uno de estos compuestos volátiles es la TMA derivada de la reducción bacteriana del OTMA. La TMA aporta el olor a “pescado” muy característico. Al inicio de esta fase pueden aparecer olores y sabores ligeramente ácidos, afrutados y ligeramente amargos, especialmente en peces grasos. En los últimos estadios de esta fase se desarrollan olores nauseabundos, dulces como a col, amoniacaes, sulfurosos y rancios. La textura se torna suave y aguada, o dura y seca.

Fase 4

El pescado puede caracterizarse como deteriorado y pútrido.

Una escala numerada puede ser usada para la evaluación sensorial del pescado cocido. Dicha escala está numerada del 0 al 10, donde 10 indica absoluta frescura, 8 buena calidad y 6 un pescado con sabor neutro (insípido). El nivel de rechazo es 4 (Huss, 1998).

2.3.2. Vida útil

La vida útil del pescado puede ser considerada como el intervalo de tiempo que comprende desde la captura hasta el tiempo máximo en el cual el producto conserva su calidad para el consumo bajo una determinada condición de almacenaje (NZFA, 2005). También suele denominarse período de aptitud, período comercial, o vida de anaquel y ocasionalmente vida media. Corresponde indicar la fecha límite en el rotulado.

2.4. Cambios autolíticos

Autólisis significa “auto-digestión”. Se sabe desde hace muchos años que existen por lo menos dos tipos de deterioro en el pescado: bacteriano y enzimático. Uchiyama y Ehira (1974), demostraron que en bacalao y en atún aleta amarilla, los cambios enzimáticos relativos a la frescura del pescado precedían y no guardaban relación con los cambios en la calidad microbiológica. En algunas especies (calamar, arenque) los cambios enzimáticos preceden a los microbianos y por lo tanto predominan en el deterioro del pescado refrigerado. En otros la autólisis, sumada al proceso microbiano, contribuye en diferentes grados a la pérdida general de la calidad.

Cuando un organismo muere deja de funcionar el sistema normal de regulación, se detiene el suministro de oxígeno y la producción de energía. Comienza así un proceso caracterizado por la descomposición del glucógeno por vía anaerobia y la degradación de los compuestos ricos en energía (Boeri y col., 1993).

Los primeros procesos autolíticos en el tejido muscular del pescado involucran a los hidratos de carbono y los nucleótidos.

En general el músculo contiene cantidades relativamente bajas de glucógeno comparado con el músculo de mamíferos, y el pH post-mortem es más alcalino, predisponiendo a la carne de pescado a ser más susceptible al ataque por parte de las bacterias (Huss, 1998).

2.4.1. Producción de energía en el músculo post-mortem

Al momento de la muerte, el suministro de oxígeno al tejido muscular se interrumpe porque la sangre deja de ser bombeada por el corazón y no circula a través de las branquias donde, en los peces vivos, es enriquecida con oxígeno. Dado que el oxígeno no está disponible para la respiración normal, se restringe la producción de energía a partir de los nutrientes ingeridos. El glucógeno sufre una serie de reacciones las cuales finalmente producen CO₂, agua y ATP, un compuesto orgánico rico en energía. Este tipo de respiración se efectúa en dos etapas: una anaeróbica y otra aeróbica. La última depende de la continua presencia de oxígeno, sólo disponible en el sistema circulatorio (Huss, 1998).

Para la mayoría de los peces teleósteos, la glucólisis es la única ruta posible para la producción de energía en cuanto el corazón deja de latir. Este proceso, más ineficiente, genera principalmente ácido láctico y ácido pirúvico como productos finales. Además, mediante glucólisis se producen dos moles de ATP por cada mol de glucosa, en comparación con cada mol de glucosa si los productos glucolíticos finales son oxidados aeróbicamente en la mitocondria del animal vivo. Así, después de la muerte, el músculo anaeróbico no puede mantener su nivel normal de ATP, y cuando el nivel intracelular declina de 7-10 $\mu\text{moles/g}$ a $\leq 1 \mu\text{moles/g}$ de tejido, el músculo entra en rigor mortis. La glucólisis post-mortem resulta en la acumulación de ácido láctico, con la concomitante disminución del pH en el músculo. En el bacalao, el pH disminuye desde 6,8 hasta un pH extremo de 6,1-6,5. En algunas especies de pescado el pH final puede ser menor, en caballa grande el pH extremo en el rigor puede llegar a ser tan bajo como 5,8-6,0, y en atún e hipogloso se han encontrado valores tan bajos como 5,4-5,6. Sin embargo, estos niveles tan bajos de pH no son frecuentes en teleósteos marinos. Estos valores de pH rara vez son tan bajos como los observados en el músculo post mortem de mamíferos. Por ejemplo, el pH del músculo de vacuno generalmente disminuye a niveles de 5,1 durante el

rigor mortis. La cantidad de ácido láctico producido está relacionada con la cantidad de glucógeno en el tejido vivo. En general, el músculo de pescado contiene un nivel relativamente bajo de glucógeno, comparado con los mamíferos y por esta razón se genera mucho menos ácido láctico después de la muerte. También el estado nutricional del pez, la cantidad y el grado de agotamiento al momento de la muerte, tienen un efecto importante en los niveles de glucógeno almacenado y consecuentemente en el pH post-mortem final. Como regla, el pescado bien descansado y bien alimentado contiene más glucógeno que el pescado exhausto y hambriento. En un estudio reciente de la locha japonesa (Chiba y col., 1991), se demostró que sólo minutos de agotamiento antes de la captura, ocasionaban una disminución de 0,50 unidades de pH en 3 horas, en comparación con peces no sometidos a agotamiento, en los cuales el pH disminuye significativamente.

La disminución post-mortem del pH del músculo de pescado tiene un efecto en las propiedades físicas del músculo. A medida que el pH disminuye, se reduce la carga neta en la superficie de las proteínas musculares, causando su desnaturalización parcial y disminuyendo su capacidad de retener agua. El músculo en estado de rigor mortis pierde su humedad cuando es cocido y resulta particularmente inadecuado para un procesamiento posterior que involucre calentamiento, puesto que la desnaturalización por calor incrementa la pérdida de agua. Esta pérdida de agua tiene un efecto perjudicial en la textura del músculo. Ha sido demostrado por Love (1975) que existe una relación inversamente proporcional entre la dureza del músculo y el pH.

2.4.2. Autólisis y catabolismo de nucleótidos

Como se mencionó anteriormente, el rigor mortis se establece cuando el nivel de ATP en el músculo es $\leq 1,0 \mu\text{moles/g}$. El ATP no es sólo una fuente de alta energía necesaria para la contracción muscular de los animales vivos, sino que también proporciona plasticidad al músculo. La contracción muscular está controlada por el calcio y la enzima ATP-asa que se encuentra en la célula muscular. Cuando los niveles de Ca^{+2} intracelular son $>1 \mu\text{mol}$, la ATP-asa activada por Ca^{+2} reduce los niveles ATP libre en el músculo, ocasionando la interacción entre la actina y la miosina, las principales proteínas contráctiles. Esta interacción trae como resultado la reducción del músculo, ocasionando su endurecimiento y pérdida de la flexibilidad. Durante el rigor mortis, el pescado no puede ser fileteado o procesado normalmente, porque el cuerpo está demasiado rígido, impidiendo su manipulación.

La resolución del rigor es un proceso no del todo comprendido, pero siempre ocasiona el reblandecimiento posterior del tejido muscular y se cree que está relacionado con la activación de una o más enzimas musculares presentes en el pescado. El reblandecimiento del músculo durante la resolución del rigor (inicio del proceso de deterioro) coincide con los cambios autolíticos. De estos cambios, el primero en ser reconocido de forma más o menos predecible después de la muerte es la degradación de los compuestos relacionados con el ATP. La Figura 5 ilustra la degradación del ATP para formar ADP, AMP, IMP, Ino e Hx. La degradación de los catabolitos del ATP procede de la misma forma en la mayoría de los pescados, pero la velocidad de cada reacción (de un catabolito a otro), varía enormemente entre una especie y otra, progresando generalmente con el nivel percibido de deterioro según determinaciones efectuadas mediante un panel de analistas entrenados.

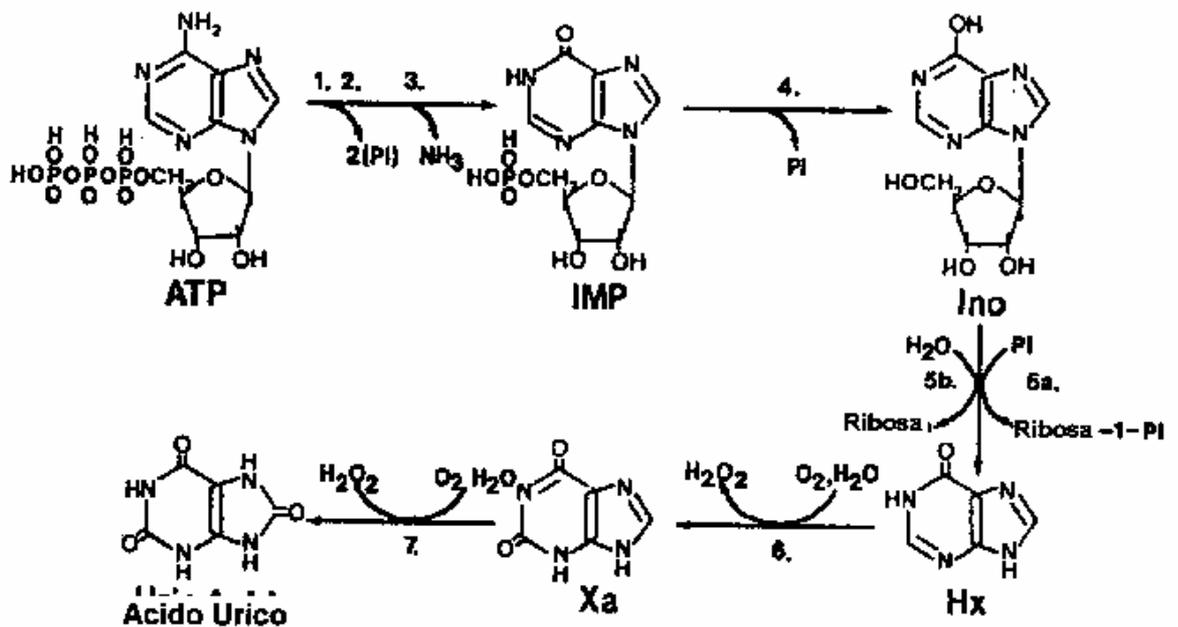


Figura 5: Degradación del ATP.

El índice de frescura K (Figura 6) proporciona una puntuación de frescura relativa, basada principalmente en los cambios autolíticos que tienen lugar durante el almacenamiento post mortem del músculo (Olafsdottir y col., 1997). De este modo, cuanto más alto es el valor K, menor es el nivel de frescura. Cabe destacar que algunas especies de

pescado, como el bacalao del Atlántico, alcanzan un valor K máximo mucho antes que la vida en anaquel, según lo determinado por jueces entrenados. Por lo tanto, el valor K no puede ser considerado como un índice confiable de frescura para todos los peces marinos con aletas. Asimismo, la degradación de nucleótidos coincide con los cambios percibidos en la frescura y no está necesariamente relacionada con su deterioro, considerándose que sólo la Hx tiene un efecto directo en el sabor amargo percibido en el pescado deteriorado (Hughes y Jones, 1966). Actualmente, es ampliamente aceptado que la IMP es responsable del sabor deseable a pescado fresco, sólo presente en los productos pesqueros de alta calidad. Ninguno de los nucleótidos se considera relacionado con los cambios percibidos en la textura durante el proceso autolítico, a excepción del ATP, por supuesto, cuya disminución está asociada con el rigor mortis.

$$K(\%) = \frac{[\text{Ino}] + [\text{Hx}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}] + [\text{IMP}] + [\text{Ino}] + [\text{Hx}]} \times 100$$

Figura 6: Valor K.

En las muestras no estériles de bacalao refrigerado, la conversión de Ino a Hx se aceleró en 2 días. Esto sugiere que la nucleosida fosforilasa bacteriana (enzima 5ª en la Figura 5) desempeña un papel principal en la producción post mortem de Hx (Huss, 1998). Es interesante notar que Surette y col. (1988) no lograron recuperar nucleosida fosforilasa a partir del bacalao recién muerto, pero posteriormente lograron aislar y purificar esta enzima a partir de la bacteria *Proteus*, recuperada en filetes de bacalao deteriorado (Surette y col., 1990). Como se mencionó anteriormente, es de esperar grandes variaciones en los patrones de la degradación de nucleótidos entre una especie y otra.

Existe certeza en cuanto a que la manipulación física acelera los cambios autolíticos en pescado refrigerado. Surette y col. (1988) determinaron que la tasa de descomposición de los nucleótidos era mayor en filetes estériles que en bacalao entero eviscerado no estéril. Esto tal vez no sea sorprendente, ya que se ha demostrado que muchas de las enzimas autolíticas se encuentran limitadas por membranas, las cuales se rompen cuando están sujetos a abuso físico, originando las mezclas entre enzimas y sustratos. Aplastar el pescado contra el hielo o contra otros pescados puede afectar seriamente la comestibilidad y el rendimiento en el fileteado, incluso para pescados con cargas bacterianas relativamente bajas, lo cual demuestra la importancia de los procesos

autolíticos. A fin de minimizar la autólisis, el pescado en hielo nunca debe ser almacenado en cajas cuya profundidad exceda los 30 cm y de igual forma es importante asegurar que las cajas no vayan apretadas unas encima de las otras. Deben ser diseñados sistemas para transportar y descargar el pescado de los barcos, que permitan evitar daño físico en los delicados tejidos.

Se han desarrollado algunos métodos rápidos para la determinación de nucleótidos. Al respecto, pueden ser consultados los trabajos de revisión de Gil (1990, 1992).

2.5. Cambios en los compuestos nitrogenados

Los compuestos nitrogenados del pescado, en los que se incluyen las proteínas y otros componentes tales como ácidos nucleicos, nucleótidos, TMA y su óxido OTMA, aminoácidos, urea, etc., se pueden clasificar en dos grupos: nitrógeno proteico (NP) y nitrógeno no proteico (NNP).

2.5.1. Nitrógeno proteico

Constituido por tres grupos: proteínas estructurales, proteínas sarcoplasmáticas y proteínas del tejido conectivo.

La cantidad obtenida de cada una de estas fracciones se ve afectada por las condiciones de extracción, valor de pH, concentración salina, así como por el grado de desnaturalización y pérdida de la solubilidad de las proteínas causada por el procesado y posterior almacenaje del pescado (Huss, 1998).

2.5.2. Nitrógeno no proteico

Son varios los compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que experimentan transformaciones post-mortem y son responsables de los cambios organolépticos en el pescado. Estos compuestos pueden definirse como compuestos de naturaleza no proteica, solubles en agua, de bajo peso molecular y que contienen nitrógeno. El nitrógeno no proteico constituye en los teleósteos entre un 9-18% del nitrógeno total.

Un 95 % o más del nitrógeno no proteico está formado por aminoácidos libres, dipéptidos, compuestos de guanidina, OTMA y sus derivados, nucleótidos, compuestos afines y en el caso de pescados cartilagosos, urea. En general, los aminoácidos libres se encuentran en pequeñas cantidades en el músculo de los peces marinos. Los dipéptidos principales son la carnosina y la anserina, y su presencia depende de la especie de pescado.

Los compuestos de guanidina constituyen un grupo importante de compuestos nitrogenados no proteicos, cuyo principal componente es la creatina la cual normalmente se presenta en forma fosforilada como creatina fosfato. El OTMA y sus derivados forman uno de los compuestos nitrogenados más importantes en la carne del pescado de origen marino. Stroem y col. (1979) han demostrado que el OTMA se forma por biosíntesis en ciertas especies del zooplancton. La TMA presente en plantas marinas es transformada en OTMA por el zooplancton que posee la enzima TMA monooxigenasa.

El contenido de urea en los peces es muy variable, siendo ricos en este compuesto, los elasmobranchios. En el músculo del pescado los nucleótidos de adenina representan más del 90% del total de estos compuestos y el principal es el ATP.

El NBVT del músculo de pescado está formado principalmente por: NH_3 , DMA y TMA (Ciarlo y col. 1987). Las proporciones en las cuales estas bases están presentes dependen de la especie, del grado y el tipo de deterioro sufrido.

Dentro de los cambios irreversibles post-mortem relacionados con la producción de NBVT Ciarlo y col. (1987) citan a los siguientes:

- Crecimiento de microorganismos capaces de producir enzimas que desaminan los aminoácidos dando NH_3 como producto de la reacción.
- Crecimiento de microorganismos que producen enzimas involucradas en la reducción del OTMA dando TMA como producto de reacción.
- La descomposición autolítica del OTMA en DMA y FA.
- La degradación autolítica del ATP que conduce a la producción de NH_3 .

2.5.3. Reducción del óxido de trimetilamina

El crecimiento de bacterias consumidoras de oxígeno ocasiona la formación de nichos anaeróbicos o microaerófilos en el pescado. Esto sin embargo no necesariamente favorece el crecimiento de bacterias anaeróbicas. Algunas de las bacterias presentes en el pescado son capaces de llevar a cabo respiración empleando otras moléculas como receptor final del electrón. Es típico de muchas bacterias específicas del deterioro de pescado, emplear el OTMA como aceptor terminal de electrones durante la respiración anaeróbica. El componente reducido, la TMA, es uno de los compuestos dominantes del pescado deteriorado. El nivel de TMA encontrado en pescado fresco rechazado por un panel sensorial varía dependiendo de la especie, pero generalmente se encuentra alrededor de los

10-15 mg TMA-N/100g en pescado almacenado aeróbicamente y en un nivel de 30 mg TMA-N/100 g en bacalao empacado (Dalgaard y col., 1993).

La reducción del OTMA está generalmente asociada con géneros de bacterias típicos del ambiente marino (*Alteromonas*, *Photobacterium*, *Vibrio* y *S. putrefaciens*).

El OTMA es un compuesto típico de los peces marinos y recientemente ha sido reportado que también algunos peces de agua dulce contienen altas cantidades de OTMA (Anthoni y col., 1990). Sin embargo, la TMA no es necesariamente un compuesto característico durante el deterioro de este tipo de pescado porque el deterioro es debido a *Pseudomonas* spp. (Gram y col., 1990).

En especies marinas la velocidad de aumento de TMA varía de especie a especie, siendo posible entonces no detectarla por no formarse suficiente cantidad durante el deterioro. Deben además sumarse los problemas provenientes del distinto valor inicial de OTMA entre las distintas especies, la variación apreciable entre individuos de una misma especie y variaciones asociadas con la estación del año y zona de pesca; además el contenido de OTMA varía con el tamaño del pescado y presenta distintas distribuciones en la musculatura.

En muchas especies de pescado el desarrollo de la TMA es paralelo a la producción de hipoxantina.

Por acción de enzimas tisulares el ATP es transformado a Hx y Ribosa-fosfato. En este proceso ocurren dos cosas importantes; la primera es la degradación irreversible de ATP a Ino y luego a Hx, y la segunda es la formación de NH_3 que marca el inicio de producción de bases volátiles por vía puramente enzimática (Huss, 1998).

La Hx puede ser formada por la descomposición autolítica de nucleótidos, pero también puede ser formada por bacterias. Dalgaard y col. (1993) demostraron una correlación lineal entre el contenido de TMA e Hx durante el almacenamiento en hielo de bacalao envasado. Algunas de las bacterias producen Hx a partir de Ino o Ino monofosfato, incluyendo *Pseudomonas* spp, *S. Putrefaciens* y *P. Phosphoreum* (Huss, 1998).

En el bacalao y otros gádidos, mientras ocurre el deterioro, la TMA constituye la mayor parte de las denominadas bases volátiles totales.

Sin embargo, en el pescado deteriorado el suministro de OTMA decae, la TMA alcanza su máximo nivel y los niveles de nitrógeno volátil total continúan incrementándose debido a la formación de NH_3 , y otras aminas volátiles. En las primeras semanas del almacenaje en hielo también se forma amoníaco debido a la autólisis. En algunos pescados que no contienen OTMA, o en los cuales el deterioro es debido a una flora no reductora de

OTMA, se observa un leve incremento en el NBVT durante el almacenaje, probablemente como resultado de la desaminación de aminoácidos (Sikorski, 1994).

El almacenamiento anaeróbico del pescado ocasiona un incremento en la formación de NH_3 , debido a la degradación posterior de aminoácidos y a la acumulación de ácidos como los ácidos acético, butírico y propiónico (Huss, 1998).

2.5.4. Medida de nitrógeno básico volátil total

La determinación de NBVT es de fundamental importancia en el control de calidad del pescado. Esta determinación ha tomado la suficiente trascendencia y aceptación para ser el índice químico normalmente solicitado en el comercio internacional de pescado fresco y congelado (Olafsdottir y col., 1997; Giannini, 1986) El NBVT incluye la medición de TMA (producida por el deterioro bacteriano), DMA (producida por enzimas autolíticas durante el almacenaje en congelación), NH_3 (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros. Su determinación es de interés para dictaminar la calidad de un pescado adicionando además exámenes organolépticos y microbiológicos.

Según las reglamentaciones vigentes, el límite de aceptación es de 30 mg NBVT/100 g de muestra; lo que es coincidente con la existencia de alteraciones organolépticas. Este parámetro no es adecuado para elasmobranquios y moluscos bivalvos (Código Alimentario Argentino, 1997; Mercosur, 1994; U.E., 2005)

Si bien este valor establecido para NBVT corresponde a un estadio final en el almacenaje del pescado, es escasa la información sobre dicho parámetro al comienzo del almacenaje, es decir al comienzo del período de deterioro. Durante los primeros días posteriores a la captura el valor de NBVT permanece constante (Huss, 1998).

Ha sido informado que para merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) el valor de NBVT al momento de captura es de 14,30 mg NBVT/100 g (Trucco y col., 1978).

En la práctica comercial se acepta usualmente que un pescado de buena calidad no puede estar asociado a un valor mayor que 25 mg NBVT/100 g de muestra (Ordoñez, 1998).

2.6. Cambios en los lípidos

El término lípidos engloba un grupo de sustancias que pueden dividirse desde el punto de vista funcional en lípidos de reserva y lípidos estructurales.

La grasa del pescado se diferencia de las grasas vegetales y la de otros animales en tres aspectos fundamentales (Ordoñez, 1998):

- ✓ En el pescado existe una mayor variedad de ácidos grasos.
- ✓ La proporción de ácidos grasos de cadena larga es mayor.
- ✓ Las grasas del pescado son más ricas en PUFA.

Durante los cambios post-mortem, en los lípidos del pescado ocurren dos reacciones diferentes de importancia en el deterioro de la calidad: la oxidación y la hidrólisis. Estas reacciones dan como resultado la producción de una serie de sustancias, las cuales algunas tienen olores y sabores desagradables. Algunas pueden también contribuir a los cambios de textura mediante uniones covalentes con las proteínas musculares. Las reacciones pueden ser no enzimáticas o catalizadas por enzimas, las que pueden ser microbianas, intracelulares o digestivas del mismo pescado. Por lo tanto, el significado relativo de estas reacciones depende principalmente de la especie de pescado y de la temperatura de almacenaje.

Los pescados grasos son particularmente susceptibles a la degradación lipídica, la cual puede ocasionar severos problemas en la calidad, incluso durante el almacenaje a temperaturas bajo cero (Huss, 1998).

2.6.1. Lipólisis – hidrólisis

La degradación que experimentan los lípidos es resultado principalmente de la hidrólisis enzimática. En condiciones de depósito refrigerado, la oxidación de los lípidos es de menor importancia. Alrededor del 20% de los lípidos son hidrolizados durante la vida comercial del pescado refrigerado. Durante este período se duplica la cantidad de AGL. Los fosfolípidos son hidrolizados con máxima facilidad, seguidos por los triacilglicerolos, ésteres de colesterol y ésteres cereos. La fosfatidilcolina se degrada con máxima rapidez. Los cambios hidrolíticos que afectan a los lípidos del pescado refrigerado se aceleran al cabo de unos días. Durante las últimas etapas de depósito debe esperarse una significativa actividad de las lipasas bacterianas, así como de enzimas digestivas (Sikorski, 1994).

Durante el almacenaje, aparece una cantidad considerable de AGL. El fenómeno es más profundo en el pescado no eviscerado que en el eviscerado, probablemente por la presencia de enzimas digestivas.

Los TG presentes en los depósitos de grasa son escindidos por la triglicérid lipasa originada en el tracto digestivo o excretada por ciertos microorganismos. Las lipasas celulares pueden también desempeñar un papel menor.

En el pescado magro, la producción de AGL ocurre incluso a bajas temperaturas. Se cree que las enzimas responsables son fosfolipasas celulares (particularmente la fosfolipasa A₂). Sin embargo aún no ha sido establecida plenamente una correlación entre la actividad de estas enzimas y la tasa de aparición de los AGL. Los ácidos grasos que están unidos a fosfolípidos en el átomo carbono 2 del glicerol, son particularmente del tipo poliinsaturados; en tal sentido, la hidrólisis generalmente también conduce a incrementar la oxidación (Huss, 1998). Además, los ácidos grasos por si mismos pueden causar un sabor jabonoso.

2.6.2. Oxidación de los lípidos

La oxidación de los lípidos adquiere especial importancia en las especies grasas. Estos peces contienen más lípidos libres y mayor cantidad de músculo oscuro, sitio donde la oxidación ocurre con velocidad varias veces mayor que en el músculo blanco. Los lípidos del tejido subcutáneo y de la piel son más sensibles a la oxidación, debido a su contacto íntimo con la lipoxigenasa, presente en la piel y con el aire atmosférico.

Se estima que la oxidación lipídica no se produce si tiene lugar la descomposición bacteriana. La autooxidación puede verse retardada por los productos de la hidrólisis fosfolipídica y por cierto número de compuestos nitrogenados no proteicos. Existiendo descomposición bacteriana, el enranciamiento es imperceptible al análisis sensorial.

La gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados presente en los lípidos del pescado, los hace altamente susceptibles a la oxidación mediante un mecanismo autolítico (Aubourg, 1999).

El proceso es iniciado cuando unas pocas moléculas de ácidos grasos que resultan suficientemente activadas por el oxígeno, el calor, la luz, o un catalizador metálico, para descomponerse en los radicales libres inestables R[•] y H[•] (Figura 7). Normalmente, los radicales libres desaparecerían rápidamente al recombinarse, para dar RH, RR, H₂, H₂O, etc., pero en presencia de oxígeno molecular las posibilidades incluyen una reacción entre

el radical libre R^\bullet y el O_2 , resultando el radical peróxido ROO^\bullet . Este radical reacciona entonces con una molécula de lípidos sin activar, RH, generándose el hidroperóxido ROOH y el radical libre R^\bullet , a través del cual se propaga la reacción en cadena. A esta altura se siguen formando los radicales libres sin la ayuda del activador inicial. La reacción continúa y se generan más hidroperóxidos.

Los hidroperóxidos son llamados productos primarios de la autooxidación de lípidos. Son producidos en cantidades relativamente grandes durante la propagación, siendo además no volátiles, inodoros e insípidos. Su formación y acumulación medidos como VP, indican el progreso de la autooxidación (Cheftel y Cheftel, 1976).

La reacción termina cuando los radicales libres se combinan entre sí, para dar compuestos estables que se acumulan en el sistema. Los hidroperóxidos entran en una serie de reacciones que conducen a más radicales libres y productos finales estables. Estos productos finales incluyen compuestos carbonílicos de cadena corta, responsables del sabor rancio y de reacciones laterales que conducen a un deterioro generalizado. Se los conoce como productos secundarios de la autooxidación (Huss, 1998).

Algunos de los aldehídos pueden ser determinados como “sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico” (Índice de TBA) (Giannini, 1986).

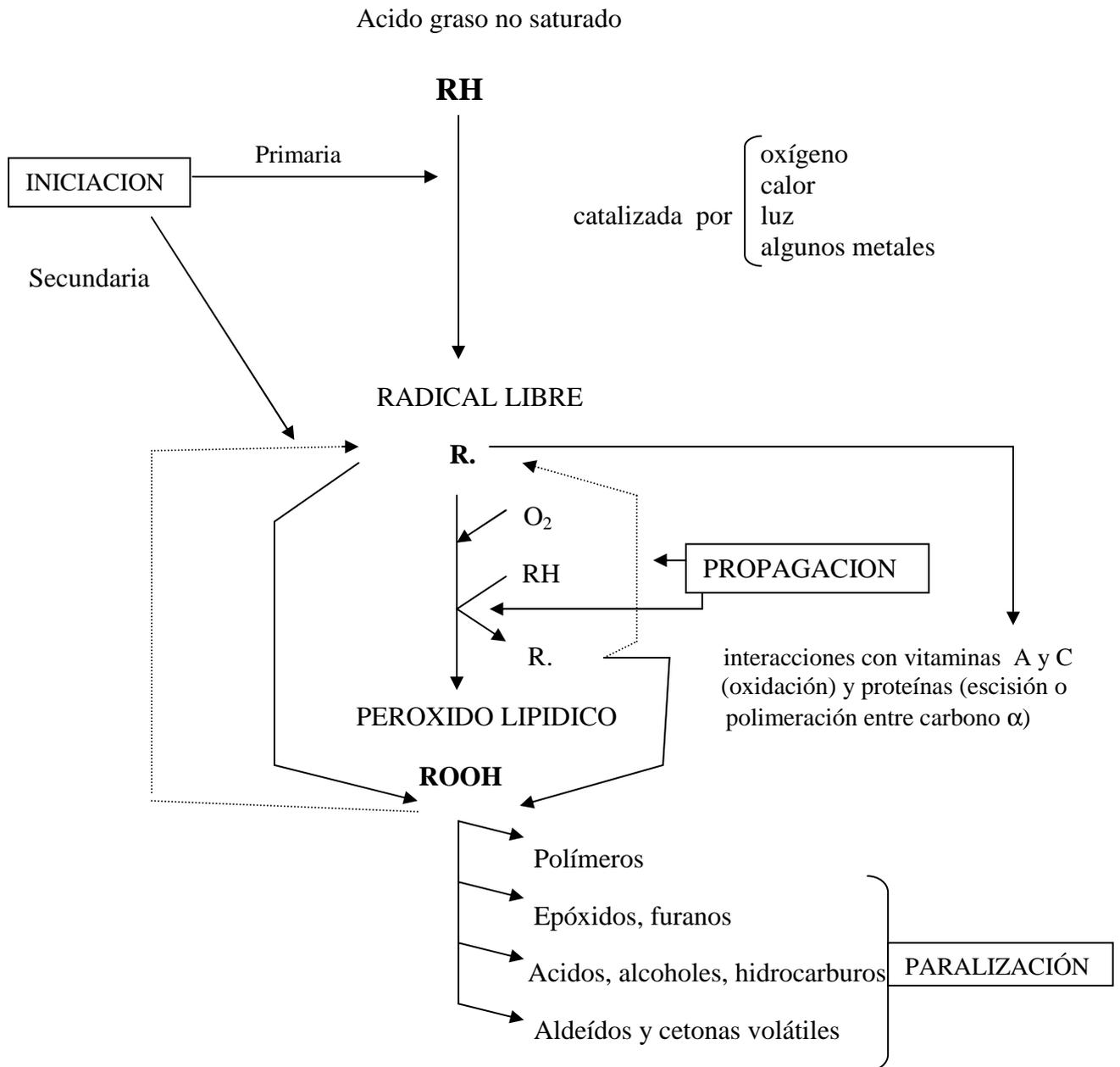


Figura 7. Esquema general de las reacciones de oxidación de lípidos. (Cheftel y Cheftel, 1976).

Los AGL son más susceptibles a la oxidación que los correspondientes ácidos grasos no libres, debido a que la cantidad de hierro en la fase acuosa es probablemente mayor que la cantidad enlazada a la superficie de las membranas celulares y a las gotas de lípidos.

Los hidroperóxidos de los ácidos grasos pueden también ser formados enzimáticamente, catalizados por la enzima lipoxigenasa, la cual está presente en los diferentes tejidos del pescado en cantidades variables. La enzima es inestable y probablemente tiene importancia en la oxidación de los lípidos sólo en el pescado fresco. La cocción o las operaciones de congelado/descongelado destruyen efectivamente la actividad de la enzima (Huss, 1998).

La célula viva posee algunos mecanismos de protección dirigidos contra los productos de la oxidación lipídica. Existe una enzima, la glutación peroxidasa, que reduce los hidroperóxidos en las membranas celulares al correspondiente compuesto hidroxílico. Esta reacción requiere un suministro de glutación reducido y por lo tanto cesa cuando el pez muere y la sustancia se agota en la célula. Las membranas también contienen un compuesto fenólico, α -tocoferol (vitamina E), el cual es considerado como el más importante antioxidante natural. Otros compuestos, por ejemplo los carotenoides, pueden también funcionar como antioxidantes. El humo de la madera contiene fenoles los cuales penetran en el pescado durante el ahumado y proporcionan de esta forma cierta protección contra la oxidación lipídica (Melton, 1983).

2.6.3. Medida de la rancidez oxidativa

Los *compuestos primarios de oxidación* pueden ser detectados por métodos químicos, generalmente haciendo uso de su potencial de oxidación para oxidar yoduro a yodo o para oxidar Hierro II a Hierro III. Así, la concentración de hidroperóxidos puede ser determinada mediante titulación con yodo o mediante espectrofotometría (Lea, 1952; Stine y col., 1954) obteniéndose el VP como miliequivalentes (mEq) de peróxido por kg de grasa extraída del pescado.

Por ejemplo, el método espectrofotométrico puede arrojar valores 1,5-2 veces mayores que el método de titulación con yodo (Barthel y Grosch, 1974).

Debido a algunas razones, la interpretación del VP como un índice de la calidad no proporciona un resultado directo. Primero: los hidroperóxidos carecen de olor y sabor, de esta forma el VP no está relacionado con la calidad sensorial del producto analizado. Sin

embargo, el valor de peróxido puede indicar una formación posterior de compuestos sensorialmente objetables (Melton, 1983). Segundo: los hidroperóxidos se descomponen con el tiempo. Un VP bajo puede indicar tanto una fase temprana de autooxidación como una fase tardía, o también un producto severamente oxidado donde la mayoría de los hidroperóxidos han sido degradados, por ejemplo en pescado seco salado (Smith y col., 1990).

Asumiendo que el VP no ha disminuído debido a un extenso almacenaje o exposición a altas temperaturas, su valor (por titulación iodométrica) no debiera ser superior a 10-20 mEq/kg de grasa de pescado (Connell, 1975).

Durante los estados posteriores de la oxidación generalmente están presentes los *productos secundarios de la oxidación* y, por lo tanto, indican una historia de oxidación (Huss, 1998). Estos productos comprenden aldehídos, cetonas, ácidos grasos de cadena corta y otros; muchos de los cuales tienen olores y sabores desagradables, que combinados producen el carácter “a pescado rancio” asociado con los lípidos oxidados del pescado. Algunos de los productos secundarios de la oxidación entre los cuales se pueden citar al malonaldehído y otros compuestos como los *alcanales* y *alcadienales*, reaccionan con el ácido tiobarbitúrico, formando un complejo de coloración rojiza que puede ser determinado mediante espectrofotometría a 532 nm. A pesar de que este complejo es el producto de condensación del ácido tiobarbitúrico con una sustancia específica, el dialdehído malónico, este ensayo se correlaciona bien con el grado de rancidez, y al utilizar este principio, pueden considerarse como las *sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico*. El análisis de estas sustancias se lleva a cabo mediante el test del Índice de TBA (Olafsdottir y col., 1997). Este test es el más ampliamente utilizado para medir el deterioro oxidativo de los lípidos en alimentos musculares (Gray, 1978; Rhee, 1978).

Existen tres formas por las cuales se puede desarrollar el Índice de TBA. La primera es directamente sobre el producto alimenticio (Sinnhuber y Yu, 1958). Una segunda en la cual se trabaja sobre el extracto del alimento, proceso que incluye filtración (Vyncke, 1975). La tercera consiste en una destilación del producto (Ke y Woyewoda 1979).

Los resultados son expresados en función del patrón dialdehído empleado (malonaldehído) y reportados como μmol de malonaldehído presente en relación a la cantidad de tejido analizado.

Para una evaluación de calidad, valores del índice de TBA menores de 8 μmol por kg de pescado indican ausencia de rancidez. Valores entre 9 y 20 μmol por kg de pescado, son indicadores de rancidez pero el producto es aceptable. Mientras que valores superiores a 21 μmol por kg de pescado, son considerados como rancios e inaceptables (Ke y col., 1984).

Algunos autores han demostrado que el valor del índice de TBA se correlaciona con la calidad sensorial (Hoyland y Taylor, 1991; Raharjo y col., 1993). Sin embargo otros investigadores no encontraron dicha correlación (Boyd y col., 1993). De este modo, es necesaria cierta precaución en la interpretación de los valores del índice de TBA.

Otro método para el seguimiento del deterioro oxidativo de los alimentos, es la determinación colorimétrica del total de compuestos carbonilos, total de compuestos monocarbonilos o clases de compuestos monocarbonilos (Melton, 1983).

La medición de productos fluorescentes ha sido utilizada satisfactoriamente como un método analítico para la cuantificación de productos de oxidación en tejidos biológicos. Es posible utilizar la determinación de compuestos fluorescentes para analizar la oxidación lipídica en alimentos, particularmente durante el almacenaje.

Los métodos instrumentales modernos permiten una mayor definición en el análisis de todos los productos de oxidación. Pero para las estimaciones de la calidad general, se prefieren métodos que permitan determinar un amplio rango de productos de oxidación (como el VP y el Índice de TBA), a pesar de que estos métodos tienen limitaciones según lo discutido anteriormente.

El análisis de los compuestos volátiles, productos de la oxidación que se encuentran en interfase sobre la superficie del producto, proporcionan resultados que se correlacionan muy bien con la evaluación sensorial. Mediante el uso de cromatografía gaseosa, se ha podido identificar y medir tres compuestos volátiles de los alimentos, que fueron: pentanal, hexanal y el 2,4 decadienal (Melton, 1983).

3. Aspectos generales sobre la congelación del pescado

3.1. Formación de cristales de hielo

El pescado contiene alrededor del 75 % de su peso en agua. El proceso de congelado convierte la mayoría del agua en hielo. El agua se encuentra disuelta o en estado coloidal, lo cual baja el punto de congelación por debajo de 0°C; esta disminución es proporcional a la concentración de solutos (Garthwaite, 1997). El punto de congelación en el pescado se ubica entre -1°C y -2°C. Durante el proceso de congelado, el agua es convertida en hielo en forma gradual, mientras que las concentraciones de sales orgánicas e inorgánicas se incrementan, disminuye el punto de congelación. Cuando la temperatura llega a -25°C, el 90-95% del agua se halla en estado congelado. Aquí no se incluye el agua que se halla ligada (por ejemplo aquella químicamente unida a sitios específicos como lo son los grupos carbonilos y grupos aminos de las proteínas), la cual no está disponible al congelarse.

Sin embargo, la mayor parte del agua (alrededor del 75-80%) se encuentra congelada cuando la temperatura se encuentra entre -1°C y -5°C. Este rango de temperatura es conocido como *zona crítica* de congelación (Heen y Karsti, 1965; Dyer, 1971).

Durante el proceso de congelado, la temperatura del pescado disminuye rápidamente desde su temperatura inicial hasta debajo de 0°C. Luego, la misma baja muy lentamente hasta que la mayoría del agua ha cambiado de estado y se ha transformado en hielo. Una vez pasada la zona crítica, la temperatura disminuye rápidamente (Johnston y col., 1994). A fin de detener el proceso de deterioro, es importante atravesar la zona crítica lo más rápido posible.

La formación de cristales de hielo ocurre en dos etapas. Primeramente se produce una “nucleación”, que corresponde a la formación de pequeñas partículas insolubles suspendidas en el líquido o la agregación al azar de moléculas de agua hasta un tamaño crítico. En segundo término, ocurre el crecimiento de los cristales (Garthwaite, 1997).

Es conocido que la baja remoción de calor da como resultado un congelado lento (velocidad de congelación alrededor de 0,2 cm/h), produciéndose cristales de hielo comparativamente grandes en tamaño y baja cantidad, los cuales pueden causar la ruptura de las membranas celulares, una pérdida de fluidos y cambios en la textura del producto descongelado.

En contraste, una rápida remoción del calor, conduce a un congelado rápido (velocidad de congelación alrededor de 0,5 cm/h), produciendo un gran número de cristales pequeños, por lo que se reduce la posibilidad de ruptura.

Sin embargo, en el pescado, las membranas celulares pueden ser consideradas lo suficientemente elásticas como para resistir el daño causado por la presencia de grandes cristales de hielo (Johnston y col., 1994). Este hecho por lo tanto, no origina una pérdida evidente de agua en el descongelado. En efecto, la mayoría del agua que se halla unida a estructuras proteicas no se elimina por el goteo en el descongelado.

En el descongelado, se produce igualmente una pérdida de fluidos de la estructura muscular, la cual puede ser explicada por la desnaturalización proteica durante el proceso de congelado, causando la pérdida de la capacidad de ligar agua. La desnaturalización proteica es dependiente de la concentración de enzimas y la temperatura. El incremento de la concentración de enzimas aumenta el grado de desnaturalización, mientras que la disminución de la temperatura la reduce. En efecto, cuando la temperatura baja, la mayoría del agua es convertida en hielo y la concentración de enzimas en solución aumenta, por lo tanto por debajo del punto de congelación del agua, la concentración de enzimas y la temperatura están estrechamente relacionadas (Garthwaite, 1997).

El rango óptimo de temperatura para desnaturalización es de -1°C a -2°C . Por lo cual, el tiempo para atravesar esa zona de temperatura durante el congelado debe ser tan corto como sea posible, a fin de reducir al mínimo el goteo en el descongelado. Esta es la principal diferencia desde el punto de vista de la calidad entre el congelado lento y rápido del pescado (Johnston y col., 1994).

Cuando el producto se ha congelado lentamente o cuando han ocurrido fluctuaciones de temperatura durante el almacenaje se produce una desnaturalización proteica, donde los cristales de hielo crecen extrayendo agua ligada a las proteínas, de manera que este agua al perderse durante el descongelado también arrastra nutrientes hidrosolubles. Este proceso cambia la textura del alimento, provocando un endurecimiento del mismo, disminuyendo la solubilidad y el valor nutritivo.

El término congelado rápido es aplicado para la mayoría de los procesos de congelado. Resulta dificultoso definirlo. En Gran Bretaña por ejemplo, este término se aplica cuando se reduce la temperatura desde 0°C hasta -5°C en dos horas o menos. También se utiliza el término congelado rápido individual (individual quick frozen - IQF -)

El movimiento del frente de hielo depende de factores tales como la forma, las propiedades térmicas del pescado y el tipo de congelador utilizado. Durante el proceso de

congelado, la temperatura del pescado debe ser reducida hasta -30°C , antes de ser transferido al depósito. La mayoría de los congeladores comerciales, funcionan a temperaturas desde -35°C a -40°C .

Se denomina tiempo de congelado, al tiempo necesario para reducir la temperatura en el centro del pescado a -20°C (Garthwaite, 1997).

3.2. Tipos de congeladores

De acuerdo a Sikorski y Kolakowska (1994) existen los siguientes tipos de congeladores:

Por aire: una corriente de aire frío extrae el calor del producto hasta conseguir la temperatura final. Es el método más ampliamente usado, debido a su gran versatilidad. Se los utiliza para congelar tanto peces enteros de distintas formas y tamaños o pescados procesados, depositados en bandejas o en armarios. El aire circula a -30°C o -40°C a una velocidad de 4-6 m/s, obteniendo un congelado rápido.

Por contacto: mediante una superficie fría en contacto directo con el producto. Son los denominados congeladores de placas, los cuales se emplean principalmente en la congelación de filetes, presentados en bloques. El íntimo contacto con el material a congelar es requisito previo para el eficaz aprovechamiento de la elevada tasa de transferencia de calor por conducción en placas a -40°C . La característica común de este procedimiento está dada por una mínima deshidratación y una elevada velocidad de congelación. Según la disposición de las placas pueden clasificarse en verticales u horizontales.

Criogénico: se utilizan fluidos criogénicos, nitrógeno o dióxido de carbono, que sustituyen al aire frío para conseguir el efecto congelador. La velocidad de congelación es muy alta, debido al contacto directo del alimento con el líquido refrigerante. Este tipo de congelación genera mínimas pérdidas de peso en el producto

En el caso de buques congeladores, se utilizan los túneles de aire para la mayoría de los pescados, siendo empleados los congeladores en placas para los filetes. El tiempo de congelación para el caso de los túneles con circulación de aire es de aproximadamente 2-3 horas. Mientras que en el caso de los congeladores en placas, el tiempo requerido es de 30-40 minutos.

3.3. Efecto de la congelación sobre los microorganismos

La congelación reduce la actividad del agua y detiene el crecimiento bacteriano. La baja actividad del agua (a_w) en el pescado congelado, debida a la formación de hielo, y el almacenaje a bajas temperaturas, inhiben la actividad bacteriana y ejerce un efecto letal sobre algunos microorganismos (Sikorski y Kolakowska, 1994). Por lo tanto se puede decir que el congelado preserva al pescado por una combinación de la reducción de la temperatura y una disminución en la actividad del agua (Johnston y col., 1994).

Los microorganismos que sobreviven a la congelación encuentran mejores condiciones de proliferar en el pescado descongelado que en el pescado sin congelar. Esto es debido a que disponen del agua de goteo producida en el descongelado y a los cambios en la textura del producto causados por el congelado y posterior descongelado (Sikorski y Kolakowska, 1994).

Ingram (1951) resumió los hechos que ocurren en determinados microorganismos como consecuencia de la congelación del siguiente modo:

- i- Hay una súbita mortalidad en el momento de la congelación, que varía de acuerdo con la especie.
- ii- El porcentaje de células que sobreviven inmediatamente después de la congelación es relativamente independiente de la velocidad de congelación.

Las bacterias se diferencian por su capacidad de resistir al proceso de congelación, siendo los cocos generalmente más resistentes que los bacilos gramnegativos. De las bacterias causantes de intoxicaciones alimentarias, las salmonellas son más sensibles que los *Staphylococcus aureus* o que las células vegetativas de los clostridios, mientras que las endosporas y las toxinas causantes de intoxicaciones alimentarias aparentemente no son afectadas por las temperaturas bajas.

Se ha demostrado que luego de 270 días de almacenamiento en estado congelado, se produce una importante reducción del número de células viables en todas las especies de salmonellas, pero en ningún caso se eliminaron todas las células (Jay, 1994).

Desde el punto de vista estricto de la conservación de alimentos, la congelación no debe ser considerada un procedimiento para destruir los microorganismos contenidos en ellos (Sikorski y Kolakowska, 1994). Por el contrario, se ha señalado que alimentos tales como el pescado congelado, aumentan la viabilidad de las bacterias (Jay, 1994).

3.4. Dimetilamina

Ciertos tipos de pescados contienen una enzima, la OTMA-asa, que convierte el OTMA en cantidades equimolares de DMA y FA. Así para los peces gádidos, la DMA es producida junto con el FA durante el almacenamiento en congelación, con el concomitante endurecimiento de las proteínas inducido por el FA. La cantidad de proteína desnaturalizada es proporcional a la cantidad de FA producido, siendo de utilidad la medición de DMA como parámetro de calidad en los pescados gádidos almacenados en congelación. Mucho del FA se une al tejido, dejando de ser extraíble y no puede ser medido cuantitativamente (Almandós y col., 1984).

La DMA es producida en forma autolítica durante el almacenamiento congelado. En pescados gádidos, como la merluza se ha encontrado que puede servir como un indicador confiable del endurecimiento inducido por FA (Gil y col., 1979). Por estar asociada con las membranas del músculo, su producción se incrementa por la manipulación brusca y por las fluctuaciones de temperaturas durante el almacenaje en frío. La DMA tiene poco o ningún efecto en el sabor o la textura del pescado, pero es un indicador indirecto de la desnaturalización de las proteínas, generalmente ocasionada por una incorrecta manipulación del pescado antes o durante el almacenaje congelado. También es posible que se forme DMA en pescados congelados por vías no enzimáticas, las cuales no se hallan completamente dilucidadas (Moya y Lovazzano, 2006).

3.5. Cambios en los lípidos por congelación

Los cambios en los lípidos son responsables tanto directa como indirectamente de las alteraciones en la calidad que sufren los alimentos marinos congelados. Comprenden procesos de lipólisis, oxidación lipídica e interacciones de los productos resultantes con componentes no grasos.

Las lipasas endógenas del pescado son relativamente resistentes a las bajas temperaturas, conservando buena parte de su actividad en los tejidos congelados.

La oxidación de lípidos en alimentos marinos almacenados en congelación no es primariamente de naturaleza enzimática, aunque en los últimos tiempos se ha informado sobre la participación de lipoxigenasa y enzimas microsómicas. En el pescado con más del 2% de lípidos, los productos de oxidación reducen significativamente las calificaciones sensoriales (Sikorski, 1994).

3.5.1. Lipólisis

En el pescado congelado, la lipólisis se inicia con la degradación de los fosfolípidos. Las lisofosfolipasas exhiben por lo común máxima actividad.

La hidrólisis de los fosfolípidos es la causa principal de la rápida acumulación de AGL en la carne congelada de muchas especies de pescado. La velocidad de descomposición es tal que, al cabo de estar un año almacenado el pescado magro a -20°C , la cantidad de fosfolípidos desciende entre el 20 y el 40% de su valor inicial. Temperaturas más altas, por ejemplo de -10°C , pueden tener como consecuencia la descomposición de la mayoría de los fosfolípidos ya durante el primer mes de depósito.

Los TG se hidrolizan en el pescado congelado menos fácilmente, mientras que los ésteres de colesterol y las ceras se modifican sólo en un ligero grado. Las lipasas son más activas en los músculos oscuros que en los blancos. Por el contrario, las fosfolipasas exhiben idéntica actividad en ambos tipos de músculo (Huss, 1998).

El contenido de AGL es el parámetro más popular para medir la lipólisis acontecida en el pescado. En cada especie, el grado de lipólisis depende de la época de captura, sexo, madurez de las gónadas y de otros factores relacionados con las técnicas de procesado.

El desmenuzado del pescado previo a la congelación, acelera la lipólisis en estado congelado. Además, el tipo de almacenaje antes del congelado, acelera la hidrólisis de los FL. Así, los AGL pueden llegar a constituir el 30% de los lípidos totales en el pescado magro y sólo un porcentaje muy bajo en el pescado graso (Sikorski, 1994).

3.5.2. Oxidación de los lípidos

La oxidación lipídica sigue la ruta clásica de los radicales libres (Figura 7).

Los hidroperóxidos son muy inestables, desdoblándose en aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos grasos de cadena corta e hidrocarburos. Se supone que los compuestos carbonílicos volátiles son los responsables del olor y sabor a rancio (Olafsdottir y col., 1997).

Los productos de oxidación son muy reactivos y afectan las propiedades funcionales y el valor nutritivo del pescado. La formación de estos compuestos es el factor que limita el tiempo de vida de una especie grasa en estado congelado (Aubourg, 1999).

Los efectos de la oxidación lipídica se aprecian por un cambio de pigmentación en la superficie de filetes congelados, así como en el deterioro en la textura de los mismos.

La oxidación de los lípidos del pescado congelado es el resultado final de interacciones de varios factores tales como la composición de la grasa, la composición de ácidos grasos insaturados, la constitución molecular de los FL y los TG, el nivel de antioxidantes, el pH y la cantidad de agua sin congelar. Como consecuencia de estos factores y de sus interacciones, el control de las condiciones de almacenaje no es suficiente para predecir el grado de enranciamiento en alimentos marinos congelados. La intensidad de la rancidez varía aún incluso dentro de la misma especie. Ejemplares de la misma especie y con similares contenidos de lípidos pueden diferir en su tasa de oxidación lipídica hasta en un 300% al final de varios meses de depósito. El nivel de enranciamiento depende del grado de procesado anterior a la congelación. La piel constituye un obstáculo contra la oxidación, barrera que pierde eficacia cuando en ella faltan escamas o pigmentaciones negras. En cambio, la presencia de lipoxigenasa en la piel acelera la oxidación, lo que se evidencia especialmente en desmenuzados congelados entremezclados con fragmentos de piel (Sikorski, 1994).

Los resultados de las pruebas sensoriales de enranciamiento se corresponden escasamente con el tiempo de depósito del pescado congelado. En la mayoría de los tests más difundidos, las mejores correlaciones se registran entre el VP y el Índice de TBA (Huss, 1998).

3.5.3. Interacciones

La lipólisis y la oxidación de los lípidos se influyen mutuamente. La hidrólisis puede acelerar la oxidación de los TG. En cambio la oxidación de los FL puede verse inhibida por la hidrólisis (Huss, 1998).

La peroxidación de los lípidos puede influir sobre la susceptibilidad de los FL a la acción de fosfolipasas específicas. Existen muchas interacciones entre los lípidos del pescado y sus productos de oxidación con las proteínas. Tales interacciones pueden dar como resultado diversos complejos lipo-proteicos, así como diferentes productos de moléculas pequeñas. La formación de estos compuestos puede influir en el valor sensorial del alimento a nivel de aroma (formación de nuevos compuestos aromáticos), color (reacción de pardeamiento) y textura (desnaturalización y entrecruzamiento proteico) (Aubourg, 1999). Se forman entre otras, sustancias castañas rojizas cuyos equivalentes “in vivo” son los pigmentos de la lipofuscina, utilizados para determinar la edad de los crustáceos marinos. Se forman al reaccionar compuestos carbonílicos de eicosapentaenoato

conjugados con aminoácidos o con taurina en calamares. La interacción lípidos-proteínas retarda la oxidación de las grasas durante el almacenamiento (Sikorski, 1994)

3.5.4. Influencia de fluctuaciones en la temperatura

En la práctica comercial, dentro del rango de temperatura en el cual el pescado permanece congelado, pueden tener lugar fluctuaciones en esta magnitud causadas durante el transporte del producto y/o como consecuencia de una sobrecarga de las cámaras frigoríficas de almacenaje (Undeland, 1995).

Ke y col. (1976) informaron que entre 6 y 10 meses de almacenaje de caballa a -45°C , no tienen lugar cambios significativos en los valores de VP como tampoco en el nivel de AGL.

A temperaturas más altas estos parámetros aumentan con el tiempo. A -28°C ocurre una oxidación lipídica insignificante, mientras que fluctuaciones entre -28°C y -10°C producen incrementos significativos en el VP luego de los 10 meses. Sin embargo, el VP no se modifica significativamente por fluctuaciones entre -28°C y -18°C .

El aumento de la temperatura en el estado congelado y sus fluctuaciones afectan más a la hidrólisis que al VP. Ke y col. (1976) consideraron que los efectos de las fluctuaciones en la temperatura sobre VP y AGL fueron principalmente resultado del incremento promedio en la temperatura de almacenaje más que del descongelado parcial.

Todo indica que para los pescados grasos el medio más eficaz para controlar el deterioro oxidativo es disminuir la temperatura de congelado.

3.6. Toxicidad de los productos de oxidación

Los productos de oxidación lipídica han sido indicados como tóxicos químicos y se hallan relacionados con procesos del deterioro en el hombre, incluyendo el envejecimiento (Tappel y Dillard, 1981).

Algunos de estos compuestos oxidados se producen prácticamente en todos los alimentos almacenados (Pearson y col., 1983), disminuyendo su valor nutritivo (Shibamoto y Bjeldanes, 1996).

La implicancia de los lípidos alimenticios sobre la salud humana es notoria. Existe una relación entre la toxicidad de los productos de oxidación y ciertas enfermedades como son la enfermedad cardíaca, la muerte súbita y el cáncer (Pearson y col., 1983).

El malonaldehído, compuesto producido durante la autooxidación de ácidos grasos poliinsaturados, sería el responsable de diversos trastornos en la salud. Uno de los cuales es el efecto mutagénico al reaccionar con el ADN en las bases de guanina y citosina (Reiss y col., 1972). Los productos de oxidación también pueden reaccionar con proteínas y aminoácidos causando daños en el alimento y otros sistemas biológicos (Gardner, 1979).

Especialmente tóxicos son los peróxidos de los ácidos grasos no saturados. El peróxido del ácido linolénico tiene acción tóxica sobre el miocardio (Lindner, 1995).

En general al estar el colesterol involucrado en numerosos procesos y siendo uno de los constituyentes principales de las membranas celulares, la presencia de sus óxidos en los alimentos provoca serios problemas a las células por modificar sus funciones de barrera, alterar las propiedades de los vasos sanguíneos y finalmente por su acción mutagénica (Silvestre, 1998).

Como síntomas de intoxicación por grasas rancias observados en animales de experimentación se citan una baja tasa de crecimiento, cardiomiopatías, hepatomegalia, anemia hemolítica y carencias secundarias de vitaminas E y A (Sikorski, 1994). Desde el punto de vista de inspección, todo producto que presente signos de rancidez avanzados, debe ser decomisado, ya que puede causar disturbios a nivel digestivo y alterar la absorción de vitaminas liposolubles (Perez Solmeron, 1985).

3.7. Vida comercial de productos marinos congelados

La calidad del pescado congelado se pierde gradualmente durante el almacenaje a una velocidad que depende del producto, del procesado y de las características del envasado ó “packaging” (PPP) así como de la temperatura (Sikorski, 1994). La vida comercial de un producto puede expresarse como:

- i) La vida de alta calidad (high quality life: HQL), definida como el tiempo de almacenaje del producto con una alta calidad inicial hasta el momento en que aparece la primera diferencia de calidad estadísticamente significativa ($p < 0,01$).
- ii) La vida de depósito en la práctica (practical storage life: PSL), definida como el tiempo de almacenaje durante el cual el producto conserva sus propiedades características y su aptitud para el consumo humano.

Para obtener una prolongada vida de almacenaje de los alimentos marinos congelados, las cámaras frigoríficas se deberían mantenerse entre -30 y -35°C . Sin embargo las temperaturas comúnmente empleadas en productos marinos congelados varían

entre -18 y -29°C (Sikorski, 1994). De acuerdo al criterio empleado, la vida comercial informada para productos marinos congelados presenta importantes variaciones. Además, no siempre se especifica las características PPP. En general, para productos congelados la relación PSL/HQL es de 2 a 5.

4. Irradiación de alimentos

4.1. Reseña histórica

Inmediatamente después de que Röntgen descubriera los rayos X en 1895 y del descubrimiento de la radiactividad por parte de Becquerel al año siguiente, surgió la idea de usar radiaciones ionizantes para preservar alimentos. Recién en 1921 se estableció una aplicación de la irradiación de alimentos al considerar el uso de rayos X para eliminar el parásito *Trichinella spiralis* en carne de cerdo. A este hecho le siguieron otros estudios y patentes, pero los altos costos y dificultades para disponer las fuentes de radiación ionizante impidieron la aplicación industrial del proceso.

Con el advenimiento de los reactores nucleares y los aceleradores de electrones en los años '40 y '50 se estimuló el desarrollo de nuevos proyectos de investigación en el campo de la irradiación de alimentos. De esta manera, la irradiación de alimentos se fue transformando en un proceso técnicamente factible. Durante los años '60 y '70 comenzaron las investigaciones acerca de la salubridad de los alimentos irradiados. En 1970 y con el fin de promover un programa de investigación mundial sobre la salubridad de los alimentos irradiados, 19 países comenzaron a ejecutar el Proyecto Internacional en Irradiación de Alimentos. Este proyecto fue auspiciado por el IAEA, la FAO y la OECD. Tanto los resultados obtenidos en este proyecto como los obtenidos en otras investigaciones fueron evaluados por el Comité Conjunto de Expertos de la FAO/OIEA/OMS. En 1980, este comité llegó a la conclusión que “la irradiación de cualquier alimento con una dosis total promedio de hasta 10 kGy no presenta riesgo toxicológico ni tampoco introduce problemas nutricionales o microbiológicos especiales”. Sobre esta base, el Codex Alimentarius publicó en 1984 la “Norma general para alimentos irradiados” y el “Código internacional recomendado de prácticas para el funcionamiento de instalaciones de irradiación utilizadas para el tratamiento de alimentos”. La publicación de este documento tuvo gran influencia sobre otros desarrollos internacionales y sirvió de base para la legislación de muchos países.

4.2. Aspectos generales

4.2.1. Fuentes de radiación permitidas

La irradiación de alimentos consiste en exponer el alimento a radiaciones ionizantes, las cuales tienen la capacidad de convertir átomos y moléculas en iones, mediante la remoción de electrones. No todos los tipos de radiaciones ionizantes son adecuados para la irradiación de alimentos, ya sea porque no penetran lo suficiente en el material irradiado o porque inducen radiactividad en el material.

Los siguientes tipos de radiaciones ionizantes pueden ser usados para la irradiación de alimentos (FAO/OMS, 1984):

- Rayos γ emitidos por los radionucleídos ^{60}Co y ^{137}Cs .
- Rayos X generados por máquinas que operan a un nivel de energía de hasta 5 MeV.
- Electrones provenientes de generadores que operan a un nivel de energía de hasta 10 MeV.

4.2.1.1. Fuentes de rayos gamma

Los rayos gamma usados en el procesamiento de alimentos son provenientes de fuentes de alta actividad de ^{60}Co o ^{137}Cs (Jarrett, 1982). Los modos de decaimiento de estos radioisótopos son mostrados en la Figura 8. El ^{60}Co , con un período de semidesintegración de 5,27 años y con emisión de rayos gamma de 1,17 y 1,33 MeV de energía, es producido por irradiación del cobalto metálico en un reactor nuclear. El ^{137}Cs , con un período de semidesintegración de 30,17 años y emisión de rayos gamma de energía 0,66 MeV, es un producto de fisión de los elementos combustibles de un reactor nuclear. Actualmente, las fuentes de rayos gamma en operación para tratar alimentos son de ^{60}Co (IAEA, 2007). Este hecho se basa fundamentalmente en que con el ^{60}Co disminuye el riesgo de contaminación al medio ambiente, debido a que ese radionucleído se presenta en forma metálica, mientras que el ^{137}Cs es usualmente proporcionado como “pellets” de CICs, el cual es soluble en agua. En particular, Argentina produce ^{60}Co desde 1986 en la Central Nuclear de Embalse (Córdoba). Esta producción permite no sólo cubrir totalmente las necesidades a nivel nacional, sino que genera excedentes que permiten su exportación.

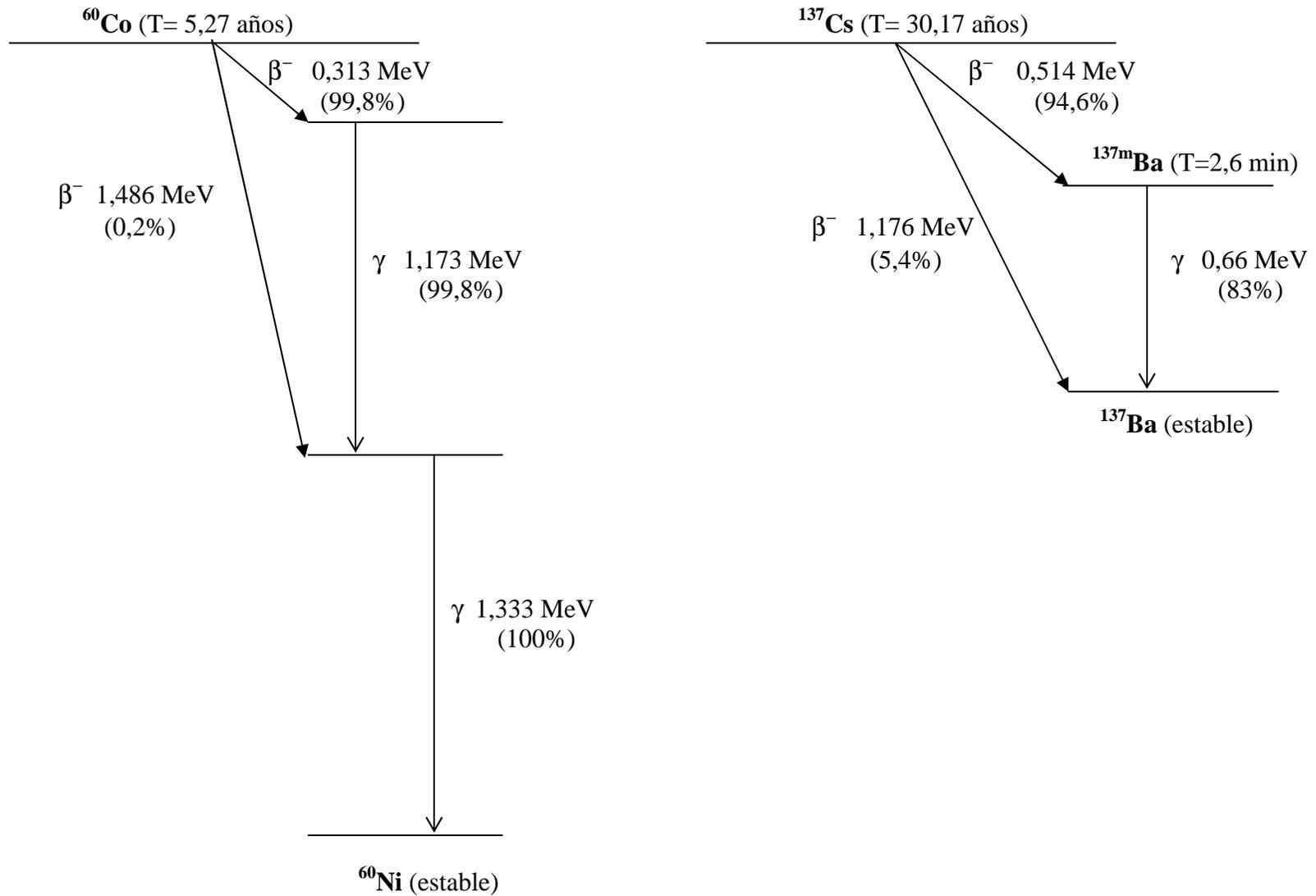


Figura 8: Esquemas de desintegración simplificados de ^{60}Co y ^{137}Cs .

4.2.1.2. Otras fuentes

- Fuentes de rayos X: Los rayos X son producidos cuando la materia es bombardeada con electrones de elevada energía cinética. Un tubo de rayos X característico consiste en una lámpara de vidrio al vacío, que contiene un filamento cargado negativamente (cátodo) y una pieza metálica con carga positiva (ánodo), ubicados uno frente a otro. El filamento emite electrones cuando es calentado por el pasaje de corriente eléctrica. Estos electrones inciden sobre el metal, produciendo rayos X. Este tipo de fuentes no es usada a escala comercial.

- Aceleradores de electrones: Existen varios diseños de aceleradores de electrones, pero todos ellos tienen algunas características en común. La fuente de electrones es un filamento calentado en un tubo al vacío. Los electrones así producidos son atraídos hacia el extremo positivo del tubo; ellos son acelerados a muy alta velocidad, cercana a la velocidad de la luz. Cuanto mayor es la diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo, mayor es la velocidad de los electrones.

De acuerdo a la energía del haz de electrones, los aceleradores están divididos en tres grupos: de baja, media y alta energía (Woods y Pikaev, 1994). Los de baja energía (hasta 300 keV) y los de media energía (300 keV – 1 MeV) pueden ser usados sólo para tratar superficies o materiales muy finos, debido a que estos electrones no penetran más que unos pocos milímetros. Considerando el procesamiento de alimentos, ellos sólo son de interés para la esterilización de films o láminas de materiales para envasar. Los aceleradores de electrones de alta energía producen electrones con una energía superior a 1 MeV. En general, se considera que la profundidad de penetración de un haz de electrones en un producto alimenticio es de 5 mm por MeV. Debido a su poca penetración, los electrones no pueden ser usados para irradiar carcasas de animales ni grandes bultos u otros materiales de gran espesor. Sin embargo esta dificultad puede resolverse en parte convirtiendo los electrones en Rayos X (Diehl, 1990).

4.2.2. Consideraciones acerca de la dosis

Cuando la radiación ionizante penetra en un alimento, toda o parte de la energía de la radiación es absorbida por el medio, siendo la misma definida como dosis absorbida. La unidad con la cual se mide la dosis absorbida es el Gray (Gy), siendo $1 \text{ Gy} = 1 \text{ Joule/kg} = 100 \text{ rad}$. La energía absorbida por unidad de tiempo es llamada velocidad de dosis.

Las técnicas para medir las dosis de radiación pueden dividirse en métodos primarios o absolutos y métodos secundarios. Los métodos primarios involucran la determinación directa de la dosis absorbida mediante tres métodos físicos: calorimetría, ionización o centelleo. De éstos, los dos primeros son usados para la calibración inicial de los dosímetros químicos o secundarios, los cuales son usados para las mediciones de rutina. En la práctica, el dosímetro Fricke o del sulfato ferroso es probablemente el dosímetro químico más ampliamente usado en irradiación de alimentos. La reacción inducida por radiación es la oxidación del ion ferroso (Fe^{++}) a ion férrico (Fe^{+++}) en una solución ácida y en presencia de oxígeno. La concentración de ion férrico es medida por el incremento en la absorbancia a una longitud de onda de 305 nm. Para los rayos gamma del ^{60}Co , el rendimiento para la producción de ion férrico es de $15,6 \text{ Fe}^{+++}/100 \text{ eV}$, o $9,74 \times 10^{17}$ iones/Joule. En aplicaciones comerciales de radiación, también resultan convenientes los dosímetros químicos sólidos. Así, polímeros tales como polimetilmetacrilato (PMMA) son muy útiles para la dosimetría de rutina en un rango de dosis entre 1 y 50 kGy. Para rangos de dosis aún más bajos puede ser usada la dosimetría con colorantes radiocrómicos. Estos y otros sistemas dosimétricos son descritos en detalle por autores tales como McLaughlin y col. (1982) y Spinks y Woods (1990).

Si los dosímetros son distribuidos en distintas partes del producto irradiado, su evaluación mostrará dónde fue absorbida la máxima dosis ($D_{\text{máx}}$) y la dosis mínima ($D_{\text{mín}}$). Estos valores permiten establecer la relación de uniformidad de dosis $D_{\text{máx}}/D_{\text{mín}}$, la cual depende de varios factores tales como el diseño de la planta, el tipo de producto irradiado y la energía de la radiación. Para propósitos de investigación, se considera conveniente una relación $D_{\text{máx}}/D_{\text{mín}}$ de 1,2 o aún de 1,4. Sin embargo, para irradiaciones comerciales una relación de 2 o 3 a menudo se considera aceptable, especialmente si la densidad del material procesado es poco uniforme.

Otra característica importante en un proceso de irradiación es la dosis total promedio, cuyo valor es la media aritmética de las dosis determinadas por los dosímetros distribuidos al azar en el producto a irradiar.

Diferentes dosis de radiación pueden ser aplicadas a los alimentos para lograr distintos objetivos, tal como se muestra en la Tabla 1 (Diehl, 1990). La clasificación en bajas, medias y altas dosis aplicadas a alimentos siguen una propuesta del Comité Conjunto de Expertos de la FAO/IAEA/OMS en su reunión de 1980.

Tabla 1: Dosis de radiación recomendadas para diferentes propósitos

Alimento	Principal objetivo	Significado de atacar el objetivo	Rango de dosis (kGy)
Tratamiento con bajas dosis (hasta 1 kGy)			
Papas, batatas, cebollas, ajos, echadotes	Extensión del período de almacenaje	Inhibición de la brotación	0,05 - 0,15
Ciertas frutas y vegetales	Mejoramiento de las propiedades de conservación	Retraso de la maduración y senescencia	0,25 - 1,00
Granos de cereal, harina, frutas secas, nueces, legumbres	Prevención de pérdidas causadas por insectos	Destrucción o esterilización sexual de insectos	0,20 - 0,70
Frutas	Prevención de la propagación de pestes. Tratamiento de cuarentena	Destrucción o esterilización sexual de insectos	0,20 - 0,70
Carne	Prevención de enfermedades parasitarias transmitidas por los alimentos	Destrucción de parásitos tales como <i>Trichinella spiralis</i> y <i>Taenia saginata</i>	0,30 - 0,50
Tratamiento con dosis medias (entre 1 y 10 kGy)			
Ciertas frutas y vegetales, pan cortado	Prolongación de las propiedades de conservación	Reducción de poblaciones de bacterias, hongos y mohos	1 - 3
Carne, aves de corral, pescado	Mejoramiento del almacenaje refrigerado	Reducción de la población de microorganismos capaces de desarrollar a bajas temperatura	1 - 5
Carne, aves de corral, huevos, polvo de huevo, ancas de rana, productos de mar congelados y otros alimentos que contienen microorganismos patógenos	Prevención de intoxicación alimentaria	Destrucción de <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Yersinia</i> y otros patógenos no formadores de esporas	3 - 10
Espicias, vegetales secos y otros ingredientes de alimentos	Prevención de la contaminación de alimentos por el agregado de ingredientes	Reducción de la población de microorganismos en ingredientes	3 - 10
Tratamiento con altas dosis (entre 10 y 45 kGy)			
Carne, aves de corral	Asegurar el almacenaje a largo plazo sin refrigeración	Destrucción de organismos de la putrefacción y patógenos, incluyendo los formadores de esporas	25 - 45
Viandas de hospital o constituyentes de tales viandas	Suministro de viandas estériles a pacientes	Idem anterior	25 - 45

4.3. Química de las radiaciones

4.3.1. Fundamentos

Cuando los rayos gamma o rayos X interactúan con un material, pueden ocurrir principalmente tres tipos de efectos generándose electrones con elevada energía cinética:

- efecto fotoeléctrico
- efecto Compton
- producción de pares (formación de pares de electrones y positrones)

El efecto fotoeléctrico predomina con fotones de energías menores de 0,1 MeV y la producción de pares ocurre principalmente con fotones de energías superiores a 1,02 MeV. Estos dos fenómenos son de menor importancia en la irradiación de alimentos donde, para un rango de energías intermedias, el efecto Compton es el predominante.

Tal como se representa en la Figura 9, en el efecto Compton un fotón incidente interactúa con un electrón de un átomo del material absorbedor, de tal manera que un electrón orbital es eyectado. Después de este choque, el fotón continúa su recorrido con otra dirección y menor energía, pudiendo repetir el proceso con otro átomo.

Así, los electrones generados por efecto Compton o aquellos provenientes de máquinas generadoras de electrones pasan a través de la muestra (del alimento) causando los siguientes efectos primarios:



Los electrones removidos de los átomos o moléculas en los procesos primarios pueden tener suficiente energía para causar nuevas ionizaciones, disociaciones o excitaciones. A menudo esto ocurre cerca de la ionización original, dando lugar a pequeños grupos de eventos llamados “spur” a lo largo de la trayectoria original o “track” (Woods y Pikaev, 1994).

Las moléculas excitadas pueden sufrir desexcitación liberando la energía en forma de luz, o pueden recibir energía adicional de otra interacción, dando lugar a su posterior disociación o ionización.

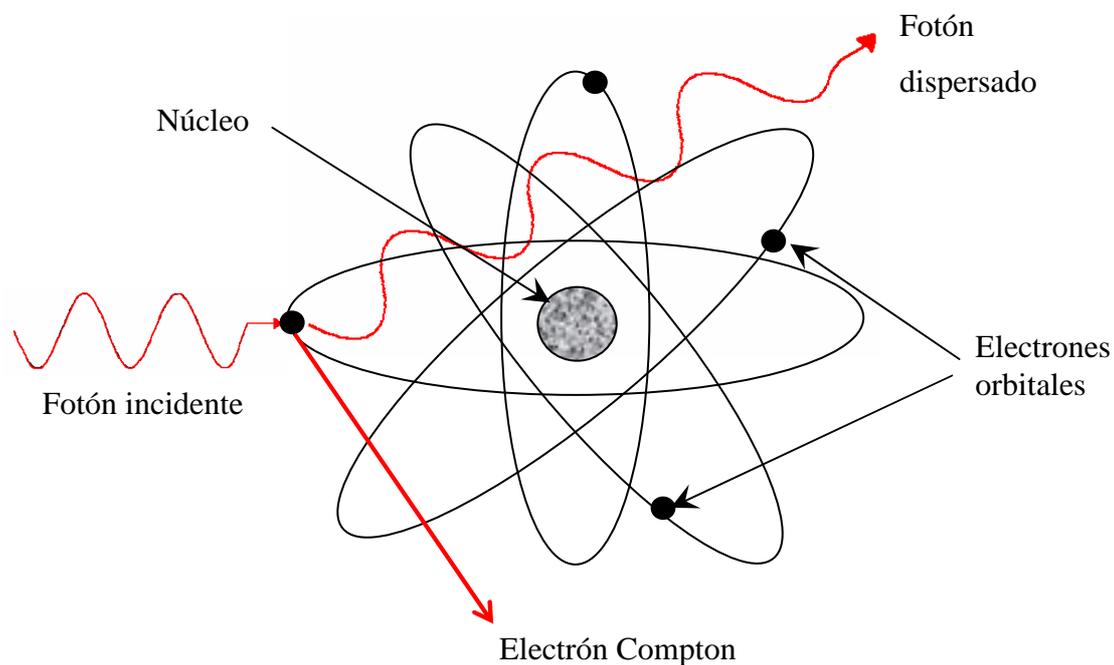


Figura 9: Esquema representativo del efecto Compton.

Los radicales libres producidos como resultado del efecto primario son altamente reactivos, y pueden sufrir reacciones tales como recombinación, dimerización, o captura electrónica, dando lugar a los efectos secundarios.

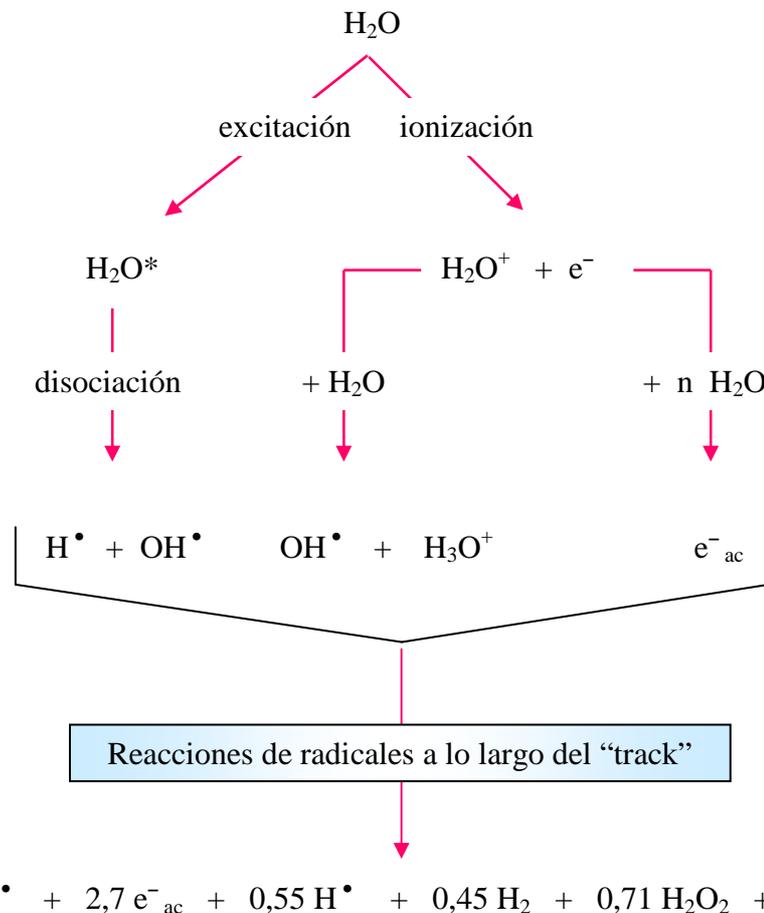
Los procesos secundarios involucran la interacción de los productos de los procesos primarios y pueden conducir a la formación de compuestos distintos a aquellos presentes inicialmente. Mientras que los procesos primarios son independientes de las condiciones de trabajo, los efectos secundarios dependen de las estructuras químicas específicas y de las condiciones experimentales tales como dosis, velocidad de dosis y temperatura. La presencia de impurezas o aditivos pueden ser determinantes en la formación de productos.

El proceso global que produce cambios químicos como resultado de la irradiación de algún medio es llamado radiólisis, y los productos de los efectos primarios y secundarios son productos radiolíticos.

4.3.2. Efectos de la radiación ionizante sobre el agua

4.3.2.1. Radiólisis del agua

El principal componente de la mayoría de los alimentos es el agua. Su proporción es aproximadamente del 70% en carnes, 80% en frutas y 90% en muchos vegetales. Por lo tanto, la radiólisis del agua es de particular interés en irradiación de alimentos. Estos efectos pueden ser expresados de manera simplificada en el siguiente esquema:



en el cual los números son valores G, que representan la cantidad de átomos o moléculas que cambian (que reaccionan o se producen) por 100 eV de energía absorbida por el medio.

Cuando una solución acuosa es irradiada, las moléculas del sustrato pueden ser afectadas directamente por la radiación ionizante, o ellas pueden ser afectadas por reacciones con especies reactivas intermediarias de la radiólisis del agua. Los primeros son efectos directos y los últimos son efectos indirectos. Esta terminología no solo es aplicada

a soluciones acuosas. Si una mezcla de dos sustancias es irradiada, cada sustancia será expuesta tanto a efectos directos como indirectos causados por productos radiolíticos reactivos de la otra sustancia.

4.3.2.2. Influencia de las condiciones de irradiación

Cuando se irradia un alimento dado, los efectos químicos son básicamente independientes del tipo de radiación usada (rayos gamma, rayos X o electrones), siempre que las radiaciones penetren igualmente en todas las partes del alimento. Sin embargo, otros factores pueden ejercer una influencia significativa sobre los efectos producidos.

- *Dosis:* La magnitud de los efectos primarios y secundarios dependerá de la energía de radiación absorbida por la sustancia irradiada, esto es, de la dosis de radiación. La dosis afecta la magnitud de los cambios radiolíticos que ocurren en un alimento irradiado. La formación de productos usualmente se incrementa linealmente con la dosis. Sin embargo, este podría no ser el caso en el rango de muy altas dosis, ya que los productos radiolíticos formados pueden ser destruidos por la misma radiación, de tal manera que la formación del producto no incrementará con la dosis. En irradiación de alimentos se supone en general un incremento lineal de los efectos con el incremento de la dosis.

- *Oxígeno:* La presencia o la ausencia de oxígeno durante la irradiación puede tener una importante influencia en el curso de la radiólisis. Los agentes reductores e^-_{ac} y H^\bullet formados en la radiólisis del agua pueden reaccionar con el oxígeno dando lugar a la formación de peróxido de hidrógeno. Por lo tanto, la formación de este compuesto en sistemas irradiados depende de la concentración de oxígeno. Con la irradiación también se puede formar ozono, un agente oxidante muy poderoso. A través de estas reacciones, las pequeñas cantidades de oxígeno presentes en un alimento pueden ser rápidamente consumidas, creando una condición anaeróbica. En el caso de irradiación con electrones con dosis mayores que 0,6 kGy esta condición se mantiene debido a que el oxígeno del sistema es eliminado a una velocidad mayor que aquella con la que es reemplazado por la difusión del oxígeno atmosférico. Debido a que las fuentes gamma entregan una dosis de radiación a una velocidad de dosis mucho menor que los aceleradores de electrones, el oxígeno puede difundir en la muestra durante la irradiación y, por lo tanto, las condiciones anóxicas no existen a menos que la muestra sea irradiada en vacío o bajo nitrógeno u otro

gas protector. De este modo, debido a la diferencia en la velocidad de dosis, el efecto total de la irradiación con electrones sobre un material, puede a veces, ser diferente de aquel producido por la irradiación gamma, a igual dosis. Este efecto aparente de la velocidad de dosis es en realidad un efecto del oxígeno.

- *Temperatura*: La temperatura durante la irradiación también influye sobre la magnitud de los cambios radiolíticos. Ha sido establecido que los efectos de la radiación sobre varios constituyentes de los alimentos pueden ser considerablemente minimizados si el producto se mantiene congelado durante la irradiación (Diehl, 1990). Este efecto se atribuye al hecho que los radicales son atrapados en el material congelado, reduciéndose drásticamente su velocidad de difusión y la reactividad de los mismos (Taub y col., 1978).

- *pH*: El pH influye en los cambios radiolíticos de un sistema porque afecta las siguientes reacciones de equilibrio:



Por lo tanto, un medio ácido favorecerá la desaparición de e^{-}_{ac} mientras que un medio alcalino podría favorecer la formación del mismo.

4.3.3. Efectos de la radiación ionizante sobre otros componentes de los alimentos

Sin considerar el agua, los principales componentes de los alimentos son los carbohidratos, lípidos y proteínas, siendo las vitaminas y minerales importantes componentes minoritarios.

- *Proteínas*: Las proteínas están compuestas por cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Por lo tanto, el estudio del efecto de la radiación sobre los aminoácidos puede proveer información valiosa para entender los cambios inducidos por radiación en las moléculas de proteínas (Urbain, 1977). Los principales cambios radiolíticos en soluciones acuosas de aminoácidos alifáticos simples son la desaminación y descarboxilación. Los productos resultantes incluyen NH_3 , CO_2 , H_2 , aminas, ácidos alifáticos y aldehídos. Los aminoácidos que contienen azufre, tales como cistina, cisteína y

metionina, probablemente son los más sensibles a la radiación. Usualmente el grupo azufrado es oxidado, formándose H_2S , S elemental o compuestos volátiles de azufre.

Los aminoácidos con estructura cíclica pueden sufrir la ruptura del anillo. La desaminación de aminoácidos aromáticos ocurre, pero no en el mismo grado que con los aminoácidos alifáticos. La hidroxilación de anillos aromáticos es la principal reacción de la fenilalanina y la o-tirosina.

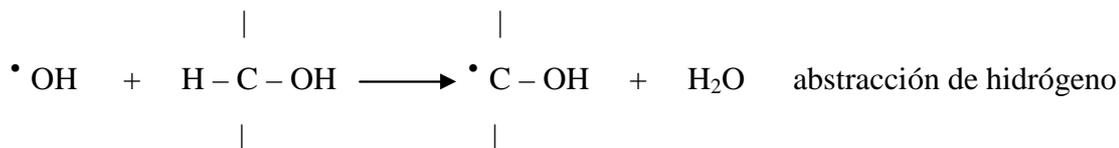
Una molécula de proteína responde a la radiación en forma dual: como una entidad proteica y como aminoácidos individuales. En cierto grado, el efecto particular de la radiación está relacionado con la estructura de la proteína; su composición, si está en forma natural o desnaturalizada, deshidratada o en solución, líquida o congelada y con la presencia o ausencia de otras sustancias. El fenómeno de la desnaturalización por irradiación se manifiesta por sí mismo como cambios en la viscosidad de soluciones, en la solubilidad, en el comportamiento electroforético, en cambios en el espectro de absorción, en reacciones con enzimas y en cambios inmunológicos. También se ha observado que ocurren la fragmentación y agregación de proteínas (Delincée, 1983a).

En términos de la proteína como un todo, las consecuencias de los cambios recién descritos pueden ser variadas, como por ejemplo la desnaturalización, el deterioro o la alteración de las características funcionales en sistemas biológicos, cambios que pueden ser letales para un organismo.

El valor nutritivo de las proteínas está ampliamente relacionado con sus aminoácidos. Las dosis empleadas en irradiación de alimentos no producen cambios significativos en la composición de aminoácidos de las proteínas; en consecuencia, la irradiación no causa pérdidas nutricionales apreciables en el valor proteico.

- *Carbohidratos:* Los carbohidratos forman parte de la mayoría de los alimentos. Como sustancias cristalinas ellos son muy sensibles a la radiación, dando un gran número de productos incluyendo H_2 , CO_2 , aldehídos, cetonas, ácidos y otros carbohidratos. Dauphin y Saint-Lèbe (1977) y Adam (1983) han dado una descripción detallada de los productos radiolíticos formados de diversos sacáridos irradiados en distintas condiciones.

En presencia de agua, ocurre la degradación oxidativa debido a la acción directa e indirecta de la radiación. Por acción indirecta, los carbohidratos son atacados principalmente por radicales $\bullet OH$. Estos radicales abstraen predominantemente el hidrógeno de los enlaces C – H, formando H_2O :



Los radicales resultantes reaccionan posteriormente a través de mecanismos de desproporción, dimerización y deshidratación, produciendo ácidos, cetonas y aldehídos. La irradiación de hidratos de carbono en presencia de oxígeno causa reacciones secundarias.

Los oligosacáridos forman monosacáridos y productos similares a aquellos obtenidos con la irradiación de azúcares simples.

Los polisacáridos también se degradan por irradiación a través del clivaje de la unión glicosídica. Esto conduce a la formación de unidades menores de carbohidratos tales como glucosa o maltosa, dando como resultado un ablandamiento y pérdida de textura de algunas frutas, y disminución de la viscosidad de soluciones de polisacáridos.

La irradiación de carbohidratos en estado seco produce cambios en su punto de fusión, la rotación óptica y el espectro de absorción. Los productos radiolíticos formados incluyen formaldehído, acetona, lactonas, glioxal y peróxido de hidrógeno, mientras que se liberan gases tales como H₂, CO₂, CH₄ y CO.

Cuando los carbohidratos en solución son irradiados se producen malonaldehído y desoxicompuestos. El pH de la mayoría de los alimentos limita en gran parte la producción de estos compuestos. Las proteínas y los aminoácidos, entre otras sustancias, protegen a los carbohidratos del cambio radiolítico. Debido a esto es difícil extrapolar los resultados obtenidos para sistemas simples a sistemas complejos tales como aquellos que existen en alimentos.

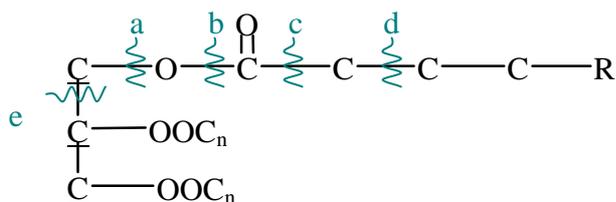
- *Lípidos*: El mecanismo general de la radiólisis de lípidos ha sido profundamente estudiado sobre sistemas modelo, grasas naturales y alimentos con alto contenido lipídico (Nawar, 1977, 1978, 1983) (Hammer y Wills, 1979) (Delincée, 1983b). En contraste con las reacciones de los hidratos de carbono y las proteínas, las reacciones de los lípidos con especies reactivas provenientes de la radiólisis del agua, juegan un rol secundario, al menos desde el punto de vista cuantitativo. Cualitativamente ellas pueden ser importantes en los lípidos de membranas lindantes con los fluidos acuosos celulares.

Las reacciones químicas resultantes de la irradiación de lípidos son afectadas por diversos parámetros, tales como la composición del lípido (saturado o insaturado), la presencia de otras sustancias (por ejemplo antioxidantes), si el lípido está en estado líquido o sólido, y las condiciones de irradiación (dosis, velocidad de dosis, temperatura, presencia

de oxígeno). Particularmente con los lípidos, el tratamiento post-irradiación (atmósfera y temperatura de almacenaje) también es importante.

La porción lipídica o grasa de los alimentos está compuesta básicamente por triglicéridos. Es por ello que generalmente los estudios sobre la radiólisis de lípidos se limitan a esta fracción mayoritaria.

Cuando se irradian grasas se pueden inducir cambios oxidativos y no oxidativos. Los cambios no oxidativos ocurren cuando se excluye el O_2 durante y después de la irradiación. Los productos radiolíticos incluyen H_2 , CO_2 , CO , alcanos, alquenos y aldehídos. En el caso de grasas insaturadas se produce alguna hidrogenación y se forman cantidades significativas de dímeros. El mecanismo general de la radiólisis no oxidativa de un triglicérido involucra la ruptura preferencial de 5 enlaces de la molécula y al azar en el resto de los enlaces C – C de los ácidos grasos, como se muestra en la siguiente figura:



(Los lugares de clivaje preferidos son a, b, c, d y e; n es el número de átomos de carbono en el AG.)

Los radicales libres formados por estas escisiones principalmente adicionan hidrógeno obtenido por extracción de otras moléculas o, en menor grado, pierden hidrógeno o se combinan con otros radicales libres. De esta manera se forma una serie de sustancias radiolíticas estables (Nawar, 1978).

El proceso oxidativo inducido por irradiación es casi el mismo que el que ocurre sin irradiación, aunque ésta acelera el proceso. Se producen radicales libres cuyo tipo y velocidad de desaparición son afectados por la temperatura. Después de la irradiación estos radicales libres pueden reaccionar con O_2 durante un largo período. Los radicales libres causan la formación de hidroperóxidos, los cuales producen una gran variedad de compuestos incluyendo alcoholes, aldehídos, hidrocarburos, hidroxí y cetoácidos, cetonas, lactonas, oxoácidos y compuestos diméricos.

Los fosfolípidos son una importante clase lipídica debido a su contenido de ácidos grasos insaturados. La tendencia de los FL a oxidarse muy rápidamente es de gran importancia para el desarrollo del sabor en alimentos con alto contenido graso, por ejemplo las carnes. Con respecto a la radiólisis de los FL existe muy poca información. Trabajos realizados con dipalmitoil-fosfatidiletanolamina irradiada con 500 kGy, revelaron la producción del AG del sustrato, hidrocarburos, aldehídos, cetonas y ésteres, productos radiolíticos típicos del AG constitutivo, y consistente con el mecanismo sugerido para la radiólisis (Delincée, 1983b). Cuantitativamente, las cantidades de productos volátiles provenientes del FL irradiado fueron mucho menores que aquellas formadas para los TG. Además de estos compuestos esperados, fueron identificados varios aldehídos de cadena corta, metil y etil ésteres y una serie de metil, etil y propil cetonas. Los mecanismos por los cuales se formaron estos compuestos no son claros. Dada la elevada dosis de radiación usada en esta experiencia (500 kGy), la cual es mucho mayor que las dosis empleadas para el procesamiento de alimentos, la aparición de estos compuestos en alimentos irradiados sería dudosa.

- *Vitaminas*: La estabilidad de las vitaminas frente a la radiación es importante cuando se analizan aspectos nutricionales de los alimentos irradiados. Algunas vitaminas son consideradas sensibles a la radiación ionizante, si bien, como es de esperar, el efecto de la radiación sobre una vitamina depende en gran parte del medio en el cual se encuentra la misma (Tobback, 1977). Un medio complejo como el que existe en los alimentos reduce su sensibilidad a la radiación. Además, cabe aclarar que las dosis usadas y las condiciones de irradiación pueden, en gran parte, alterar su estabilidad (Basson, 1983).

Las vitaminas pueden ser clasificadas de acuerdo a su solubilidad en agua o en lípidos. La amplia variedad de estructuras químicas de las vitaminas implica diferentes respuestas a la radiación. De las vitaminas solubles en agua, la vitamina B₁ (tiamina) es la más sensible. Su estructura química la hace susceptible al ataque de e⁻_{ac}. La vitamina C o ácido ascórbico, otra vitamina soluble en agua, también es sensible a la radiación y forma entre otros productos el ácido dehidroascórbico (Simic, 1983). Otras vitaminas solubles en agua sensibles a la radiación son la riboflavina, vitamina B₁₂ y biotina. Niacina, ácido pantoténico y ácido fólico parecerían ser bastante resistentes.

Entre las vitaminas liposolubles, la vitamina E es la más radiosensible y la vitamina D la menos sensible a la radiación. La vitamina A también es relativamente sensible a la radiación ionizante debido a que su actividad disminuye por isomerización cis-trans

(Tobback, 1977). En cuanto a la estabilidad de la vitamina K, los informes son contradictorios.

- *Minerales*: Los minerales, como tales, no son afectados por la radiación. Sin embargo, el contenido mineral en alimentos secos envasados que han sido esterilizados con radiación ionizante puede ser mayor que en aquellos alimentos esterilizados con calor, debido a que en estos últimos, los minerales pueden perderse con los jugos durante la cocción.

4.4. Aspectos legales

4.4.1. Salubridad de los alimentos irradiados

Los términos “sano” o “salubridad” son usados a menudo en discusiones sobre la inocuidad de alimentos en general y de alimentos irradiados en particular. Con respecto a estos últimos, las consideraciones de salubridad o “seguridad para el consumo” involucran cuatro criterios:

- La ausencia de radiactividad inducida medible (seguridad radiológica).
- La ausencia de productos radiolíticos tóxicos, mutagénicos o carcinogénicos (seguridad toxicológica).
- La ausencia de microorganismos patógenos viables y sus toxinas (seguridad microbiológica).
- Evitar la pérdida excesiva del valor nutritivo (calidad nutricional).

Basados en estudios toxicológicos, radioquímicos y aquellos que demuestran la ausencia de cualquier efecto adverso resultante del suministro de dietas irradiadas a animales de laboratorio, ganado y pacientes inmunológicamente deprimidos, el Comité Conjunto de Expertos de la FAO/OIEA/OMS concluyó en 1980 que “la irradiación de cualquier artículo alimenticio con una dosis total promedio de hasta 10 kGy no presenta riesgo toxicológico; por lo tanto, no se requieren análisis toxicológicos de alimentos así tratados”. También se encontró que la irradiación de hasta 10 kGy “no introduce problemas nutricionales o microbiológicos especiales”

En este mismo informe se recomienda irradiar alimentos con niveles de energía que no excedan los 10 MeV para electrones acelerados o 5 MeV para rayos X. Bajo estas condiciones nunca ha sido observada radiactividad inducida en alimentos tratados con una dosis de radiación en un rango prácticamente útil de hasta 50 kGy.

Debido a la efectividad del proceso de irradiación para controlar patógenos portados por los alimentos sumado a la posibilidad de realizar el tratamiento de los productos ya envasados (disminución de contaminaciones cruzadas), la mayoría de los funcionarios de seguridad alimentaria del mundo, consideran a la irradiación como un efectivo Punto Crítico de Control (PCC) dentro del Sistema de Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos -HACCP- (Satin, 2002).

4.4.2. Etiquetado

El Comité Conjunto de Expertos en alimentos irradiados de la FAO/IAEA/OMS ha dejado claro que “la irradiación es un proceso físico para el tratamiento de alimentos y como tal es comparable al calentamiento o al congelamiento de alimentos para su preservación” (Diehl, 1990).

El alimento irradiado no necesitaría ser etiquetado por razones de seguridad. Considerando que otras formas de procesamiento de alimentos no son identificadas con un rótulo y que los alimentos irradiados no presentan riesgos, ha sido sugerido que estos no deberían ser especialmente etiquetados.

Los alimentos irradiados no pueden ser reconocidos por los consumidores, por medio de la vista, el olfato, el gusto o el tacto. La única forma segura de saber si un alimento ha sido procesado por irradiación, es si el producto lleva una etiqueta que anuncie claramente el tratamiento mediante un símbolo, con palabras o ambos. El símbolo mostrado en la Figura 10, denominado Radura, tiene reconocimiento internacional para indicar si el producto alimenticio ha sido tratado con radiación ionizante. Este símbolo fue ideado en 1972 por el Dr. R. M. Ulmann, quién fuera el director de la Planta Piloto de Irradiación de Alimentos de Holanda.



Figura 10. Radura: símbolo reconocido internacionalmente para alimentos irradiados.

4.5. Situación de la irradiación de alimentos en el mundo

Actualmente 41 países cuentan con la aprobación de alimentos irradiados en su legislación (IAEA, 2006). Por orden alfabético ellos son: Argentina, Bangladesh, Bélgica, Brasil, Bulgaria, Canadá, Chile, China, Costa Rica, Croacia, Cuba, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Hungría, India, Indonesia, Irán, Israel, Italia, Japón, Korea del Sur, Méjico, Holanda, Noruega, Pakistán, Filipinas, Polonia, Rusia, Sudáfrica, España, Siria, Taiwan, Tailandia, Ucrania, Inglaterra, Uruguay, Estados Unidos de América, Vietnam y Yugoslavia (Tabla 2) . Suiza lo permite en su legislación pero aún no ha declarado el tipo de alimento a tratar. De los 7 países industrializados sólo Alemania no permite la irradiación de alimentos. El tipo de aprobación puede ser para alimentos en general o algunos en particular además de condicional o incondicional.

En particular en la Argentina la investigación y el desarrollo del procesamiento de alimentos con radiaciones ionizantes comenzó en 1965 por parte de la Comisión Nacional de Energía Atómica. En 1971 el Código Alimentario Argentino reconoce, en su Art. 174, el tratamiento de alimentos con radiaciones ionizantes. A partir de esto se aprobó paulatinamente en forma incondicional la irradiación de los siguientes alimentos: en 1989 papa, ajo, cebolla y frutilla; en 1990 especias y condimentos; en 1992 frutas secas y vegetales deshidratados y en 1994 espárragos y champiñones. Además desde el 2003 el país cuenta con la Norma IRAM 20301, que se refiere a las buenas prácticas de manufactura para el proceso de irradiación de alimentos destinados para el consumo

humano. También en el 2003 la CNEA solicitó la actualización del CAA en cuanto a la irradiación de carnes rojas, carnes de pollo, pescados y mariscos.

Además de la CNEA y la Universidad Nacional del Sur otras instituciones que han investigado sobre el tema son: Universidad Nacional del Comahue, Universidad Nacional de Cuyo y Universidad Católica de San Juan, INTA (Castelar), Universidad Nacional de Entre Ríos y Universidad Nacional de Salta.

En el mundo existen aproximadamente 180 facilidades de irradiación pero se cuenta con información sobre 104. De las cuales 91 cuentan con fuentes isotópicas de Cobalto-60 y 13 operan mediante aceleradores de electrones (IAEA, 2007)

En la Argentina existen tres plantas autorizadas para operar: Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI) ubicada en el Centro Atómico Ezeiza de la Comisión Nacional de Energía Atómica, IONIC S.A. (Tigre-Pcia de Bs.As.) y Sinercom S.A. (Salta).

5. Procesamiento por irradiación de productos marinos

5.1. Generalidades

La utilización de bajas dosis de irradiación en productos marinos resulta efectiva para la reducción del número de microorganismos presentes, tanto de aquellos responsables del deterioro como de los patógenos. En el pescado los microorganismos están presentes sobre la piel, en el mucus y en las branquias. En general el tejido muscular es estéril (Forsythe y Hayes, 1999).

Cuando se tiene por objetivo el control de microorganismos para extender la vida útil o comercial del producto, el nivel de dosis de irradiación es de fundamental importancia para mantener la integridad y calidad de un producto marino. Si las dosis absorbidas superan los valores máximos apropiados se pueden afectar adversamente a las proteínas y a la calidad sensorial del alimento. La mayoría de los estudios sobre productos marinos irradiados abarcan tanto aspectos microbiológicos como sensoriales.

Las ventajas en el uso de bajas dosis de radiaciones ionizantes (<3kGy) son las siguientes:

- ✓ Reducción o eliminación del 90-95% de microorganismos responsables del deterioro con lo cual contribuye a extender la vida útil del producto.
- ✓ Reducción o eliminación de bacterias patógenas específicas asociadas a los productos marinos.

Por ejemplo los langostinos almacenados en hielo mantienen una buena calidad hasta los 7 días, pero al ser irradiados con 1,5 kGy es posible extender su aptitud por 7 a 10 días más (Grodner y Andrews, 1991). Grodner y Hinton (1987) informaron que 1 kGy resultó efectiva para eliminar *Escherichia coli* y *Vibrio spp.* en ostras.

La dosis óptima es aquella que produce la mayor extensión del período de aptitud sin afectar las características sensoriales del producto. Mientras que la dosis máxima es la que provoca el inicio de cambios significativos en las características sensoriales.

En general las especies magras son menos susceptibles a los cambios sensoriales causados por la irradiación. Mientras que en las especies con alto contenido de grasa y aquellas con intenso color (ej.: salmón), el proceso de irradiación puede causar cambios en el color o la oxidación de sus lípidos. Cabe aclarar que la esterilización de productos pesqueros por irradiación es desaconsejada, ya que se requieren dosis de entre 40 y 50 kGy que tornan inaceptable al producto (Andrews y Grodner, 2004).

5.1.1. Efectos de la radiación sobre los microorganismos en productos marinos.

Las radiaciones ionizantes causan daños en macromoléculas incluyendo los ácidos nucleicos (Diehl, 1990). Las bacterias son dependientes de sus ácidos nucleicos, por lo que la mayoría de los microorganismos son eliminados por la radiación.

Las bacterias exhiben diferentes resistencias al proceso de irradiación. Las Gram negativas son más sensibles a la radiación que las Gram positivas. La mayoría de los microorganismos causantes del deterioro, al ser Gram negativas, son menos resistentes a las radiaciones ionizantes (Forsythe y Hayes, 1999)

Bacterias gram positivas como son *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus*, *Bacillus* y *Clostridium*, son las más resistentes al proceso de irradiación. En general, los virus son extremadamente resistentes a las bajas dosis de irradiación aplicadas. Mientras que los parásitos requieren relativamente poca dosis para ser inactivados.

5.1.2. Efectos de la radiación sobre microorganismos del deterioro de productos marinos

Uno de los objetivos de la irradiación de productos pesqueros es la extensión de la vida útil (radurización), ya que tanto pescados como mariscos son productos altamente perecederos. La extensión del período de aptitud en algunos días, hace posible incrementar la viabilidad de esta industria y la comercialización de estos productos.

La calidad de los productos marinos puede ser determinada en forma subjetiva a través del análisis sensorial por parte de los consumidores. Mientras que, el recuento del total de bacterias aerobias causantes del deterioro es una medida objetiva de la frescura del producto (Andrews y Grodner, 2004). Dicho recuento también brinda una medida de la calidad sensorial del producto y puede ser indicativo de un problema de seguridad alimentaria.

La flora microbiana del pescado recién capturado refleja el estado de su medio ambiente. En pescados y mariscos la flora predominante son las bacterias Gram negativas del género *Pseudomonas*, las que componen el 60% de la flora total (Andrews y col., 1998). Otras especies microbianas relacionadas al deterioro del pescado son *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Proteus* y levaduras (Nickerson y col., 1983).

La vida útil puede ser incrementada en por lo menos 7 días en la mayoría de las especies de pescados y mariscos, utilizando dosis \leq a 2 kGy bajo condiciones de refrigeración. Con estas dosis, los microorganismos del deterioro son reducidos en un 99,9% (Andrews y col., 1998). Este hecho da como resultado la extensión del período de aptitud en numerosas especies de pescado marinos (punto 5.2.1).

5.1.3. Efectos de la radiación sobre microorganismos patógenos en productos marinos

Los estudios con radiación gamma sobre pescados y mariscos bajo refrigeración se han centralizado en el uso de bajas dosis. La principal razón por la cual no se debe superar las dosis de 10 kGy es que resulta afectada la calidad sensorial y física del producto marino, eliminando así su característica de fresco. Las ventajas en el uso de bajas dosis incluye el control o eliminación muchos agentes patógenos (radicación) y también de parásitos, con un incremento en su período de aptitud en promedio de 7 a 10 días (Andrews y Grodner, 2004).

Las bacterias patógenas se encuentran en el pescado de diversas formas. Los patógenos primarios son aquellos encontrados en el medio ambiente e incluyen a *Vibrio spp.*, *Aeromonas* y *Clostridium botulinum tipo E*. En comparación con otros patógenos las especies de *Vibrios* tienen comprobada sensibilidad a las bajas dosis de irradiación. La supervivencia de bacterias patógenas en alimentos irradiados depende no solo de la dosis y del sustrato, sino también de la temperatura de almacenaje y del número de bacterias competitivas presentes (Nickerson y col., 1983)

La principal razón para el uso de las radiaciones ionizantes en el período post-captura del pescado, radica en la posibilidad de eliminar el riesgo de *Vibrio vulnificus*. El *Vibrio parahaemolyticus* es el más resistente de todos los *Vibrios* patógenos analizados, pero utilizando dosis de irradiación de 1,5 kGy puede ser reducido a niveles no detectables (Andrews y col., 2002; Cook, 2001).

Palumbo y col. (1986) demostraron que el uso de dosis de 1,5 kGy fue suficiente para eliminar *Aeromonas hydrophilia* presentes en bluefish. El *Clostridium botulinum tipo E* ha sido siempre un problema potencial en productos marinos, encontrándose naturalmente en el medio ambiente costero, produciendo la toxina botulínica bajo ciertas condiciones de almacenamiento. En langostinos frescos inoculados con esporas de esta bacteria e irradiados con una dosis de 1,5 kGy, no se produjo toxina durante 31 días de almacenaje en hielo (Andrews y col., 1998). Sin embargo, cuando se inoculó e irradió con

dosis de 1,5 a 5 kGy langostinos envasados bajo vacío y almacenados a 6°C, la toxina botulínica fue producida en todas las muestras después de los 7 días, a excepción de las muestras tratadas con dosis de 5,0 kGy. Con la dosis más alta, la toxina no fue producida hasta los 30 días de almacenaje (Jimes, 1967). Los pescados grasos son considerados más botulogénicos que los magros. Este fenómeno se atribuyó originalmente al diferente contenido de grasa. Estudios posteriores demostraron la implicancia de la glucosa o ribosa como nutriente crítico (Nickerson y col., 1983).

Los productos pesqueros también pueden estar expuestos a bacterias patógenas intestinales de origen humano, presentes en el medio ambiente. Entre ellas están las especies de: *Salmonella*, *E. coli*, *Enterococcus*, *Shigella* y *Listeria monocytogenes*.

La *Listeria monocytogenes* en cultivos puros, fue destruida con dosis menores a 2 kGy (Andrews y col., 1995). Juneau (1989) informó que *Listeria monocytogenes* permaneció viable en carne de cangrejo irradiada con dosis de 2 kGy. Otro problema es la introducción de esta especie en la manipulación del producto, como lo es el pescado ahumado (Andrews, 2003).

Cui y col. (2000) recomendaron la aplicación de una dosis de alrededor de 2 kGy, cuando se tiene como objetivo la reducción de *Salmonella* en productos marinos.

El indicador más importante de contaminación fecal en el ambiente es *Escherichia coli*. Lee (1966) informó que *E. coli* inoculada en langostinos y ostras, tuvieron una supervivencia del 5% tratando con 1 kGy y de 0,1% con dosis de 2 kGy. Los *Enterococos* muestran una respuesta similar cuando se irradian las muestras con dosis mayores a 2 kGy (Deitrich, 1968). Para el caso de *Streptococcus faecalis* cuando se irradiaron las muestras con dosis de 1 y 2 kGy se redujo su número en 4 y 5 ciclos logarítmicos respectivamente.

Otro problema a ser tenido en cuenta es la introducción de patógenos como el *Staphylococcus aureus* durante la manipulación y el envasado del pescado. Utilizando dosis de 1 kGy dicho patógeno fue reducido en 4 ciclos logarítmicos en langostinos frescos almacenados por 21 días (Kendall, 1969). El proceso de pelado del langostino marrón europeo aumenta el riesgo sanitario por la presencia de este microorganismo (Diehl, 1990). Está demostrado que 1,3 kGy es una alternativa superior al uso de mezclas de conservantes como el ácido benzoico y el ácido cítrico para evitar su presencia en este producto (Diehl, 1990). Otro estudio informó que fue necesaria una dosis tan alta como 5 kGy para inactivar esta bacteria en caballa deshidratada y ahumada (Ahmed y col. 1985). Debido a la baja actividad acuosa de estos productos, no se produjeron cambios sensoriales adversos.

Los virus en general son los microorganismos patógenos más resistentes al proceso de irradiación. En la mayoría de los casos el cocinado de los productos pesqueros elimina el riesgo de una infección viral. La inactivación de virus patogénicos en pescados y mariscos, requiere de dosis muy altas de irradiación para ser utilizadas por la industria alimenticia (Nickerson y col., 1983; Urbain, 1986).

Los parásitos en el pescado son controlados mediante el congelado de los mismos. Se requiere para la eliminación de parásitos una dosis mayor a 5 kGy, y además no es considerado un proceso viable para el pescado que es consumido crudo. Van Mameren y col. (1969) informaron que fue necesaria una dosis de 6 kGy para inactivar *Anisakis* en arenque. Esta dosis provoca un producto inaceptable en apariencia y sabor.

5.2 Extensión de la vida comercial de especies marinas

La utilización de las radiaciones ionizantes en especies pesqueras ha sido propuesta para extender la vida útil de las mismas a temperaturas de refrigeración. El tratamiento por irradiación de especies pesqueras está limitado al uso de bajas dosis de radiación. Estas dosis eliminan el 90-95% de los microorganismos responsables de la pudrición y reducen o eliminan bacterias patógenas comúnmente asociadas con alimentos de origen marino. La aplicación de altas dosis producen cambios indeseables en los productos especialmente en el sabor.

El efecto del tratamiento con radiaciones ionizantes ha sido investigado en numerosas especies de pescados, crustáceos y moluscos (Nickerson y col. 1983, Singh 1993 y Andrews y Grodner, 2004). La mayoría de las investigaciones se han llevado a cabo empleando aquellas especies relativamente más abundantes en los Océanos Atlántico y Pacífico.

En los últimos cincuenta años, la mayoría de la información que existe sobre proceso de irradiación de especies marinas ha sido generada en centros de investigación universitarios. La determinación de la extensión de la vida útil mediante esta tecnología se ha basado principalmente en estudios sensoriales y microbiológicos.

5.2.1. Extensión de la vida útil de pescados marinos irradiados

En general, los productos pesqueros tienen una vida comercial relativamente corta a menos que se aplique algún método de conservación lo más pronto posible luego de la captura. El principal objetivo del procesado por radiación es el de eliminar o reducir en

gran medida cualquier tipo de microorganismo patógeno o del deterioro que pueda estar presente en los alimentos, sin inducir cambios sensoriales en el producto (Andrews y Grodner, 2004). La efectividad del proceso de irradiación se puede incrementar en combinación con otros tratamientos tales como calor, frío y conservantes químicos.

La ventaja de extender la vida útil de productos de pesca por irradiación hace posible su transporte para ser comercializados en regiones distantes, también estabilizaría el mercado de algunas especies marinas y se podría contar con una provisión constante de pescado fresco.

Una recopilación de datos sobre el impacto de la radiación en la vida útil de importantes pescados marinos se detalla a continuación, indicando los valores de dosis mínimas necesarias, dosis máximas aceptables y dosis óptimas según corresponda.

5. 2.1.1. Especies magras

Anglerfish (*Lophius americanus*) - rape

Este pescado es también conocido como monkfish, y sólo la porción de la cola es utilizable. La dosis óptima determinada fue de 1,5 kGy, mientras que la dosis máxima no ha sido establecida (Carver y col., 1967). Se encontró que esta dosis aplicada en estado de pre-rigor no afectó las características organolépticas durante 20 días de almacenaje en hielo.

Atlantic Cod (*Gadus morhua morhua*) - bacalao

Las dosis óptimas fueron determinadas entre 1,5 y 2,5 kGy con una dosis máxima comprendida entre 4,5 y 5 kGy. Sin embargo ha sido indicado que con dosis superiores a 3 kGy aparecen pérdidas en el sabor. Por otra parte el pescado irradiado en el período de pre-rigor presenta mejores características organolépticas que el irradiado en estado post-rigor. También la manera en la cual se lo ha capturado podría afectar la eficiencia de la irradiación, mostrando que aquellos capturados con líneas de anzuelos fueron mejores que los capturados mediante redes de arrastre (Ronsivalli y col., 1965; Slavin y Ronsivalli, 1964; Ampola y col., 1969; Rhodes, 1964; Van Mameren y col., 1969; Ronsivalli y col., 1968; Carver y col., 1969; Hannesson y Dagbjartsson, 1970). Licciardello y col.(1984) empleando dosis de 1 kGy en filetes de 1 a 3 días post-mortem observaron una vida útil de 9 días. Cuando el tratamiento de irradiación fue combinado por el envasado en atmósfera modificada (60% CO₂) o con 5% de sorbato de sodio, la vida útil fue extendida

por unos pocos días más. Thibault y Charbonneau (1991) trataron filetes tanto refrigerados como congelados, envasados en polietileno, con dosis entre 1 y 5 kGy. Las muestras fueron almacenadas a 4°C por 28 días. Los resultados indicaron que la irradiación fue efectiva en el retraso del deterioro.

English Sole (*Parophrys vetulus*) - lenguado

Miyauchi y col. (1967) irradiaron latas herméticamente selladas a filetes con dosis de 1 a 3 kGy. El período de almacenaje de las muestras irradiadas y mantenidas en refrigeración fue tres veces mayor que las no irradiadas. Steinberg (1965) trabajando también con la especie enlatada encontró que el período de aptitud fue de 25 días con una dosis de 2 kGy y mantenida a 0,6°C, mientras que en las muestras controles dicho período fue de 4 a 6 días.

Liston y Matches (1968) irradiaron esta especie a bordo con 0,5 kGy y encontraron que el período de almacenaje para este producto a 0°C fue de 22 días, mientras que el mismo fue de 14 días en los controles. Por otra parte, aplicaron 1 kGy a filetes obtenidos de pescados irradiados después de un período en hielo de 7 días. Los mismos presentaron un período de aptitud mayor a 28 días a 0°C. Los filetes obtenidos de pescado fresco no irradiado tuvieron un período de aptitud de 14 días. Miyauchi y col. (1968) informaron que el período de almacenamiento de los filetes de esta especie a 0,6°C fue: en los controles de 4 a 6 días, en los tratados con 1 kGy de 14 a 21 días; y en los tratados con 2 kGy de 21 a 28 días.

Gray Sole (*Glyptocephalus cynoglossus*) - mando falso lenguado

Miyauchi y col. (1967) informaron que filetes de esta especie tratados con 1 y 2 kGy y mantenidos en hielo presentaron un período de aptitud entre 7 y 14 días. Ronsivalli y col. (1969) envasaron filetes en recipientes de metal, los trataron con 5 y 10 kGy y los almacenaron junto con los controles a diferentes temperaturas. Luego de cocidos al vapor, los filetes fueron testeados por un panel de expertos. A 0,6 °C los controles tuvieron una vida útil de 6 a 7 días, mientras que en los filetes irradiados fue de 15 a 29 días. A 5,6°C los filetes control presentaron un período de aptitud de 6 días y los irradiados tuvieron un período de aptitud de 6 a 7 y de 10 a 11 días respectivamente.

Miyauchi (1970) informó que el tratamiento a bordo con 5 y 10 kGy otorgó a los pescados mejores características de almacenamiento comparándolos con los no irradiados.

Los pescados irradiados en estado de pre-rigor tuvieron un mayor período de almacenaje en hielo que aquellos irradiados en estado de post-rigor.

Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) - abadejo

Nickerson y col. (1964) trataron con dosis entre 4 y 7 kGy filetes envasados en celofán y los almacenaron entre 2,2 y 4,4 °C. Dosis de 6 y 7 kGy fueron necesarias para prevenir el incremento de microorganismos por un período de 42 días. Los resultados de las pruebas organolépticas mostraron que los filetes control congelados (almacenados a –20°C) fueron significativamente diferentes de los productos irradiados, pero estos últimos fueron considerados aceptables.

Slavin y Ronsivalli (1964) trataron filetes con 2,5 kGy y los mantuvieron a 0,6°C . Después de 45 días un panel del tipo consumidor determinó que los productos irradiados cocidos eran aceptables. Los filetes irradiados con 2,5 kGy y almacenados por 14 días entre 0,6°C y 1,7°C fueron juzgados como muy buenos, tanto por un panel de expertos como para otro no entrenado.

Slavin y col. (1964) indicaron que la dosis óptima es de 2,5 kGy. Ellos concluyeron que los filetes deberían ser mantenidos en hielo no más de 7 a 9 días antes de ser fileteados e irradiados, de lo contrario la vida media de los productos irradiados es menor.

Miyauchi y col. (1966) informaron que filetes obtenidos de pescado con cuatro días de captura, fueron envasados y tratados con dosis de 2,0 kGy y almacenados en hielo. Luego de 5 días de almacenaje adicional a 0,6°C, todos los filetes control resultaron deteriorados. Los irradiados fueron considerados aceptables luego de 13 días de almacenaje adicional y se ubicaron en el límite de aceptación a los 18 días.

Hembree y Burt (1965) realizaron pruebas de aceptación, con alrededor de 300 participantes, de filetes tratados con 2,5 kGy y mantenidos entre 15 y 29 días a 0,6°C. Los productos irradiados luego de cocidos se compararon con muestras controles almacenadas a –23°C. Las muestras irradiadas y las controles congeladas tuvieron un perfil organoléptico similar.

Ronsivalli y col. (1969) trataron filetes obtenidos de pescados comercialmente aptos, luego de envasados los trataron con 2,5 kGy. Ambos grupos, los controles y los irradiados recorrieron distancias de 2.400 hasta 4.800 km en transporte terrestre bajo las mismas condiciones. Las muestras irradiadas mostraron un alto grado de calidad y además presentaron un período de aptitud mayor de una semana con respecto a las muestras control no irradiadas.

Hake (*Merluccius merluccius*) – merluza

Mariano y Kaupert (1973) emplearon filetes provenientes de ejemplares con 3 a 5 días de captura, para irradiar con dosis entre 0,5 y 6 kGy. Informaron que la dosis más aconsejable era 5 kGy. Con esta dosis se logró quintuplicar el tiempo de conservación a 4°C. Curzio y Quaranta (1982) estudiaron filetes envueltos en polietileno tratados con 5 kGy y almacenados entre 4 y 5°C. Mientras que los filetes controles fueron descartados a los 11 días, los irradiados se descartaron 18 días más tarde.

Pollock (*Pollachius virens*) - polaca

Slavin y Ronsivalli (1963) trataron con varias dosis filetes envasados para determinar la dosis óptima y el período de almacenaje. Las muestras fueron mantenidas a 0,6 y 7,8°C, y comparadas con muestras controles almacenadas a -21°C. La dosis óptima fue 1,5 kGy. Un panel de degustación determinó que las muestras no irradiadas fueron superiores con respecto a las irradiadas. Steinberg (1965) informó que el período de almacenaje para el producto enlatado en aire fue de 30 días, utilizando dosis de irradiación de 1,5 kGy en condiciones de refrigeración. Las muestras control tuvieron una aptitud de 12 a 14 días.

Metlitskii y col. (1968) hallaron que a 2°C el período de almacenaje se extendió de 7 a 10 días para los controles, mientras que las muestras irradiadas con dosis de 6 kGy presentaron un período de aptitud de 30 días.

Ampola y col. (1969) encontraron que los filetes enlatados con y sin vacío, tratados con 1,5 kGy, no mostraban diferencias de calidad con los controles congelados a -18°C a lo largo del almacenaje. No detectaron diferencias significativas en el sabor entre los controles congelados y las muestras irradiadas.

Whiting (*Merluccius bilinearis*) - merluza

Carver y Steinberg (1959) hallaron que la dosis máxima es de aproximadamente 1 kGy. Massa y col. (1969) irradiaron el producto con 3 kGy y lo mantuvieron a 2°C. A los 11 días se descartaron los controles, mientras que los tratados eran aceptables aunque evidenciaron un ligero olor a irradiación.

5.2.1.2. Especies grasas

Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) - hipogloso

Eukel y Huber (1960) trataron esta especie con 2,5 kGy y determinaron el período de aptitud del producto mediante la cuantificación de los compuestos volátiles. El tratamiento con irradiación extendió el período de aptitud alrededor de 20 días a 5,6°C.

Sieling (1961) usando 2,5 kGy informó modificaciones en el olor, sin efectos adversos sobre el color y el gusto. Rhodes (1964) trabajó con filetes envasados al vacío, tratados con dosis entre 1 y 10 kGy almacenados a 0°C y 4,4°C. La pérdida del gusto a fresco fue notada en el producto irradiado a partir de 3 kGy y un ligero olor a irradiación se notó en el producto irradiado con 10 kGy. El gusto de las muestras irradiadas fue aceptable hasta 5 kGy. El período de aptitud de las muestras irradiadas con 3 kGy fue mayor de 30 días a 0°C y mayor de 21 días a 4,4°C.

Petrale Sole (*Eopsetta jordani*)

El envasado al vacío es un requisito necesario para los filetes de esta especie tratados por irradiación a fin de minimizar la aparición de rancidez durante el almacenamiento. Miyauchi y col. (1963) trataron con 2 y 3 kGy filetes de esta especie envasados al vacío y sin vacío. Las muestras sin vacío estuvieron rancias a los siete días cuando se almacenó a 0,6°C o a 5,6°C. Las muestras irradiadas al vacío tuvieron una aptitud de 28 a 49 días a 0,6°C y de 14 a 21 días a 5,6°C. Las muestras no irradiadas al vacío tuvieron una aptitud de 4 a 10 días a 0,6°C y de 4 a 7 días a 5,6°C.

Pelroy y Eklund (1966) irradiaron filetes envasados al vacío con dosis entre 1 y 4 kGy y los almacenaron a 0,6°C. Las muestras controles se deterioraron a los 7 días, con 1 kGy a los 14 días, con 2 kGy a los 28 días, con 3 kGy a los 49 días y los tratados con 4 kGy tuvieron una vida útil de más de 59 días. El olor en los filetes deteriorados controles y los tratados con 1 kGy fue similar, presentado olores pútridos y amoniacales. Los filetes tratados con 2 y 3 kGy presentaron olores diferentes a los controles, que fueron definidos como ácidos y rancios.

Ronsivalli y col. (1969) informaron sobre pruebas de degustación utilizando un panel de tipo consumidores para muestras de filetes controles congelados y tratados con dosis de 2 kGy. No encontraron diferencias apreciables en las propiedades organolépticas para los dos tipos de productos.

Herring Smelt (*Argentine silus*) - arenque

Carver y col. (1969) irradiaron esta especie en estado de pre-rigor, a bordo de un buque utilizando dosis de 0,5 y 1 kGy y la mantuvieron en condiciones de refrigeración. Con 0,5 kGy la vida útil se incrementó de 16 a 21 días. En las muestras tratadas con 1 kGy la aptitud se incrementó en 20 días. El producto no resultó afectado organolépticamente por la irradiación.

Mackerel (*Scomber scombrus*) - caballa

Slavin y Ronsivalli (1964) trataron filetes de esta especie con varias dosis de radiación y llegaron a la conclusión que la dosis óptima es de 2,5 kGy. El producto envasado y tratado con esta dosis tuvo un aptitud de 30 días a 0,6 °C. Luego de cocidos se los comparó con las muestras control congeladas preparadas de la misma manera, no habiendo diferencias apreciables entre ambos grupos.

Coleby y Shewan (1965) informaron que la dosis máxima permisible es de 1 kGy.

Mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) - caballa de la India

Es un pescado muy graso, por esto necesita ser envasado al vacío o incorporar alguna sustancia que atrape el oxígeno. La dosis óptima fue determinada en 1,5 kGy, con una vida útil de 21 a 24 días a 0°C, 13 a 15 días a 5°C y 7 a 11 días a 7,8°C (Kumta y col., 1973; Ghadi y col., 1978; Hussain, 1980).

Venugopal y Nair (1992) determinaron que este pescado tratado con una dosis de 1,5 kGy podía permanecer en condiciones aceptables. Por las condiciones comerciales, el proceso también incluyó un escaldado. Este estudio mostró que no fue necesario el envasado para incrementar la vida útil del pescado refrigerado irradiado. El pescado envasado e irradiado exhibió una vida útil de 25 días, mientras que el pescado almacenado con hielo permaneció aceptable hasta 20 días. Un hecho importante fue que los pescados almacenados en hielo y no envasados tuvieron mejor apariencia y olor que los pescados envasados. Este deterioro en apariencia del pescado envasado fue atribuido a la acumulación de líquido perdido por goteo, lo que se tradujo en un cambio de color en el pescado. Así, el único hecho negativo asociado con la falta de envasado fue el desarrollo de un color amarillento en la piel (Venugopal y col., 1987; Venugopal y col., 1982). Otro estudio similar examinó filetes envasados en recipientes de polietileno e irradiados con

dosis entre 1 y 3 kGy. Los filetes irradiados con 1,5 kGy seguido por un almacenamiento a 7-8°C presentaron condiciones óptimas hasta los 7 días de almacenaje. (Haq y Hussain, 1986).

Ocean Perch (*Sebastes marinus*) - perca

Lerke y col. (1961) consideraron que la rancidez podría ser un problema. A esta especie se la irradia para extender el período de aptitud bajo refrigeración. Ronsivalli y Slavin (1965) encontraron que la dosis óptima para filetes envasados en aire fue de 2,5 kGy y de 1,5 kGy para envasados al vacío. Las muestras irradiadas con presencia de aire se tornaron ligeramente rancias después de 30 días a 0,6 °C.

Ampola y col. (1969) trataron con 2,5 kGy filetes envasados y los comparó con controles congelados. Los resultados de las pruebas de degustación indicaron que no existen diferencias significativas entre los filetes preservados por irradiación y los congelados.

Tuna (*Thunnus obesus*) - atún

Coleby y Shewan (1965) establecieron que la dosis máxima a ser aplicada es de 1 kGy. Amano y Yamanaka (1969) informaron que durante el almacenaje en estado congelado se produce una decoloración debido a la oxidación de la mioglobina a metamioglobina. Cuando las muestras que presentaban un 75% del pigmento en forma de metamioglobina se trataron con dosis entre 0,2 y 1 kGy se regeneró la mioglobina en un 37%. Este tratamiento fue suficiente para cambiar el color a un rojo brillante. Por encima de 2 kGy se notaron pérdidas en el olor.

Quaranta y col. (1984) irradiaron filetes de esta especie con 2,2 kGy e informaron que mientras los controles permanecieron aceptables hasta los 7 día, los irradiados lo fueron hasta los 25 días, mantenidos entre 4 y 6 °C ambos grupos.

5.3. Detección de productos del mar irradiados

5.3.1. Aspectos generales

El procesamiento de alimentos por radiación ionizante no cambia la identidad del producto. Los alimentos irradiados y no irradiados son idénticos tanto visual como sensorialmente. Cuando las dosis son muy elevadas la calidad del producto se perjudica ya

que tienen lugar en el mismo, cambios en el color, en el sabor y en la textura. Cabe mencionar que estos productos no pueden presentarse a los consumidores.

El problema de identificar un tratamiento no es exclusivo de la irradiación de alimentos, ya que también existe para productos orgánicos, para productos “kosher” y “halal” y para frutas y vegetales almacenados bajo atmósfera modificada. En 1988 la Conferencia sobre Aceptación, Control y Comercialización de Alimentos Irradiados recomendó a los gobiernos que deberían alentar la investigación sobre métodos de detección de alimentos irradiados (Anónimo, 1989).

El proyecto de regulación para alimentos irradiados de la Unión Europea requiere que el mercado sea observado en forma regular y que se usen los métodos de detección que se encuentran estandarizados.

La cuestión es si el producto ha recibido la dosis apropiada dentro de los límites permitidos o cuanta dosis de más ha recibido el mismo. La disponibilidad de métodos analíticos para detectar el tratamiento de irradiación contribuye a chequear el acatamiento de las regulaciones existentes, el cumplimiento de etiquetado, el control de prohibición y para facilitar el comercio internacional de alimentos. Además, mejora la confianza del consumidor acerca de la correcta aplicación del procesamiento por radiación y su control por las autoridades.

5.3.2. Métodos analíticos

En los últimos años se han observado notables desarrollos en cuanto a los métodos que son apropiados para identificar alimentos irradiados (Delinceé, 1998; Haire y col., 1997) en parte debido a la existencia de programas internacionales tales como el Programa Internacional de Métodos Analíticos para la Irradiación de Alimentos -ADMIT- de la Junta FAO/OIEA (McMurray y col., 1996a) y el Programa sobre Métodos de Identificación de Alimentos Irradiados de la Oficina de Referencia de la Comunidad Europea -BCA- (Raffi y col., 1994). Los informes finales de estos programas son una fuente abundante de información sobre los métodos de detección de alimentos irradiados. El Comité Europeo de Normalización (CEN) hasta el presente ha adoptado 5 estándares:

- i) EN 1784: detección de alimentos irradiados que contengan grasa mediante el análisis de hidrocarburos por cromatografía gaseosa (CG).
- ii) EN 1785: detección de alimentos irradiados que contengan grasa mediante el análisis de 2-alquiloclobutanonas por CG y espectrometría de masa.

- iii) EN 1786: detección de alimentos irradiados que contengan hueso mediante la espectroscopía de resonancia del spin del electrón (ERS)
- iv) EN 1787: detección de alimentos irradiados que contengan celulosa mediante ERS.
- v) EN 1788: detección de alimentos irradiados, de los cuales puedan aislarse silicatos, mediante termoluminiscencia.

La ERS ha sido validada en hueso de trucha (Schreiber y col., 1994) y para el caso de termoluminiscencia en langostinos (Schreiber y col., 1996). Estudios recientes de ERS en hueso de pescado demostraron el potencial promisorio de este método (Empis y col., 1995; Abdel-Rehim y col., 1997). El testeo de diferentes crustáceos (Morehouse, 1996; Stewart y Gray, 1996) no han dado los resultados esperados ya que la química de las diferentes cutículas es muy compleja. Para diferentes especies y aún para la misma especie según el origen geográfico se obtienen signos diferentes de ESR (Stewart y Stevenson, 1997). Sin embargo para la langosta noruega se obtuvieron buenos resultados, y además se pudo estimar con bastante aproximación la dosis de tratamiento (Stewart y Stevenson, 1997). Estudios realizados en Alemania demostraron la utilidad de la espectroscopía ESR en langostino marrón. También los estudios de ESR en mariscos, tales como ostras y almejas, han mostrado resultados promisorios (Raffi y col., 1994). Un hecho de utilidad es la asociación de minerales de silicatos con varias partes de crustáceos incluyendo los intestinos. El tratamiento de irradiación puede ser detectado por termoluminiscencia de estos minerales aislados.

En relación a los métodos químicos cabe destacar el análisis de hidrocarburos que provienen de la descomposición radiolítica de las grasas. También, para el pescado y otros productos del mar el patrón de hidrocarburos puede usarse para identificar el tratamiento de irradiación (Pinnioja y Pajo, 1995; Schreiber y col., 1994)

Debido al contenido relativamente alto de ácidos grasos mono y poliinsaturados en pescado y otros productos del mar, el patrón de hidrocarburos es muy complejo y otros análisis acoplados a los métodos cromatográficos tales como HPLC-GC se han propuesto (Schulzki y col., 1997). Cuando el contenido de grasa es bajo como por ejemplo en el camarón se ha aplicado con éxito el análisis de 2-alkilbutanonas inducidas por radiación (McMurray y col., 1996 b).

Otros métodos químicos para detectar el tratamiento de irradiación son la estimación de la ortotirosina formada a partir de la parte proteica del pescado, langostinos

y almejas (Meier y col. 1996) y el análisis de la fragmentación del ADN por el ensayo del cometa en trucha y salmón (Cerdea y col., 1997).

Cabe mencionar que los cambios en la susceptibilidad a la descomposición bacteriana junto la velocidad de formación de AVT y NBVT también han sido propuestos como métodos de detección del tratamiento por irradiación en productos del mar (Alur y col., 1991; Alur y col., 1994).

Otros métodos de detección se encuentran detallados en varias recopilaciones bibliográficas (McMurray y col., 1996 a ; Raffi y col., 1994; Delincée, 1998).

Finalmente, la aplicación del tratamiento con radiaciones ionizantes puede ser identificada por métodos de detección analíticos, algunos de los cuales están reconocidos por varios países y ya se aplican en laboratorios nacionales de control de alimentos.

5.3.3. Países con aprobación de pescados irradiados

Las regulaciones sobre la irradiación de alimentos varían ampliamente de país a país, lo que también ocurre en relación a productos del mar. La mayoría de los países otorgan permisos que pueden ser de tipo condicional o de tipo incondicional. En la Tabla 2 se muestra el listado de países que cuentan con la aprobación del tratamiento de irradiación de productos del mar, sus objetivos y los niveles de dosis recomendadas.

Tabla 2: Países que cuentan con la aprobación de productos marinos irradiados.

País	Producto(s) de mar	Objetivo	Dosis tecnológica recomendada (kGy)
ARABIA SAUDITA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	
		Extensión de la vida útil	
		Control de parásitos	
ARGELIA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	
		Extensión de la vida útil	
		Control de parásitos	
BANGLA-DESH	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)
BELGICA	Pescados y mariscos	Control microbiológico	3,00 (máx)
	Langostinos congelados		5,00 (máx)
BRASIL	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	
		Extensión de la vida útil	
		Control de parásitos	
CHILE	Pescados (teleosteos) y prod. pesqueros	Desinfestación	2,20 (máx)
		Control microbiológico	
		Extensión de la vida útil	
CHINA	Cualquier pescado		1,00 (máx)
COSTA RICA	Pescados (teleosteos) y prod. pesqueros	Desinfestación	2,20 (máx)
		Control microbiológico	
		Extensión de la vida útil	
CROACIA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	
		Control de parásitos	
	Ancas de ranas	Reducción de microorganismos patógenos	
		Extensión de la vida útil	
		Control de parásitos	

País	Producto(s) de mar	Objetivo	Dosis tecnológica recomendada (kGy)
CUBA	Pescados frescos	Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
	Deshidratados	Desinfestación	1,00 (máx)
	Prod. marinos	Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
ESTADOS UNIDOS	Mariscos frescos y congelados	Control de microorganismos patógenos (Vibrio y otras especies)	5,50 (máx)
FILIPINAS	Cualquier pescado Ancas de ranas	Reducción de microorganismos patógenos	7,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)
FRANCIA	Langostinos	Control microbiológico	5,00 (máx)
GHANA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)
HOLANDA	Camarones y langostinos	Reducción de microorganismos patógenos	3,00 (promedio)
	Ancas de ranas		5,00 (promedio)
INDIA	Cualquier pescado	Desinfestación	6,00 (máx)
		Control microbiológico	
		Extensión de la vida útil	
INDONESIA	Mariscos (langostinos congelados)	Control microbiológico	5,00 (máx)
	Ancas de ranas congeladas		7,00 (máx)
INGLATERRA	Pescados y mariscos	Control microbiológico	3,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	
MEJICO	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	
		Extensión de la vida útil	
		Control de parásitos	

País	Producto(s) de mar	Objetivo	Dosis tecnológica recomendada (kGy)
PARAGUAY	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
PERU	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)
REPUBLICA CHECA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)
	Ancas de ranas congeladas	Control microbiológico	5,00 (máx)
SIRIA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)
SUDAFRICA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	
		Extensión de la vida útil	
		Control de parásitos	
TAILANDIA	Productos pesqueros	Control microbiológico	2,20 (máx)
		Extensión de la vida útil	
	Mariscos (langostinos)	Control microbiológico	5,00 (máx)
TURQUIA	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	5,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)
VIETNAM	Cualquier pescado	Reducción de microorganismos patógenos	7,00 (máx)
		Extensión de la vida útil	3,00 (máx)
		Control de parásitos	2,00 (máx)

1. Material biológico

En este estudio se emplearon ejemplares de merluza negra en su forma H&G. Esta especie fue capturada en la zona “Atlántico Sudoeste – Zona FAO N° 41”(SENASA, 2001) y dentro de la denominada zona económica exclusiva de la República Argentina. Esta última zona se muestra en la Figura 2. Para ello se contó con la colaboración de la empresa Ibermar, propietaria del buque pesquero “Verdel”, con asiento en el Puerto de Ingeniero White (Bahía Blanca), habiéndose empleando como arte de pesca redes de arrastre de fondo. La captura se realizó durante los meses de Febrero y Marzo, a una profundidad entre 500 y 1500 metros. Todo el procesamiento del pescado fue hecho a bordo.

Para la experiencia se seleccionaron ejemplares juveniles (55-70 cm de largo), los cuales fueron inmediatamente descabezados, eviscerados y lavados con agua de mar, habiendo rendido porciones H&G con un peso entre 800 y 1000 gramos y una longitud entre 30 y 40 cm. Posteriormente las porciones se congelaron a -30°C en túneles simples, luego se glasearon, se envolvieron individualmente con polietileno y se dispusieron en cajas de cartón, las que se colocaron en bodega a una temperatura comprendida entre -22 y -25°C hasta el arribo del barco al Puerto de Ingeniero White - Bahía Blanca. Inmediatamente después de su arribo las muestras fueron trasladadas hasta el Laboratorio de Radioisótopos de la Universidad Nacional del Sur, donde se almacenaron a una temperatura de -18°C , antes y después del tratamiento de irradiación.

2. Proceso de irradiación

2.1. Planta de irradiación

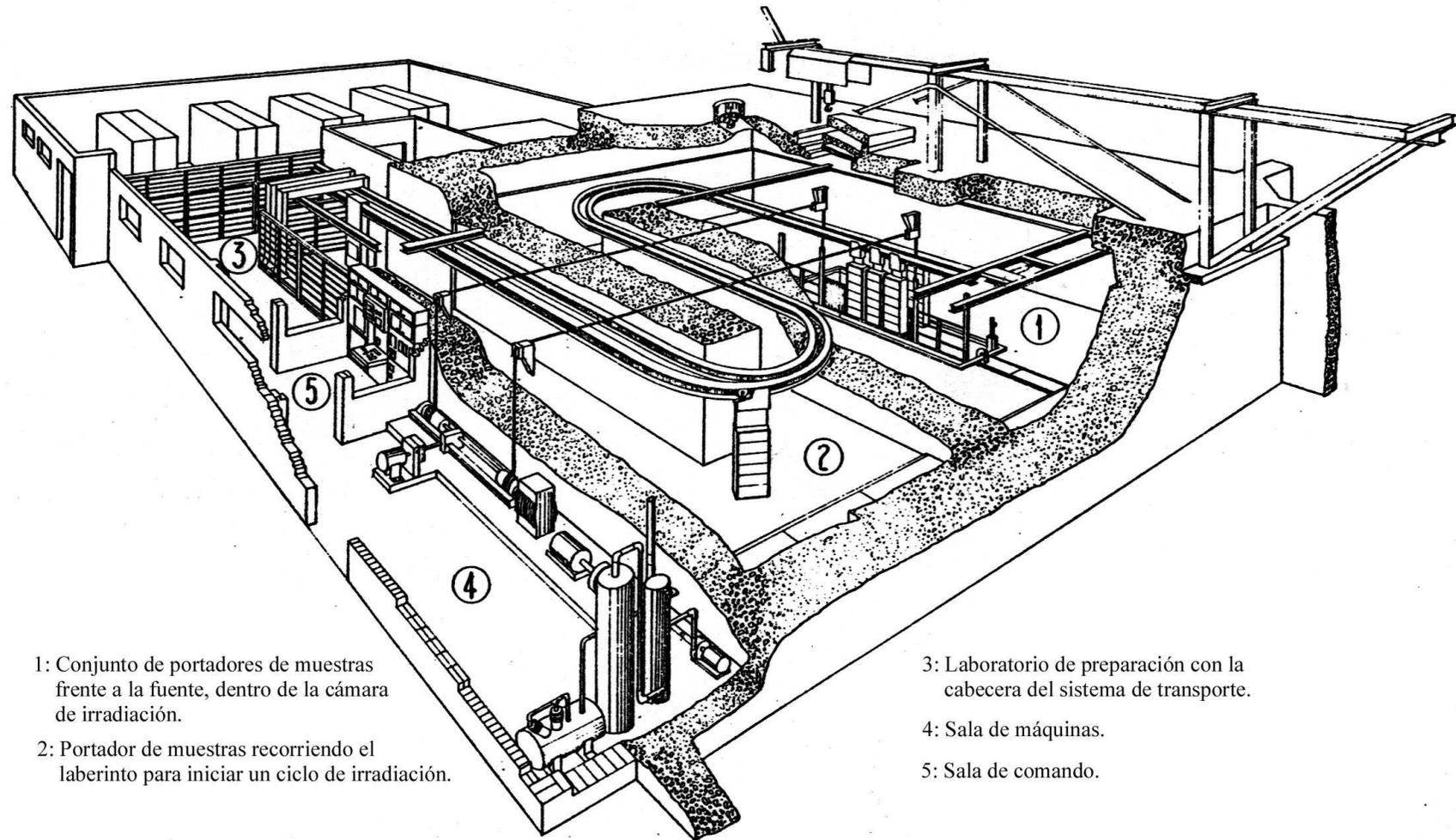
El tratamiento de irradiación se realizó en la Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI) del Centro Atómico de Ezeiza (CAE), perteneciente a la Comisión Nacional de Energía Atómica.

Dicha planta (Figura 11) consiste en un recinto blindado de paredes de hormigón común y, en algunos sectores, de hormigón pesado ($3,5 \text{ kg/dm}^3$) de 1,80 m de espesor. El acceso al recinto se efectúa a través de pasadizos en laberinto con secciones de paso de 4 m^2 , lo que permite la introducción de muestras de gran tamaño.

La planta de irradiación contiene una fuente de ^{60}Co , cuyo diseño corresponde al llamado “tipo parrilla” (Figura 12). La instalación está proyectada para contener una actividad de hasta 1.000.000 de Ci de ^{60}Co .

El blindaje biológico de la fuente es agua. La cual está contenida en una pileta de acero inoxidable con estructura de hormigón, excavada en el piso.

El material a irradiar puede introducirse al cuarto de irradiación de dos maneras: en forma manual, estando la fuente bajo agua, o bien por medio de un sistema mecánico de transportadores. La dosis que debe recibir el producto y la velocidad de dosis de la fuente determinan el tiempo de permanencia del material frente a la misma.



1: Conjunto de portadores de muestras frente a la fuente, dentro de la cámara de irradiación.

2: Portador de muestras recorriendo el laberinto para iniciar un ciclo de irradiación.

3: Laboratorio de preparación con la cabecera del sistema de transporte.

4: Sala de máquinas.

5: Sala de comando.

Figura 11. Distribución de los sectores más importantes de la Planta de Irradiación Semi-Industrial del Centro Atómico de Ezeiza.

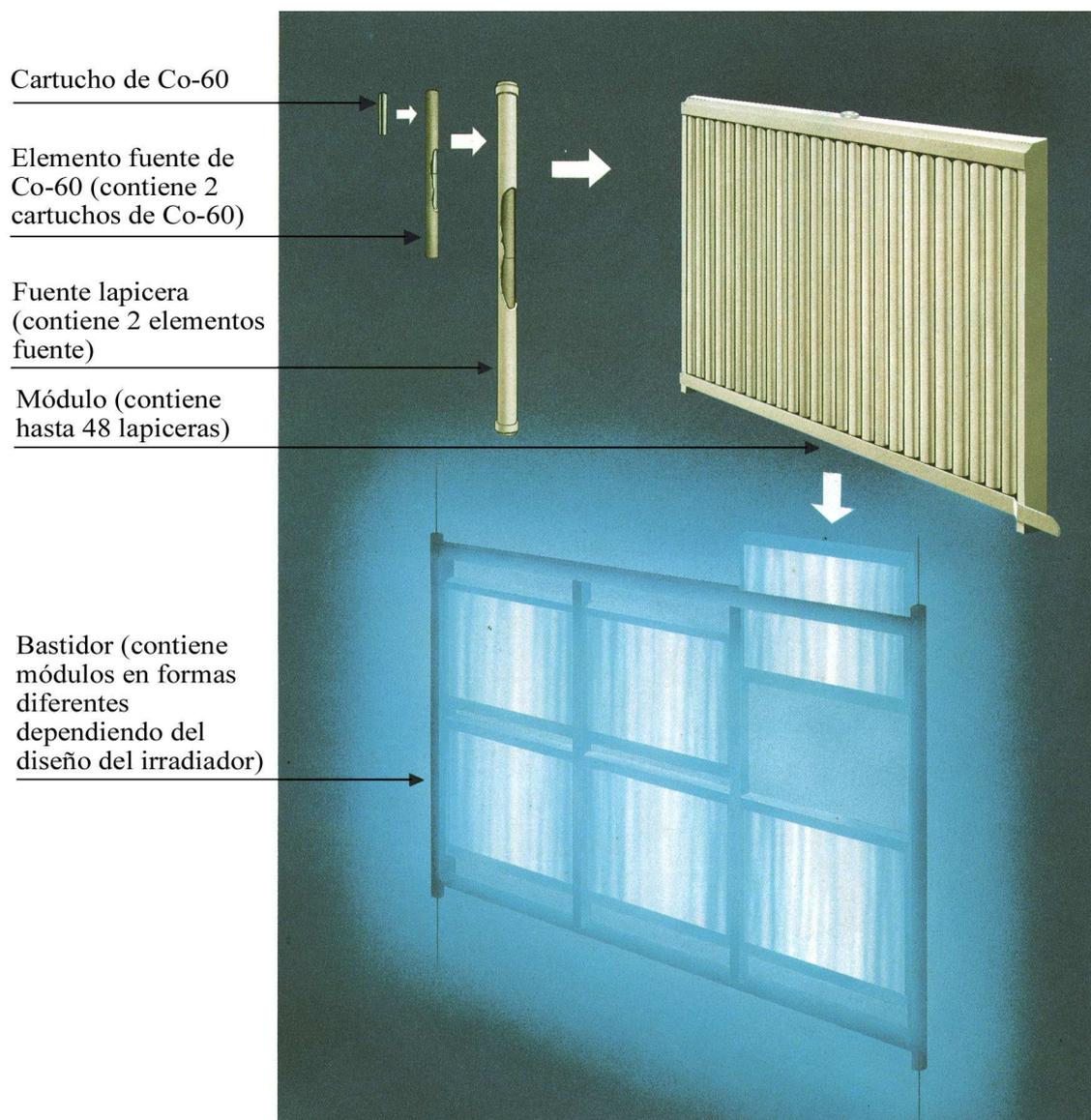


Figura 12. Fuente de ^{60}Co “tipo parrilla”.

2.2. Irradiación de la porción H&G

Para el tratamiento de irradiación, realizado a los 30 días post-captura, las muestras se envasaron en polietileno y fueron colocadas en cajas de cartón de 30 x 30 x 20 cm acondicionadas con hielo seco. Luego se transportaron por vía terrestre hasta la Planta de Irradiación Semi-Industrial del Centro Atómico Ezeiza. El proceso de irradiación se llevó cabo en estado congelado y al aire, usando rayos gamma de ^{60}Co . Se aplicaron dosis de 1, 3 y 5 kGy, separándose muestras sin irradiar como control (0 kGy). La velocidad de dosis fue de 0.1534 kGy/minuto, determinada mediante dosimetría Fricke. Inmediatamente des-

pués del tratamiento las muestras se transportaron nuevamente al Laboratorio de Radioisótopos donde se almacenaron a -18°C hasta el momento de las determinaciones (entre 0 y 293 días post-irradiación).

3. Determinación de rancidez oxidativa mediante los productos secundarios de oxidación lipídica (Índice de TBA)

La determinación de productos secundarios de oxidación lipídica se llevó a cabo por el método de destilación descrito por Ke y colaboradores (1984). Mediante esta técnica se determinan sustancias que reaccionan con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) formando un complejo de color rojo.

Para la técnica se utilizaron muestras de 10 g del músculo congelado las que se homogeneizaron, en un triturador IKA-Ultra Turrax T-25, en 35 mL de agua destilada por dos minutos. Luego, se adicionaron como antioxidantes 100 mg de propil galato (Sigma) y 100 mg de EDTA (Sigma), llegando a un peso total de 105 gramos. A esta mezcla se le agregaron 95 mL de HCL 4 M (Cicarelli). Posteriormente, la mezcla se sometió a destilación, haciendo uso de un equipo como se observa en la Figura 13. El equipo fue ajustado de manera tal que a los 35 minutos se recolectaron 50 mL de destilado.

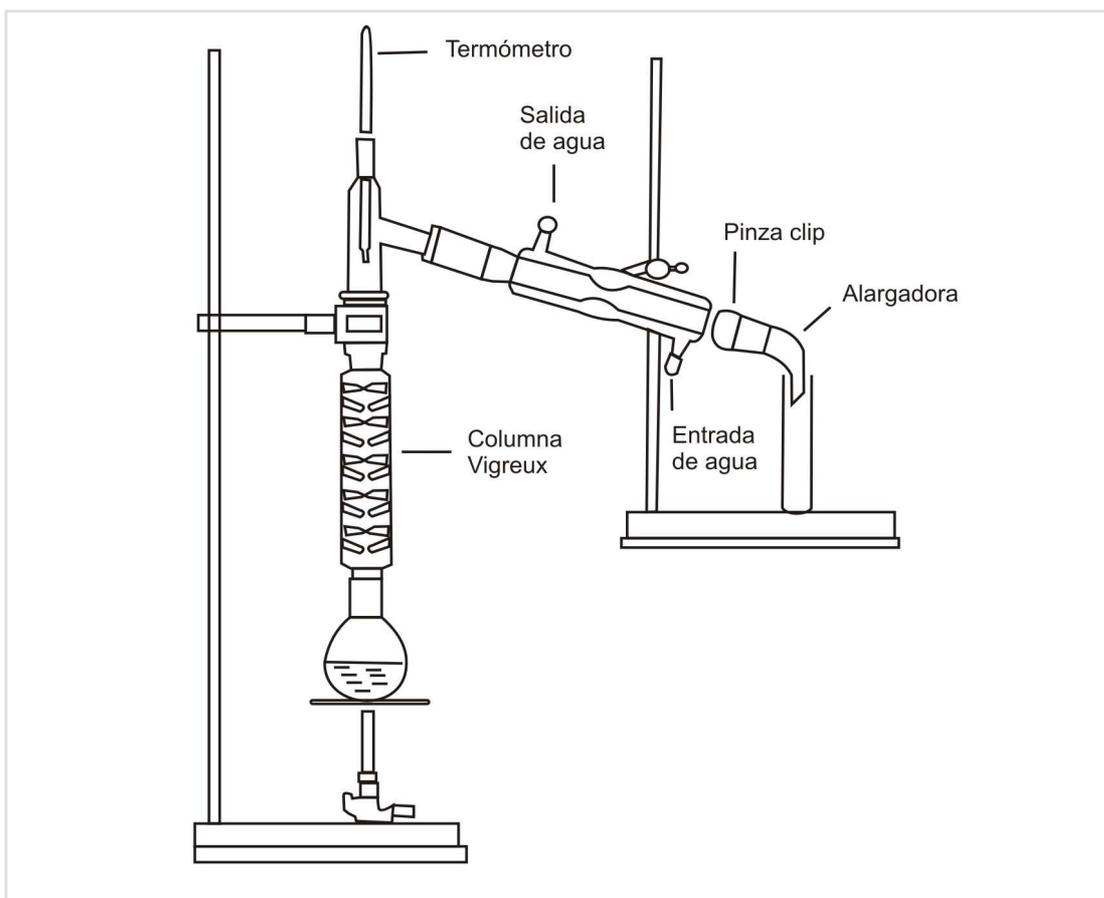


Figura 13: Equipo de destilación para determinación de productos secundarios de oxidación lipídica.

Para la preparación del reactivo de TBA se pesaron 1,44 g del ácido 2- tiobarbitúrico (Sigma) y se transfirieron a un balón de 500 mL. Se agregaron 50 mL de agua destilada y dos terceras partes del volumen de ácido acético glacial (Cicarelli). Luego se mantuvo bajo agitación magnética constante hasta completa disolución.

A 5 mL del destilado obtenido se agregaron 5 mL del reactivo de TBA y se los incubó en baño de agua por 60 minutos a 95°C. Luego dicha mezcla se enfrió en baño de agua, y su absorbancia se midió en un espectrofotómetro Metrolab RC- 825 a una longitud de onda de 532 nm. Como estandard se utilizó una solución acuosa 1×10^{-5} M de 1.1.3.3 tetraetoxipropano (Sigma). El índice de TBA se expresó en μ moles de malondialdehído/kg de tejido (Ke y col., 1984).

4. Determinación de Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT)

Para la determinación de NBVT se empleó el procedimiento citado en el Reglamento N° 2074/2005 (UE). El mismo se aplica a concentraciones de NBVT comprendidas entre 5mg/100g y 100mg/100g. .

Las bases nitrogenadas se extraen de la muestra mediante una solución de ácido perclórico a 0,6 M. Una vez alcalinizado, el extracto se somete a destilación al vapor y los componentes básicos volátiles se absorben mediante un receptor ácido. La concentración de NBVT se determina mediante titulación de las bases absorbidas.

Se trituraron cuidadosamente 10 g del músculo en un recipiente adecuado y se mezclaron con 90,0 mL de solución de ácido perclórico 0,6 M (Cicarelli). La mezcla se homogeneizó durante dos minutos y posteriormente se filtró.

Cincuenta mililitros del filtrado se sometieron a destilación por arrastre de vapor de agua (Figura 14). Previamente se añadieron algunas gotas de fenolftaleína (1g/100ml de etanol 95%), para comprobar que el extracto esté suficientemente alcalinizado. También se agregaron dos gotas del agente antiespumante de silicona y 6,5 ml de solución de hidróxido de sodio (20g/100ml) (Anedra).

La destilación se reguló de modo que se produjeron 100 mL de destilado en diez minutos. El destilado se recogió en 100 mL de solución de ácido bórico (3g/100ml) (Anedra). La valoración se realizó con una solución patrón de ácido clorhídrico 0,05 N (Cicarelli). El pH del punto final deberá ser 5,0 + 0,1.

Los resultados se expresaron en mg de N por 100 g de muestra.

Cálculo del NBVT

$$\text{NBVT: } \frac{(V_1 - V_0) \times 0,14 \times 2 \times 100}{M}$$

M: peso de la muestra en gramos.

V₁: volumen en mL de ácido clorhídrico 0,01 mol por muestra

V₀: volumen en mL de ácido clorhídrico 0,01 mol por muestra en blanco.

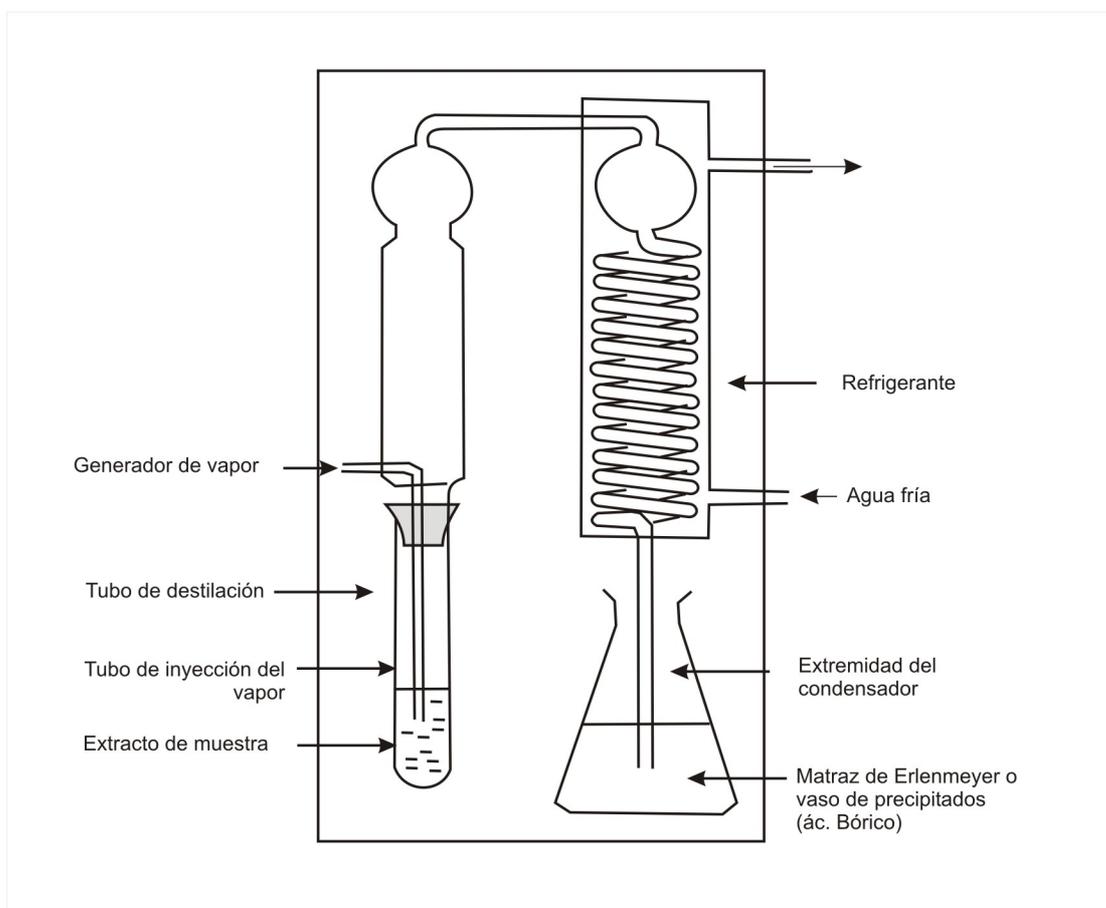


Figura 14: Equipo de destilación para determinación de NBVT.

5. Determinación de pH

Para la determinación de pH se utilizó la técnica recomendada por el SENASA siguiendo la Norma IRAM N° 15.060 (1969). Para cada determinación se emplearon 10 gramos del músculo, el cual fue homogeneizado en 100 mL de agua destilada. Posteriormente, la mezcla permaneció durante una hora a temperatura ambiente, se filtró y se procedió a la medición del pH con un equipo digital Marca HANNA modelo 1131.

Antes de proceder a cada medición, se procedió a la calibración del equipo con soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0 (Merck)

6. Análisis de compuestos lipídicos

6.1 Extracción de lípidos:

Los lípidos totales de la porción H&G de merluza negra fueron extraídos siguiendo el procedimiento descrito por Bligh y Dyer (1959). Para tal fin, 2 gramos de músculo, previamente descongelado, fueron homogeneizados con 9 mL de una mezcla de metanol:cloroformo (2:1, v/v) durante 2 min a 9500 rpm, haciendo uso de un homogeneizador IKA-Ultra Turrax T 25. Luego se agregaron 3 mL de cloroformo y 4 mL de agua - considerando que el tejido tiene un 70% de agua- para obtener finalmente una relación cloroformo:metanol:agua equivalente a 2:2:1.8. La mezcla fue homogeneizada una vez más y luego centrifugada durante 10 min a 2100 rpm. La fase inferior orgánica fue transferida con una pipeta a tubos de 30 mL y el residuo fue lavado dos veces con 3 mL de cloroformo. El solvente de la fase orgánica fue evaporado bajo nitrógeno, y el extracto lipídico así obtenido se colocó en viales y se mantuvo a -20°C hasta su utilización.

6.2 Análisis de ácidos grasos:

Los ácidos grasos de lípidos totales fueron derivatizados a sus correspondientes metil-ésteres usando KOH al 10% en metanol.

La identificación y cuantificación de los mismos fue realizada por duplicado, usando un cromatógrafo gaseoso HP 4890 equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar SP-2560 (100 m x 0.25 mm x 0.2 µm). La temperatura de la columna fue programada a 140°C durante 5 min y luego de 140°C a 240°C a 4°C/min. La temperatura del inyector y del detector fue mantenida a 175°C y 260°C, respectivamente. El gas portador fue hidrógeno (18 cm/s) y la relación split usada fue 1:100. Los ácidos grasos fueron identificados comparando sus tiempos de retención con estándares y sus contenidos fueron calculados sobre la base de % en peso.

6.3 Cuantificación de triglicéridos:

El contenido de TG fue determinado a través de mediciones espectrofotométricas. Para su dosaje se tomaron alícuotas del extracto lipídico total, las que fueron secadas bajo corriente de nitrógeno y resuspendidas en isopropanol. Luego se agregó una lipasa fungal específica (Laboratorio Wiener, Rosario, Argentina) y se calentó la mezcla a 37°C durante 5 minutos. Se produjo así la hidrólisis enzimática de los TG, liberándose glicerol. El color

rosado de la quinonimina fue medido a 505 nm con un espectrofotómetro Metrolab RC 325. El contenido de triglicéridos fue determinado mediante una curva estándar de glicerol.

6.4 Cuantificación de fosfolípidos:

Los FL totales fueron cuantificados a través de determinaciones colorimétricas de su contenido de fósforo de acuerdo con el método descrito por Rouser y col. (1970). Alícuotas del extracto lipídico total fueron incubadas en un bloque de aluminio a 180°C, durante 2 horas, en presencia de ácido perclórico (70%, v/v). Mediante esta digestión, los FL fueron oxidados, liberándose fósforo inorgánico en forma de ortofosfato. Posteriormente se agregó molibdato de amonio (1.25%, p/v) y ácido ascórbico (5%, p/v) y la mezcla se incubó en agua hirviendo durante 5 minutos. Se forma así un complejo de color azul intenso cuya absorbancia fue medida a 800 nm con un espectrofotómetro Metrolab RC 325. El contenido de fósforo fue calculado mediante una curva estándar de KH_2PO_4 .

7. Análisis estadístico

7.1 Rancidez oxidativa en las partes de la porción H&G congelada durante el almacenaje.

Para el estudio de la rancidez oxidativa de la porción H&G –unidad- en una primera experiencia (Figura 15), y en relación con las partes anterior, media y posterior (Figura 16) a lo largo del almacenaje congelado, se empleó un diseño de parcelas divididas (split-plot) con factor principal completamente aleatorizado (Zar, 1999). Dicho factor principal fue los días de almacenaje (6 fechas de muestreo) y el factor secundario, las tres subunidades mencionadas (tercio anterior, tercio medio y tercio posterior de cada unidad). En cada fecha de muestreo se contó con tres unidades experimentales (tres porciones H&G). Además una muestra adicional que mostraba un incorrecto proceso de eviscerado, se procesó a los 100 días de almacenaje en congelación.

El test de TBA se realizó sobre una muestra aleatoria de 10 gramos de tejido de cada subunidad, de manera que por cada fecha de muestreo se tomaron tres pescados con sus distintas partes, realizándose un total de nueve mediciones.

Los datos se analizaron por ANOVA doble, y las diferencias entre las medias fueron analizadas por el test de Fisher ($\alpha = 0,05$).



Figura 15: Ejemplar H&G de merluza negra



Figura 16: Tercio anterior, medio y posterior de merluza negra.

7.2 Efecto de la radiación gamma sobre la rancidez oxidativa, las bases nitrogenadas totales y el pH, de la porción H&G congelada.

En una segunda experiencia, se seleccionaron la parte anterior y media de la porción H&G (Figura 17), las que fueron divididas en dos cada una. De esta manera por cada unidad (un pescado) se obtuvieron cuatro subunidades (Figura 18). El diseño de ensayo utilizado fue el de parcelas divididas (split-plot). El factor principal fueron los días de almacenaje en frío (total de 6 fechas), y el factor secundario fueron las dosis de irradiación utilizadas (0,1,3 y 5 kGy). En cada fecha de muestreo se contó con tres unidades experimentales (tres pescados).

Las determinaciones se realizaron sobre 10 gramos de tejido por cada subunidad, de manera que por cada fecha de muestreo se tomaron tres pescados con sus distintas partes, realizándose un total de doce determinaciones.

Los datos se analizaron por ANOVA doble, y las diferencias entre las medias fueron analizadas por el test de Fisher ($\alpha=0,05$).



Figura 17: Partes anterior y media de merluza negra.



Figura 18: Subunidades de merluza negra.

7.3 Rancidez oxidativa de la porción H&G congelada e irradiada, durante el almacenaje en refrigeración.

Para el estudio se empleó un diseño de parcelas divididas con factor principal en bloques. Como factor principal se utilizó las dosis de irradiación (0, 1, 3 y 5 kGy) y como factor secundario las horas de almacenaje (cinco niveles) bajo refrigeración a 5°C. La experiencia se realizó a los 20 días post-irradiación.

Para las unidades de diseño se tomaron ejemplares de merluza negra seleccionados al azar (tres pescados que actúan como bloques) y las unidades experimentales fueron las zonas de cada pescado asignadas al azar a cada dosis de irradiación. Las subunidades experimentales fueron las submuestras de cada zona del pescado asignadas al azar para cada muestreo.

Los datos se analizaron por ANOVA doble y se utilizó la prueba de Dunnett para comparar los tratamientos con su control. Tomando como control el muestreo realizado a las 24 horas bajo refrigeración.

7.4 Componentes lipídicos: efecto de la radiación gamma sobre ácidos grasos, triglicéridos y fosfolípidos de la porción H&G congelada.

Para el estudio se trabajó con las partes anterior y media de la porción H&G (Figura 17). De esta manera por cada unidad se obtuvieron cuatro subunidades. Las determinaciones se realizaron por duplicado. Para evaluar el efecto de las dosis de irradiación de 1 y 5 kGy tanto al inicio como al final de la experiencia (0 y 293 días), los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA doble). Las diferencias entre medias fueron analizadas por el test de Fisher ($\alpha = 0.05$).

8. Análisis Sensorial

Las características organolépticas se evaluaron mediante un panel constituido por siete miembros (docentes de la Universidad Nacional del Sur) cuyas edades oscilaron entre 30 y 50 años. En una primera etapa el entrenamiento de los panelistas fue necesario dado que la totalidad de los mismos no tenían conocimiento previo de la especie. Se trabajó con las muestras remanentes provenientes de la experiencia relatada en la sección 7.1, a diferentes tiempos durante el almacenaje prolongado, sobre muestras crudas y cocidas. Este análisis se acompañó con discusiones sobre las propiedades a ser evaluadas y sobre los grados y puntuaciones específicas.

Previo al análisis sensorial las muestras congeladas fueron descongeladas, dejándolas por 18 horas a temperatura de refrigeración (5°C). Las muestras cocidas se obtuvieron colocándolas en recipientes plásticos tapados, sometiéndolas al tratamiento en un horno de microondas tipo familiar marca SMC, a potencia siete durante treinta segundos, alcanzando una temperatura interna superior a los 65°C.

En las muestras crudas se evaluó el olor, mientras que en las cocidas se evaluaron olor y sabor.

Para este estudio sensorial se empleó una prueba descriptiva siguiendo el método de escala estructurada recomendada por la FAO (Huss, 1998). La misma proporciona al panelista una escala con diferentes grados de intensidad (Cuadro 1).

Grado				Puntuación
Aceptable	Ausencia de olores/sabores Objetables	I	Olor/sabor característico de la especie Muy fresco, algas marinas Pérdida de olor/sabor Neutral	10 9 8 7 6
	Ligeros olores y sabores objetables	II	Ligeros olores y sabores objetables como a humedad/moho, ajo, pan/levadura, ácido, frutal, rancio	5 4
Límite de aceptación				
Rechazo	Severos olores y sabores objetables	III	Fuertes olores y sabores objetables a col vieja, NH ₃ , H ₂ S o sulfuros	3 2 1

Cuadro 1: Método de escala estructurada (Huss, 1998).

El Grado I corresponde a la ausencia de olores y sabores objetables; el Grado II corresponde a la presencia de ligeros olores y sabores objetables y el Grado III a la aparición de severos olores y sabores objetables. Se considera que el producto es aceptable hasta el Grado II.

En una segunda etapa se trabajó sobre las muestras remanentes de la experiencia 7.2, tanto crudas como cocidas. La evaluación sensorial se realizó en muestras controles e irradiadas con 1, 3 y 5 kGy.

Parte I

Rancidez oxidativa en las partes de la porción H&G de merluza negra almacenada por tiempo prolongado a -18°C

I.1. Objetivo

Mientras que en la literatura existen varios antecedentes en cuanto al comportamiento biológico de la merluza negra (Cousseau y Perrotta, 2000; Zhivov y Krivoruchko, 1990) es escasa la información sobre el mantenimiento de la calidad comercial de esta especie grasa en estado congelado. En este sentido, un grupo de investigadores alemanes (Manthey y col., 1991) originaron los únicos datos disponibles acerca de la estabilidad oxidativa de la especie; en forma de bloques de filetes provenientes de capturas en la Zona FAO N° 48 y mantenidos a -28°C.

En esta primera parte y con el objeto de originar información de valor, sobre merluza negra capturada en la Zona FAO N° 41, que posibilite el estudio del efecto de la radiación gamma sobre la calidad comercial de esta especie mantenida a -18°C, se estudió la estabilidad oxidativa de la porción H&G en términos de los productos secundarios de oxidación lipídica (índice de TBA). Además, se determinó si las partes anterior, media y posterior de dicha porción presentan diferencias en la evolución de dicho índice durante el almacenaje en estado congelado. Por otra parte, se estudió la rancidez oxidativa en porciones con signos evidentes de un manejo deficiente post-captura.

I.2. Resultados y Discusión

-Índice de TBA en las partes anterior, media y posterior de la porción H&G

La merluza negra es una especie de pescado considerada, por la mayoría de los autores, como de tipo grasa. Un nivel de lípidos del 17% fue informado para filetes de la especie por Manthey y col. (1991), mientras que niveles comprendidos entre el 10 y el 12% para diferentes partes del pescado fueron informados por Vinagre y col. (1991, 1992). Por otra parte, la revista nacional de divulgación Anuario-Redes (1999) indica para la especie un contenido de lípidos de 1,2 %. Para las muestras aquí en estudio Albertengo y Rodríguez (2004) determinaron valores de lípidos comprendidos entre el 6,44 y el 8,62 %. Estas variaciones podrían ser debidas a alguno de los muchos factores propios del pescado tales como sexo, edad, tamaño, zona de captura, etc. También pueden existir variaciones

debidas a diferencias en las distintas zonas del mismo ejemplar de la cual se extrae la muestra a analizar (Kurade y Baranoswki, 1987). Esto podría verse reflejado en variaciones en los parámetros que miden rancidez oxidativa de lípidos, tales como el índice de TBA. En este sentido y con el fin de lograr el objetivo expuesto, se investigó el comportamiento de las distintas partes de la porción H&G en términos de los productos secundarios de oxidación lipídica que reaccionan con el TBA. El mismo fue realizado mediante el procedimiento de destilación ya que está considerado ser el más sensible y también el más apropiado para muestras con alto contenido lipídico donde la turbidez puede estar presente en los extractos a analizar (Siu y Draper, 1978).

Los resultados de los controles realizados hasta los 255 días de almacenaje a -18°C se presentan en la Figura 19.

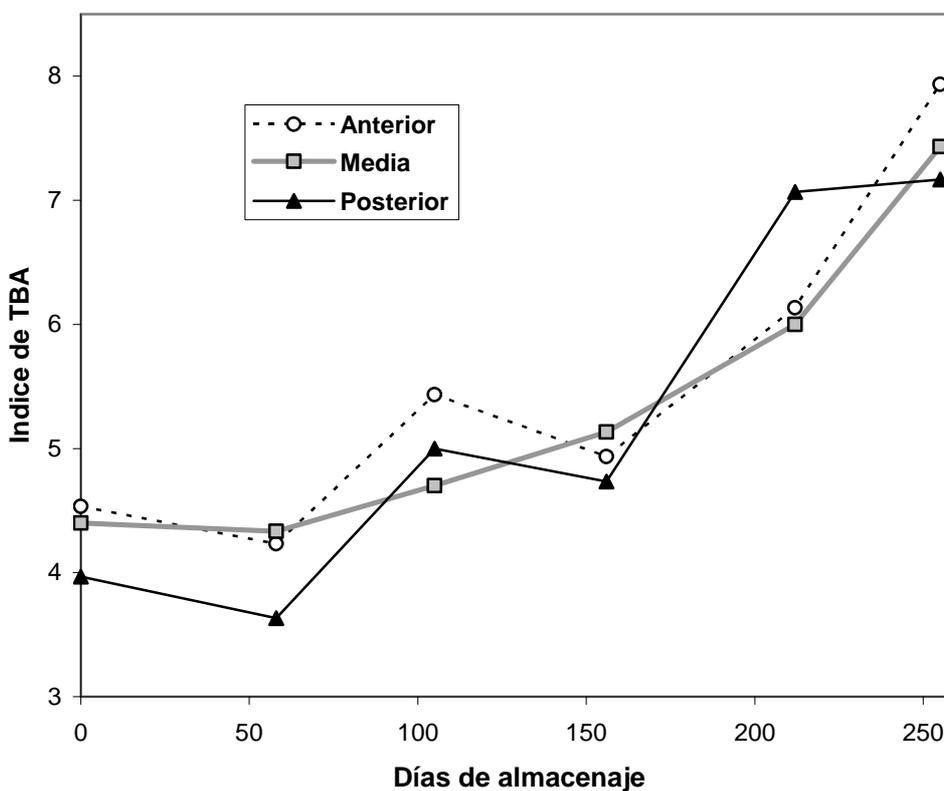


Figura 19. Índice de TBA en las partes anterior, media y posterior de la porción H&G de merluza negra durante el almacenaje prolongado a -18°C .

Tabla 3. Análisis de varianza del índice de TBA en las partes anterior, media y posterior de la porción H&G de merluza negra durante el almacenaje a -18°C.

FV	SC	GL	CM	F	p
Tiempo	79,067593	5	15,813519	15,69	0,0001
Error 1	12,097778	12	1,0081481	-	-
Partes	0,7159259	2	0,357963	1,40	0,2660
Interacción	4,6618519	10	0,4661852	1,82	0,1105
Error 2	6,1355556	24	0,2556481		
Total	102,6787	53			

- No se halló interacción tiempo por partes ($p > 0,05$).
- No se hallaron diferencias entre las distintas partes ($p > 0,05$).
- Existieron diferencias entre los días de muestreo ($p < 0,01$)

Resultados de la comparación de a pares:

Tiempo	0	58	105	156	212	255
DSM 5%	a	a	a	a	b	c

- Los dos últimos muestreos son diferentes del resto.

Puede verse para este parámetro que la interacción entre días y partes del pescado no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 3). El índice de TBA no presentó variaciones significativas entre las diferentes zonas del pescado ($p > 0,05$). Se aprecia un aumento altamente significativo ($p < 0,01$) en el índice de TBA a través del tiempo de almacenaje; el principal cambio tuvo lugar a partir de los 156 días alcanzando el máximo valor a los 255 días. Este último valor fue algo menor que 8 micromoles de MA/Kg, lo que de acuerdo a Ke y col. (1984) indica la ausencia de rancidez en el pescado congelado.

-Modelo de comportamiento del índice de TBA

Dado que las distintas partes del pescado no presentaron diferencias significativas en cuanto al comportamiento del índice de TBA, se procedió a considerar los valores sin discriminar entre partes. De ese modo se contó con un mayor número de réplicas en cada fecha para modelar el comportamiento de este parámetro en la porción H&G almacenada a -18° C por tiempo prolongado. En la Figura 20 puede verse que el índice de TBA de la especie en estas condiciones responde convenientemente a un modelo cuadrático.

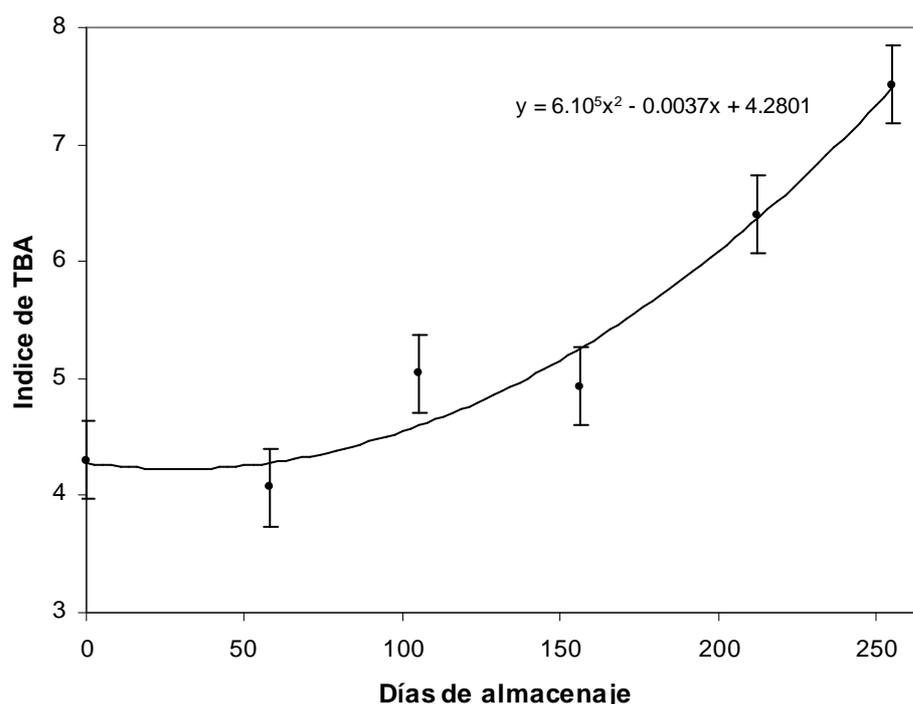


Figura 20. Comportamiento del índice de TBA en la porción H&G de merluza negra durante el almacenaje a -18°C

Los pescados grasos son susceptibles a la degradación lipídica, la cual puede ocasionar severos problemas en la calidad, incluso durante el almacenaje a temperaturas bajo cero (Huss, 1998). Nuestros resultados indican que el músculo de merluza negra en su forma H&G muestra estabilidad oxidativa en estado congelado por tiempo prolongado a -18°C , a pesar de su contenido graso. Este comportamiento podría ser explicado, en parte, por el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura del producto tanto a bordo como en su posterior almacenaje. Esto incluye una captura apropiada, un procesamiento inmediato e higiénico de los ejemplares, un proceso de congelado rápido acompañado por el glaseado, y la ausencia de fluctuaciones de temperatura durante el almacenaje (Huss, 1998).

En el pescado correctamente capturado y procesado los procesos de autólisis se minimizan. Por otra parte, la conservación de la integridad de las membranas del tejido evita el contacto entre enzimas y sustratos. El congelado rápido produce un gran número de cristales de hielo pequeños, reduciendo la posibilidad de ruptura de membranas. Por otra parte esto reduce la pérdida de agua por goteo cuando el tejido es descongelado (Johnston y col., 1994). La película de hielo sobre la superficie del pescado congelado

resultado del glaseado no sólo evita la deshidratación sino que también impide el pasaje de oxígeno retrasando el proceso de oxidación de las grasas (Undeland, 1995). El control de las fluctuaciones de temperatura durante el almacenaje congelado reduce los procesos de hidrólisis y oxidación de los lípidos.

El incremento del índice de TBA luego de los 156 días estaría conectado primariamente con procesos no enzimáticos. Ultimamente, se ha informado también que pueden tener participación las lipooxigenasas y enzimas microsómicas (Sikorski, 1994). Además, se debe tener en cuenta que la oxidación de los lípidos en el pescado congelado es el resultado final de interacciones tales como la composición de la grasa, la composición de AG insaturados, la constitución molecular de los FL y los TG, los niveles de prooxidantes y antioxidantes, el pH y la cantidad de agua sin congelar (Sikorski, 1994). Como consecuencia de estos factores y de sus interacciones, el control de las condiciones de almacenaje no es suficiente para predecir el grado de enranciamiento en los alimentos marinos congelados.

Las experiencias realizadas por Manthey y col. (1991) confirman la estabilidad oxidativa de la merluza negra. Estos autores trabajaron con bloques congelados de filetes de la especie capturada en la Zona FAO N° 48. Durante casi tres años el producto presentó un bajo nivel del índice de TBA mantenido a -28°C .

Además, el índice de TBA ha sido definido como un parámetro confiable para determinar la oxidación lipídica en pescado (Aubourg y col., 1998; Quaranta y col., 1984). Sin embargo y con referencia a la aptitud del producto este parámetro debe ir acompañado con la evaluación de las características organolépticas del mismo (Senasa, 1968), cuyo estudio ocupa la Parte V de esta tesis.

Sobre la base de lo expuesto se concluye que las partes anterior, media y posterior de la porción H&G no presentan diferencias significativas en cuanto al nivel de los productos secundarios de oxidación lipídica en las condiciones empleadas. La porción H&G presenta una destacada estabilidad oxidativa, que se justifica en parte por el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura. Se considera que la porción H&G procesada y almacenada en las condiciones descriptas, puede ser mantenida por tiempo prolongado con una óptima calidad desde el punto de vista de la oxidación de sus lípidos.

-Rancidez oxidativa en porción H&G con signos de fallas operativas

En esta primera experiencia al recibir las muestras de pescado H&G procedentes del buque, algunas pocas muestras adicionales mostraron signos de fallas operativas en el manejo del pescado post-captura. Efectivamente, la muestra denotaba presencia de restos de vísceras en la parte anterior (Figura 21). Se decidió mantener dicha muestra en estado congelado para su posterior investigación sobre la rancidez oxidativa en base a los productos secundarios de oxidación lipídica en: músculo contiguo a las vísceras, restos de vísceras y piel. La Tabla 4 muestra el índice de TBA en dichas partes a los 100 días de almacenaje a -18°C .

Tabla 4. Índice de TBA en merluza negra con fallas operativas, almacenada durante 100 días a -18°C .

Tipo de tejido	Índice de TBA $\mu\text{moles de MA/kg}$
Vísceras	50,0
Piel	14,0
Músculo H&G	8,0

El alto valor del índice de TBA encontrado en los restos de vísceras es el resultado principalmente de la hidrólisis enzimática. Las lipasas liberadas en los tejidos de los restos de vísceras dan como resultado la liberación de AG, que en pescado tienen alto grado de insaturación, los cuales son fácilmente oxidados dando como resultado compuestos de bajo peso molecular tales como aldehídos y cetonas (Huss, 1998).

El valor del índice de TBA encontrado en la piel tendría su explicación en la presencia de lipooxigenasa, enzima que acelera el proceso de oxidación (Sikorski, 1994)

El valor del índice de TBA encontrado en el músculo adyacente a los restos de vísceras fue un 60% más alto que el observado en las porciones correctamente evisceradas a los 100 días de almacenaje (Figura 19). Este aumento puede haber sido provocado por la migración de enzimas y/o prooxidantes provenientes de los restos de vísceras contiguos.



Figura 21: Partes de la porción H&G de merluza negra con restos de vísceras.

Otro defecto evidente fue el cambio de coloración que se presentó en los extremos de la porción (Figura 22). Este defecto ha sido atribuido a los compuestos carbonilos, procedentes de la oxidación de los lípidos que pueden reaccionar con los grupos aminos de las proteínas o aminas presentes en la carne de pescado, dando origen a coloraciones amarillentas. Este pardeamiento no enzimático es conocido como formación de herrumbre o “rusting” en el idioma inglés (Cheftel y Cheftel, 1976).

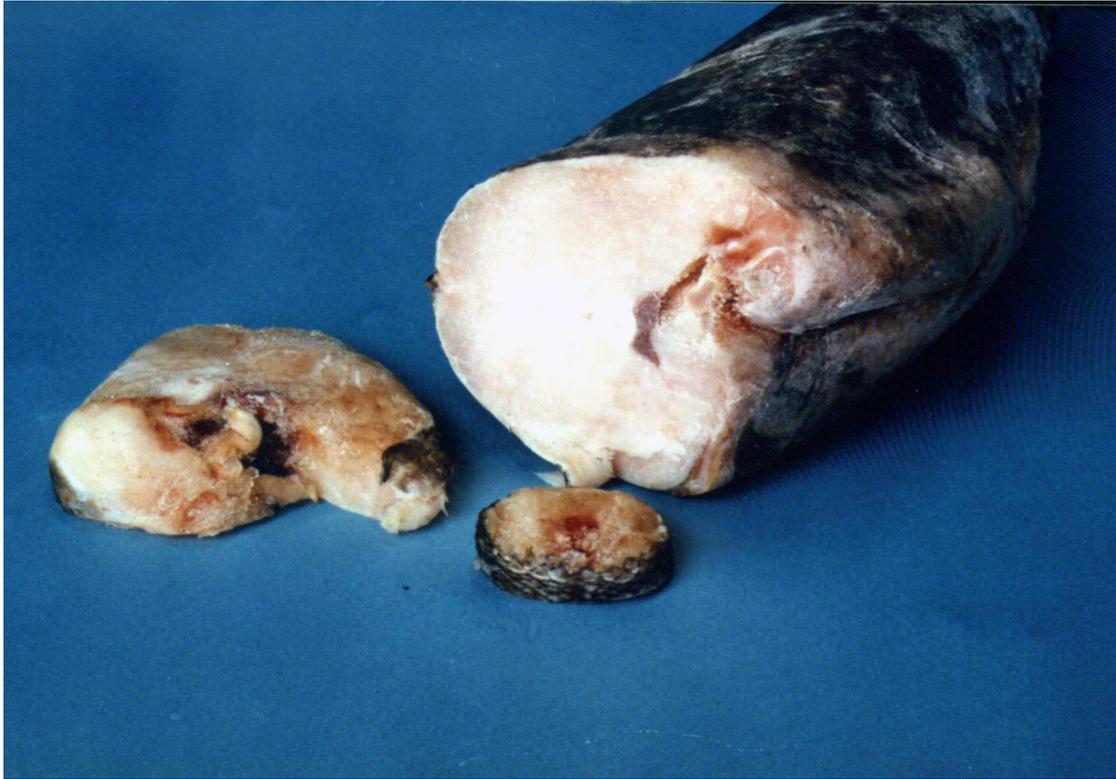


Figura 22: Extremos de la porción H&G de merluza negra con desarrollo de herrumbre (“rusting”).

Parte II

Parámetros químicos para el control de la calidad de merluza negra irradiada y almacenada a -18°C .

II.1. Objetivo

Conocer el efecto de la radiación gamma sobre la aptitud para el consumo de la porción H&G de merluza negra en términos de la rancidez oxidativa, las bases nitrogenadas totales y la acidez durante el almacenaje congelada a -18°C . Para tal fin, se emplearon los tercios anterior y medio de dicha porción, siendo tratados con 0, 1, 3 y 5 kGy, determinándose el índice de TBA, el NBVT y el pH hasta los 293 días de almacenaje congelado.

II.2. Resultados y Discusión

II.2.1. Índice de TBA

La Figura 23 muestra el efecto de las distintas dosis de radiación gamma sobre el índice de TBA en merluza negra mantenida a -18°C durante el almacenaje prolongado. Un valor promedio de MA de $5\ \mu\text{moles/kg}$ fue determinado en el músculo al comienzo del almacenaje.

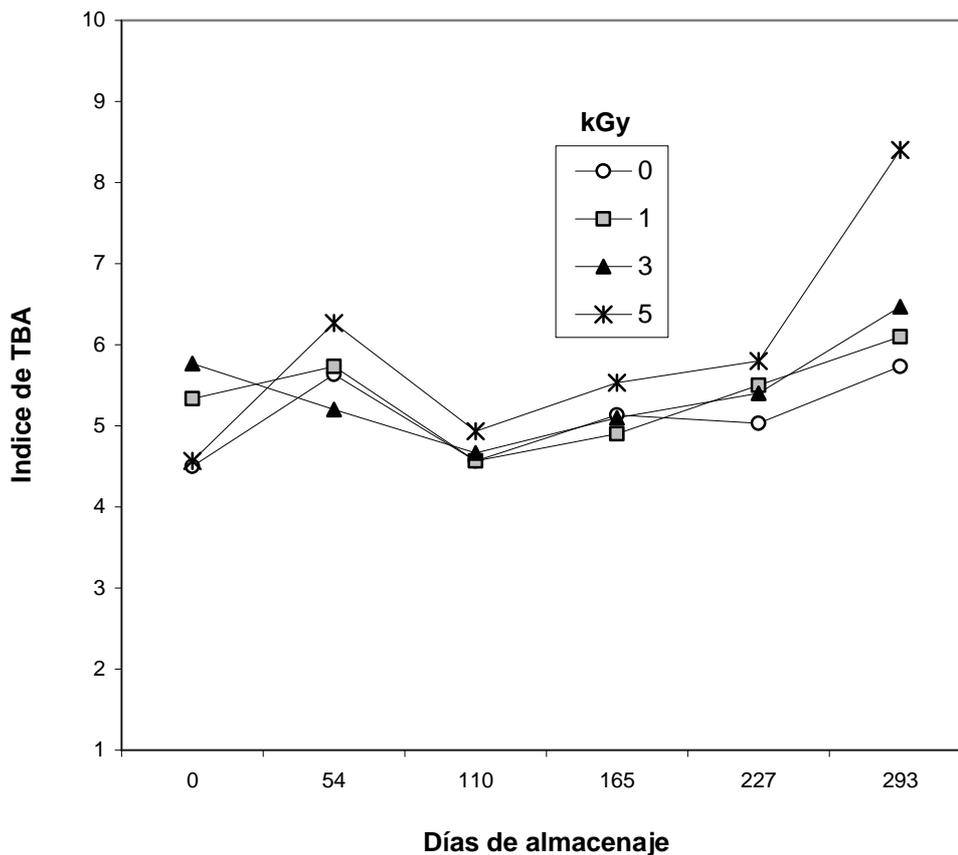


Figura 23: Efecto de la radiación gamma sobre el índice de TBA en la porción H&G de merluza negra durante el almacenaje a -18°C .

El análisis de varianza (Tabla 5) demostró que la interacción entre los días y los niveles de dosis aplicadas no fue significativa ($p > 0,01$). Pero, a través del tiempo dicho índice presentó diferencias altamente significativas ($p < 0,01$). Esto se explica por cuanto a los 54 días el índice presentó un valor promedio de $5,7 \mu\text{moles/kg}$ para luego disminuir a $4,6$ a los 110 días. Luego, el índice mostró leves aumentos hasta los 227 días. Presentando un valor promedio de $6,7 \mu\text{moles/kg}$ al final del período de almacenaje.

Tabla 5: Análisis de varianza del índice de TBA en la porción H&G de merluza negra irradiada y almacenada a -18°C .

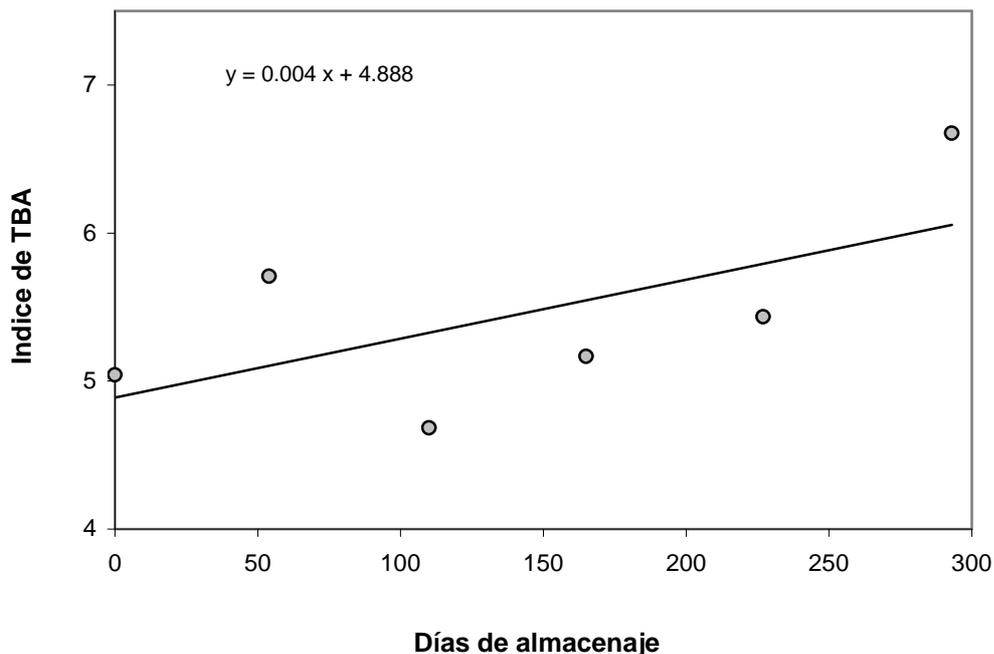
FV	SC	Gl	CM	F	p
Días	28,8290	5	5,7658	5,98	0,0053
Error 1	11,5633	12	0,9636	-	-
Dosis	6,2904	3	2,0968	3,62	0,0220
Interacción	13,3404	15	0,8894	1,54	0,1437
Error 2	20,8367	36	0,5788		
Total	80,8599	71			

- No se detectó interacción días por dosis ($p>0,10$).
- Se hallaron diferencias entre las dosis de radiación ($p<0,05$).
- Se hallaron diferencias entre los días de almacenaje ($p<0,01$).

El análisis del comportamiento del índice de TBA entre los días se muestra en la Figura 24 y Tabla 6. Se observó que el comportamiento de dicho índice no presenta un buen ajuste lineal. Por lo tanto la pendiente de la recta debe ser vista como una tendencia promedio en el período.

Tabla 6: Comparación entre días de almacenaje (promedio de todas las dosis)

FV	SC	Gl	CM	F	p
Reg lineal	11,3146	1	11,3146	6,23	0,0239
Desviac	17,5144	4	4,3786	4,54	0,0182
Error 1	11,5633	12	0,9636		



- Se detectaron desviaciones significativas al modelo lineal ($p < 0,05$).
- La pendiente es estadísticamente distinta de “cero” ($p < 0,05$).
- Como conclusión la pendiente de la recta se debe considerar como una tendencia promedio en el período.

Figura 24: Comportamiento del índice de TBA en función de los días de almacenaje (promedio de todas las dosis)

El análisis del efecto de las dosis de radiación sobre el índice de TBA puede verse en la Figura 25 y Tabla 7. Se encontró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en el índice de TBA debido a las dosis. Esto se explica por el hecho que las muestras tratadas con 5 kGy presentaron un valor de 8,5 $\mu\text{moles/kg}$ a los 293 días de almacenaje.

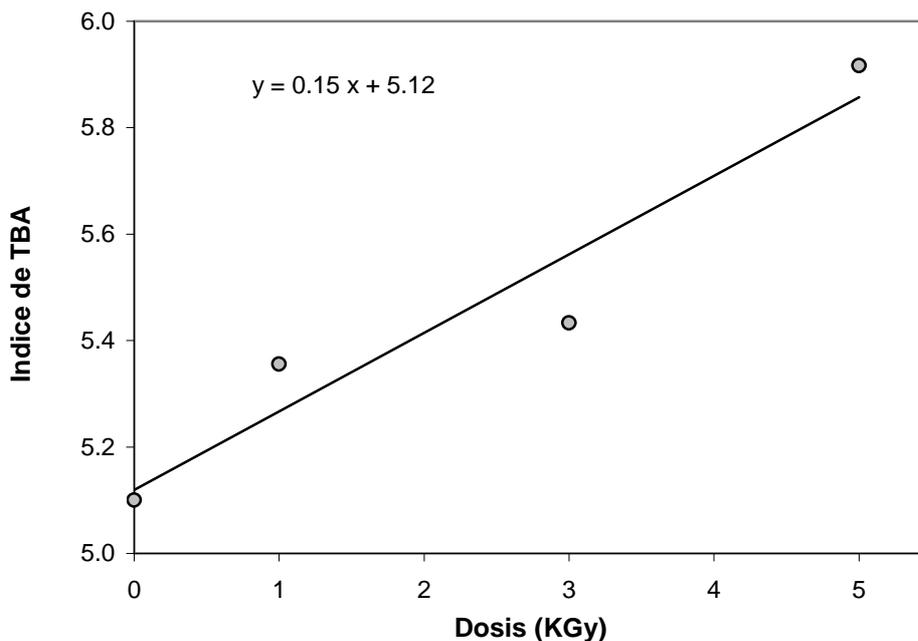
Tabla 7: Comparación entre dosis (promedio en todo el período)

FV	SC	GL	CM	F	P
Reg lineal	5,7803	1	5,7803	9,99	0,0032
Desviac	0,5101	2	0,2550	0,44	0,6471
Error 2	20,8367	36	0,5788		

Resultados de la comparación de a pares

Dosis (kGy)	0	1	3	5
DSM 5%	a	a	ab	b

- Solamente la dosis de 5 kGy difiere del control.



- No se detectaron desviaciones significativas al modelo lineal ($p > 0,60$).
- La pendiente es estadísticamente distinta de "cero" ($p < 0,01$).
- Como conclusión, se obtuvo un buen ajuste lineal

Figura 25: Comportamiento del índice de TBA en función de las dosis de radiación (promedio de todo el período).

La disminución observada en el índice de TBA en el corto plazo de almacenaje congelado (110 días), en todos los tratamientos (Figura 23), puede ser explicada por la interacción de los compuestos de oxidación lipídica, principalmente aldehídos, con grupos funcionales proteicos (Aubourg, 1999). El leve aumento promedio observado en el índice de TBA luego de 110 días sería debido a una lenta acumulación de productos secundarios de oxidación lipídica.

El comportamiento del índice de TBA en el pescado control, durante el almacenaje congelado aquí presentado, muestra ligeras diferencias con lo observado para esta especie en la experiencia motivo de la Parte I (Figura 19). Dichas diferencias podrían estar relacionadas, entre otras, con variaciones en la composición de los ácidos grasos insaturados debido a los diferentes años de captura.

La aplicación de dosis de 1 y 3 kGy no modificaron el comportamiento del índice de TBA durante el almacenaje congelado. De acuerdo a Ke y col. (1984) las muestras tratadas con estas dosis no mostraron signos de rancidez. De manera que las mismas no tuvieron influencia en la formación de productos secundarios de oxidación lipídica. Cabe

destacar que la ausencia de rancidez en términos del índice de TBA no significa la ausencia total de productos de oxidación ya que en el estado congelado las velocidades de las reacciones se encuentran disminuídas (Sikorski, 1994).

Contrariamente, el efecto de la dosis de 5 kGy llevó a pensar en la ocurrencia de una mayor acumulación de productos secundarios de oxidación lipídica que se puso en evidencia a partir de los 227 días. De acuerdo a Ke y col. (1984) a este tiempo el producto se puede calificar como moderadamente rancio aunque aceptable. Luego y sobre la base de los principios de química de las radiaciones, la dosis de 5 kGy habría provocado una mayor producción de radicales libres que las menores dosis en el músculo, induciendo una mayor formación de productos secundarios de oxidación vía hidroperóxidos (Diehl,1990). Tampoco se puede excluir la posibilidad de que la radiación ionizante en medio aerobio haya producido daños oxidativos en aminoácidos y péptidos del pescado produciendo peróxidos orgánicos y sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (Giroux y Lacroix, 1998).

Los resultados presentados sugieren que bajas dosis de radiación gamma de 1 y 3 kGy, en conjunción con el almacenaje a -18°C no afectan la conservación de la porción H&G de merluza negra en términos del índice de TBA.

II.2.2. NBVT

El valor de NBVT de merluza negra al momento de su captura en la Zona FAO N° 41 ha sido determinado por investigadores del CITEP-Argentina. Trucco y col (1978) informaron un valor de 14,3 mg N/100g siendo este uno de los valores iniciales más bajos en relación a diversas especies pesqueras del Mar Argentino.

El impacto inicial del proceso de congelado sobre el valor de NBVT de merluza negra no está disponible en la literatura. En merluza hubbsi se ha determinado que el proceso de congelado a -30°C produce un incremento en el valor inicial de NBVT del 13% (Ciarlo y col., 1987). A manera de ejercicio, suponiendo un comportamiento similar para merluza negra y tomando un valor inicial de NBVT de 14,3 mg N/ 100 g, este valor se elevaría a 16,6 mg N/100g por el proceso de congelado. Nuestros resultados muestran que el músculo de la especie luego de permanecer congelado a bordo durante 45 días a -30°C , presenta un valor promedio de NBVT de 17,7 mg N/100g (Figura 26). De este modo podría pensarse que los ejemplares de merluza negra analizados en este trabajo fueron capturados, elaborados y congelados a bordo cumpliendo con las buenas prácticas

de manufactura. Manthey y col. (1991) evaluaron el NBVT en filetes de la especie adulta capturados en la Zona FAO N° 48. Determinaron que luego de permanecer congelados en bloques durante 4 meses a -30°C , los filetes presentaban un valor de NBVT de 12 mgN/100g, valor que estos autores consideraron bajo en comparación con especies del Atlántico Norte.

El contenido de NBVT del pescado congelado, control e irradiado con diferentes dosis, durante almacenaje prolongado a -18°C se muestra en la Figura 26.

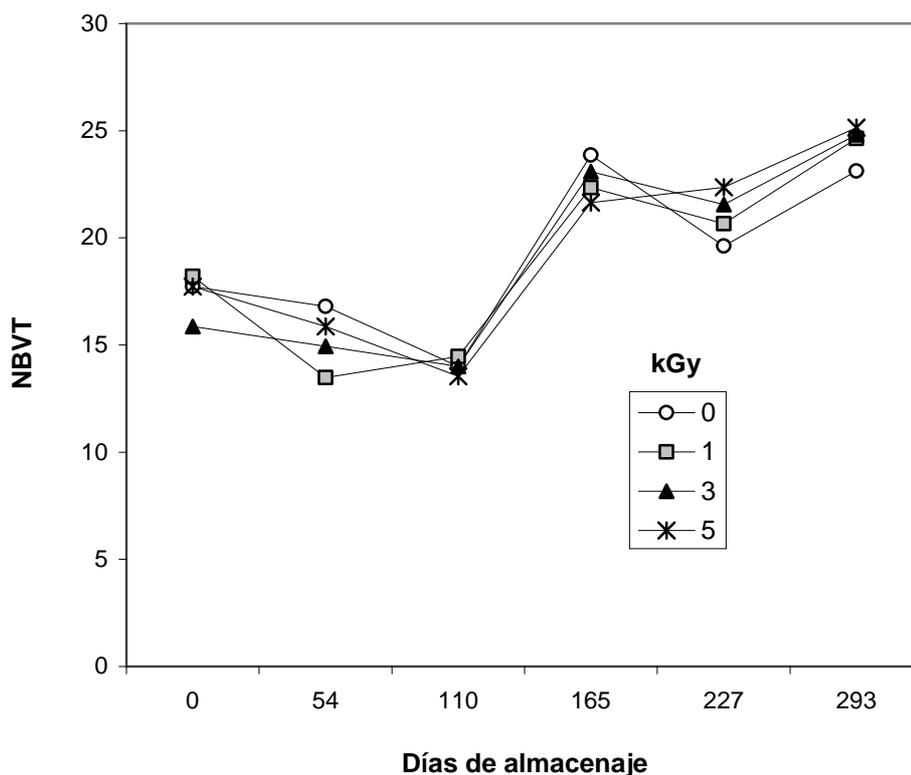


Figura 26: Efecto de la radiación gamma sobre el de NBVT en la porción H&G de merluza negra durante el almacenaje a -18°C .

Al comienzo del almacenaje el valor promedio del NBVT que presentaron las muestras control fue comparable a los presentados por las irradiadas. El análisis de varianza (Tabla 8) mostró que la interacción entre los días de almacenaje y las dosis aplicadas no fue significativa ($p > 0,4$). Las dosis de radiación empleadas no afectaron los valores de NBVT ($p > 0,90$). Sin embargo, se hallaron diferencias en el valor de NBVT a medida que transcurrió el tiempo de almacenaje ($p < 0,01$).

Tabla 8: Análisis de varianza del NBVT en la porción H&G de merluza negra irradiada y almacenada a -18°C .

FV	SC	GL	CM	F	p
Días	1068,1136	5	213,6227	29,15	0,0000
Error 1	87,9260	12	7,3272	-	-
Dosis	1,8257	3	0,6086	0,18	0,9120
Interacción	55,3064	15	3,6871	1,07	0,4184
Error 2	124,5201	36	3,4589		
Total	1337,6918	71			

- No se detectó interacción días por dosis ($p>0,40$).
- No se hallaron diferencias entre las dosis de radiación ($p>0,90$).
- Se hallaron diferencias entre los días de almacenaje ($p<0,01$).

La comparación entre los días de almacenaje (Tabla 9) permite confirmar una disminución gradual en los valores de NBVT hasta los 110 días de almacenaje en todas las muestras. Luego, a los 165 días el NBVT aumentó significativamente (60%), habiendo registrado un valor promedio de 22,7 mg N/100 g. Este valor no fue estadísticamente diferente al encontrado a los 227 días (21,1 mg N/100g). Posteriormente el valor de NBVT aumentó hasta un valor de 24,4mg N/100g a los 293 días de almacenaje.

Tabla 9: Comparación entre Días de almacenaje (promedio de todas las dosis)

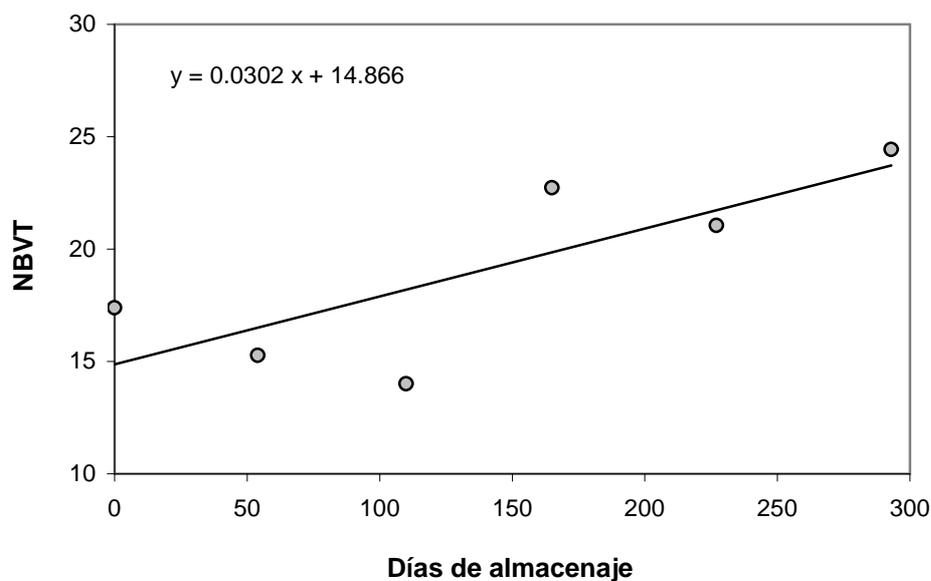
FV	SC	GL	CM	F	p
Reg lineal	11,3146	1	11,3146	6,23	0,0239
Desviac	17,5144	4	4,3786	4,54	0,0182
Error 1	11,5633	12	0,9636		

Resultados de la comparación de a pares

Días	0	54	110	165	227	293
DSM 5%	b	ab	a	cd	c	d

- Las tres primeras fechas de almacenaje difieren de las otras tres.

Por otra parte, el comportamiento del NBVT en función de los días de almacenaje (Figura 27), no sigue estrictamente un modelo lineal.



- Se detectaron desviaciones significativas al modelo lineal ($p < 0,05$).
- La pendiente es estadísticamente distinta de “cero” ($p < 0,05$).
- Como conclusión, no se obtuvo un buen ajuste lineal, pero tampoco se observa un modelo alternativo, por lo tanto, la pendiente de la recta se debe considerar como una tendencia promedio en el período.

Figura 27: Comportamiento del NBVT en la porción H&G de merluza negra en función de los días de almacenaje (promedio de todas las dosis)

En resumen el comportamiento de NBVT en el pescado irradiado es idéntico al que presenta el control a lo largo del almacenaje a -18°C . El valor de NBVT siempre se mantuvo por debajo del límite de aceptación. El Código Alimentario Argentino y el Reglamento de Inspección de Productos de Origen Animal establecen como valor máximo de NBVT para el pescado 30 mg N/100 g. Este valor es coincidente con el establecido para el Mercosur (1994) y el Reglamento de la UE (2005).

Manthey y col. (1991) monitorearon la evolución del NBVT en filetes no rebozados y rebozados de la especie almacenados durante 30 meses a -28°C provenientes de bloques congelados durante 4 meses a -30°C . Luego de los 30 meses encontraron leves incrementos en el valor de NBVT alcanzando los 13 mg N/100 g y 15 mg N/100g en filetes rebozados y no rebozados respectivamente. También determinaron que la suma de los valores de NH_3 , DMA y TMA era casi idénticos a los valores de NBVT.

El aumento de NBVT durante el almacenaje en estado congelado normalmente es adjudicado a un incremento en la DMA originado por la acción de la enzima OTMA-dimetilasa sobre el OTMA para producir DMA y FA (Sikorski, 1994; Huss, 1998). Debido a que ha sido reportado la falta de esta enzima en merluza negra (Manthey y col.,

1991), el aumento del NBVT luego de los 110 días de almacenaje a -18°C no podría ser adjudicado a un incremento en el nivel de DMA. Sin embargo, existe la posibilidad de que se forme DMA en pescados congelados por vías no enzimáticas (Moya y Lovazzano, 2006). Otra posibilidad es que el aumento registrado en el NBVT sea una consecuencia de procesos autolíticos lentos en el músculo congelado, tales como la desaminación de aminoácidos y/o la degradación de nucleótidos con producción de amoníaco.

Los resultados muestran que la porción H&G de merluza negra presenta valores de NBVT dentro de los límites de aceptación para el consumo, bajo almacenaje a -18°C tanto sin irradiar como irradiada con dosis entre 1 y 5 kGy.

II.2.3. pH

En general, dependiendo de la especie, la estación del año y otros factores que incluyen el manejo del pescado durante la captura, su pH post-mortem varía desde 6,0 a 7,1 (Simeonidou y col., 1998).

Los valores promedio del pH durante el período de almacenaje a -18°C de la porción H&G de merluza negra irradiada y su control no irradiada se muestran en la Figura 28. Puede verse que al comienzo del almacenaje el músculo del pescado mostró un valor promedio de pH de 6,9. Otros investigadores han informado un pH inicial comprendido entre 6,7 y 6,8 para filetes congelados de la especie adulta capturada en la Zona FAO N° 48 (Manthey y col., 1991).

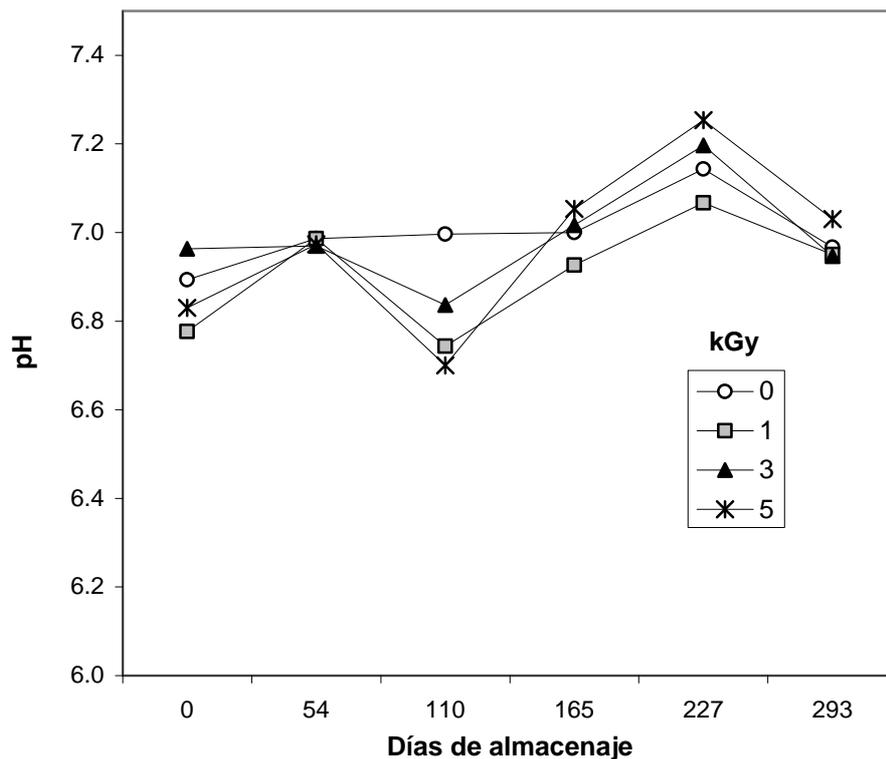


Figura 28: Efecto de la radiación gamma sobre el pH en la porción H&G de merluza negra durante el almacenaje a -18°C .

El alto valor del pH inicial de la merluza negra informado en esta experiencia (Figura 28) podría ser un reflejo de las condiciones fisiológicas de la especie al momento de la captura. Cabe destacar que el pescado posee un nivel más bajo de glucógeno que los mamíferos (Huss, 1998). De acuerdo a Azam y col.(1990) y a Özogul y col. (2005), un valor alto de pH está asociado con un alto estrés antes del sacrificio. Lo que se relaciona con una disminución de las reservas energéticas, principalmente del glucógeno, con producción de lactato durante el metabolismo anaerobio.

Las variaciones en los valores de pH que mostró el músculo del pescado durante el tiempo de almacenaje a -18°C (Figura 28 y Tabla 10) no fueron significativas ($p > 0,4$). Sin embargo, en la mayoría de las muestras se encontró un aumento luego de los 100 días lo que coincide con el aumento del valor de NBVT para dicho período (Figura 26). Un mismo comportamiento fue informado por Manthey y col. (1991) para filetes de merluza negra adulta almacenados a -28°C . Resultados similares también han sido informados por Molina y col. (2000) para el surubí manchado (*Pseudoplatystoma corruscans*) –una especie grasa de río– mantenido a -16°C .

Las dosis de radiación aplicadas no mostraron efecto sobre los valores de pH del músculo del pescado ($p > 0,15$) (Tabla 10). El tiempo de almacenaje tampoco tuvo influencia sobre el comportamiento del pH del músculo de pescado sometido a la radiación gamma ($p > 0,40$).

Tabla 10: Análisis de varianza del pH en la porción H&G de merluza negra irradiada y almacenada a -18°C .

FV	SC	GL	CM	F	p
Días	0,8702	5	0,1740	1,02	0,4476
Error 1	2,0454	12	0,1705	-	-
Dosis	0,0879	3	0,0293	1,74	0,1759
Interacción	0,2224	15	0,0148	0,88	0,5891
Error 2	0,6058	36	0,0168		
Total	3,8317	71			

- No se detectó interacción días por dosis ($p > 0,55$).
- No se hallaron diferencias entre las dosis de radiación ($p > 0,15$).
- No se hallaron diferencias entre los días de almacenaje ($p > 0,40$).

La estabilidad observada en el pH durante el curso del almacenaje congelado es una evidencia de la ausencia de desarrollo de microorganismos del deterioro en el tejido durante el período de estudio. Desde el punto de vista microbiológico la congelación preserva al pescado por una combinación de la reducción de la temperatura y una disminución en la actividad del agua (Johnston y col., 1994). Por otra parte, las radiaciones ionizantes causan daños en macromoléculas incluyendo los ácidos nucleicos (Diehl, 1990) por lo que la mayoría de los microorganismos son eliminados por la radiación.

En resumen, la porción H&G de merluza negra presenta estabilidad oxidativa en términos del índice de TBA durante el almacenaje congelado a -18°C por tiempo prolongado. Dicha estabilidad no se ve modificada por el tratamiento de irradiación entre 1 y 3 kGy. El grado de rancidez se mantuvo siempre dentro del rango de aceptabilidad. Con respecto a la dosis de 5 kGy al final del almacenaje las muestras se tornaron ligeramente rancias.

Sobre la base de los niveles de NBVT de la porción de la especie, el tratamiento de irradiación no alteró el comportamiento del tejido. Un aumento altamente significativo en

el valor de este parámetro tuvo lugar luego de los 110 días de almacenaje. Sin embargo, los valores nunca superaron los niveles permitidos.

Los valores de pH de la porción se mantuvieron constantes a lo largo del almacenaje congelado por tiempo prolongado, y no se vieron modificados por el tratamiento de irradiación.

El efecto no detrimental de la radiación ionizante sobre los parámetros analizados en la porción H&G de merluza negra pueden ser explicados sobre la base del estado físico del agua presente en la muestra al momento de irradiar. Está comprobado que cuando el agua está congelada los radicales libres formados por la radiación a medida que transcurre el tiempo tienden a recombinarse formando las sustancias originales; esto es debido a que en el estado congelado la difusión está reducida limitando así el acceso de los radicales a otros componentes (Diehl, 1990; Taub y col., 1978).

Finalmente, y sobre la base de los parámetros químicos tratados en este capítulo, la aptitud de la porción H&G congelada de la especie puede ser calificada como: i) condición HQL hasta los 110 días y ii) condición PSL entre los 110 y 293 días. Además la relación PSL/HQL presenta un valor de 2,66 considerado óptimo para productos congelados (Sikorsky, 1994).

Parte III

Rancidez oxidativa en la porción H&G de merluza negra irradiada, descongelada y mantenida a 5°C

III.1. Objetivo

Conocer el efecto de la radiación gamma sobre la porción H&G de merluza negra descongelada en términos de la rancidez oxidativa durante el almacenaje en condiciones de refrigeración, situación habitual para los consumidores. Para tal fin se emplearon la parte anterior y media del pescado sobre la cual se obtuvo el índice de TBA entre las 24 y 264 horas de almacenaje a 5°C.

III.2. Resultados y Discusión

La Figura 29 muestra el efecto de distintas dosis de radiación gamma sobre el índice de TBA de merluza negra mantenida en condiciones aerobias a 5°C durante 264 horas. Los valores promedio obtenidos estuvieron comprendidos entre 6 y 13 μmol de MA/kg.

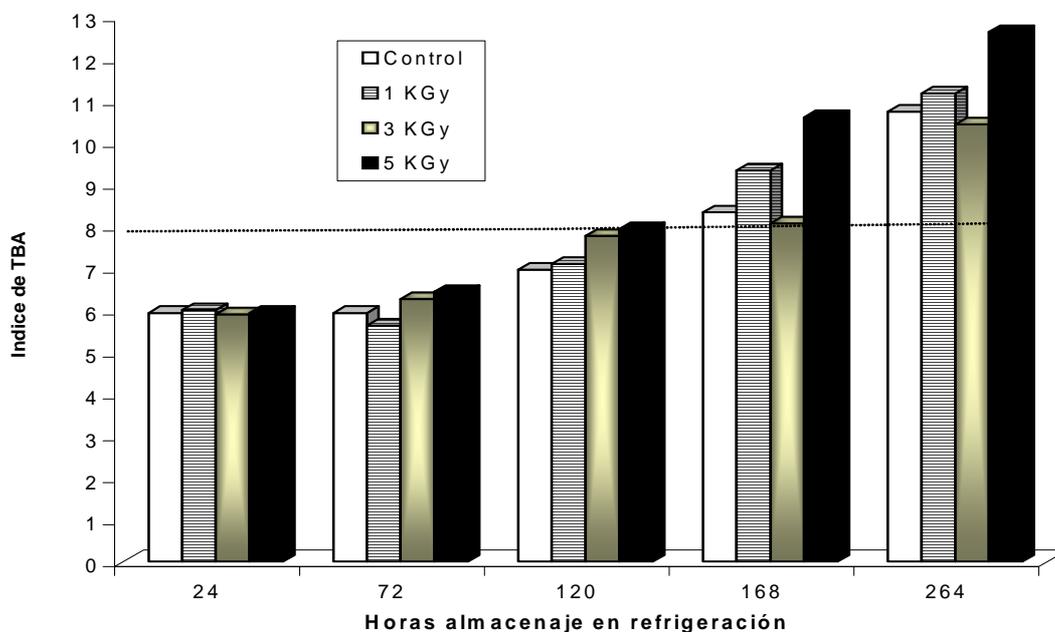


Figura 29. Efecto de la radiación gamma sobre el índice de TBA en la porción H&G de merluza negra durante el almacenaje a 5°C

El análisis de varianza (Tabla 11) demostró que no hubo interacción entre las dosis aplicadas y las horas de almacenaje ($p>0,80$). No se hallaron diferencias debidas a las dosis en el índice de TBA ($p>0,70$). Sin embargo, se detectaron diferencias altamente significativas ($p<0,01$) en dicho índice a media que transcurrió el tiempo.

Tabla 11. Análisis de varianza del índice de TBA en la porción H&G de merluza negra irradiada y descongelada en refrigeración.

f. de v.	SC	Gl	CM	F	p
Pescados	104,1690	2	52,0845	-	-
Dosis	11,8405	3	3,9468	0,47	0,7114
Error 1	49,9070	6	8,3178	-	-
Horas	23,4977	4	59,8744	34,92	0,0000
Interacción	11,8237	12	0,9853	0,57	0,8459
Error 2	54,8707	32	1,7147		
Total	472,1085	59			

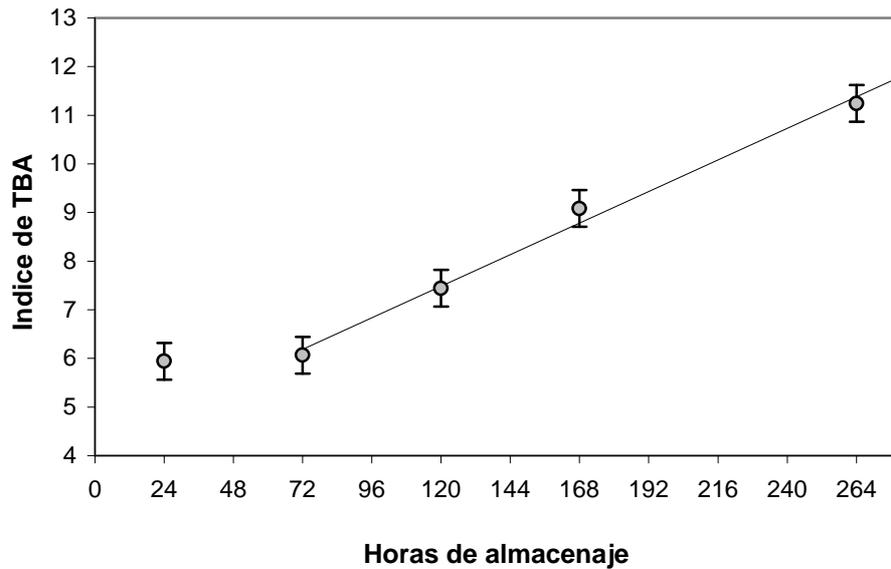
- No se detectó interacción dosis x horas de almacenaje ($p>0,80$)
- No se hallaron diferencias entre las dosis ($p>0,70$)
- Se hallaron diferencias entre las horas de almacenaje ($p<0,01$)

Comparación entre horas de almacenaje con la inicial (24 hs) Prueba de Dunnett.

Horas.de almacenaje	72	120	168	264
Estadísticos	0,2338	2,8059	5,8768	9,9142
Resultados	Ns	*	**	**

- No se hallaron diferencias hasta las 72 hs de almacenaje. Luego el índice de TBA aumentó.

Dado que no se encontraron diferencias significativas en el índice de TBA por los distintos niveles de dosis aplicados se procedió a considerar los valores sin discriminar por dosis. Por lo tanto se contó con mayor número de réplicas en cada fecha para conocer el comportamiento del parámetro en la porción H&G descongelada y mantenida a 5°C. (Figura 30).



- A partir de las 72 hs se ajustó una recta para relacionar el Índice de TBA con las horas de almacenaje.
- Ecuación: Índice de TBA: $4,236 \times 0,027$ hs.
- Implica que a partir de las 72 hs. (3 días) hay un aumento de $0,027 \mu\text{moles}$ de malondialdehído por hora de almacenaje ($0,65 \mu\text{moles}$ de MA por día de almacenaje).

Figura 30. Efecto del tiempo de almacenaje en refrigeración sobre el índice de TBA de la porción H&G de merluza negra.

La prueba de Dunnet se empleó tomando como dato de referencia el valor promedio del índice de TBA proveniente de la muestra descongelada por 24 horas a 5°C . De este modo se determinó que durante las primeras 72 hs. el índice de TBA se mantuvo constante alrededor de $6 \mu\text{moles MA/kg}$. Posteriormente, se registró un aumento significativo en este parámetro. La rancidez se comenzó a evidenciar a las 168 hs ($8 \mu\text{moles MA/kg}$). A las 264 hs. el índice de TBA reveló un valor de rancidez moderado ($11 \mu\text{moles MA/kg}$). Cabe aclarar que globalmente, a las 72 hs. comenzaron a percibirse olores desagradables, los cuales se intensificaron a medida que transcurrió el tiempo de almacenaje en refrigeración. Lo que indica falta de aptitud para el consumo.

Cuando el pez muere, inmediatamente comienza el proceso de autólisis, el cual es frenado por el congelado. Luego, al descongelar el producto, los mecanismos autolíticos se acentúan involucrando los fenómenos de proteólisis y lipólisis. De esta manera se crea un medio favorable para el desarrollo de microorganismos facilitándose la alteración del producto (Ordoñez, 1998). El desarrollo microbiano provoca la hidrólisis de triglicéridos y la oxidación lipídica formando peróxidos, aldehidos, cetonas y ácidos grasos de cadena corta. Estos procesos son más lentos que la descomposición de sustancias nitrogenadas, por lo que éstas últimas suelen ser la principal causa de alteración del pescado durante el almacenaje en refrigeración. En condiciones de refrigeración la oxidación de los lípidos es de menor importancia (Sikorski, 1994)

Los olores desagradables percibidos en el pescado, luego de las 72 hs. de descongelado y mantenido en refrigeración, tendrían una mayor relación con el proceso de degradación de sustancias nitrogenadas que con el proceso de oxidación lipídica. Por lo tanto se deduce que el índice de TBA no es el parámetro de elección a la hora de evaluar la frescura de la merluza negra bajo condiciones de refrigeración.

El hecho que el índice de TBA mostrara un mismo comportamiento en las muestras irradiadas y las no irradiadas a lo largo del almacenaje en refrigeración tendría su explicación en base a los fundamentos de la química de las radiaciones. La irradiación en el estado congelado impide la difusión de los productos de la radiólisis del agua (Taub y col., 1978). Durante la transición del estado congelado al descongelado, a raíz de los radicales libres remanentes, aparecen intermediarios reactivos que reaccionan preferentemente unos con otros y en menor medida con los componentes de los alimentos. De este modo, cualquier daño a los constituyentes de los alimentos es mucho menor que el que tendrían los alimentos cuando son irradiados en estado no congelado (Swallow, 1977). La ausencia de efectos de la radiación sobre la rancidez oxidativa de la merluza negra bajo las condiciones estudiadas tendría un sustento en lo anteriormente descrito.

Dado que la radiación no elimina las toxinas producidas por algunos agentes patógenos, como el *Clostridium botulinum* tipo E, se debe enfatizar que todo producto marino debe ser almacenado en frío a una temperatura menor de 3°C.

Parte IV

Composición de ácidos grasos y contenido de triglicéridos y fosfolípidos de la porción H&G de merluza negra irradiada y almacenada a -18°C

IV.1. Objetivo

Conocer la composición de ácidos grasos totales y el contenido de triglicéridos y fosfolípidos presentes en la parte anterior y media de la porción H&G de merluza negra congelada, e investigar los cambios en estos parámetros como resultado de la irradiación con 1 y 5 kGy de rayos gamma a los 0 y 293 días de almacenaje a -18°C .

IV.2. Resultados y Discusión

IV.2.1 Lípidos y ácidos grasos de la porción H&G almacenada a -18°C

La composición de ácidos grasos del músculo de ejemplares juveniles de merluza negra, agrupados según su grado de instauración se presenta en la Figura 31. Al comienzo del almacenaje a -18°C (0 días de almacenaje post-irradiación) los lípidos totales de las muestras control (0 kGy) mostraron un predominio de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), los que contribuyeron con un 46,6 % al total de los ácidos grasos presentes en las muestras. Los ácidos grasos saturados (AGS) siguieron en importancia, representando un 26,4 % del total, mientras que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) fueron minoritarios (16,7 %). Las proporciones de estos ácidos grasos dieron como resultado una relación insaturados/saturados igual a 2,4.

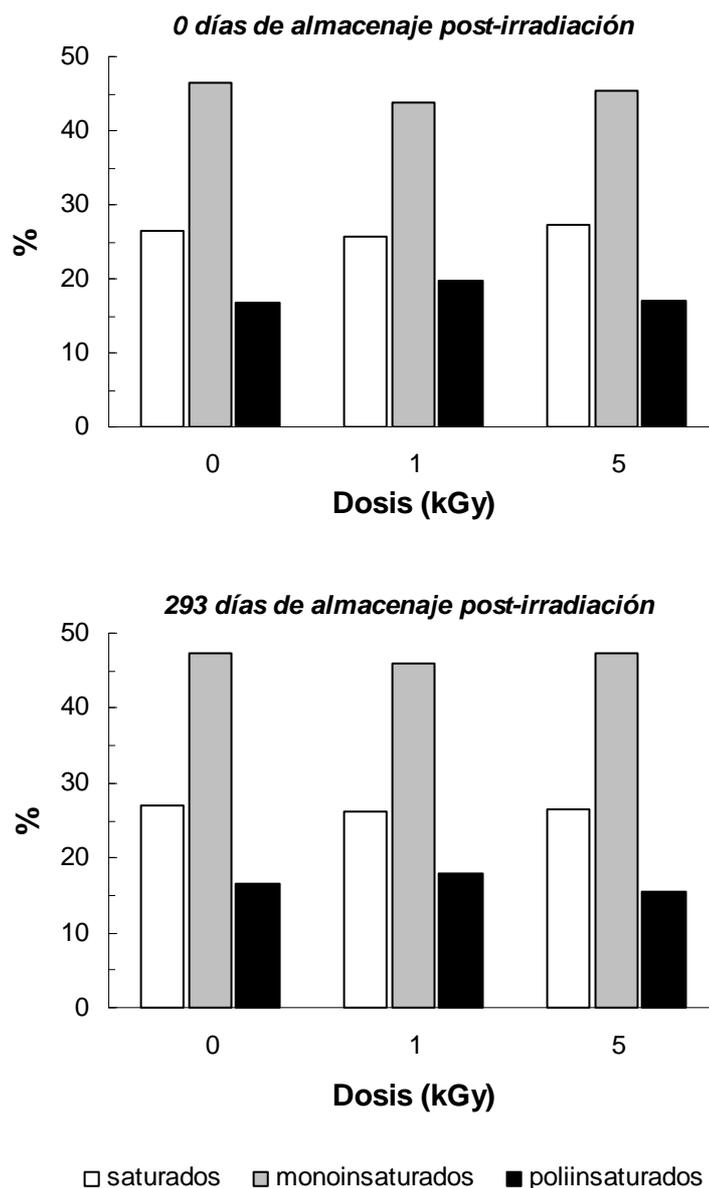


Figura 31. Distribución porcentual de los principales grupos de ácidos grasos en lípidos totales de músculo de merluza negra almacenada a -18°C .

Un detalle de los ácidos grasos que constituyen los grupos de AGS, AGMI y AGPI se presenta en la Tabla 12, donde el contenido relativo de cada ácido graso es expresado como por ciento del total de ácidos grasos. Se identificaron 27 ácidos grasos, los que aportaron un 89,3% al total de ácidos grasos detectados. El ácido graso predominante fue el linoleico (18:1 n-9), seguido por el palmítico (16:0) y palmitoleico (16:1). Estos tres ácidos grasos comprenden más de la mitad del total de ácidos grasos (56,3%). Con relación a los ácidos grasos n-3, de particular interés fisiológico, se observaron importantes

proporciones de los ácidos eicosapentaenoico (20:5 n-3, 6,2 %) y docosahexaenoico (22:6 n-3, 6,0 %), mientras que el ácido graso esencial alfa-linolénico (18:3 n-3) fue minoritario (0,7 %) (Tabla 12). Los ácidos grasos n-3 prevalecieron sobre los ácidos grasos n-6, observándose una relación n-3/n-6 de 3,38 para el músculo de merluza negra.

Investigaciones realizadas en Australia determinaron la composición de ácidos grasos en el músculo congelado a -20°C de esta especie pero provenientes de otras zonas de captura. Nichols y col. (1994) informaron para ejemplares capturados alrededor de la Isla Heard (Zona FAO N° 58) que los principales ácidos grasos fueron el 22:6 n-3 (20,3 %), el 18:1 n-9 (17,7 %) y el 16:0 (16,2 %) con un predominio de AGMI y AGPI sobre los AGS, dando una relación insaturado/saturado de 3,5. En ejemplares capturados en la zona de pesca de la Isla Macquarie (Zona FAO N° 81) Wilson y Nichols (2001) determinaron que los porcentajes de ácidos grasos fueron: AGMI (61 %), AGS (23 %) y AGPI (15 %). Los ácidos grasos predominantes fueron el 18:1 (29,8 %) y el 16:0 (14,9 %).

El perfil de ácidos grasos presentado en este trabajo difiere del informado por estos autores. Las diferencias podrían ser debidas a variaciones en la edad y la dieta de los ejemplares, y en la temperatura del agua de las diferentes zonas de capturas (Sikorski, 1994).

El contenido de AG, TG y FL de la muestra control (0 kGy) permaneció constante ($p > 0,05$) hasta los 293 días de almacenaje a -18°C . Es decir, los lípidos y ácidos grasos del músculo de ejemplares juveniles de merluza negra capturados en la Zona FAO N° 41 permanecieron estables durante el almacenaje prolongado en estado congelado. Esto concuerda con lo informado por Manthey y col. (1991) y Príncipe y col. (2003) en cuanto a que la especie en el estado congelado presenta estabilidad en términos de productos secundarios de oxidación lipídica.

De lo expuesto es evidente que la porción H&G de merluza negra congelada puede ser calificada como un producto de mar de alta calidad. Esto se explica sobre la base de que la captura, el procesamiento, el congelado y el almacenaje fueron llevados a cabo de acuerdo con el Código de Buenas Prácticas de Manufactura de la Unión Europea para la elaboración de productos de mar congelados (UE, 2004).

Tabla 12. Composición de ácidos grasos (% en peso) de lípidos totales del músculo de merluza negra almacenado a -18°C . ^(a)

Días Post irradiación	0			293		
	0	1	5	0	1	5
12:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr
14:0	$4,9 \pm 0,3$	$4,5 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,8$	$4,8 \pm 0,8$	$4,8 \pm 1,0$	$5,4 \pm 1,4$
14:1	$0,3 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$
15:0	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,0$
16:0	$15,4 \pm 0,9$	$15,7 \pm 0,9$	$16,7 \pm 0,8$	$14,7 \pm 0,8$	$16,5 \pm 2,5$	$15,7 \pm 0,9$
16:1	$8,8 \pm 0,3$	$8,6 \pm 0,1$	$9,4 \pm 0,6$	$8,5 \pm 0,1$	$9,5 \pm 1,3$	$9,7 \pm 1,3$
17:0	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,0$
17:1	$0,2 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$
18:0	$5,2 \pm 0,8$	$5,0 \pm 0,7$	$5,2 \pm 0,8$	$5,2 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,8$	$4,8 \pm 0,1$
18:1 n-9trans	$0,7 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,3$	$0,2 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,4$
18:1 n-9cis	$32,1 \pm 3,0$	$30,1 \pm 3,6$	$31,5 \pm 2,0$	$32,6 \pm 3,7$	$31,6 \pm 7,1$	$32,0 \pm 5,4$
18:2 n-6cis	$1,8 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,6$	$1,2 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,7$
18:2 n-6trans	tr	tr	tr	tr	tr	tr
18:3 n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
18:3 n-3	$0,7 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,0$
20:0	$0,2 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,0$	tr	$0,1 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,0$	tr
20:1	$3,2 \pm 0,8$	$3,2 \pm 0,6$	$3,0 \pm 0,7$	$2,6 \pm 1,7$	$2,9 \pm 1,5$	$3,0 \pm 1,5$
20:2 n-6cis	$0,9 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,0$	$0,9 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,5$	$1,4 \pm 0,6$	$1,3 \pm 0,6$
20:3 n-6cis	tr	tr	nd	tr	tr	nd
20:3 n-3cis	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:4 n-6	$0,7 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,0$	$0,7 \pm 0,0$	$0,5 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,1$
20:5 n-3	$6,2 \pm 0,6$	$7,2 \pm 0,8$	$6,5 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,6$	$6,1 \pm 1,2$	$5,5 \pm 1,4$
22:0	tr	tr	nd	tr	tr	nd
22:1n-9	$0,8 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,3$
22:2 n-6cis	$0,5 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,0$
22:6 n-3	$6,0 \pm 1,1$	$9,0 \pm 2,0$	$6,9 \pm 0,0$	$6,0 \pm 1,5$	$7,5 \pm 3,0$	$5,6 \pm 1,6$
24:1	$0,6 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$
No identificado	$10,7 \pm 1,4$	$10,8 \pm 1,3$	$10,2 \pm 1,1$	$10,8 \pm 0,8$	$10,0 \pm 0,2$	$11,2 \pm 0,4$

^(a) Los valores son promedio de 3 muestras individuales. Cada muestra se analizó por triplicado \pm ds, tr = trazas ($< 0.1\%$), nd = no detectable.

Tabla 13. Contenido de triglicéridos (TG) y fosfolípidos (FL) en músculo de merluza negra almacenada a -18°C .

Dosis (kGy)	Días de almacenaje post-irradiación			
	0		293	
	<i>TG (mg/mL de aceite)</i>		<i>FL (mg/mL de aceite)</i>	
0	563,07 ± 62,11	533,73 ± 72,53	11,21 ± 4,18	11,81 ± 8,13
1	611,23 ± 62,41	599,47 ± 67,38	17,68 ± 1,93	11,72 ± 6,02
5	648,02 ± 77,37	538,12 ± 71,42	12,97 ± 6,74	6,70 ± 2,89

IV.2.2 Efecto de la irradiación sobre los lípidos y ácidos grasos de la porción H&G almacenada a -18°C .

No se detectaron efectos significativos sobre el porcentaje de los AG presentes en el tejido muscular ni sobre el contenido de TG y FL inmediatamente después de la aplicación de 1 y 5 kGy de radiación gamma a la porción H&G de merluza negra congelada (Figura 31, Tablas 12 y 13). Por lo tanto el tratamiento no alteró la relación entre los ácidos grasos insaturados/saturados. Similares resultados fueron encontrados al final del período de almacenaje congelado.

Además, no se observaron cantidades detectables de nuevos ácidos grasos o “artefactos” producidos por la combinación del congelado y la irradiación. También cabe destacar que las dosis de radiación empleadas no indujeron la formación de ácidos grasos *trans* en merluza negra. Este hecho es de interés por cuanto estudios epidemiológicos han demostrado que un incremento en la dieta de ácidos grasos *trans*, está asociado a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Yilmaz y Gecgel, 2007).

Es conocido que la radiación ionizante genera radicales libres los cuales, en alimentos con alto contenido graso, son capaces de causar daños oxidativos en lípidos altamente insaturados (Giroux y Lacroix, 1998). Sin embargo, en estado congelado, la movilidad y la capacidad de reacción de tales radicales libres está restringida (Diehl, 1990), lo que lleva a explicar en parte la ausencia de efectos de la radiación gamma sobre los lípidos y ácidos grasos de la especie aquí estudiada.

Desde el punto de vista de sus lípidos y ácidos grasos, los juveniles de merluza negra son estables frente al almacenaje en estado congelado.

El efecto de la radiación gamma sobre la composición de ácidos grasos ha sido también evaluada en otros pescados grasos almacenados a bajas temperaturas. Lakshmanan y col. (1999) encontraron que dosis de 1,5 y 2 kGy no tuvieron efectos adversos sobre los AGPI n-3 de caballa de la India almacenada entre 0 y 2°C durante 14 días. Sin embargo Al-Kahtani y col. (1996) observaron que en el caso de caballa española irradiada con dosis entre 1,5 y 10 kGy algunos ácidos grasos decrecieron (16:0 y 16:1) y otros incrementaron (18:0 y 18:1) inmediatamente luego de la irradiación. Estos cambios no fueron consistentes con los observados durante el almacenaje a $2 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 20 días ya que las mayores variaciones las presentó el 18:2. En filetes de arenque envasados al vacío tratados con 50 kGy a 0°C no se observaron cambios significativos en las cantidades relativas de AGS, AGMI y AGPI (Adam y col., 1982). Específicamente, los ácidos grasos 20:5 y 22:6 no fueron afectados por la radiación aún después del almacenaje a 0°C durante 28 días. Además, en aceite de arenque tratado con dosis de 50 kGy no se observó ninguna modificación en los AGPI (Delincée, 1983b).

Globalmente estos resultados muestran que la irradiación de pescado congelado con alto contenido graso no tiene efectos detrimentales sobre los lípidos ni sobre los ácidos grasos, incluyendo aquellos de alto valor nutricional tal es el caso de los AGPI.

Parte V

Olor y sabor de la porción H&G de merluza negra irradiada y mantenida a -18°C por tiempo prolongado

V.1. Objetivos

Conocer el efecto de la irradiación y el almacenaje prolongado a -18°C sobre la porción H&G de merluza negra en términos de parámetros sensoriales. Para tal fin se empleó una prueba descriptiva siguiendo el método de escala estructurada recomendado por la FAO (Huss, 1998). Se evaluó el olor en muestras crudas y el olor y el sabor en muestras cocidas.

V.2. Resultados y Discusión

La metodología empleada para la evaluación sensorial proporcionó a los panelistas una escala con diferentes grados y puntuación. La categoría aceptable correspondió al Grado I (ausencia de olores/sabores objetables) y al Grado II (ligeros olores/sabores objetables), mientras que el Grado III fue inaceptable (severos olores y sabores objetables). Si bien los panelistas habían sido entrenados previamente con muestras de la porción H&G de la especie, los mismos no eran expertos en evaluación sensorial de pescado y por lo tanto no fue posible obtener la escala en valores numéricos (1 a 10). La muestra se consideró no apta para el consumo ante el hallazgo por parte de uno de los panelistas del Grado III. En particular, cuando el porcentaje de opciones Grado I fue igual o superior al 60% se consideró que la muestra presentaba una destacada calidad.

V.2.1 Evaluación en estado crudo

La evaluación sensorial llevada a cabo para conocer la evolución del olor en las muestras crudas no irradiadas (muestra control, 0 kGy) mostró, globalmente, un decrecimiento paulatino en la calificación de este parámetro con el tiempo de almacenaje a -18°C (Figura 32). Hasta los 165 días las muestras fueron calificadas ($>60\%$) como aceptables Grado I. A los 227 días la calificación Grado I igualó al Grado II y al final del almacenaje las muestras fueron inaceptables (Grado III) para el 15% de los panelistas. El desarrollo de olor desagradable en pescado ha sido atribuido, por algunos investigadores, principalmente a la rancidez oxidativa de sus ácidos grasos altamente insaturados

(Aubourg, 1999). Este no parece ser el caso de la merluza negra ya que el desarrollo de olores desagradables en las muestras estudiadas no pueden ser atribuidos a la rancidez oxidativa medida a través del número de TBA (Figura 23).

Los resultados obtenidos con las muestras irradiadas con 1 kGy evaluadas en cuanto al olor en forma cruda se muestran en la Figura 33. Puede apreciarse que las muestras irradiadas con este nivel de dosis y almacenadas a -18°C presentaron un olor aceptable durante todo el período de almacenaje. Los panelistas calificaron a las muestras (>60%) como Grado I hasta los 227 días, mientras que a los 293 días la aceptabilidad fue del 50% para el Grado I y de 50% para el Grado II.

El efecto de la aplicación de 3 kGy sobre la evolución del olor en forma cruda se muestra en la Figura 34. Las muestras se presentaron aceptables durante todo el período de almacenaje. Hasta los 165 días de almacenaje el Grado I se mantuvo >60%, excepto para 227 días fecha para la cual se igualaron Grado I y Grado II.

La Figura 35 muestra el perfil de la evolución del olor en crudo de las muestras tratadas con 5 kGy. Hasta los 165 días de almacenaje los panelistas (>60%) calificaron a las muestras como Grado I, mientras que a los 227 días las catalogaron en un 50% como Grado I y el otro 50% como Grado II. Distinta situación se presentó a los 293 días de almacenaje, tiempo en el cual el 15 % de los panelistas las calificaron como Grado III (no aceptables). Los panelistas destacaron la presencia de olores “atípicos”, lo que es consistente con el llamado “olor a irradiación”. Este hecho no es sorprendente ya que la aparición del olor a irradiación ha sido reportada para otras especies grasas de pescado de mar con dosis comprendidas entre 5 y 10 kGy (Sikorsky, 1994). Rhodes (1964) informó la presencia de ligeros olores a irradiación en filetes de hipogloso envasados al vacío tratados con una dosis de 10 kGy y mantenidas a 0°C y $4,4^{\circ}\text{C}$. En caballa eviscerada, el olor a irradiación fue atenuado manteniendo la muestra en hielo sin envoltura (Venugopal y col., 1987). Existen evidencias experimentales en cuanto a que el olor a irradiación está relacionado con la presencia de sustancias provenientes de la descomposición de compuestos azufrados por efecto de altas dosis de radiación (Urbain, 1977).

Dado que la especie es altamente cotizada en restaurantes y cadenas de alimentación, resulta de interés determinar el tiempo de almacenaje a -18°C , en el cual la porción H&G cruda presenta destacada calidad desde el punto de vista del olor. En tal sentido un resumen de la evolución de la calificación Grado I del olor de las muestras irradiadas y no irradiadas evaluadas en forma cruda se presenta en la Figura 36. Considerando que Grado I > a 60% es una condición para considerar destacada calidad,

podemos decir que las muestras tratadas con 0, 3 y 5 kGy durante 165 días, presentan dicha calificación. Mientras que las muestras tratadas con 1 kGy la presentan hasta los 227 días. En síntesis y en base al olor de las muestras crudas, 1 kGy extiende en 62 días la condición de descada calidad..

En nuestro país la única especie marina sobre la cual existen antecedentes en cuanto al efecto de las radiaciones ionizantes sobre la calidad sensorial es la merluza común (merluza Hubbsi). Mariano y Kaupert (1973) encontraron que filetes de merluza fresca tratadas con dosis entre 0,5 y 6 kGy y mantenidos a 4°C desarrollaban un olor particular el que desaparecía con el transcurso del tiempo. Por otro lado, Curzio y Quaranta (1982) no encontraron efectos adversos sobre el olor, el sabor y la textura en filetes tratados con 5 kGy en estado congelado y almacenados entre 4 y 5°C.

V.2.2 Evaluación en estado cocido

Con el fin de completar la información obtenida mediante la evaluación del olor de las porciones crudas durante el almacenaje congelado a -18°C, se concretó la evaluación del olor y sabor de las muestras en cocido.

Las Figuras 37 a 40 muestran los resultados del olor y sabor de la porción H&G de merluza negra tratada y no tratada con radiaciones ionizantes, mantenidas a -18°C por tiempo prolongado y evaluadas en forma cocidas. Los panelistas catalogaron al olor y al sabor de las muestras control (0 kGy) como aceptables, durante todo el período de almacenaje (Figura 37). Hasta los 165 días un 60% de los panelistas adjudicaron a las muestras el Grado I. Luego, entre los 227 y 293 días el porcentaje de opciones por el Grado I presentó fluctuaciones.

En la literatura existe un sólo antecedente disponible acerca de la evaluación sensorial de la carne de esta especie (Manthey y col., 1991). Estos investigadores alemanes describieron el comportamiento sensorial de filetes no rebozados y rebozados con una mezcla de manteca y pan rallado mantenidos a -28°C durante tiempo prolongado envueltos en polietileno. Un panel de expertos en catar especies antárticas juzgó las muestras cocidas en cuanto a apariencia, olor, sabor y textura. El panel enfatizó el color blanco puro del filete y el rico olor y gusto. Al olor de la especie en estas condiciones lo definieron como reminiscente a nueces y a papas cocinadas al vapor, mientras que en cuanto al sabor estimaron que presentaban un intenso sabor a carne cocida. Las muestras no rebozadas y rebozadas se mostraron aceptables hasta los 27 meses y 33 meses respectivamente de

almacenaje congeladas. En base a estos resultados los autores consideraron a la merluza negra como una de las especies antárticas más estables y apropiadas para el almacenaje en estado congelado por tiempo prolongado.

La aplicación de una dosis de 1 kGy (Figura 38) mostró cierto grado de estabilización en el comportamiento del olor y el sabor de las muestras congeladas. Al igual que las muestras control, las muestras tratadas con 1 kGy presentaron un olor y sabor aceptable durante todo el período de almacenaje. La aplicación de esta baja dosis indujo cierta estabilización en el porcentaje de Grado I. Así, durante todo el almacenaje esta calificación se mantuvo por encima del 60%.

La Figura 39 muestra la evolución del olor y sabor de la especie irradiada con 3 kGy en cocido. Hasta los 227 días las muestras presentaron estos atributos como aceptables. Puede verse que el Grado I fue >60% hasta los 110 días de almacenaje y luego permaneció alrededor del 30% hasta el final del almacenaje. Sin embargo a los 293 días la muestra fue inaceptable por cuanto presentó el rechazo por parte del 15% de los panelistas.

Las muestras tratadas con 5 kGy se presentaron aceptables hasta los 165 días (Figura 40). Sin embargo la calificación como Grado I se mantuvo siempre por debajo del 60%. La mayoría de los panelistas manifestaron que estas muestras presentaban un gusto amargo, desde el inicio del almacenaje. El grado III se presentó con un 15% de rechazo a los 227 días y superó el 60% de rechazo a los 293 días.

La Figura 41 muestra el porcentaje de opciones Grado I que merecieron el olor y el sabor de las muestras tratadas y no tratadas a lo largo del almacenaje evaluadas en cocido. En base a estos atributos, y en relación a la estimación del tiempo en que la merluza negra permanece en la condición de destacada calidad (Grado I >60%) podemos decir que las muestras control presentan esta condición hasta 165 días. Mientras que las tratadas con 1 kGy, presentaron destacada calidad hasta los 293 días, extendiendo esta condición en 128 días. Las muestras tratadas con 3 kGy presentan destacada calidad hasta los 110 días de almacenaje, lo que es coincidente con los resultados de las evaluaciones químicas (Parte II). Esta condición no se encontró en las muestras tratadas con 5 kGy.

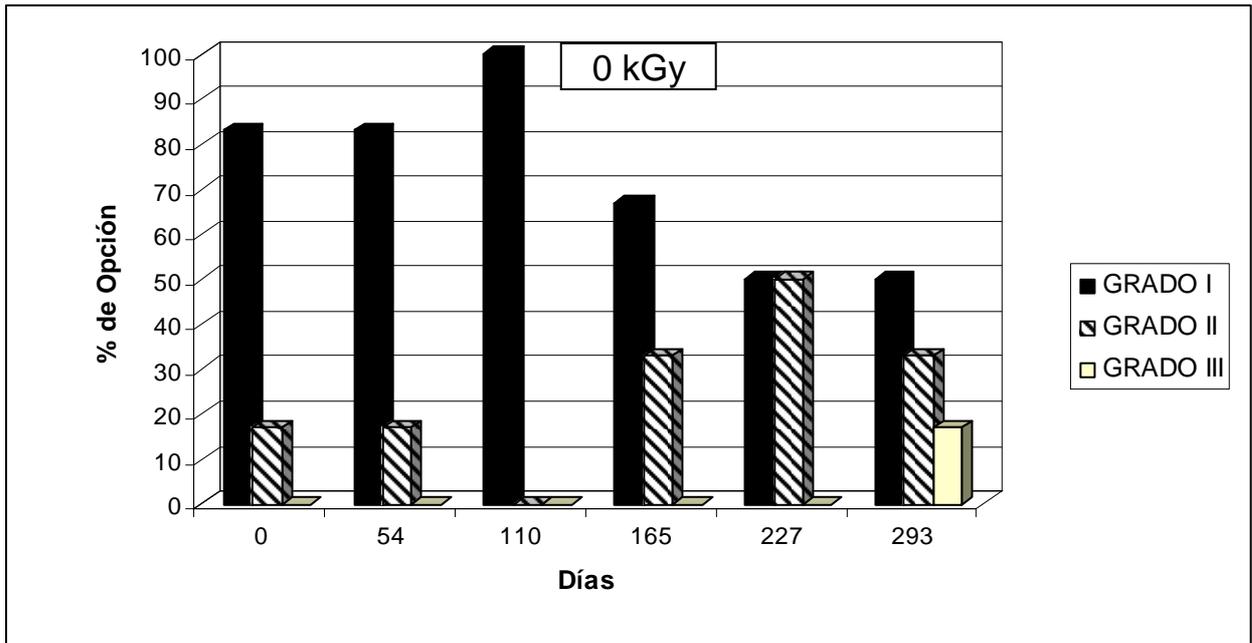


Figura 32: Evolución del olor en crudo de la porción H&G control de merluza negra, almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

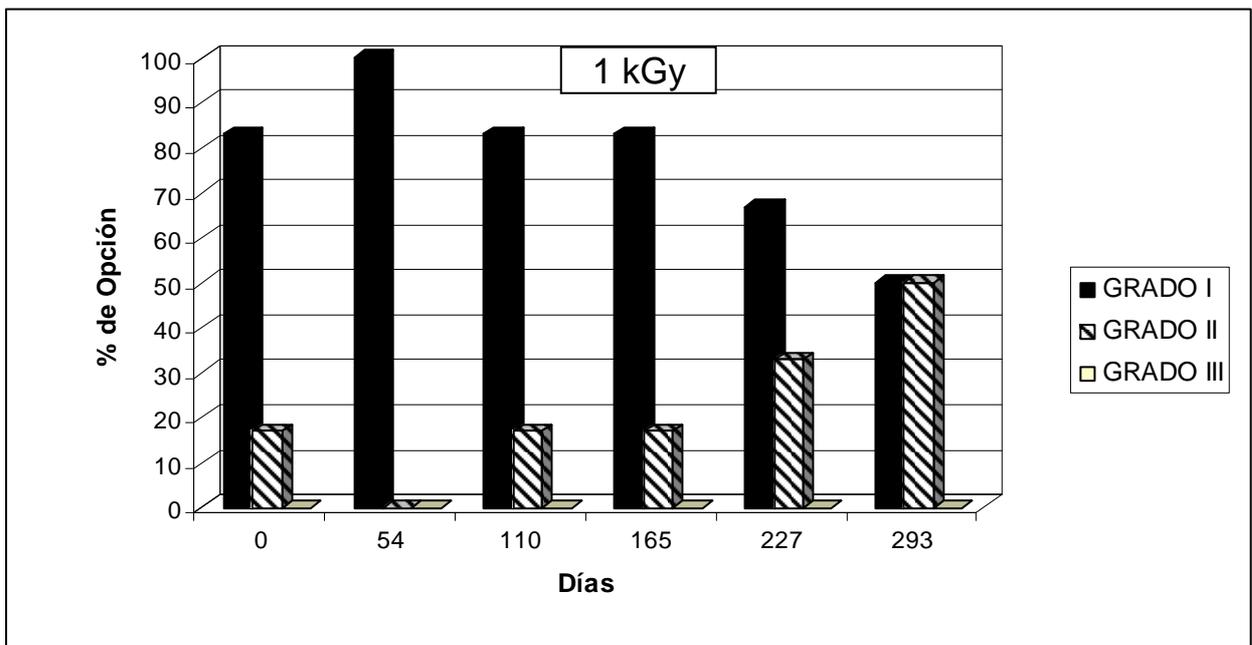


Figura 33: Evolución del olor en crudo de la porción H&G de merluza negra irradiada con 1 kGy y almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

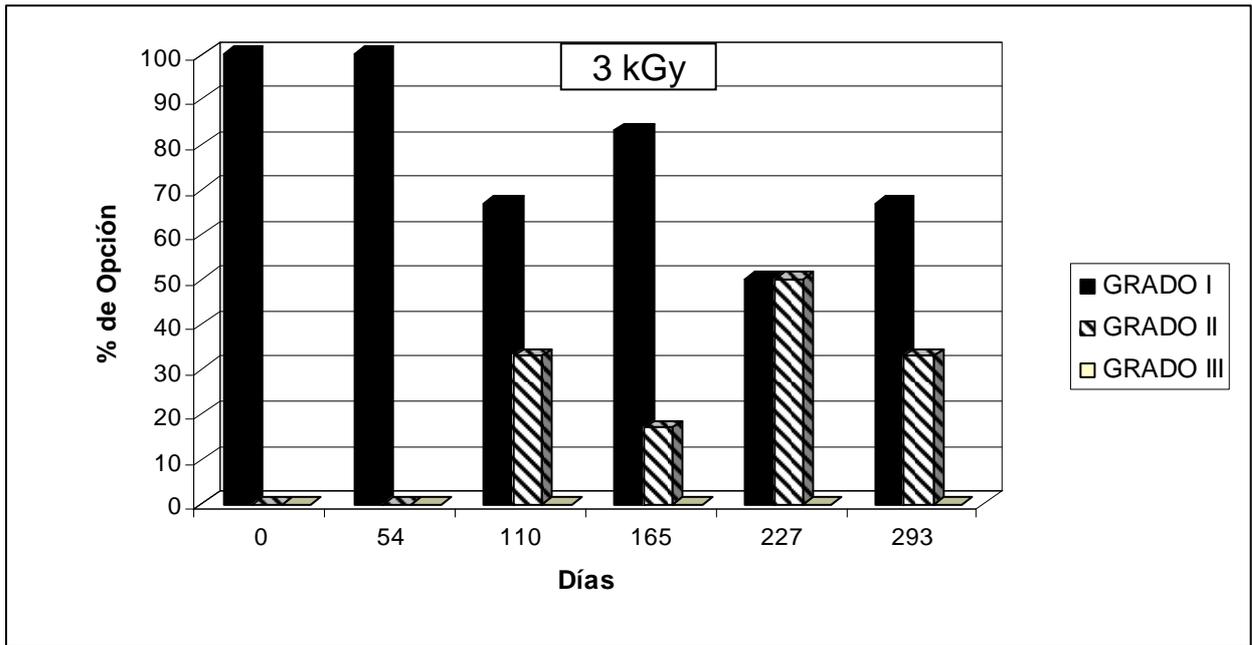


Figura 34: Evolución del olor en crudo de la porción H&G de merluza negra irradiada con 3 kGy y almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

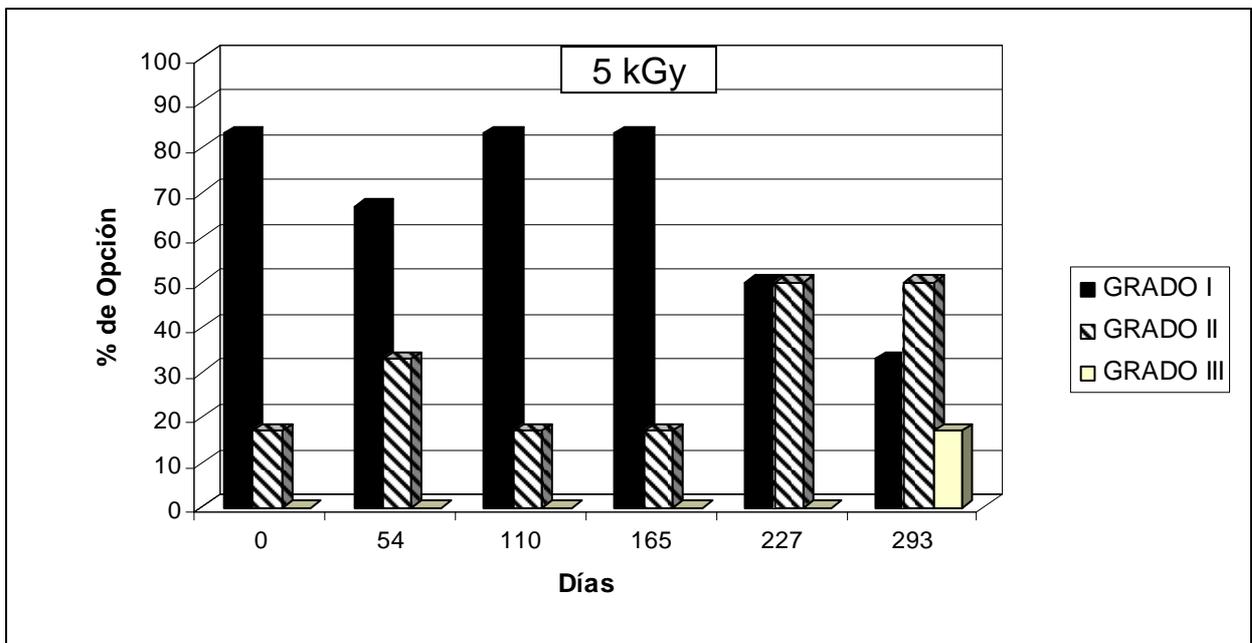


Figura 35: Evolución del olor en crudo de la porción H&G de merluza negra irradiada con 5 kGy y almacenada a -18 °C por tiempo prolongado.

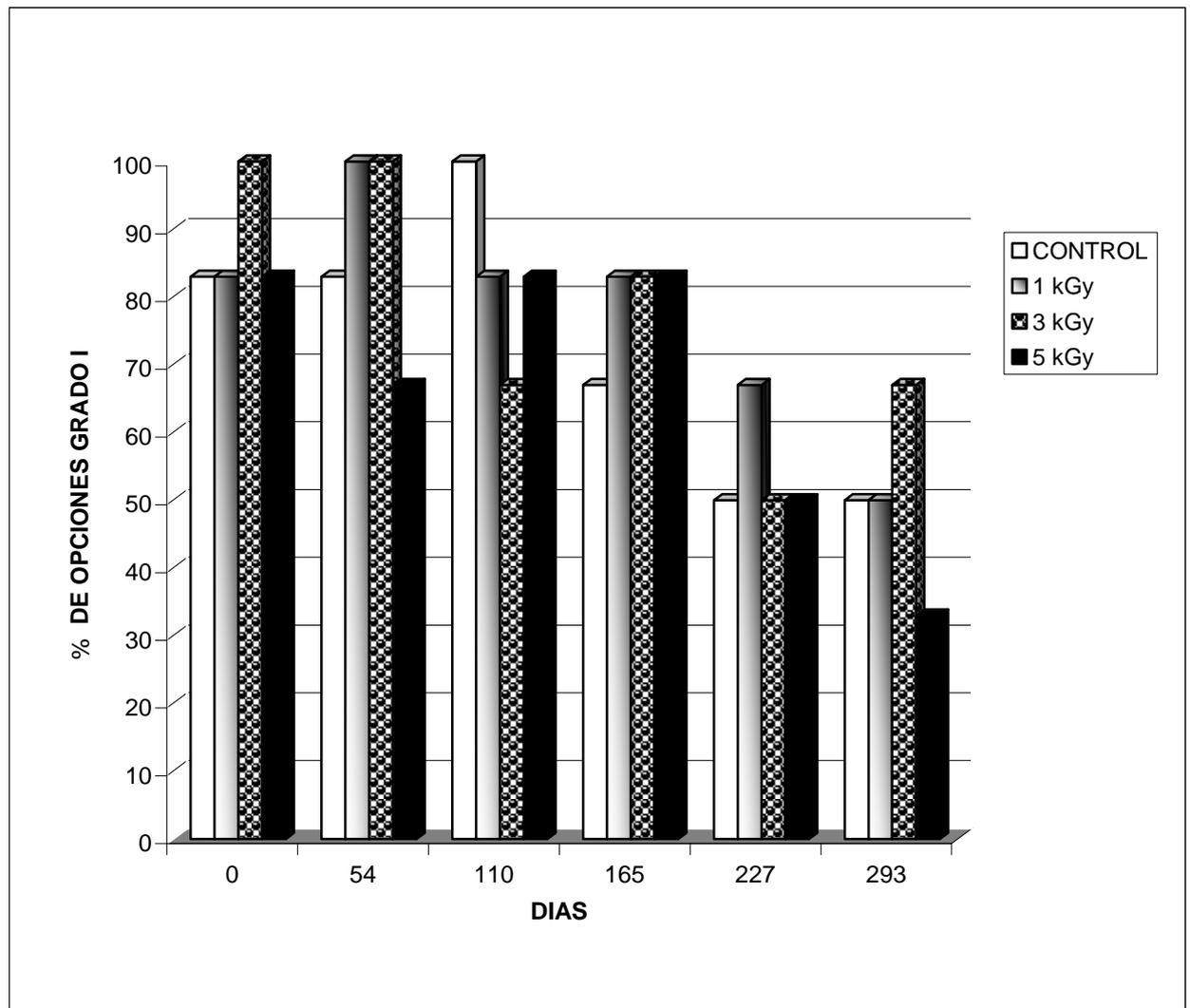


Figura 36: Variaciones en el porcentaje de opciones Grado I respecto del olor en crudo de la porción H&G de merluza negra control e irradiada almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

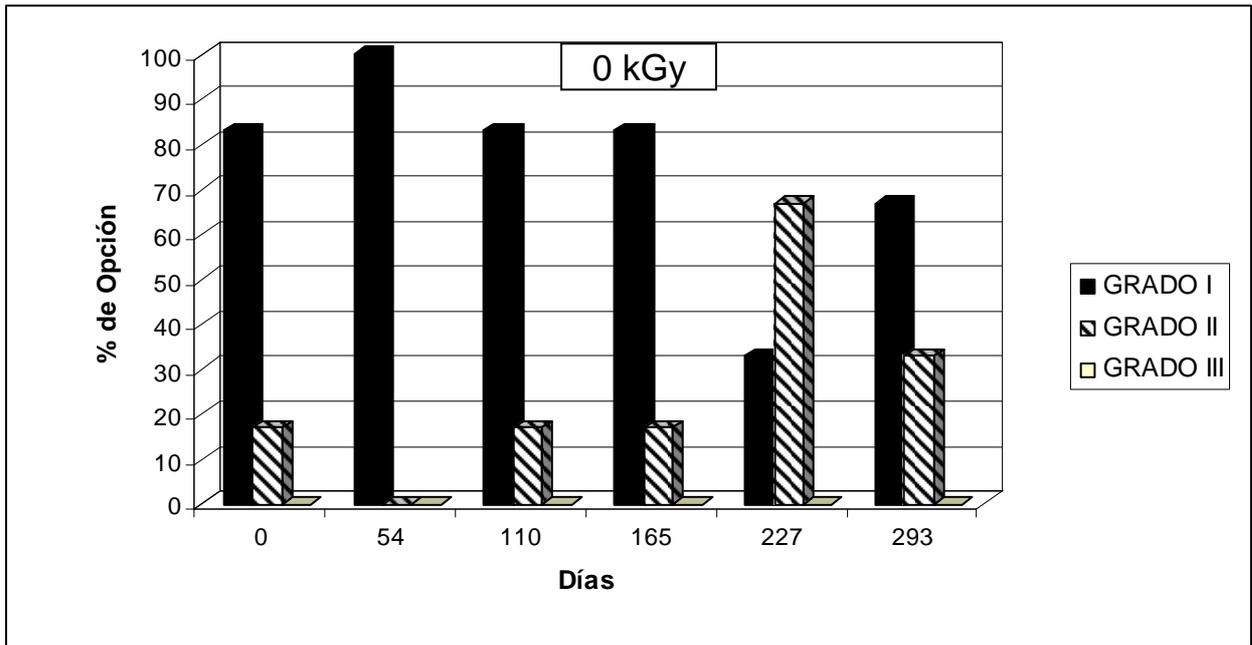


Figura 37: Evolución del olor y sabor en cocido la porción H&G control de merluza negra, almacenada a -18 °C por tiempo prolongado.

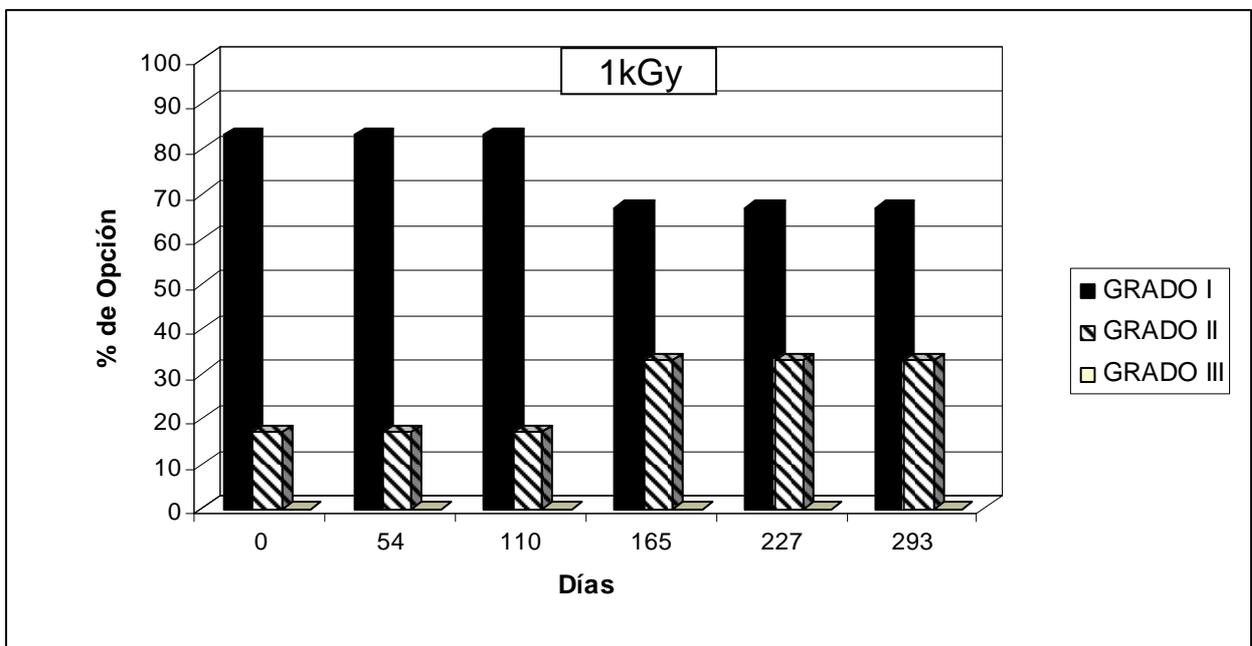


Figura 38: Evolución del olor y sabor en cocido de la porción H&G de merluza negra irradiada con 1 kGy y almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

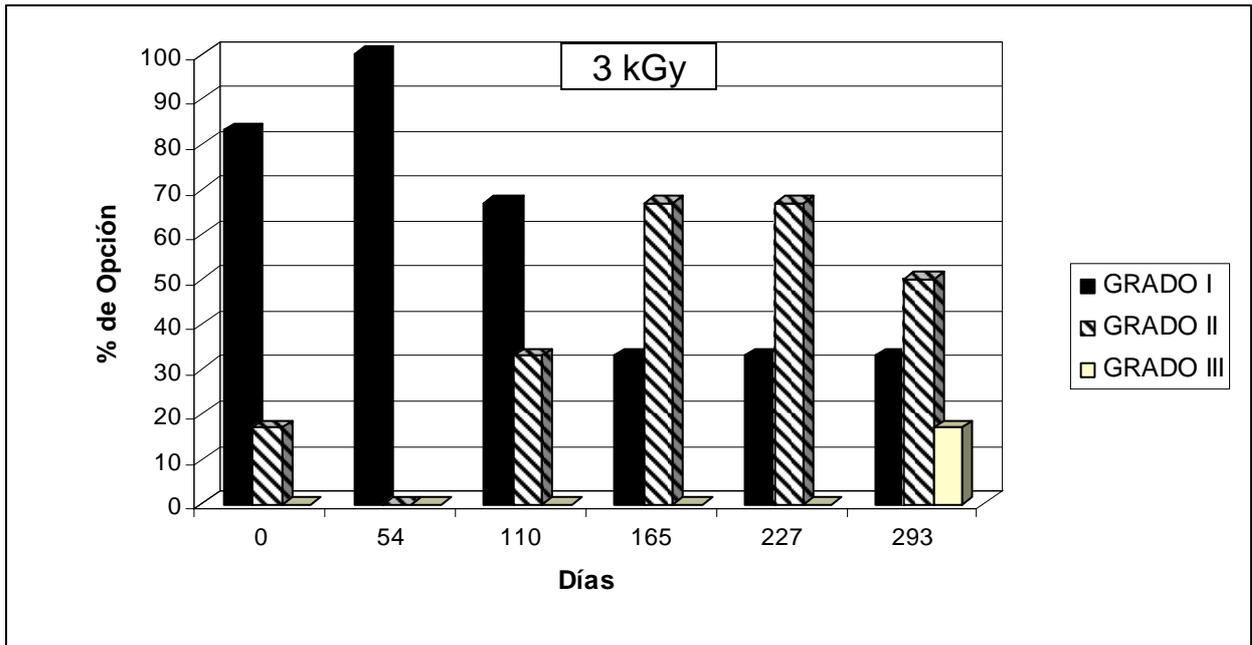


Figura 39: Evolución del olor y sabor en cocido de la porción H&G de merluza negra irradiada con 3 kGy y almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

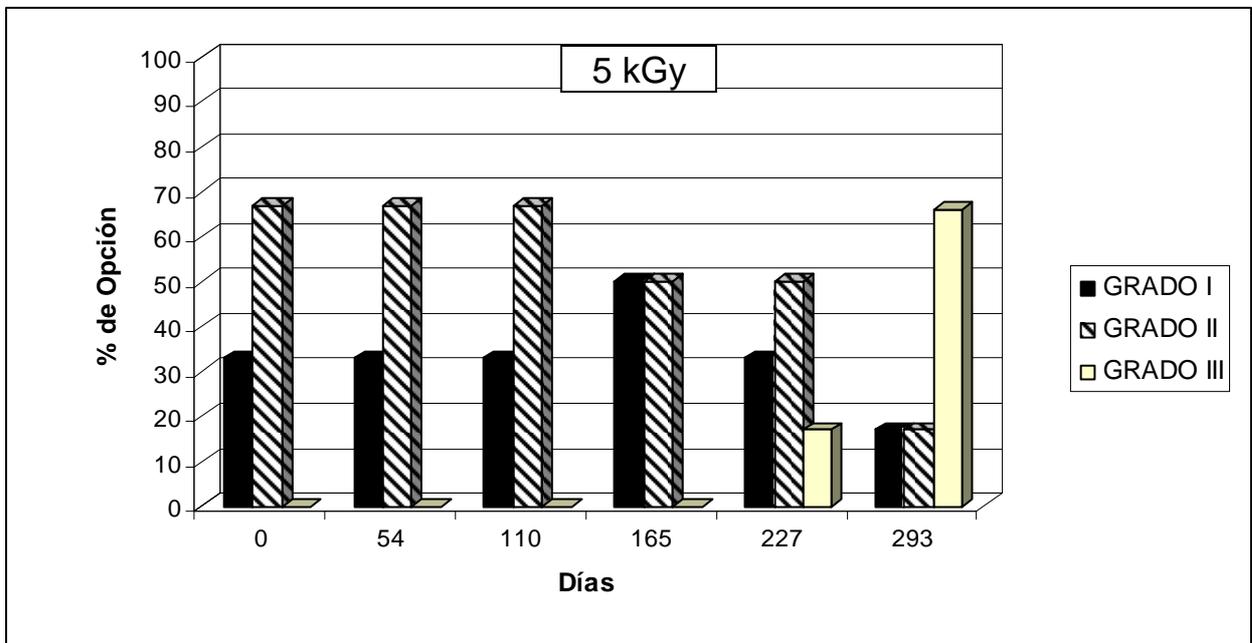


Figura 40: Evolución del olor y sabor en cocido de la porción H&G de merluza negra irradiada con 5 kGy y almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

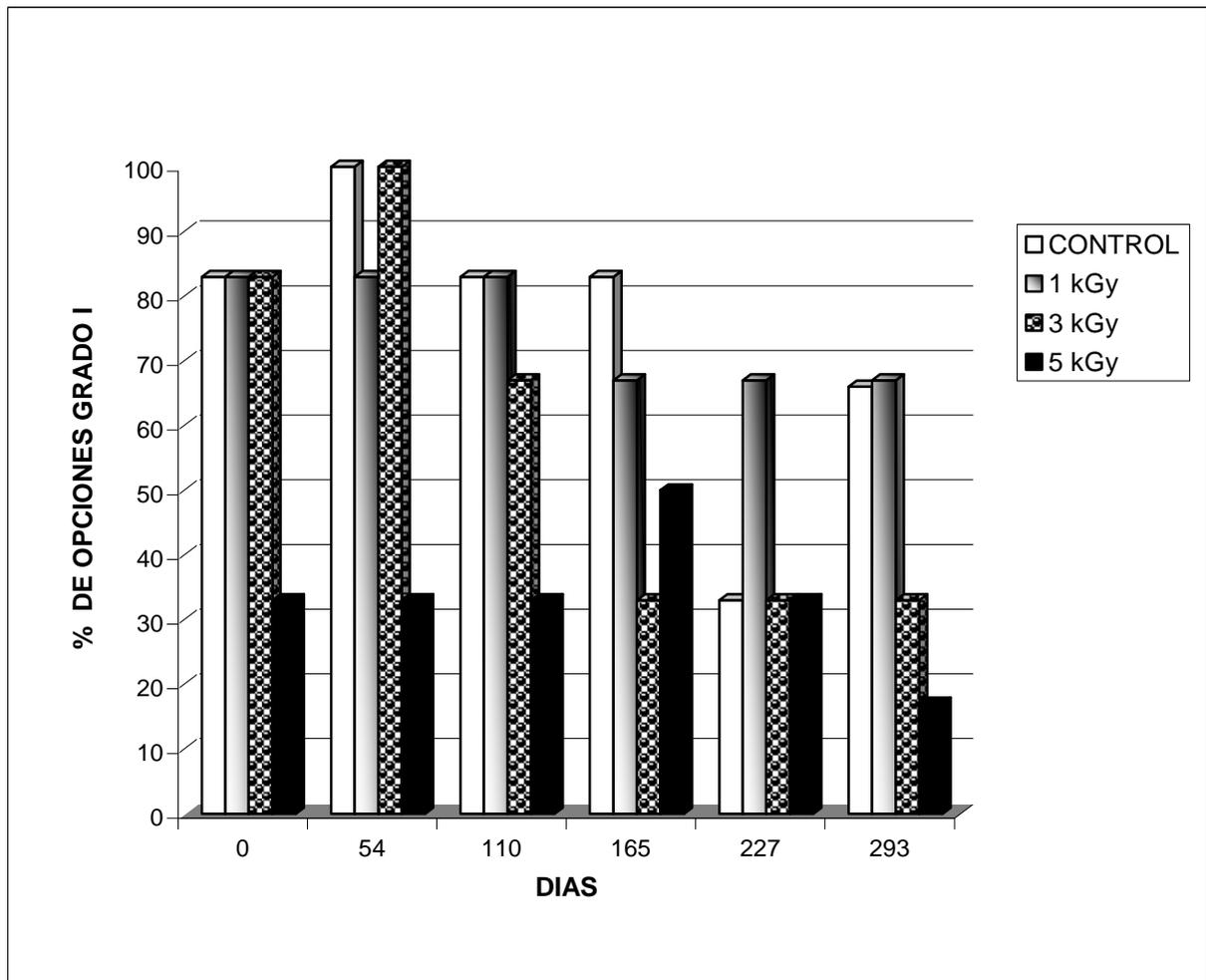


Figura 41: Variaciones en el porcentaje de opciones Grado I respecto del olor y el sabor en cocido de la porción H&G de merluza negra control e irradiada almacenada a -18°C por tiempo prolongado.

Finalmente, en base a las evaluaciones sensoriales sobre muestras crudas y cocidas podemos decir que en general la porción H&G de merluza negra es apta para el almacenaje por tiempo prolongado a -18°C . El uso de dosis de 1 kGy no indujo alteraciones en el olor y el sabor de la especie, manteniendo una destacada calidad durante todo el período de almacenaje (293 días). Mientras que, la dosis de 3 kGy mantuvo dicha condición hasta los 110 días. Por otra parte, la dosis de 5 kGy resulta excesiva para preservar la calidad sensorial de la especie en estado congelado.

CONCLUSIONES

- Se originó información de valor sobre la merluza negra capturada en la Zona FAO N° 41, especie de alto valor comercial y de importancia para la exportación de nuestros recursos ictícolas no tradicionales. Se estudiaron porciones H&G provenientes de ejemplares juveniles, irradiadas con dosis entre 1 y 5 kGy de rayos gamma de ^{60}Co con fines de conservación, durante el almacenaje prolongado a -18°C (alrededor de 10 meses).
- Por tratarse de una especie grasa, en una primera etapa (Parte I) se estudió la evolución de la rancidez oxidativa en las distintas partes de la porción H&G. Mediante la cuantificación de los productos secundarios de oxidación lipídica, en términos del índice de TBA, se determinó que las partes anterior, media y posterior de la porción siguen un mismo comportamiento durante el almacenaje prolongado en estado congelado, sin presentar signos de rancidez. La ausencia de rancidez durante el almacenaje prolongado concuerda con lo informado por Manthey y col. (1991) para ejemplares de esta especie capturados en la Zona FAO N° 48.

Se corroboró que la presencia de signos que demuestran fallas operativas en la porción H&G influyen negativamente sobre la rancidez oxidativa del tejido. La existencia de restos de vísceras y piel indujo incrementos en los productos secundarios de oxidación lipídica dando valores que indican el rechazo del producto.

- En la Parte II se estudió el efecto de dosis de 1, 3 y 5 kGy de rayos gamma de ^{60}Co sobre la evolución de parámetros químicos de frescura en muestras control e irradiadas. Los parámetros analizados durante almacenaje prolongado incluyeron el índice de TBA, el NBVT y el pH.

Se encontró que el índice de TBA de la porción H&G sigue modelos diferentes durante el almacenaje congelado según el año de captura, dentro de la Zona FAO N° 41, sin alcanzar valores que indiquen rancidez. Esto podría explicarse por diferencias en la composición de AG insaturados de los ejemplares capturados en distintas campañas.

El índice de TBA presentó un comportamiento diferencial en función del nivel de dosis de radiación aplicado. Las dosis de 1 y 3 kGy no tuvieron influencia sobre la formación de productos secundarios de oxidación lipídica, mientras que la dosis de 5 kGy indujo un incremento en este índice hacia el final del almacenaje, alcanzando el producto la calificación de moderadamente rancio. Este comportamiento se explicó en base a los principios de la química de las radiaciones.

En cuanto al NBVT, los valores iniciales hallados son comparables a los informados por Trucco y col. (1978). Las dosis de radiación aplicadas no tuvieron influencia sobre este parámetro durante el almacenaje congelado. Todos los valores encontrados se hallan dentro de los límites de aceptación para el consumo según la legislación vigente en nuestro país, el Mercosur y la Unión Europea.

El aumento en el valor de NBVT (60%) registrado luego de los 110 días en congelado no puede ser explicado por la formación de DMA, debido a la ausencia de la OTMA-dimetilasa en esta especie. Dicho aumento estaría relacionado, en parte, a la ocurrencia de procesos autolíticos tales como la desaminación de aminoácidos y/o la degradación de nucleótidos.

Los valores de pH que se detectaron en la porción H&G no presentaron variaciones significativas durante el almacenaje prolongado; ni mostraron modificaciones por las dosis de radiación aplicadas.

- En la Parte III se estudió la rancidez oxidativa en la porción H&G descongelada y mantenida en refrigeración, condición similar a la empleada por los consumidores.

El índice de TBA en condiciones de refrigeración no indicó signos de rancidez en la porción durante las primeras 72 horas. Luego, la misma se tornó moderadamente rancia hasta los 11 días. Sin embargo, a las 72 horas comenzaron a percibirse olores desagradables lo que indica falta de aptitud para el consumo.

Las dosis de radiación empleadas no tuvieron influencia sobre la rancidez oxidativa de la porción H&G descongelada y mantenida en refrigeración. Esto se explicó sobre la base de la química de las radiaciones.

Se determinó que el índice de TBA no es el parámetro de elección para evaluar la frescura de la merluza negra en condiciones de refrigeración. Para lo cual, sería

necesario el uso de parámetros más confiables tales como la evaluación organoléptica y/o de determinación de NBVT.

- En la Parte IV se informa por primera vez el perfil de AG de lípidos totales y el contenido de TG y FL de la porción H&G de ejemplares juveniles de merluza negra capturados en la zona FAO N° 41.

En particular la proporción AGPI de la porción H&G aquí hallados difiere de las informadas por Nichols y col. (1994) para ejemplares de la especie capturados en la Zona FAO N° 58 y por Wilson y Nichols (2001) para ejemplares de la FAO N° 81. En general, el origen de estos hechos se encontraría en diferencias en la edad de los ejemplares y su dieta como así también en la temperatura del agua de la zona de captura.

La composición de AG y el contenido de TG y FL de la porción H&G permaneció estable durante el almacenaje prolongado en congelación.

El tratamiento con radiaciones ionizantes (1 y 5 kGy) no tuvieron efecto sobre la composición de AG y el contenido de TG y FL de la porción H&G durante el almacenaje. Tampoco el tratamiento indujo la formación de AG *trans*. Estos hechos se explicaron sobre la base de la química de las radiaciones.

- Desde el punto de vista del análisis sensorial (Parte V) la merluza negra es una especie apta para el almacenaje prolongado a -18°C . Globalmente, en base a los resultados de la evaluación sensorial en crudo y cocido la especie congelada presenta la calificación de destacada calidad hasta los 165 días, siendo aceptable hasta los 227 días; tiempo que podría extenderse empleando menores temperaturas de almacenaje.

En general se encontró que para la porción H&G de esta especie el análisis sensorial en cocido es más sensible que el análisis sensorial en crudo, para medir los cambios percibidos por los sentidos.

Las respuestas de los panelistas resultaron más uniformes en las muestras tratadas con dosis de 1 kGy. Esta dosis mantiene la aceptabilidad del producto durante todo el período de almacenaje aquí ensayado. La condición de destacada calidad se presenta hasta los 227 días de almacenaje.

La porción tratada con 3 kGy presenta la condición de destacada calidad hasta los 110 días de almacenaje lo que es coincidente con lo observado para NBVT (Parte II).

Desde el punto de vista sensorial las muestras tratadas con 5 kGy fueron aceptables hasta los 165 días, no habiendo presentado en ningún momento la calificación de destacada calidad. Además, desde el inicio del almacenaje se percibió un gusto amargo en las muestras tratadas. Es evidente que en base al análisis sensorial la dosis de 5 kGy, resulta excesiva para tratar esta especie.

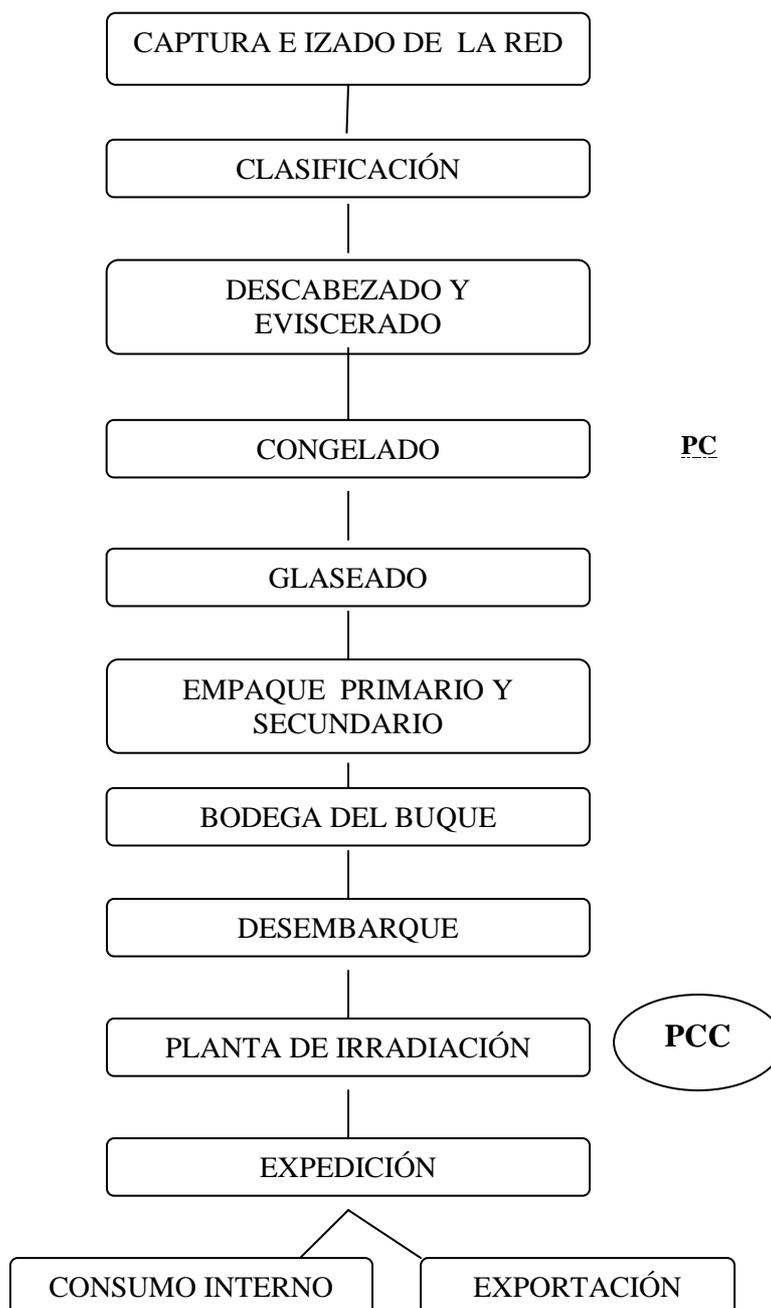
- En resumen, el tratamiento con radiación gamma de la porción H&G de merluza negra con una dosis de 1 kGy extiende el período de aptitud sensorial bajo congelación sin afectar su calidad química, manteniendo las características nutricionales beneficiosas de sus ácidos grasos.

Desde el punto de vista microbiológico el producto irradiado resultaría seguro ya que la radiación elimina bacterias patógenas tales como vibrios y salmonellas.

Además, el producto irradiado sería un alimento de elección para ser empleado en pacientes de alto riesgo, en especial aquellos con el sistema inmunológico comprometido.

- El proceso de irradiación podría ser incorporado al siguiente flujograma de obtención de la porción H&G de merluza negra:

Flujograma de obtención de la porción H&G de merluza negra



La irradiación puede ser considerada un PCC debido a que no existe otra etapa posterior dentro del flujograma del producto en la cual se pueda eliminar o minimizar a niveles aceptables un riesgo, dentro del Programa de HACCP (Molins, 2001).

- Además estos resultados, pueden ser considerados como un antecedente de valor para las autoridades sanitarias a fin de aprobar la incorporación de los alimentos marinos irradiados en el Código Alimentario Argentino.

- También, esta información es de utilidad para el sector industrial por cuanto la tecnología de irradiación asegura la inocuidad del alimento para el consumidor. Por otra parte, el producto irradiado podrá ser comercializado a nivel internacional principalmente en aquellos países que ejecuten programas sanitarios de seguridad alimentaria.

REFERENCIAS

- Abdel-Rehim F., Basfar A.A., Al-Kahtani H.A. y Abu-Tarboush H.M. (1997). The use of electron spin resonance spectroscopy for the detection of irradiated mackerel. *Applied Radiation and Isotopes* 48: 241-245.
- Abe, H. y Okuma, E. (1991). Rigor mortis progress of carp acclimated to different water temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 2095-2100.
- Adam, S. (1983). Recent developments in radiation chemistry of carbohydrates. En: *Recent advances in food irradiation*, p. 149-170. Elías, P.S.y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- Adam, S., Paul, G., Ehlermann, D.(1982). Influence of ionizing radiation on the fatty acid composition of herring fillets. *Radiation Physics and Chemistry* 20, 289-295.
- Ahmed E., Joasdar S. K., Bhuiya A. D., Islam M. S. (1985) Microbiological studies of irradiated mackerel. *Bangladesh Journal Zoology* 13: 35-43.
- Albertengo, L. y Rodríguez M.S. (2004). Comunicación personal. Cátedra de Bromatología, Dto. de Química. Universidad Nacional del Sur.
- Al-Kahtani, H.A., Abu-Tarboush, H.M., Bajaber, A.S., Atia, M., Abou-Arab, A.A., El-Mojaddidi, M.A. (1996). Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. *Journal of Food Science* 61, 729-733.
- Almandós, M.E., Giannini, D.H., Ciarlo, A.S. y Boeri, R.L. (1984). Relationship between the increase of Total Volatile Bases and Dimethylamine in frozen Patagonian hake (*Merluccius hubbsi*). *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 17: 111-113.
- Almandós, M. E., Giannini, D. H., Ciarlo, A. S. y Boeri, R. L. (1986). Formaldehyde as an interference of the 2-thiobarbituric acid test. *Journal of the Science and Food Agriculture* 37: 54-58.
- Alur M.D., Venugopal V., Noerkar D.P. y Nair P. (1991). Bacterial spoilage profiles to identify irradiated fish.. *Journal of Food Science* 56:332-334, 351.
- Alur M.D., Warriar S.B., Vinh P.Q. y Nair P.M. (1994). A biochemical method to identify irradiated semi-dried anchovies *stolephorus commersonii*. *Fishery Technology* 31: 25-28.
- Amano, K. y Yamanka, H. (1969). Meat color regeneration in frozen tuna by irradiation. En: *Freezing and Irradiation of Fish*, p. 514-519. Kreuzer, R. (Ed.), Fishing News Ltd., Londres
- Ampola, V.G., Connors, T.J.y Ronsivalli, L.J. (1969) .Preservation of fresh unfrozen fishery products by low level irradiation. VI. Optimum radiopasteurization dose studies on ocean perch, pollock, and cod fillets. *Food Technology* 23: 357-359.

- Andrews L. S. y Grodner R. M. (2004). Ionizing radiation of seafood. En: *Irradiation of food and packaging: recent developments*, Cap. 10. Komolprasert V. y Morehouse K.M. (Eds.). ACS Division of Agricultural and Food Chemistry, American Chemical Society, Washington.
- Andrews, L.A. (2003) On going reserch, Experimental Seafood Proceeding Laboratory, Coastal Research and Extension Center, MS. State University, Pascagoula, Mississippi.
- Andrews, L.S., Ahmedna, M., Grodner, R.M., Liuzzo, J.A., Murano, P.S., Murano, W.A., Rao, R.M., Shane, S. y Wilson P.W. (1998). Food preservation using ionizing radiation. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 154: 1-53.
- Andrews, L.S., Marshall, D.L. y Grodner, R.M. (1995). Radiosensitive of *Listeria monocitogenes* at various temperatures and cell concentrations. *Journal of Food Protection* 58: 748-751.
- Andrews, L.S., Posadas, B.D. y Jahncke, M. (2002). Proceeding 6th Joint Meeting Seafood Science & Technology Society of the Americas and Atlantic Fisheries Technology Society.
- Anónimo (1989). International Document on Food Irradiation, Proc. Int. Conf. on Aceptance, Control of, and Trade in Irradiated Food. p. 135-143. IAEA, Viena.
- Anthoni, U., Borresen, T., Christophersen, C., Gram, L. y Nielsen, P.H. (1990). Is trimethylamine oxide a reliable indicator for the marine origin of fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology* 97B: 569-571.
- Aubourg, S.P. (1999). Revisión: efecto de las alteraciones lipídicas sobre la calidad del pescado procesado. *Grasas y Aceites* 50:218-224.
- Aubourg, S.P., Sotelo, C.G. y Pérez Martín, R. (1998). Assessment of quality changes in frozen sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescense detection. *Journal American Oils Chemistry Society*. 75: 575-580.
- Azam, K., Mackie, I.M. y Smith, J. (1990): Effect of stunning methods on the time of onset, duration and resolution of rigor in rainbow trout (*Salmo gardineri*) as measured by visual observation and analysis for lactic acid, nucleotide-degradation products and glycogen, p. 351-358. En: *Chilling and freezing of new fish products*. Proceedings of the meeting of commission, Aberdeen..
- Barthel, G. y Grosch, W. (1974). Peroxide value determination comparison of some methods. *Journal of the American Oil Chemists Society* 51: 540-544.
- Basson, R.A. (1983). Recent advances in radiation chemistry of vitamins. En: *Recent advances in food irradiation*, p.189-201. Elías, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier, Amsteden.
- Belitz, H.D. y Grosch, W. (1997). Peces ballenas y moluscos. En: *Química de los Alimentos*, p. 667-689. 2da. edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza.
- Bligh, E.G. y Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917.

- Boeri, R.L., Almados, M., Ciarlo, A. y Giannini, D. (1993). Formaldehyde instead of dimethylamine determination as a measure of total formaldehyde formed in frozen Argentine hake (*Merluccius hubbsi*). *International Journal of Food Science and Technology* 28: 289-292.
- Boyd, L.C., Green, D.P., Giesbrecht, F.B. y King, M.F. (1993). Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tert-butylhydroquinone and rosemary extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61: 87-93.
- Carver, J.H. y Steinberg, M.A. (1959) Effect of radiation pasteurization on the storage life and acceptability of some North Atlantic Fish. *Commercial Fisheries Reviews*. 21: 1-6.
- Carver, J.H., Connors, T.J. y Slavin, J.W. (1969). Irradiation of fish at sea. En: *Freezing and Irradiation of Fish*, p. 509-513. Kreuzer, R. (Ed). Fishing News Ltd., Londres.
- Carver, J.H., Connors, T.J., Ronsivalli, L.J. y Holston, J.A. (1967). Shipboard irradiation studies. Report to USAEC on Contract No. AT (49-11) – 1889. TID – 23398 Bur. Com. Fish. Tech. Lab., Gloucester, Massachuset.
- Cassia, M. y Perrotta, R.G. (1996). Distribución, estructura de tallas, alimentación y pesca de la merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) en un sector del Atlántico Sudoccidental . Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero -INIDEP- Informe Técnico N° 9: 1-19, Mar del Plata.
- Cassia, M.C. (1999). Comparison of age readings from scales and otoliths of the Patagonian Toothfish (*Dissostichus eleginoides*) from South Georgia, Avances en Métodos y Tecnología aplicados a la Investigación Pesquera. Seminario final del Proyecto INIDEP-JICA sobre Evaluación y Monitoreo de Recursos Pesqueros, INIDEP, Mar del Plata.
- Cerda H., Delincée H., Haine H. y Rupp H. (1997). The DNA “comet assay” as a rapid screening technique to control irradiated food. *Mutation Research* 375:167-181.
- Cheftel, J. y Cheftel, H. (1976). *Introducción a la biología y tecnología de alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza..
- Chiba, A., Hamaguchi, M., Kosaka, M., Tokuno, T., Asai, T. and Chichibu, S. (1991). Quality evaluation of fish meat by ³¹phosphorus-nuclear magnetic resonance. *Journal of Food Science* 56: 660-664.
- Ciarlo, A. , Almados, M., Boeri, R., Paredi, M., Yeannes, M. y Giannini, D. (1987). Incremento en el contenido de bases volátiles totales (NBV) debido al proceso de congelación de merluza (*Merluccius hubbsi*). *Revista de Ciencias Agraria* 8: 29-33.
- Ciarlo, A.S., Boeri, R.L. y Giannini, D.H. (1985). Storage life of frozen blocks Patagonian hake (*Merluccius hubbsi*) filleted and minced. *Journal of Food Science* 50 : 723-726
- Código Alimentario Argentino (1997). Art. 276 . De La Canal y Asociados S.R.L.

- Coleby, B. y Shewan, J.M. (1965). The radiation preservation of fish. En : *Fish as Food* – Vol. 4, p. 419. Borgstrom, G. (Ed.). Academic Press Inc., Nueva York.
- Connell, J.J. (1975). *Control of fish quality*. Fishing News (Books) Ltd., Farnham, Surrey,
- Cook, D. (2001). Presentation at Gulf and South Atlantic Fisheries Conference, Biloxi, Mississippi.
- Cousseau, M.B. y Perrotta, R.G. (2000). *Peces marinos de Argentina: biología, distribución, pesca*, 2da. edición , INIDEP, Mar del Plata.
- Cui, S., Jiang T., Li Y. y Luo X. (2000). Effect of irradiation on the shelf-life aquatic products. *Journal of Hygiene Research* 29:120-122.
- Curzio O. A. y Quaranta H. O. (1982) Influence of gamma-irradiation on exudate production and dry weight of hake fillets. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes* 33: 583.
- Dalgaard, P. (1995). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology* 26: 319-333.
- Dalgaard, P. Gram, L. y Huss, H.H. (1993). Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology* 19: 283-294.
- Dauphin, J.F. y Saint-Lèbe, L.R. (1977). Radiation chemistry of carbohydrates. En: *Radiation chemistry of major food components*, Cap. 5. Elias, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Scientific Publishing Company, Nueva York.
- Deitrich, M.D. (1968). M.S. Thesis. Louisiana State University, Baton Rouge, LA.
- Delincée, H. (1983a). Recent advances in radiation chemistry of proteins. En: *Recent advances in food irradiation*, p. 129-148. Elías, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- Delincée, H. (1983b). Recent advances in radiation chemistry of lipids. En: *Recent advances in food irradiation*, p. 89-114. Elías, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- Delincée, H.. (1998). Detection of food treated with ionizing radiation. *Trends in Food Science Technology* 9: 73-82.
- Diehl, J.F. (1990). *Safety of irradiated foods*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Duhamel, G. (1992). Exploratory online fishing around the Kerguelen Islands. Description of the fishing effort and target size of *Dossostichus eleginoides*. Document WG-FSA 92/31, CCAMLR, Hobart, Australia.
- Dyer, W.J. (1971). Speed of freezing and quality of frozen fish. En: *Fish Inspection and Quality Control*, p. 75-78. Kreuzer, R. (Ed.). Fishing News Books.

- Empis J.M.A., Silva H.A., Nunes M.L. y Andrade E. M. (1995). Detection of irradiated fish using EPR of fish bone; signal intensity and stability. *Fisheries Research* 21:471-475.
- Eukel, W.W y Huber, W. (1960). Tooling up for low dose irradiation processing of fresh foods. *Food Technology* 14 198-203.
- FAO/WHO (1984). Codex General Standard for Irradiated Foods and Recommended International Code of Practice for the Operation of Radiation Facilities for the Treatment of Foods. *Codex Alimentarius Commission*, vol. XV, Ed. 1, Roma.
- Fenton, W.S., Hibbeln, J. y Knable, M. (2000). Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biological Psychiatry* 47: 8-21.
- Forsythe S. J. y Hayes P. R. (1999). *Higiene de los Alimentos, Microbiología y HACCP*. Segunda Edición. Editorial Acribia S. A., Zaragoza, España.
- Gardner, H.W. (1979). Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and aminoacids. A review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 27: 220.
- Garthwaite, G.A. (1997): Chilling and freezing of fish. En *Fish Processing Technology*, p. 93-118. Hall, G.M. (Ed.). Blackie Academic & Professional, Londres.
- Ghadi, S.V., Alur, M.D., Ghosh, S.K., Doke, S.N., Lewis, N.F. y Nadharni, G.B. (1978). Quality assessment of radurized Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*). Progress report on IAEA. Research Contract No. 1612/CF, presented at the Advisory Group Meeting on Radiation Treatment of Fish and Fishery Products. Manila
- Giannini, D.H. (1986). Indices químicos para el control de calidad de pescado fresco y congelado. Parte II. Contribución Técnica N° 12, CITEP, Mar del Plata.
- Gill, T. A. (1990). Objective analysis of seafood quality. *Food Review International* 6: 681-714.
- Gill, T. A. (1992). Biochemical and chemical indices of seafood quality. En: *Quality Assurance in the Fish Industry. Proceedings of an International Conference*, p.337-388. Huss, H.H., Jacobsen M. y Liston J. (Eds.), Elsevier, Amsterdam.
- Gill, T. A., Keith, R. A. y Smith Lall, B. (1979). Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in myofibrillar proteins. *Journal of Food Science* 44: 661-667.
- Giroux, M. y Lacroix, M. (1998). Nutritional adequacy of irradiated meat - a review. *Food Research International* 31, 257-264.
- Gram, L., Wedell-Neergaard, C. Y Huss, H.H. (1990). The bacteriology of spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). *International Journal of Food Microbiology* 10: 303-316.
- Gray, J.L. (1978). Measurement of lipid oxidation: A Review. *Journal of the American Oil Chemists Society* 55: 539.

- Grodner, R. M. y Andrews, L.S. (1991). *Microbiology of Marine Food Products*, p. 429-440. Ward, D.R. y Hackney, C. (Eds.). Von Nostrand Reinhold, Nueva York.
- Grodner, R.M. y Hinton, A. (1987). In Proceedings of the 11 th Tropical and Subtropical Fisheries Conference. 86-101, 248-260.
- Haire, D. L. , Chen G., Janzen E. G., Frazer E. G. y Lynch J. A. (1997). Identification of irradiated foodstuffs: a review of the recent literature. *Food Research International* 30:249-264.
- Hammer, C.T. y Wills, E.D. (1979). The effect of ionizing radiation on the fatty acid composition of natural fats and on lipid peroxide formation. *Int. J. Radiat. Biol.* 35: 323-332.
- Hannesson, G. y Dagbjartsson, B. (1970). Report on a survey project in Iceland on the use of radiation pasteurization of various seafoods. En: *Preservation of Fish by Irradiation*, p. 49-64 IAEA, Viena..
- Haq, I. y Hussain, A.M. (1986). Changes in the microbial pattern of radurized mackerel during storage at low temperature. *Nucleus* 23: 27-30.
- Heen, E. y Karsti, O. (1965). Fish and shellfish freezing. En *Fish as Food*, Vol. 4, p. 355-418. Borgstrom, G. (Ed.). Academic Press, Londres.
- Hembree, H. W. y Burt, T. B. (1965). Troop acceptance tests of irradiated foods. In *Radiation Preservation of Foods*, Publ. N°. 1273, National Reserch Council, National Academy of Sciences, Washington.
- Horn, P.L. (2002). Age and growth of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) and Antarctic toothfish (*Dissostichus mawsoni*) in waters from the New Zealand to the Ross Sea, Antarctica. *Fisheries Research* 56: 275-287.
- Howgate, P., Johnston, A. y Whittle, K. J. (1992). *Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products*. Tony Research Station. Aberdeen.
- Hoyland, D.V y Taylor, A.J. (1991). A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chemistry* 40: 271-291.
- Hughes, R.B. y Jones, N.R. (1966). Measurement of hypoxanthine concentration in canned herring as an index of the freshness of the raw material, with a comment of flavour relations. *Journal of the Science and Food Agriculture* 17: 434-436.
- Huss, H.H. (1998). El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. FAO: Documento Técnico de Pesca, Cap.5, 35-67.
- Hussain, A.M.(1980). Radiation preservation of mackerel. *Food Irradiation Newsletter*.
- IAEA (2006) Database on approvals for irradiated foods. Food & Environmental Protection Newsletter Suppl., (pp. 21-59)

- IAEA (2007). Food irradiation facilities database. *Food & Environmental Protection Newsletter Suppl.*, (pp. 20-22)
- Ingram, M. (1951). The effect of cold on microorganisms in relation to food. *Proceeding Society Applied Bacteriology* 14:243.
- Iwamoto, M., Yamanaka, H., Watanabe, S. y Hashimoto, K. (1987). Effect of storage temperature on rigor mortis and ATP degradation in plaice (*Paralichthys olivaceus*) muscle. *Journal of Food Science* 52: 6.
- Jarrett, R.D. (1982). Isotope (Gamma) Radiation Sources. En: *Preservation of food by ionizing radiation*, Vol. I, Cap. 6. Josephson, E.S. y Peterson, M.S. (Eds.). CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida.
- Jay, J.M. (1994). Microbiología moderna de los Alimentos. 3ra. Edición. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España.
- Jimes, S. Ph.D. (1967). Dissertation. Louisiana State University, Baton Rouge, L.A.
- Johnston, W.A., Nicholson, F.J., Roger, A. y Stroud, G.D. (1994). Freezing and refrigerated storage in fisheries. FAO Fisheries Technical Paper N° 340, 143 p. Roma.
- Juneau, B.P. M.S. (1989). Thesis. Louisiana State University, Baton Rouge, L.A.
- Ke, P.J. y Woyewoda, A.D. (1979). Microdetermination of thiobarbituric acid values in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system. *Analytical Chimica Acta* 106: 1279-1284.
- Ke, P.J., Cervantes, E. y Robles-Martinez, C. (1984). Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) in fish tissue by an improved distillation-spectrophotometric method. *Journal of the Science and Food Agriculture* 35: 1248-1254.
- Ke, P.J., Nash, D.M. y Ackman, R.G. (1976). Quality preservation in frozen mackerel. *Canadian Institute of Food Science and Technology* 9: 135-138.
- Kendall, J.H. M.S. (1969). Thesis. Louisiana State University, Baton Rouge, LA.
- Kumta, U.S., Savagaon, K.A., Ghadi, S.V., Doke, S.N., Gore, M.S., Venopugal, V., Madhavan, V.N. y Sreenivasin, A. (1973). Radiation preservation of seafoods: Review of research in India. En: *Radiation Preservation of Food*, p. 403-424. IAEA, Viena.
- Kurade, S.A. y Baranowski, J.D. (1987). Prediction of shelf life of frozen minced fish in terms of oxidative rancidity as measured by TBARS number. *Journal of Food Science*. 52: 300-311.
- Lack, M. y Sant, G. (2001). Patagonian toothfish: Are conservation and trade measures working. *TRAFFIC Bulletin* 19: 1-18
- Lakshmanan, R., Venugopal, V., Rao, B.Y.K., Bongirwar, D.R., (1999). Stability of lipids of Indian mackerel to gamma irradiation. *Journal of Food Lipids* 6, 277-285.

- Lea, C.H. (1952). Methods for determining peroxide in lipids. *Journal of the Science and Food Agriculture* 3: 586-594.
- Lee, E.P. M.S. (1966). Thesis. Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana.
- Lerke, P.A., Farber, L. y Huber, W. (1961). Preservation of fish and shellfish by relatively low doses of beta radiation and antibiotics. *Food Technology* 15: 145.
- Licciardello, J.J., Ravesi, E.M., Tuhkunen, B.E. y Radicot, L.D. (1984). Effect of some potentially synergistic treatments in combination with 100 krad irradiation on the iced shelflife of cod fillets. *Journal of Food Science* 49: 1341-1346.
- Lindner, E. (1995). Toxicología de los alimentos. 2da. Edición. Editorial Acribia. Zaragoza.
- Liston, J. y Matches, J.R. (1968). Single and multiple doses in the radiation pasteurization of seaffods. *Food Technology* 22: 893.
- López Farré y Macaya C. (2006). Efectos antitrombóticos y antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3. *Revista Española de Cardiología* 6: 31-37.
- Love, R. M. (1975). Variability of Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the Northeast Atlantic: a review of seasonal and environmental influences on various attributes of fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 32, 2333-2342.
- Manthey, M., Oehlenschläger, J., Rehbein, H. (1991). Keeping quality and shelf life of frozen stored battered and unbattered portions cut from fillet blocks of Antarctic fish. *International Journal of Refrigeration* 14, 58-64.
- Mari, N.R. (1999). Aspects of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) fishery during 1989-1997 in the area of operation of the Argentine Fleet. *Avances en Métodos y Tecnología aplicados a la Investigación Pesquera. Seminario final del Proyecto INIDEP-JICA sobre Evaluación y Monitoreo de Recursos Pesqueros.* (INIDEP). Mar del Plata..
- Mariano, E. y Kaupert, N. (1973). Radiopasteurización del filete de merluza. Informe Comisión Nacional de Energía Atómica, N°360, 1-30, Buenos Aires.
- Massa, D. Perna, A. y Beliomini, A. (1969). Further research on whiting pasteurized with ionizing radiation. Abstract. En: *Preservation by ionizing radiation*, Weiss, F.J. (Ed.), US Atomic Energy Commission, Washington.
- McLaughlin, W.L., Jarrett, R.D. y Olejnik, T.A. (1982). Dosimetry. En: *Preservation of food by ionizing radiation*, Vol I, Cap. 8. Josephson, E.S. y Peterson, M.S. (Eds.). CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida.
- McMurray B.T., McRoberts W.C. Elliot C.T., Gray R. y Hamilton J.T.G. (1996 b). The use of immunoaffinity in the isolation of 2-alkylcyclobutanones produced in irradiated prawns. *Food Science Technology Today* 10:178-179.

- McMurray C. H., Stewart E.M., Gray R. y Pearce J. (Eds) (1996 a). *Detection methods for irradiated foods-current status*. Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Meier W., Hediger H. y Artho A. (1996) . Determination of ortotyrosine in shrimps, fish, mussels, frog legs and egg-white. En:*Detection methods for irradiated foods-current status*, p. 303-309. McMurray C.H., Stewart E.M., Gray R. y Pearce J. (Eds.) . Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Melton, S. (1983). Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology* 3:105-116.
- Méndez, E., Giudice, H., Pereira, A., Inocente G. y Medina D. (2001). Preliminary report on the total mercury content of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*). *Journal of Food Composition and Analysis* 14: 547-549.
- Mercosur (1994) Resoluciones del Grupo Mercado Común del Sur. Mercosur/GMC/RES. N° 40/94. Anexo: Reglamento Técnico sobre Identidad y Calidad del Pescado Fresco.
- Metlitskii, L.V., Rogachev, V.N. y Kruschev, V.G. (1968). Radiation processing of food products, ORNL-IIC-14. Oak Ridge National Lab., Oak Ridge, Tennessee.
- Miyauchi, D., Eklund, M., Spinelli, J. y Stoll, N. (1963). Application of Radiation-Pasteurization Processes to Pacific Crab and Flounder, Bureau of Commercial Fisheries Technological Laboratory for U.S. Atomic Energy Commission, Contract N° AT (49-11)-2058.NMFS, Seattle, Washington.
- Miyauchi, D.T. (1970).Application of radiation pasteurization process to Pacific coast fishery products. Report to the U. S. Atomic Energy Commission on Contract No. AT (49-11)-2058. NMFS, Seattle, Washington..
- Miyauchi, D.T., Spinelli, J. y Pelroy, G. (1966). Application of radiation pasteurization process to Pacific crab and flounder. Report to the U. S. Atomic Energy Commission on Contract No. AT (49-11)-2058. Bur. Com. Fish. Tech. Lab., Seattle, Washington.
- Miyauchi, D.T., Spinelli, J., Pelroy, G. y Steinberg, M.A. (1968). Radiation preservation of Pacific coast fishery products. *Isotopes Radiation Technology* 5: 136-141.
- Miyauchi, D.T., Spinelli, J., Pelroy, G., Teeny, F.y Seman, J. (1967) Application of radiation pasteurization process to Pacific crab and flounder. report to the U. S. Atomic Energy Commission on Contract No. AT (49-11)-2058. Bur. Com. Fish. Tech. Lab., Seattle, Washington.
- Molina, M.R., Garro, O.A. y Judis, M.A. (2000). Estabilidad oxidativa de la carne de Surubí durante el almacenamiento. *Comunicaciones científicas y tecnológicas 2000*. UNNE Facultad de Agroindustria. Chaco. Argentina.

- Molins, R.A., Motarjemi, Y., Kaferstein, F.K. (2001). Irradiation: a critical control point in ensuring the microbiological safety of raw foods. *Journal of Food Control* 12: 347-356.
- Morehouse K. M. (1996). Identification of irradiated food En: *Detection methods of irradiated food-current status* p.249-258. McMurray C.H., Stewart E.M., Gray R. and Pearce J. (Eds). Royal Society of Chemistry, Cambridge, Inglaterra.
- Moya, G.C.C y Lovazzano, J.P.V. (2006). Evolución de la rancidez oxidativa y la frescura del músculo de salmón coho alimentado con dietas adicionadas de antioxidantes naturales y conservado al estado congelado (-18°C). Trabajo de graduación en ingeniería de alimentos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.
- Nawar, W.W. (1977). Radiation chemistry of lipids. En: *Radiation chemistry of major food components*, Cap. 3. Elias, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Scientific Publishing Company, Nueva York.
- Nawar, W.W. (1978). Reaction mechanisms in the radiolysis of fats: a review. *J. Agric. Food Chemistry*. 26: 21-25.
- Nawar, W.W. (1983). Radiolysis of nonaqueous components of foods. En: *Preservation of food by ionizing radiation*, Vol II, Cap. 2. Josephson, E.S. y Peterson, M.S. (Eds.). CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida.
- Nichols, D. S., Williams, D., Dunstan, g. A., Nichols, P. D. y Volkman, J. K. (1994). Fatty acid composition of antarctic and temperate fish of commercial interest. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 107: 357-363.
- Nickerson J. T. R., Licciardello J. J. y Ronsivalli L. J. (1983). Radurization and Radicidation: Fish and Shellfish. En: *Preservation of food by ionizing radiation*, Vol. III, Cap. 2. Josephson, E.S. y Peterson, M.S. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida..
- Nickerson, J.T.R., Lockhart, E.E., Proctor, B.E. y Licciardello, J.J. (1964) Ionizing radiation for the control of fish spoilage. *Food Technology* 8: 32-34.
- Norma IRAM 15060-1 (1969). Productos de la industria pesquera. Método de determinación del pH en productos homogeneizables por la técnica potenciométrica.
- Norma IRAM 20301 (2003). Buenas prácticas de manufactura para el proceso de irradiación de alimentos destinados al consumo humano.
- NZFA (2005). New Zealand Food Authority. <http://www.nzfa.govt.nz>
- Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschlager, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I.M., Henehan, G., Nielsen, J. y Nielsen, H. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Review. *Trends in Food Science & Technology* 8: 258-265.

- Ordoñez, J.A. (1998). Tecnología de los Alimentos – Volumen II Alimentos de Origen Animal. Editorial Síntesis. Madrid.
- Özogul, Y., Özyurt, G., Özogul, F., Kuley, E. y Polat, A. (2005). Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chemistry* 92: 745-751.
- Palumbo, S., Jenkins, R.K., Buchanan, R.L., Thayer, D.W. (1986). Determination of irradiation D-values of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Food Protection* 49: 189-191.
- Pearson, A.M., Gray, J.I., Wolsak, A.M. y Horenstein, N.A. (1983). Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technology* 7: 121-129.
- Pelroy, G.A. y Eklund, M.W. (1966) Changes in the microflora of vacuum-packaged irradiated petrale sole (*Eopsetta jordani*) fillets stored at 0,5 °C. *Applied Microbiology* 14: 921.
- Perez Solmeron, L.A. (1985). *Higiene y control de los productos de la pesca*. 1ra Edición. Compañía Editorial Continental, México.
- Pérez, C. y Gascón, V. (2003) . Pesca ilegal de merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) en el océano Austral. *Revista Comunidad Pesquera* 9: 1-9.
- Pinnioja S. y Pajo L. (1995). Thermoluminescence of minerals useful for identification of irradiated seafood. *Radiation Physics and Chemistry* 46:753-756.
- Poulter, R.G., Curram, C.A., Rowlands, B. y Disney, J.G. (1982). Comparison of the biochemistry and bacteriology of tropical and temperate water fish during preservation and processing. Symposium on harvest and Post-Harvest Technology of Fish, Cochin, India.
- Prenski, L. y Almeyda, S. (1997). Informe final sobre los arrastres a gran profundidad. Algunos aspectos biológicos relevantes a la explotación de merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) en la Zona Económica Exclusiva Argentina y Sector Oceánico Adyacente. INIDEP. Mar del Plata.
- Príncipe, F., Andreucetti, N.A., Croci, C.A., (2003). Efecto del congelado sobre la estabilidad oxidativa de merluza negra (*Dissostichus eleginoides*). In: XXVI Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, Capítulo Argentino. “Alimentos en el Siglo XXI”, Mendoza, Argentina.
- Proctor, M.R., Ryan, J.A. y McLaughlin, W.L.(1982). The effects of stunning and slaughter methods on changes in skeletal muscle and quality of farmed fish. Proceedings from TNO, The Netherlands. International Conference *Upgrading and Utilization of Fishery Products*.
- Quaranta, H.O., Piccini, J.L. y Perez, S.S. (1984) Irradiation delayed oxidative rancidity in tuna loins. *Food Chemistry* 14: 135-139.
- Raffi J., Delincée H., Marchioni E., Hasselmann C., Sjöberg A.M., Leonrdi M., Kent M. Bögl K.W., Schreiber G., Stevenson H. y Meier W. (1994). Concerted action of the Community

- Bureau of Reference on methods of identification of irradiated food. Final Report, Commission of the European Communities, EUR-15261, Luxemburgo.
- Raharjo, S., Sofos, J.N. y Schmidt, G.R. (1993). Solid phase acid extraction improves thiobarbituric acid method to determine lipid oxidation. *Journal of Food Science* 58: 921-924, 932.
- Reiss, U., Tappel, A.L. y Chio, K.S. (1972). DNA-malonaldehyde reaction: Formation of fluorescent products. *Biochemical Biophysical Research Communications* 48: 921.
- Rhee, K.S. (1978). Minimization of further lipid peroxidation in the distillation 2-thiobarbituric acid test of fish and meat. *Journal of Food Science* 43: 1776-1781.
- Rhodes, D.N. (1964). Pasteurization of fish by ionizing radiation. A study of the feasibility in the United Kingdom. *Food Irradiation*. 4 : 8-22.
- Ronsivalli, L.J. y Slavin, J.W. (1965). Pasteurization of fishery products with gamma rays from a Cobalt-60 source. *Commercial Fisheries Reviews* 27: 1-9.
- Ronsivalli, L.J., Ampola, V.G., King, F.J. y Holston, J.A., (1968). A study of irradiated pasteurized fishery products. Report to U. S. Atomic Energy Agency on Contract No. AT(49-11)-1889. Bur. Com. Fish. Tech. Lab., Gloucester, Massachuset.
- Ronsivalli, L.J., Kaylor, J.D. y Slavin, J.W. (1969) Status of research on irradiated fish and shellfish in the United States. En: *Freezing and Irradiation of Fish*, p. 482. Kreuzer, R.(Ed.). Fishing News , Londres.
- Ronsivalli, L.J., Steinberg, M.A. y Seagran, H.L. (1965). Radiation preservation of fish of the northwest Atlantic and the Great Lakes". Radiation Preservation of Foods. Pub. 1273. Nat. Res. Coun., National Academy of Sciences, Washington.
- Rouser, G., Fleischer, S., Yamamoto, A., (1970). Two-dimensional thin layer chromatographic separation of polar lipids and determination of phospholipids by phosphorous analysis of spots. *Lipids* 5, 494-496.
- SAGP y A. (2007). C:\http\SAGPyA\pesca_Maritima\02-Desembarques.
- SAGP y A. (2002). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Resolución 19/02, 17 de mayo de 2002.
- Satin, M. (2002). Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives. *Meat Science* 62: 277-283.
- Schreiber G. A. , Helle N., Schulzki G., Linke B., Spiegelber A., Mager M. y Bögl K.W. (1996) Interlaboratory tests to identify irradiation treatment of various foods via gas chromatographic detection of hydrocarbons, ESR spectroscopy and TL analysis. En: *Detection methods for irradiated foods-current status*, p. 98-107. McMurray C. H., Stewart E.M., Gray R. and Pearce J. (Eds). Royal Society of Chemistry. Cambridge, Inglaterra.

- Schreiber G.A., Hoffmann A., Helle N. y Bögl K.W. (1994). Methods for routine control of irradiated food: determination of the irradiation status of shellfish by thermoluminescence analysis. *Radiation Physics and Chemistry* 43:533-544.
- Schulzki G. Spiegelberg A., Bögl K.W. y Schreiber G.A. (1997). Detection of radiation-induced hydrocarbons in irradiated fish and prawns by means on on-line coupled liquid chromatography-gas chromatography. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 45:3921-3927.
- SENASA (1968). Reglamento de Inspección de Productos de Origen Animal. Decreto 4238/68 . Capítulo 23.12.12.
- SENASA (2001). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Coordinación de Pesca -DFPOA- Orden de servicio N° 10, Argentina.
- Shibamoto, T. y Bjeldanes, L. (1996). *Introducción a la toxicología de los alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza.
- Sieling, D.H. (1961) Preservation of food by low dose ionizing energy. U.S. Army Quartermaster Research and Engineering Center, Natick, Massachuset.
- Sikorski Z.E. (1994). *Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación*. Editorial Acribia S.A., Zaragoza.
- Sikorski, Z.E. y Kolakowska, A. (1994). Congelación de alimentos marinos. En: *Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación*. p.151-168. Sikorski Z.E. (Ed.). Editorial Acribia, Zaragoza.
- Silvestre, A.L. (1998). *Toxicología de los alimentos*. 3ra. Edición. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Simeonidou, S, Govaris, A. y Vareltzis, A. (1998). Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *Food Reserch International* 30: 479-484.
- Simic, M.G. (1983). Radiation chemistry of water-soluble food components. En: *Preservation of food by ionizing radiation*, Vol II, Cap. 1. Josephson, E.S. y Peterson, M.S. (Eds.). CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida.
- Singh H. (1993) Extension of shelf-life of meat and fish by irradiation. En: *Shelf life studies of foods and beverages: chemical, biological and physical nutrition aspects*, p.145-194. Charalamboulus G. (Ed.). Elsevier Science Publishers B.V, Amsterdam.
- Sinnhuber, R.O. y Yu, T.C. (1958). Characterization of the red pigment formed in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity. *Food Research* 23: 626.
- Siu, G. M., Draper, H. H. (1978). A survey of the malonaldehyde content of retail meats and fish. *Journal of Food Science* 43: 1147-1149.

- Slavin, J.W. y Ronsivalli, L.J. (1963). Study of Irradiated-Pasteurized Fishery Products, U.S. Fish and Wildlife Technological Laboratory for U.S. Atomic Energy Commission Contract N° AT (49-11)-1889, Gloucester, Massachuset.
- Slavin, J.W. y Ronsivalli, L.J. (1964). Study of irradiated pasteurized fishery products. Report to U. S. Atomic Energy Commission on Contract No. AT(49-11)-1889. Bur. Com. Fish., Gloucester, Massachuset.
- Slavin, J.W., Steinberg, M.A. y Ronsivalli, L.J. (1964). Radiation preservation of New England seafoods. *Isotopes Radiation Technology* 1: 317-322.
- Smith, G., Hole, M. y Hanson, S.W. (1990). Assessment of lipid oxidation in Indonesian salted-dried marine catfish (*Arius thalassinus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 51:193-205.
- Spinks, J.W.T. y Woods, R.J. (1990). *An introduction to radiation chemistry*, 3^o Edición. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Steinberg, M.A. (1965). The atom preserves seafood. Proc.Gulf Caribbean Fish. Inst., p. 56. Key Biscayne, Florida.
- Stewart E.M. y Gray R. (1996). A study on the effect of irradiation dose and storage on the ESR signal in the cuticle of pink shrimp (*Pandalus montagui*) from different geographical regions. *Applied Radiation Isotopes* 47: 1629-1632.
- Stewart E.M. y Stevenson M.H. (1997). Identification of irradiated norway lobster (*Nephrops norvegicus*) using electron spin resonance (ESR) spectroscopy and estimation of applied dose using re-irradiation: results of an in house blind trial. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74:469-472.
- Stine, C.M., Harland, H.A., Coulter, S.T. y Jenness, R. (1954). A modified peroxide test for detection of lipid oxidation in dairy products. *Journal of Dairy Science* 37: 202-208.
- Stroem, A.R., Olafsen, J.A. y Larsen, H. (1979). Trimethylamine oxide: a terminal electron acceptor in anaerobic respiration of bacteria. *Journal of General Microbiology.*, 112, 315-320.
- Surette, M.E., Gill, T.A. y Leblanc, P.J. (1988). Biochemical basis of post mortem nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36: 19-22.
- Surette, M.E., Gill, T.A. y Maclean, S. (1990). Purification and characterization of purine nucleoside phosphoylase from *Proteus vulgaris*. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 1435-1439.
- Swallow, A.J. (1977). Chemical effects of irradiation. Radiation chemistry of major food components. Elias, P.S. y Cohen, A.J.

- Tappel, A.L. y Dillard, C.J. (1981). In vivo lipid peroxidation: Measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. *Federation Proceedings* 40: 174.
- Taub, I.A., Karrielan, R.A., Halliday, J.W. (1978). Radiation chemistry of high protein food irradiated at low temperature. En :*Food preservation by irradiation*, vol.1 p.371-384. International Atomic Energy Agency, Viena.
- Thibault, C. y Charbonneau, R. (1991). Extension of the shelf-life of Atlantic cod (*Gadus morhua*) fillets with the aid of ionizing radiation. *Sciences des Aliments* 11: 249-261.
- Tobback, P.P. (1977). Radiation chemistry of vitamins. En: *Radiation chemistry of major food components*. Cap. 6. Elias, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Scientific Publishing Company, Nueva York.
- Trucco, R.E., Lupin, H.M., Giannini, D.H., Crupkin, M., Boeri, R.L. y Barassi, C.A. (1978). Valores iniciales de nitrógeno básico volátil de diversas especies pesqueras del Mar Argentino". Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), Centro de Investigaciones de Tecnología Pesquera (CITEP). Contribución: N° 36. Mar del Plata.
- Tuck, G. N., de la Mare, W.K., Hearn, W.S., Williams, R., Smith, A.D.M., He, X. Y Constable, A. (2003). An exact time of release and recapture stock assessment model with an application to Macquarie Island Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*). *Fisheries Research* 63: 179-191.
- U.E. (2004). Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, Abril 2004, Sección VIII, Capítulo II, Estrasburgo.
- U.E. (2005). Reglamento (CE) N° 2074/2005. Sección II, Capítulo I. (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea).
- Uchiyama, H. y Ehira, S. (1974). Relation between freshness and acid-soluble nucleotides in aseptic cod and yellowtail muscles during ice storage. *Bulletin Tokai Regional Fisheries Research Laboratory* 78: 23-31.
- Undeland, I. (1995). Fish processing: influence on lipid oxidation. En: *Oxidation in fatty fish during processing and storage*. Chalmers University of Technology, Goteborg, Suecia.
- Urbain, W.M. (1986). *Food Irradiation*. Academic Press, Orlando, Florida.
- Urbain, W.M. (1977). Radiation chemistry of proteins. En: *Radiation chemistry of major food components*, Cap. 4. Elias, P.S. y Cohen, A.J. (Eds.). Elsevier Scientific Publishing Company, Nueva York. WHO (1981). Wholesomeness of Irradiated Foods, Technical Report Series 659, Génova.
- Van Mameren, J., Van Spreckens, K.J.A., Houwing, H. y Mossel, D.A. (1969). Effect of irradiation on the keeping quality of packaged cod flash. En: *Freezing and Irradiation of Fish* p.446-448. R. Kreuzer (Eds.). Fishing News Ltd., Londres.

- Venugopal V. y Nair P. M. (1992). Radiation preservation of seafood, a case study of indian mackerel. *Fish Technology* 29: 114-123.
- Venugopal, V., Alur, M.D. y Nerkar, D.P. (1987). Storage stability of nonpackaged irradiated Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*). *Journal of Food Science* 55: 507-508.
- Venugopal, V., Ghadi, S.V., Ghosh, S.K., Alur, M.D., Doke, S.N. y Lewis, N.F. (1982). Stability of radurized Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) as a function of temperature, *Journal of Food Protection* 45:360-362.
- Vinagre, J., Castro, E., Araya, M. y Meléndez, C. (1991). Aprovechamiento tecnológico de remanentes de exportación de Bacalao de Profundidad (*Dissostichus eleginoides*). *Alimentos* 16: 15-20.
- Vyncke, W. (1975). Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus L.*). *Fette Seifen Anstrichm.* 77: 239-240.
- Ward, O.P. y Singh, A. (2005). Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production. *Process Biochemisrty* 40:3627-3652.
- Wienecke, B y Robertson, G. (2002). Seabird and seal – fisheries interactions in the Australian Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) trawl fishery. *Fisheries Research* 54: 253-265.
- Wilson, G. y Nichols, P.D. (2001). Fatty acid analysis of toothfish. In: *Ecologically sustainable development of the fishery for Patagonian toothfish (Dissostichus eleginoides) around Macquarie Island: population parameters, population assessment and ecological interactions*, pp 241-274. X.He and D. Furlani, Editors. FRDC Final Report 97/122.
- Wohler, O. y Martínez, P. (2002). Algunas herramientas para facilitar la interpretación y el control de reglamentaciones vigentes para la captura de merluza negra (*Dissostichus eleginoides*) en el Mar Argentino, Informe 66. INIDEP, Mar del Plata.
- Woods, R.J. y Pikaev, A.K. (1994). *Applied radiation chemistry: Radiation processing*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Yau, C., Collins, M. A., Bagley, P.M., Everson, I., Nolan, C.P. y Priede, I.G. (2001). Estimating the abundance of Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* using baited cameras: a preliminary study. *Fisheries Research* 51: 403-412.
- Yilmaz, I. y Gecgel, U. (2007) Effects of gamma irradiation on *trans* fatty acid composition in ground beef. *Food Control* 18:635-638.
- Zar, J.H. (1999). *Biostatistical Analysis* (4th ed.). New Jersey: Prentice-Hall.
- Zhivov, V.V. y Krivoruchko, V.M. (1990). On the biology of the Patagonian toothfish, *Dissostichus eleginoides*, of the Antarctic Part of the Atlantic. *Journal of Ichthyology* 30: 142-146.

TRABAJOS SURGIDOS DE ESTA TESIS

COMUNICADOS EN CONGRESOS

- Evaluación en pescado de productos secundarios de oxidación lipídica que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico. XXIV Congreso Argentino de Química, Santa Fe 07 al 09 de Agosto de 2002.
- Efecto del congelado sobre la estabilidad oxidativa de Merluza negra (*Dissostichus eleginoides*). XXVI Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Capítulo Argentino. “Alimentos en el siglo XXI”, Mendoza, 02 al 04 de Octubre de 2003.
- The effect of gamma irradiation on the freshness of freezed Patagonian Toothfish (*Dissostichus eleginoides*). Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina 24, 25 y 26 de Noviembre de 2004.

PUBLICADOS EN ACTAS DE CONGRESOS

- Estudio preliminar del efecto de la radiación gamma sobre parámetros de frescura de la porción H&G congelada de Merluza negra (*Dissostichus eleginoides*). Actas de la XXX Reunión Anual de la Asociación Argentina de Tecnología Nuclear. Buenos Aires, 26 de Noviembre de 2003. CDRom, 3 páginas.
- Lípidos y ácidos grasos en músculo de merluza negra: estabilidad frente a la radiación gamma y el almacenaje en estado congelado. Actas del XI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Buenos aires, 12-14 de septiembre de 2007. CDRom, 9 páginas. ISBN 978-987-22165-2-8

PUBLICADOS EN REVISTAS INTERNACIONNALES

- Stability of lipids and fatty acids in frozen and gamma irradiated Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) from Southwestern Atlantic. Lebensmittel-Wissnschaft und-Technologie.(2009) 42:1308-1311. Elsevier Ltd. ISSN: 0889-1575.

ANEXO I

Medidas administrativas vigentes para el manejo de la pesquería de merluza negra en el Mar Argentino

- Resolución SAGPyA 177/00 (02 de Mayo del 2000)
 - Exigencia del documento de captura.
- Resolución SAGPyA 68/01 (07 de Mayo del 2001)
 - Limitación de la profundidad con palangre o red de arrastre de fondo, a más de 1000 metros al norte de los 54°S y a los 800 metros al sur de dicha latitud.
 - Acreditación de la capacidad técnica del buque para operar a la profundidad requerida.
 - Tamaño mínimo de los anzuelos de 4 cm y del tipo circular.
- Resolución SAGPyA 426/01 (09 de Agosto del 2001)
 - Limitación de la captura incidental de la especie en 3% respecto de la captura total de la marea.
 - Invalidación del documento de captura para la exportación del producto en los casos en que no se cumpliera con las medidas de conservación de la CCRVMA.
- Resolución SAGPyA 19/02 (17 de Mayo del 2002)
 - Obligatoriedad de declarar las capturas de *Dissostichus eleginoides* como merluza negra y no como Róbalo (otra denominación vulgar de la especie en Argentina).
 - Creación de un área de protección de juveniles en la cuadrícula de pesca 5463, prohibiendo la pesca por arrastre de fondo.
 - Establecimiento de una talla mínima de captura de la especie en 82 cm de largo total (coincidente con la talla de primera maduración sexual).
 - Limitación de la captura de ejemplares de talla menor de 82 cm, al 10% del total de las capturas de la especie por lance, debiendo desplazarse el buque que supere dicho porcentaje por un mínimo de 5 millas respecto de la posición del lance durante al menos 5 días.
 - Creación de la CASPMEN, integrada por representantes de la Autoridad de Aplicación y de los armadores de buques pesqueros.
- Resolución CFP 17/02 (10 de Octubre de 2002)

- Prohibición de la pesca dirigida con cualquier arte de pesca en las cuadrículas 5462 y 5463 (ampliación de la zona de protección de juveniles).
- Creación de la SCD, integrada por la Autoridad de Aplicación y los representantes de las distintas empresas.
- Disposición SAGPyA 20/02 (07 de Noviembre de 2002)
 - Cierre de la pesquería de merluza negra hasta el 31/12/02, por haberse alcanzado la CMP.
- Resolución CFP 01/03 (21 de Enero de 2003)
 - Suspensión desde el 15 de Enero hasta el 31 de Marzo de la prohibición de la pesca de merluza negra, cualquiera sea el arte utilizado, en la zona de protección de juveniles (cuadrícula 5462 y 5463).
 - Obligación del embarque de un observador científico y de un inspector a bordo para cualquier buque que ingrese al área.
 - Obligación de todas las embarcaciones integrantes de la pesquería, de informar con un plazo de 96 horas de antelación el día y puerto de descarga, detallando las capturas de merluza negra y las capturas totales obtenidas.
 - Consideración de falta grave cuando el porcentaje de juveniles en número supere al 15%, cuando se trata de pesca dirigida (más del 3% de la captura total de la marea).
 - Establecimiento de una CMP de 1200 toneladas para el primer trimestre de 2003 y revisión trimestral del desarrollo de la pesquería a partir de la información de la SCD, el INIDEP y la CASPMEN.
- Resolución CFP 07/03 (08 de Abril de 2003)
 - Suspensión desde el 01 de Abril hasta el 30 de Junio, de la prohibición de la pesca de merluza negra, cualquiera sea el arte utilizado, en la zona de protección de juveniles (cuadrícula 5462 y 5463) para las embarcaciones que dieron cumplimiento a lo reglamentado respecto a llevar observador e inspector a bordo.
 - Establecimiento de una CMP de 2400 toneladas acumuladas para el primer semestre del 2003 y continuación de la revisión trimestral del desarrollo de la pesquería a partir de la información de la SCD, el INIDEP y la CASPMEN.
- Resolución CFP 09/03 (20 de Mayo de 2003)
 - Prohibición de realizar operaciones de pesca en el área de protección de juveniles (cuadrícula 5462 y 5463) y de pesca como especie objetivo a la merluza negra en la totalidad del ámbito de aplicación por un lapso de 90 días corridos a partir del

establecimiento de la sanción, a los buques que incumplieran las reglamentaciones respecto al porcentaje máximo de juveniles permitido y a la presencia de observadores a bordo.

- Disposición SAGPyA 01/03 (24 de Junio de 2003)
 - Establecimiento en 43 cm de longitud para el tronco de merluza negra como correspondiente a un ejemplar de 82 cm de longitud total.
- Resolución CFP 14/03 (26 de Junio de 2003)
 - Suspensión de la prohibición de la captura en el área de protección de juveniles desde el 01 de Julio hasta el 30 de Septiembre de 2003.
 - Establecimiento de una CMP acumulada hasta el 30 de Septiembre de 3600 toneladas.
- Resolución CFP 19/03 (25 de Septiembre de 2003)
 - Suspensión de la prohibición de la captura en el área de protección de juveniles desde el 01 de Octubre hasta el 31 de Diciembre de 2003.
 - Establecimiento de una CMP acumulada hasta fines de 2003 de 4800 toneladas.
- Resolución CFP 20/03 (30 de Octubre de 2003)
 - Ampliación del área de protección de juveniles, incorporando la cuadrícula de pesca 5461 a las dos ya existentes (5462 y 5463).
- Disposición SAGPyA 185//03 (15 de Diciembre de 2003)
 - Suspensión de la pesca como especie objetivo hasta el 31/12/03, por haberse alcanzado la CMP.
- Resolución CFP 03/04 (01 de Abril de 2004)
 - Establece que cuando la captura de merluza negra excede del 3% del total, no se podrá superar el 15% de juveniles dentro de la especie.
- Resolución CFP 04/04 (01 de Abril de 2004)
 - Establecimiento de una CMP en el período comprendido entre el 01 de Abril y 30 de Junio del 2004 de 800 toneladas.
- Resolución CFP 13/04 (29 de Julio de 2004)
 - Establecimiento de una CMP acumulada para el año 2004 de 2250 toneladas.
- Disposición 423/04 (28 de Septiembre de 2004)
 - Prohibición a partir de la fecha de toda captura de merluza negra.

- Resolución CFP 05/05 (10 de Febrero de 2005)
 - Establecimiento de una CMP similar al 2004, de 2250 toneladas.
- Disposición 78/06 (06 de Abril de 2006)
 - Autorización de capturas de merluza negra para el año 2006. Cantidades especificadas para cada buque autorizado. Se considera una CMP de 2500 toneladas.
- Resolución CFP 07/07 (05 de Marzo de 2007)
 - Establecimiento de una CMP acumulada para el año 2007 de 2500 toneladas.
- Resolución CFP 09/07 (19 de Diciembre de 2007)
 - Listado de buques autorizados a la captura de la especie y sus correspondientes volúmenes.

En resumen las siguientes son algunas de las medidas que se adoptaron:

- Se estableció un límite del 3% a la captura de merluza negra como fauna incidental en cada marea
- Se incorporó la limitación del 10% para la captura de juveniles
- Se definió como talla mínima de captura la de 82 cm de longitud total (equivalente a 43 - 44 cm de tronco)
- Se estableció la prohibición de pesca por arrastre de fondo en el área comprendida entre las latitudes 54 y 55 grados Sur y las longitudes 63 y 64 grados Oeste a profundidades menores de 800 m
- Debido al tamaño de su boca, se recomienda el uso de anzuelos circulares con un tamaño mínimo de 4 cm.
- Se estableció la obligatoriedad de declarar a la especie como “merluza negra” y no con otras denominaciones de uso vulgar
- Se estableció la obligación de efectuar las declaraciones de captura en forma quincenal.

Algunas de las medidas implementadas en las reglamentaciones fueron objeto de consulta al INIDEP. Uno de los aspectos ha sido la correcta identificación de la merluza negra (*Dissotichus eleginoides*) respecto del róbalo (*Eleginops maclovinus*). La necesidad de declarar a la merluza negra como tal, y no bajo diferentes nombres de la especie, surgió de observar la existencia de irregularidades en la declaración de las capturas (Wohler y Martínez, 2002).

Se detallan a continuación las principales diferencias morfológicas existentes entre la merluza negra y el róbalo.

MERLUZA NEGRA	ROBALO
Línea lateral doble	Línea lateral simple
Cabeza grande (1/3 de la longitud total).	Cabeza pequeña, está comprendida cinco veces en la longitud total
Boca terminal, con mandíbula inferior más larga que la superior.	Boca terminal pequeña.
Ojos laterales y grandes.	. Ojos pequeños.
Coloración: gris oscuro en dorso y flanco, aclarándose en zona ventral.	Coloración: azul grisáceo oscuro en el dorso, zona ventral gris plateada.

Coefficiente de conversión

Según Resolución SAPG y A N° 831/97 se establecen los factores de conversión para distintas especies. Para la Merluza Negra los valores son:

H&G..... 1,61

Filet con piel 1,92

Mediante Resolución SAGPyA N° 10/2000 y en base a datos del INIDEP, se determinaron los coeficientes de conversión para la producción a bordo:

Merluza negra H&G1,73